



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101856397 B

(45) 授权公告日 2012. 07. 25

(21) 申请号 200910081629. 2

卷 (第 4 期), 54-56.

(22) 申请日 2009. 04. 07

审查员 孙迎琪

(73) 专利权人 北京天科仁祥医药科技有限公司

地址 100101 北京市南沙滩 2 号院天和人家
2-3-201

(72) 发明人 伍荣林

(51) Int. Cl.

A61K 36/71 (2006. 01)

A61P 1/16 (2006. 01)

A61P 31/20 (2006. 01)

A61K 31/357 (2006. 01)

(56) 对比文件

EP 0919227 A1, 1999. 02. 06, 全部.

CN 1589858 A, 2005. 03. 09, 全部.

王伯祥等. 肝胆病常用中药的研究概况. 《中
医肝胆病学》. 中国医药科技出版社, 1993, 第
60-158 页.

项中等. 中药治疗乙型肝炎的进展. 《广州
医药》. 广州市医药卫生科技情报站, 1987, 第 18

权利要求书 1 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

一种治疗乙型肝炎的药物组合物及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种治疗乙型肝炎的药物组合物及其制备方法, 本发明药物组合物由升麻总皂苷、水飞蓟素及药学上可接受的载体及赋形剂组成, 药理药效实验表明该药物组合物具有抗病毒作用和损伤保护作用, 具有服用量小, 疗效确切等特点。

1. 一种治疗乙型肝炎的药物组合物,由作为活性成分的升麻总皂苷和水飞蓟素及药学上可接受的载体及赋形剂组成。

2. 如权利要求 1 所述的一种治疗乙型肝炎的药物组合物,其特征在于所述的药物活性成分重量百分比为:

升麻总皂苷 10 ~ 60%,水飞蓟素 40 ~ 90%。

3. 如权利要求 2 所述的一种治疗乙型肝炎的药物组合物,其特征在于所述的药物活性成分重量百分比为:

升麻总皂苷 15 ~ 40%,水飞蓟素 60 ~ 85%。

4. 如权利要求 3 所述的一种治疗乙型肝炎的药物组合物,其特征在于所述的药物活性成分重量百分比为:

升麻总皂苷 23.1%,水飞蓟素 76.9%。

5. 如权利要求 1-4 任一所述药物组合物,其中药物组合物为口服剂型或冻干粉针剂。

6. 如权利要求 1-4 任一所述药物组合物,其中药物组合物为颗粒剂、丸剂、胶囊剂、片剂、口服液体制剂或冻干粉针剂。

一种治疗乙型肝炎的药物组合物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明内容涉及一种治疗乙型肝炎的药物组合物及其制备方法,属于中药技术领域。

背景技术

[0002] 乙型肝炎又称乙型病毒性肝炎(简称乙肝),是感染乙型肝炎病毒(HBV)所致。

[0003] 导致慢性乙型病毒性肝炎的发病机制主要是由于急性病毒性肝炎患者体内的病毒长期未能被清除和机体自身免疫功能障碍。乙型病毒性肝炎患者的持续感染是病变进展的根本原因,目前的主要抗病毒药物存在周期长、副作用大、易复发、费用高等缺陷,不能满足临床的要求。但采用综合治疗,包括调节机体免疫功能、抗病毒、保护肝脏功能、改善症状、防止肝纤维化等传统中医药疗法更为科学有效。市场尚缺乏具有抗病毒作用同时又具有保肝作用的治疗乙肝的药物。

[0004] 升麻为毛茛科植物升麻、兴安升麻和大三叶升麻的干燥根茎。具有发表透疹、清热解毒、升举阳气的功能。

[0005] 升麻总皂苷是由升麻中以现代提取分离技术获得的有效部位,具有显著的体内、外抗病毒作用,可遏制乙肝病情的恶化。

[0006] 水飞蓟是菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum*(L.)Gaertn. 的干燥成熟果实。具有清热解毒,舒肝利胆的功效。主治肝胆湿热、胁痛,黄疸。

[0007] 水飞蓟素是由水飞蓟干燥种子中提取分离的有效成分的总称,近年来已经广泛应用于治疗急、慢性肝炎,肝硬化及肝损伤治疗,具有保护肝细胞膜、促进肝细胞修复再生、控制肝组织炎症反应、抗肝纤维化等保肝作用。尽管水飞蓟素具有其它治疗乙型肝炎的药物不可比拟的优势,但在抗病毒方面,效果相对薄弱。

[0008] 因此研究具有抗病毒作用同时又具有保肝作用的药物是解决乙型肝炎难治性的有效方法。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于公开一种治疗乙型肝炎的药物组合物及其制备方法。

[0010] 本发明是将升麻总皂苷和水飞蓟素两种组分合理配伍用于治疗乙型肝炎,该组合物同时具备抗病毒作用和损伤保护作用。

[0011] 本发明目的是通过如下技术方案实现的:

[0012] 本发明药物组合物的活性成分重量百分比组成为:

[0013] 升麻总皂苷 10 ~ 60%,水飞蓟素 40 ~ 90%。

[0014] 本发明药物组合物的活性成分,优选重量百分比如下:

[0015] 升麻总皂苷 15 ~ 40%,水飞蓟素 60 ~ 85%。

[0016] 本发明药物组合物的活性成分,最佳重量百分比如下:

[0017] 升麻总皂苷 23.1%,水飞蓟素 76.9%。

[0018] 取上述活性成分,加入适量药学上常用辅料,制成药物组合物制剂,包括颗粒剂、丸剂、胶囊剂、片剂、口服液体制剂等口服制剂或冻干粉针剂。

[0019] 该药物组合物成本低廉、使用方便、组方科学、疗效确切。

[0020] 下述实验例和实施例进一步证明但不限于本发明。

[0021] 实验例 1:体外抗病毒作用 - 对 HBsAg、HBeAg 分泌和 HBV-DNA 复制的抑制作用

[0022] 1. 对细胞毒性试验:用 0.06%胰蛋白酶将 2.2.15 细胞分散成单个细胞悬液,用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养配成浓度为 3×10^5 /mL 的细胞悬液,按 0.1mL/孔分种于 96 孔板,置 37℃、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱内培养,2d 后换含药培养液 0.1mL/孔,每个浓度四孔。将药物组合物药液作系列倍比稀释成以下 8 个浓度 2000、1000、500、250、125、62.5、31.3、15.6 μg/mL。继续培养,并设不加药物的对照;6d 后收集上清,用 MTT 法测药物细胞毒性,计算半数有毒浓度 (TC₅₀),最大无毒浓度 (TC₀)。

[0023] 2. 对 HBeAg、HBsAg 抑制试验:细胞处理,接种,培养同前,给药剂量从 500 μg/mL 向下延伸,同时设不加药物的空白对照,相同浓度水飞蓟素和升麻总皂苷的药物对照,拉米夫定 8 μg/mL 的阳性药对照。之后收集上清后 ELISA 法测定 HBSAg、HBeAg。计算抑制率,计算半数有效浓度 (IC₅₀)。

[0024] 3. 结果:

[0025] 3.1 对细胞的毒性作用:经 MTT 法测定,药物组合物体外对 2.2.15 细胞的 TC₅₀ = 491.2 μg/mL,TC₀ = 125 μg/mL;升麻总皂苷体外对 2.2.15 细胞的 TC₅₀ = 485.5 μg/mL,TC₀ = 125 μg/mL;水飞蓟素体外对 2.2.15 细胞的 TC₅₀ = 354.0 μg/mL,TC₀ = 250 μg/mL;结果见表 1。

[0026] 3.2 对 HBeAg、HBsAg 抑制作用:药物组合物在 31.3 μg/mL 浓度以上,对 HBsAg 及 HBeAg 均有显著抑制作用且呈良好量效关系,作用优于升麻总皂苷或水飞蓟素单独使用。结果见表 2,3。

[0027] 表 1 药物组合物体外对 2.2.15 细胞的毒性

[0028]

组别	浓度 (μg/mL)	OD 值	抑制率%	TC ₅₀ (μg)
对照	0	0.92±0.10	—	
药物组合物	2000	0.14±0.03**	84.8	
	1000	0.22±0.04**	76.6	

[0029]

升麻总皂苷	500	0.40±0.07**	56.5	
	250	0.67±0.09**	28.2	
	125	0.84±0.10	—	
	62.5	0.92±0.12	—	491.1
	31.3	0.94±0.10	—	
	15.6	0.91±0.14	—	
	2000	0.12±0.03**	87.0	
	1000	0.25±0.05**	73.8	
	500	0.35±0.06**	62.0	485.5
	250	0.70±0.08**	22.2	
水飞蓟素	125	0.86±0.12		
	62.5	0.94±0.14		
	31.3	0.95±0.13		
	15.6	0.93±0.11		
	2000	0.10±0.02**	89.1	
	1000	0.19±0.04**	79.3	
	500	0.35±0.09**	62.0	354.0
	250	0.57±0.11**	38.0	
	125	0.82±0.11		
	62.5	0.88±0.13		
31.3	0.93±0.12			
15.6	0.92±0.13			

[0030] 与对照组比较 : *p < 0.05 ; **p < 0.01

[0031] 表 2 药物组合物体外对 2.2.15 细胞 HBeAg 的抑制作用

[0032]

组别	浓度 (μ g/mL)	OD 值	抑制率%	IC ₅₀ (μ g)
空白对照		2.40±0.55	—	
药物组合物	15.6	2.20±0.45	—	
	31.3	1.50±0.40*	37.5	
	62.5	0.97±0.20**	59.5	45.2
	125	0.62±0.10**	74.2	
	250	0.38±0.08**	84.2	
升麻总皂苷	500	0.30±0.06**	87.5	
	15.6	2.31±0.51	—	
	31.3	1.82±0.40*	24.2	
	62.5	1.27±0.35**	47.1	
	125	0.76±0.17**	68.3	73.8
水飞蓟素	250	0.40±0.09**	83.3	
	500	0.38±0.06**	84.2	
	15.6	2.30±0.53	—	
	31.3	2.22±0.47	—	
	62.5	1.83±0.37	23.8	

[0033]

	125	1.55±0.34*	35.4	
	250	1.06±0.27**	56.8	219.0
	500	0.80±0.09**	66.7	
拉米夫定	8	0.80±0.15**	43.3	

[0034] 与空白对照组比较 : *p < 0.05 ; **p < 0.01

[0035] 表 3 药物组合物体外对 2.2.15 细胞 HBsAg 的抑制作用

[0036]

组别	浓度 (μg/mL)	OD 值	抑制率%	IC ₅₀ (μg)
对照		2.05±0.49	—	
药物组合物	15.6	1.90±0.38	—	
	31.3	1.21±0.30*	41.0	
	62.5	0.90±0.20**	56.1	44.7
	125	0.62±0.15**	69.8	
	250	0.30±0.08**	85.4	
	500	0.32±0.07**	84.4	
升麻总皂苷	15.6	1.98±0.37	—	
	31.3	1.39±0.31*	32.2	
	62.5	1.07±0.23**	47.2	66.3
	125	0.70±0.13**	65.9	
	250	0.39±0.08**	81.0	
	500	0.33±0.05**	83.9	
水飞蓟素	15.6	2.10±0.43	—	
	31.3	1.89±0.37	—	
	62.5	1.57±0.31*	23.4	
	125	1.16±0.23**	43.4	
	250	0.81±0.13**	60.5	191.4
	500	0.65±0.10**	68.3	
拉米夫定	8	1.14±0.30**	44.4	

[0037] 与对照组比较 : *p < 0.05 ; **p < 0.01

[0038] 实验例 2 : 药物组合物的体内抗病毒活性 - 对鸭乙型肝炎模型的治疗作用

[0039] 1. 分组与给药

[0040] 1 日龄雄性上海麻鸭, 将动物购回后适应性喂养 2d 后, 用地高辛标记的 DHBV DNA 探针经斑点杂交检测选出先天自然感染 DHBV 者作为实验用动物。DHBV 感染雏鸭随机分 6 组进行药物治疗试验, 每组 6 只 : 模型对照组 (DHBV), 药物组合物 20mg/kg, 40mg/kg, 80mg/kg 组, 升麻总皂苷 80mg/kg 组, 水飞蓟素 80mg/kg 组, 拉米夫定 10mg/kg 组, 口服给药, 每日 2 次, 共 10d, 模型对照组 (DHBV) 以生理盐水代替药物。在给药前 1 天 (T0), 用药第 5 天 (T5), 用药第 10 天 (T10) 和停药后第 3 天 (P3), 自鸭腿胫静脉取血, 分离血清, -70℃ 保存待检。

[0041] 2. DHBV-DNA 检测方法

[0042] 取上述待检鸭血清, 按缺口翻译试剂盒操作说明书, 用 ³²P 标记作探针, 将 40μL 血清点于硝酸纤维膜上, 进行斑点杂交, 放射自显影图片斑点, 在酶标仪上检测 OD 值 (滤光片为 490nm), 以 OD 值间接代表病毒载量, 用 t 检验进行统计分析。

[0043] 3. 结果 :

[0044] 结果显示:拉米夫定组用药后 DHBV DNA 滴度保持平稳状态,无明显的上升趋势,血清 DHBVDNA 滴度与模型组比较有显著性差异,停药后 DHBV DNA 有一定的回升趋势;药物组合物用药后血清 DHBV DNA 滴度保持平稳状态,血清 DHBV DNA 滴度与模型组比较有显著性差异,停药后无明显的回升趋势。升麻总皂苷 80mg/kg 从第 5 天始血清 DHBV DNA 滴度与模型组比较有显著性差异,停药后 DHBV DNA 有一定的回升趋势;水飞蓟素未显示对 DHBV DNA 有明显影响。显示药物组合物对 DHBV 病毒的增殖有明显的抑制作用,作用优于升麻总皂苷或水飞蓟素单独使用。结果见表 4。

[0045] 表 4 药物组合物对鸭血清 DHBV DNA 滴度的影响

[0046]

组别	剂量 mg/kg	动物	A490			
			给药前	给药 5 天	给药 10 天	停药 3 天
模型对照	—	6	2.20±0.4	2.16±0.40	2.23±0.44	2.28±0.48
药物组合物	20	6	2.18±0.4	1.65±0.44	1.30±0.33 ^{*△}	1.38±0.50 ^{*△}
	40	6	2.14±0.4	1.13±0.33 ^{**△}	1.08±0.30 ^{**△}	1.14±0.35 ^{**△}
	80	6	2.18±0.5	1.01±0.28 ^{**△}	0.95±0.30 ^{**△}	1.01±0.31 ^{**△}
升麻总皂苷	80	6	2.11±0.4	1.20±0.39 ^{**△}	1.15±0.32 ^{**△}	1.41±0.39 ^{*△}
水飞蓟素	80	6	2.23±0.4	1.95±0.46	1.90±0.50	2.09±0.51
拉米夫定	10	6	2.10±0.4	0.60±0.10 ^{**△}	0.54±0.11 ^{**△}	1.08±0.29 ^{**△}

[0047] 与模型对照组比较: *P<0.05 **P<0.01;与给药前比较: [△]P<0.05 ^{△△}P<0.01

[0048] 实验例 3:药物组合物对 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤的保护作用

[0049] 取大鼠 60 只,雌雄兼用,除正常对照组 10 只外,其余动物按 0.5mL/100g 体重,腹腔注射 10% 的 CCl₄,每周 2 次。2 周后眼眶采血测定血清中 GPT,去除 GPT 含量低于 100 卡门单位的动物,其余动物根据 GPT 含量均匀分 5 组:模型组、联苯双脂 30mg/kg 组,药物组合物 25mg/kg,50mg/kg,100mg/kg 组,同时设升麻总皂苷 100mg/kg 和水飞蓟素 100mg/kg 组作为对照。分组与给药方法同 3.1。分组后各组仍继续用腹腔注射 10% 的 CCl₄ 造模,每周 2 次,连续 8 周。给药组同时开始灌胃给药,每日剂量分 2 次给予,连续 8 周。正常对照组在同等情况下腹腔注射生理盐水和灌胃给蒸馏水。观察下列指标:每周称体重,记录死亡情况;每 2 周检测血清中 GPT 含量;分别于给药后 6 周、8 周采血测定血清中 GPT、GOT、ALP、ALB、TP、TBIL 的含量;病理检查。

[0050] 结果显示:对大鼠血清生化指标的影响:药物组合物 50mg/kg,100mg/kg 组在给药第 6 周开始可明显降低血清中 ALT 含量;药物组合物 50mg/kg,100mg/kg 给药第 6 周开始,25mg/kg 给药第 8 周开始可明显降低血清中 AST 含量;药物组合物组 50mg/kg,100mg/kg 给药第 6 周可降低血清中 TBIL(总胆红素)的含量。药物组合物作用优于升麻总皂苷或水飞蓟素单独使用,结果见表 5。

[0051] 表 5 药物组合物对大鼠慢性肝损伤的保护作用

[0052] 6 周

[0053]

组别	剂量	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	ALP(IU/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	TBIL (mmol/L)
	mg/kg						
对照组		28.78±4.97	234.70±13.81	31.61±2.20	83.9±4.2	39.86±0.88	4.39±1.84
模型组		70.52±13.36 ^{##}	330.40±46.85 ^{##}	40.82±1.91 ^{##}	79.5±4.7 ^{##}	36.64±3.03 ^{##}	13.68±4.48 ^{##}
药物组合物	25	70.68±28.27	280.40±55.18	39.34±1.77	79.0±5.1	38.80±2.70	11.73±6.77
	50	51.28±13.32 ^{**}	251.20±34.58 ^{**}	39.32±1.85	77.7±5.0	37.07±2.84	9.00±4.13 [*]
	100	44.03±11.07 ^{**}	245.08±42.75 ^{**}	39.43±1.96	75.5±8.2	35.68±4.43	8.32±3.21 ^{**}
升麻总皂苷	100	51.65±14.07 ^{**}	261.40±38.78 ^{**}	39.55±1.79	77.0±5.5	37.57±3.44	9.15±3.81 [*]
水飞蓟素	100	50.17±12.51 ^{**}	264.19±42.28 ^{**}	39.47±2.23	76.0±6.2	35.47±4.55	8.95±4.26 [*]
联苯双酯	30	65.75±26.16	308.60±28.10	40.49±1.85	76.1±7.6	33.51±4.34	12.37±7.65

[0054] 8 周

[0055]

组别	剂量	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	ALP(IU/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	TBIL (mmol/L)
	mg/kg						
对照组		23.63±9.45	227.25±26.05	17.47±3.34	42.62±4.52	78.69±9.08	5.75±1.78
模型组		167.00±17.46 ^{##}	396.87±25.33 ^{##}	39.20±0.84 ^{##}	36.86±2.54 ^{##}	69.31±8.63 ^{##}	13.92±3.51 ^{##}
药物组合物	25	161.80±31.64	351.72±35.65 [*]	38.52±1.42	38.49±4.03 [*]	68.78±10.14	11.20±2.91
	50	130.11±35.44 [*]	337.78±46.47 ^{**}	38.83±1.11	38.36±2.71 [*]	70.69±7.17	10.03±1.63 [*]
	100	114.35±34.80 ^{**}	313.28±25.44 ^{**}	38.48±1.86	37.50±4.16	69.75±7.06	9.55±3.45 [*]
升麻总皂苷	100	131.23±33.17 [*]	338.28±19.58 ^{**}	38.59±1.77	37.80±4.22	68.79±7.56	9.95±3.25 [*]
水飞蓟素	100	124.30±36.55 ^{**}	333.28±20.41 ^{**}	38.90±1.97	37.44±4.55	69.15±7.44	10.15±3.45 [*]
联苯双酯	30	98.08±45.82 ^{**}	340.40±31.44 ^{**}	39.57±1.07	35.81±4.57	69.90±6.97	13.21±4.61

[0056] 与正常对照组比较 ^{##}P < 0.01 与模型对照组比较 :^{**}P < 0.01 ^{*}P < 0.05

[0057] 病理结果显示 :经 HE 染色后,给药不同剂量组与模型组比较肝组织纤维增生、汇管区的炎性细胞浸润、结节的形成均有减轻的趋势,尤其大、中剂量组的肝组织病变明显好于模型组。经 GA 染色后给药不同剂量组肝组织间质纤维 VG 染色呈弱阳性,药物组合物组及其他给药组肝组织纤维增生呈现明显的弱阳性。肝脏病理程度分级采用秩和检验进行统计学处理,与模型组比较有显著性差异 (P < 0.05)。

具体实施方式

[0058] 下述实施例均能实现上述实验例的效果。

[0059] 实施例 1 片剂

[0060] 水飞蓟素 110g

[0061] 升麻总皂苷 33g

- [0062] 取升麻总皂苷、水飞蓟素和 257g 淀粉,混匀,以 80%乙醇制粒,干燥,压片,制成片剂 1000 片。
- [0063] 实施例 2 :胶囊剂
- [0064] 水飞蓟素 85g
- [0065] 升麻总皂苷 58g
- [0066] 取升麻总皂苷、水飞蓟素和 257g 淀粉,混匀,制成胶囊剂。
- [0067] 实施例 3 :丸剂
- [0068] 水飞蓟素 122g
- [0069] 升麻总皂苷 21g
- [0070] 取升麻总皂苷、水飞蓟素及丸剂所用的常用辅料,采用常规方法制成丸剂。
- [0071] 实施例 4 :颗粒剂
- [0072] 水飞蓟素 95g
- [0073] 升麻总皂苷 48g
- [0074] 取升麻总皂苷、水飞蓟素及颗粒剂所用的常用辅料,采用常规方法制成颗粒剂。
- [0075] 实施例 5 :口服液
- [0076] 水飞蓟素 118g
- [0077] 升麻总皂苷 25g
- [0078] 取升麻总皂苷、水飞蓟素及口服液所用的常用辅料,采用常规方法制成口服液。
- [0079] 实施例 6 :冻干粉针剂
- [0080] 水飞蓟素 100g
- [0081] 升麻总皂苷 43g
- [0082] 取升麻总皂苷、水飞蓟素及常规辅料,采用常规方法制成冻干粉针剂。