



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108939043 A

(43)申请公布日 2018.12.07

(21)申请号 201810982435.9

A61K 33/00(2006.01)

(22)申请日 2018.08.27

(71)申请人 车路平

地址 100164 北京市丰台区成寿寺路1号楼
01116室

(72)发明人 车路平

(51)Int.Cl.

A61K 38/02(2006.01)

A61K 35/60(2006.01)

A61K 36/90(2006.01)

A61K 36/898(2006.01)

A61K 9/06(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61K 35/618(2015.01)

A61K 35/586(2015.01)

A61K 35/32(2015.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54)发明名称

一种鲨鱼软骨糖蛋白及其抗癌用途

(57)摘要

本发明涉及一种鲨鱼软骨糖蛋白及其抗癌用途,所述鲨鱼软骨糖蛋白由鲨鱼软骨粉碎后,使用碱水提取后,经盐析、脱游离蛋白和纯化后获得的鲨鱼软骨活性成分,药理实验显示了鲨鱼软骨糖蛋白具有显著的抗血管形成作用,还能抑制皮肤癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、肝癌、胃癌、卵巢癌等细胞的增殖,体内实验也显示了优异的抑瘤效果,可广泛应用于癌症的预防和治疗。

1. 鲨鱼软骨糖蛋白在制备抗癌药物中的用途。
2. 根据权利要求1所述的用途,其特征在於所述鲨鱼软骨糖蛋白由以下方法制备得到:
 - (1) 鲨鱼软骨粉碎后过10-30目筛,的鲨鱼软骨颗粒;
 - (2) 鲨鱼软骨颗粒加入3-8倍的纯净水后使用NaOH调节pH为10-13,加热至50-70℃,浸泡3-10小时后过滤,滤液备用,滤渣重复浸提1-2次,滤液合并;
 - (3) 滤液经盐析后,使用Sevage法去除游离蛋白质,再经透析和DEAE-C32阴离子交互树脂柱层析后制得。
3. 一种抗癌药物组合物,其特征在於包含鲨鱼软骨糖蛋白或鲨鱼软骨。
4. 根据权利要求3所述的抗癌药物组合物,其特征在於还包含龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香。
5. 根据权利要求4所述的抗癌药物组合物,其特征在於:所述药物组合物由鲨鱼软骨5-10份、龟板2-5份、鲍鱼壳1-3份、小苏打1-3份、蛤蜊壳1-3份、马齿苋3-8份、牛骨粉8-15份、土茯苓2-5份、山慈菇5-10份、败酱草2-5份、鱼腥草1-3份、黄芪1-3份、瞿麦1-3份、零陵香1-3份制成。
6. 根据权利要求5所述的抗癌药物组合物,其特征在於:所述药物组合物由鲨鱼骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蜊壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克、零陵香10克制成。
7. 权利要求4-6任一项所述的抗癌药物组合物,其特征在於:所述药物组合物为口服药物组合物或局部施用药物组合物。
8. 根据权利要求7所述的抗癌药物组合物,其特征在於:所述口服药物组合物为片剂、胶囊剂、颗粒剂、丸剂、散剂、汤剂;所述局部施用药物组合物为外敷膏剂。
9. 根据权利要求8所述的抗癌药物组合物,其特征在於:所述外敷膏剂通过以下方法制备得到:
 - (1) 将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香粉碎成150-200目颗粒;
 - (2) 将鱼腥草、零陵香、山慈菇、败酱草颗粒使用海盐泡水48小时,使用时,使用该水将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、黄芪、瞿麦颗粒调成药膏,即得外敷膏剂。
10. 权利要求4-9任一项所述的抗癌药物组合物在制备抗癌药物组合物中的用途。

一种鲨鱼软骨糖蛋白及其抗癌用途

技术领域

[0001] 本发明属于药物领域,具体涉及一种鲨鱼软骨糖蛋白及其抗癌用途。

背景技术

[0002] 癌症(Cancer),也称恶性肿瘤,是指控制细胞增殖的机制失常而引起的细胞失控性增殖,并局部侵入周围正常组织,甚至经由体内循环系统或淋巴系统转移到身体其他部分的一类疾病。癌症由于在其早期并无明显的临床症状,等发现时往往已处于癌症晚期,往往导致发现时已错过最佳治疗窗口期,使其致死率居高不下,成为世界五大绝症之一。我国是癌症高发地区之一,且近年来癌症的发病率正逐年升高,2014年全国新发癌症约380万例,死亡229万例。截止目前,癌症的确切致病机理仍不清楚,与癌症发病相关的因素主要有外源性因素与内源性因素,其中外源性因素包括生活习惯、环境污染、医源性因素等,内源性因素包括遗传因素、免疫因素、内分泌因素等。癌症的整体发病率虽然性别差别不大,但男性与女性中不同癌症的发病率存在明显区别,由于抽烟及近年来环境污染的加剧,肺癌为男性中发病率最高的癌症,而乳腺癌为女性发病率最高的癌症。

[0003] 针对癌症的治疗,目前主要包括手术治疗、放疗、化疗等,其中手术治疗在理论上可完全切除癌症组织,从而实现治愈癌症,但由于癌症发现时多已处于癌症晚期,癌细胞已经侵入周围正常组织或随循环系统扩散至身体其他器官,使得无法通过手术完全清楚癌症细胞,并且手术为有创性治疗手段,手术过程中伴随着癌症组织周围循环系统的破坏,一定程度上可能会促进癌细胞的扩散,加之手术所带来的伤口感染、人体免疫系统的破坏等不利影响,造成了手术治疗在癌症治疗中所发挥的作用仍然十分有限。放射治疗是使用辐射杀死癌细胞的方法,但放射治疗由于缺乏靶向性,会造成正常细胞的大面积损伤,影响患者的消化系统,破坏患者的免疫系统,使得患者自身抵御癌症的能力大幅度下降,虽然在现代放射治疗在癌症治疗过程中被广泛采用,但其也仅为权宜之计,并非治疗癌症的理想手段。化疗,全称为化学治疗,是指服用可以杀死癌症细胞的药物,从而用于治疗癌症。化疗药同样存在对正常细胞的损害,但通过化疗药物研究的不断深入,人们正努力通过靶向性给药、开发对正常组织损伤作用更小的药物,以避免化疗过程中对正常组织细胞的损伤,从而能够有效治疗癌症。

[0004] 上世纪80年代人们发现了鲨鱼软骨具有抑制血管生成的作用,因此逐渐将其应用于癌症的预防与治疗,但其整体治疗效果仍不理想。近年来人们先后研究了鲨鱼软骨提取物、鲨鱼软骨素、鲨鱼软骨血管生成抑制因子的抗癌效果,均未获得突破性的进展,甚至一度出现了鲨鱼软骨不具有抗癌效果的观点。

[0005] 本发明发明人在充分调研现有技术的基础上,通过大量实验,由鲨鱼软骨中分离得到了一种鲨鱼软骨糖蛋白,药理实验显示其相对于鲨鱼软骨的粗提取具有优异的抑制血管形成和促进癌细胞凋亡的效果,可用于癌症的预防和治疗。

发明内容

- [0006] 本发明的目的是提供一种鲨鱼软骨糖蛋白在制备抗癌药物中的用途。
- [0007] 优选的,所述鲨鱼软骨糖蛋白由以下方法制备得到:
- [0008] (1) 鲨鱼软骨粉碎后过10-30目筛,得鲨鱼软骨颗粒;
- [0009] (2) 鲨鱼软骨颗粒加入3-8倍的纯净水后使用NaOH调节pH为10-13,加热至50-70℃,浸泡3-10小时后过滤,滤液备用,滤渣重复浸提1-2次,滤液合并;
- [0010] (3) 滤液经盐析后,使用Sevage法去除游离蛋白质,再经透析和DEAE-C32阴离子交互树脂柱层析后冷冻干燥制得鲨鱼软骨糖蛋白。
- [0011] 本发明的再一个目的是提供一种抗癌药物组合物,其包含鲨鱼软骨糖蛋白或鲨鱼软骨。
- [0012] 优选的,所述抗癌药物组合物还包含龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香。
- [0013] 优选的,所述抗癌药物组合物由鲨鱼软骨5-10份、龟板2-5份、鲍鱼壳1-3份、小苏打1-3份、蛤蜊壳1-3份、马齿苋3-8份、牛骨粉8-15份、土茯苓2-5份、山慈菇5-10份、败酱草2-5份、鱼腥草1-3份、黄芪1-3份、瞿麦1-3份、零陵香1-3份制成。
- [0014] 更优选的,所述抗癌药物组合物由鲨鱼软骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蜊壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克、零陵香10克制成。
- [0015] 本发明药物组合物中:
- [0016] 鲨鱼软骨:具有抗肿瘤、祛风湿、止痛、止泻等多重功效,常用于风湿性关节炎、头痛、腹泻等症的治疗。
- [0017] 龟板:为龟科动物*chinemys reevesii*的腹甲及背甲,主要分布于浙江、湖北、湖南等地,龟板味咸甘、性平,具有滋阴、潜阳、补肾、健骨的作用,常用于骨蒸劳热、潮热、盗汗、崩漏、遗精、带下、骨痿、吐血等症的治疗,现代药理研究表明龟板具有提高机体免疫功能、抗肿瘤等作用。
- [0018] 鲍鱼壳:又称石决明,为是珍贵的药材,具有清热平肝、滋阴壮阳的功效,鲍鱼以及鲍鱼壳包含丰富的蛋白质,鲍鱼壳本身的营养价值也非常高,鲍鱼壳入药可以治疗高血压、眩晕、目暴肿疼痛等多种疾病,由鲍鱼壳中提炼出的甲壳素,还可用于胃及十二指肠溃疡、胃酸过多等症的治疗。
- [0019] 小苏打:即碳酸氢钠,化学式为 NaHCO_3 ,小苏打溶液呈碱性,医学上外用可消毒杀菌,口服可用于治疗胃酸过多的治疗,静脉给药还可用于纠正酸中毒。现代病理研究表明肿瘤内部为酸性环境,服用小苏打,可以打破肿瘤组织酸性环境,抑制肿瘤细胞增殖。
- [0020] 蛤蜊壳:蛤蜊味咸,性寒,具有滋阴润燥、利尿消肿、软坚散结作用。《本草经疏》中记载:“蛤蜊其性滋润而助津液,故能润五脏、止消渴,开胃也。咸能入血软坚,故主妇人血块及老癖为寒热也。”蛤蜊对肉瘤和腹水瘤都有抑制作用和缓解作用。蛤蜊壳味咸,性寒凉,可以入肺经和肾经以及肝经,能清热,也能化痰利湿,还能软坚,常用于治疗胃痛、饮喘咳、水气浮肿、小便不利、带下痈肿和烫伤等。著名方药蛤蜊散即是将蛤蜊壳洗净后置炭火烧焙,用于痰火喘咳的治疗。
- [0021] 马齿苋:为马齿苋科植物马齿苋的干燥地上部分,味酸、性寒,归肝、大肠经,有清热利湿、解毒消肿、消炎、止渴、利尿的效果,常用于热毒血痢、痈肿疔疮、湿疹、丹毒、蛇虫咬

伤、便血、崩漏等症的治疗。

[0022] 牛骨粉:为牛科野牛属动物黄牛或水牛属动物水牛的骨骼,味甘、性温,具有蠲痹、截疟、敛疮等功效,常用于关节炎、泻痢、疟疾、疔疮等症的治疗。骨中所含的骨髓自古就有“补精髓、壮筋骨、延年益寿”的记载,古籍《寿世真元》认为:骨髓“专补虚损,活血荣筋,润泽肌肤,返老还童”,是抗衰老的造血器官,能增进人体的造血机能,提高肌体免疫力,含有人体所需的全部营养精华,有促进儿童大脑发育、健脑增智之功效的卵磷脂;有滋润皮肤、美容养颜、防衰老的骨胶原(多种氨基酸)、粘多糖和多种蛋白肽等。牛骨还储藏着丰富的营养,其蛋白质、铁质、钠和产生的能量远远高于鲜肉,蛋白质含量高出奶粉23%,是猪肉的两倍,高出牛肉61%,是鸡蛋的1倍多,磷、钙含量更是其它食物所不能比拟的。尤其难得的是,牛骨的营养成分比植物蛋白更易为人体所吸收。

[0023] 土茯苓:为百合科植物光叶菝葜的干燥根茎,味甘、淡,性平。有解毒除湿、同理关节的功效,常用于梅毒及汞中毒所致的肢体拘挛、筋骨疼痛、湿热淋浊、带下、痈肿、瘰疬、疥癣等症的治疗。

[0024] 山慈菇:为兰科植物杜鹃兰、独蒜兰或云南独蒜兰的干燥假鳞茎,味甘、微辛,性凉,归肝、脾经。具有清热解毒,消痈散结的功效,常用于痈肿疔毒、瘰疬病核、蛇虫咬伤等症的治疗。

[0025] 败酱草:为败酱科植物白花败酱的干燥全草,味辛、苦,性凉,归肝、胃、大肠经,具有清热解毒、祛痰排脓的功效,常用于肠痈、肺痈、痢疾、痈肿疔疮等症的治疗。

[0026] 鱼腥草:为三白草科植物蕺菜的干燥地上部分,味辛,性寒凉,归肺经。具有清热解毒、消肿排脓疔疮、利尿除湿、清热止痢、健胃消食的功效,可用于治疗肺脓溃瘍、肺热咳嗽、热痢热淋、水肿、脚气、尿路感染、白带过多、痈肿疮毒等症,现代药理研究表明,鱼腥草还具有抗菌、抗病毒、提高机体免疫力,利尿等作用。临床实践证明鱼腥草对于上呼吸道感染、支气管炎、肺炎、慢性气管炎、慢性宫颈炎、百日咳等均有较好的疗效,对急性结膜炎、尿路感染等也有一定疗效。

[0027] 黄芪:为豆科植物蒙古黄芪的根,味甘、性温,归肺、脾、肝、肾经。具有补气固表、托毒排脓、利尿、生肌的功效,常用于气虚乏力、久泻脱肛、自汗、水肿、子宫脱垂、糖尿病、创口久不愈合等症的治疗。

[0028] 瞿麦:为石竹科植物瞿麦的干燥地上部分,味苦,性寒,归心、小肠经。具有利尿通淋、活血通经的功效,常用于热淋、血淋、石淋、小便不通、淋漓涩痛、经闭等症的治疗。

[0029] 零陵香:又称熏草、铃铃香,为报春花科植物灵香草的带根全草,味辛甘,性温,归足太阴、阳明经,具有祛风寒、辟秽浊的功效,常用于治疗伤寒、感冒头痛、胸腹胀满、不利、遗精、鼻塞、牙痛等症。

[0030] 本发明抗癌药物组合物为口服药物组合物或局部施用药物组合物。

[0031] 优选的,所述口服药物组合物为为片剂、胶囊剂、颗粒剂、丸剂、散剂、汤剂;所述局部施用药物组合物为外敷膏剂。

[0032] 本发明的再一个目的是提供一种口服抗癌药物组合物的制备方法,包括以下步骤:

[0033] 鲨鱼软骨糖蛋白添加药学上可接受的辅料后,按照本领域常规方法制得口服抗癌药物组合物。

[0034] 或按照以下步骤制备的到：

[0035] (1) 将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香各自粉碎成20目颗粒后混匀；

[0036] (2) 将步骤(1)所得混合颗粒加入5倍的纯净水后使用NaOH调节pH为12，加热至60℃，浸泡5小时后过滤，滤液备用，滤渣重复浸提2次，滤液合并，减压浓缩为25℃时密度为1.02-1.05的浸膏；

[0037] (3) 步骤(2)所的浸膏药学上可接受的辅料后按照本领域常规方法制备得到口服抗癌药物组合物。

[0038] 本发明的再一个目的是提供一种抗癌药物组合物外敷膏剂的制备方法，包括以下步骤：

[0039] (1) 将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香粉碎成150-200目颗粒；

[0040] (2) 将鱼腥草、零陵香、山慈菇、败酱草颗粒使用海盐泡水48小时，使用时，使用该水将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、黄芪、瞿麦颗粒调成药膏，即得外敷膏剂。

[0041] 本发明的再一个目的提供一种包含所述鲨鱼软骨糖蛋白或鲨鱼软骨的组合物在制备抗癌药物中的用途，所述鲨鱼软骨糖蛋白由以下方法制备得到：

[0042] (1) 鲨鱼软骨粉碎后过10-30目筛，得鲨鱼软骨颗粒；

[0043] (2) 鲨鱼软骨颗粒加入3-8倍的纯净水后使用NaOH调节pH为10-13，加热至50-70℃，浸泡3-10小时后过滤，滤液备用，滤渣重复浸提1-2次，滤液合并；

[0044] (3) 滤液经盐析后，使用Sevage法去除游离蛋白质，再经透析和DEAE-C32阴离子交互树脂柱层析后冷冻干燥制得鲨鱼软骨糖蛋白。

[0045] 优选的，所述抗癌药物组合物还包含龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香。

[0046] 优选的，所述抗癌药物组合物由鲨鱼软骨5-10份、龟板2-5份、鲍鱼壳1-3份、小苏打1-3份、蛤蜊壳1-3份、马齿苋3-8份、牛骨粉8-15份、土茯苓2-5份、山慈菇5-10份、败酱草2-5份、鱼腥草1-3份、黄芪1-3份、瞿麦1-3份、零陵香1-3份制成。

[0047] 更优选的，所述抗癌药物组合物由鲨鱼软骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蜊壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克、零陵香10克制成。

[0048] 本发明有益效果

[0049] 本发明分离得到了鲨鱼软骨中的鲨鱼软骨糖蛋白，体外实验显示鲨鱼软骨糖蛋白具有抑制人脐静脉内皮细胞增殖的作用，还可以抑制皮肤癌细胞、乳腺癌细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、胃癌细胞的增殖。

[0050] 本发明在发现鲨鱼软骨糖蛋白可以有效抗血管形成，诱导癌细胞凋亡的基础上，还提出了一种抗癌药物组合物，所述抗癌药物组合物通过鲨鱼软骨糖蛋白或鲨鱼软骨与其他成分配伍使用，取得了相对于鲨鱼软骨糖蛋白更为优异的抗血管形成和诱导癌细胞凋亡的效果，尤其是零陵香的加入，使得本发明的药物组合物取得了意料不到的抗癌效果。

具体实施方式

[0051] 在下文中更详细地描述了本发明以有助于对本发明的理解。

[0052] 实施例1:一种鲨鱼软骨糖蛋白

[0053] 所述鲨鱼软骨糖蛋白按照以下方法制备:

[0054] (1) 鲨鱼软骨200g,粉碎后过20目筛,得鲨鱼软骨颗粒;

[0055] (2) 鲨鱼软骨颗粒加入5倍的纯净水后使用NaOH调节pH为12,加热至60℃,浸泡5小时后过滤,滤液备用,滤渣重复浸提2次,滤液合并;

[0056] (3) 滤液经盐析后,使用Sevage法去除游离蛋白质,再经透析和DEAE-C32阴离子交互树脂柱层析后,冷冻干燥制得鲨鱼软骨糖蛋白5.6g。

[0057] 实施例2:一种抗癌片剂

[0058] 鲨鱼软骨糖蛋白30克、微晶纤维素230g、羟丙基纤维素25g、羧甲基淀粉钠15g、硬脂酸镁适量,按照以下方法制备:

[0059] 鲨鱼软骨糖蛋白粉碎过60目筛,添加微晶纤维素后使用羟丙基纤维素制软才,过14目筛制粒,干燥后过12目筛整粒,加入羧甲基淀粉钠及硬脂酸镁后混匀,压片得抗癌片剂1000片。

[0060] 实施例3:一种抗癌外敷膏剂

[0061] 鲨鱼软骨糖蛋白3克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蜊壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克、零陵香10克,按照以下方法制备:

[0062] (1) 将龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香粉碎成180目颗粒;

[0063] (2) 将鱼腥草、零陵香、山慈菇、败酱草颗粒使用海盐泡水48小时,使用时,使用该水将鲨鱼软骨糖蛋白与龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、黄芪、瞿麦颗粒调成药膏,即得外敷膏剂。

[0064] 实施例4:一种抗癌外敷膏剂

[0065] 鲨鱼软骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蜊壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克、零陵香10克,按照以下方法制备:

[0066] (1) 将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香粉碎成180目颗粒;

[0067] (2) 将鱼腥草、零陵香、山慈菇、败酱草颗粒使用海盐泡水48小时,使用时,使用该水将鲨鱼软骨糖蛋白与龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、黄芪、瞿麦颗粒调成药膏,即得外敷膏剂。

[0068] 实施例5:一种抗癌胶囊剂

[0069] 鲨鱼软骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蜊壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克、零陵香10克,按照以下方法制备:

[0070] (1) 将鲨鱼软骨、龟板、鲍鱼壳、小苏打、蛤蜊壳、马齿苋、牛骨粉、土茯苓、山慈菇、

败酱草、鱼腥草、黄芪、瞿麦、零陵香各自粉碎成20目颗粒后混匀；

[0071] (2) 将步骤(1)所得混合颗粒加入5倍的纯净水后使用NaOH调节pH为12,加热至60℃,浸泡5小时后过滤,滤液备用,滤渣重复浸提2次,滤液合并,减压浓缩为25℃时密度为1.02-1.05的浸膏；

[0072] (3) 步骤(2)所的浸膏添加微晶纤维素后制软材,过14目筛制粒,干燥后过12目筛整粒,添加适量硬脂酸镁后灌装于明胶胶囊壳,制得抗癌胶囊100粒。

[0073] 对比例1:一种抗癌药物组合物

[0074] 鲨鱼软骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蚧壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克,按照实施例4步骤制备得到外敷膏剂。

[0075] 对比例2:一种抗癌药物组合物

[0076] 鲨鱼软骨80克、龟板30克、鲍鱼壳20克、小苏打20克、蛤蚧壳20克、马齿苋50克、牛骨粉100克、土茯苓30克、山慈菇80克、败酱草30克、鱼腥草10克、黄芪10克、瞿麦10克,按照实施例5步骤制备得到浸膏。

[0077] 效果例1本发明药物组合物的抗血管形成作用

[0078] 1.1实验药物

[0079] 实施例1鲨鱼软骨糖蛋白使用灭菌PBS配制为200mg/L的悬浮液、实施例5步骤(2)所得浸膏、对比例2浸膏均使用灭菌PBS配置为5g生药/mL的混悬液。

[0080] 1.2实验方法

[0081] 新鲜人脐带15cm,使用灭菌PBS清洗脐带外表并冲洗脐带静脉至无残血,结扎脐带一端,在脐带开口端静脉内灌注2.5g/L胰蛋白酶后,消化20min,期间每隔3分钟摇晃脐带一次,消化完成后将消化液注入50mL无菌离心管中,再使用灭菌PBS冲洗脐静脉2次,冲洗液同样注入无菌离心管中,离心,弃上清,加入灭菌PBS30mL后,吹打均匀后再离心,弃上清,沉淀加入含10%新生牛血清的DMEM培养基,加入24孔板,放置于37℃、5%湿度的CO₂培养箱中培养24h,更换含10%新生牛血清的DMEM培养基后继续培养24小时,得原代分离的人脐静脉内皮细胞。

[0082] 原代分离的人脐静脉内皮细胞用0.05%的胰酶消化后,以 2×10^4 个/mL的密度接种于96孔板,200 μ l/孔,共4组,具体为空白组、鲨鱼软骨糖蛋白组、实施例5组、对比例2组,每组设置3个平行孔,放置于37℃、5%湿度的CO₂培养箱培养24h,加入测试药物50 μ l/孔,具体的为:空白组加入PBS、鲨鱼软骨糖蛋白组加入鲨鱼软骨糖蛋白200mg/L的混悬液,实施例5组加入5g生药/mL的实施例5所得浸膏的混悬液、对比例2组添加加入5g生药/mL的对比例2所得浸膏的混悬液。继续培养24h后,弃去上清,加入5mg/ml MTT试剂20 μ L和200 μ L DMSO,3h后使用酶标仪测试570nm吸光度值,计算各组的人脐静脉内皮细胞增殖抑制率,具体结果见表1,其中:

[0083] 增殖抑制率 = (对照组吸光度值 - 实验组吸光度值) / 对照组吸光度值 \times 100%。

[0084] 1.3实验结果

[0085] 表1本发明药物组合物对人脐静脉内皮细胞的增殖抑制作用

组别	增殖抑制率
[0086] 鲨鱼软骨糖蛋白	37.42%
实施例 5 组	63.48%
对比例 2 组	23.59%

[0087] 表1实验结果显示,不含零陵香的对比比例2组药物组合物的提取物浸膏也显示了一定的抑制人脐静脉内皮细胞增殖的效果,而鲨鱼软骨糖蛋白则具有明显的人脐静脉内皮细胞的增殖抑制效果,本发明实施例5组药物组合物则显示了更为优异的人脐静脉内皮细胞的增殖抑制效果,其抑制率约为单独鲨鱼软骨糖蛋白的1.7倍,为不含零陵香的对比比例2组抑制率的2.7倍,该实验结果也提示了零陵香的加入显著增强含鲨鱼软骨的药物组合物的抗血管形成效果。

[0088] 效果例2:本发明药物组合物对肿瘤细胞的生长抑制效果

[0089] 2.1实验药物

[0090] 实施例1鲨鱼软骨糖蛋白使用灭菌PBS配制为200mg/L的悬浮液、实施例5步骤(2)所得浸膏、对比比例2浸膏均使用灭菌PBS配置为5g生药/mL的混悬液。

[0091] 2.2实验方法

[0092] 细胞系:HS-4(人皮肤癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)、A549(人肺腺癌细胞)、HepG2(人肝癌细胞)、MGC80-3(人胃癌细胞)

[0093] 取对数生长期的以上细胞系,以 2×10^4 个/mL的密度接种于96孔板,200 μ l/孔,共4组,具体为空白组、鲨鱼软骨糖蛋白组、实施例5组、对比比例2组,每组设置3个平行孔,放置于37 $^{\circ}$ C、5%湿度的CO₂培养箱培养24h,加入测试药物50 μ l/孔,具体的为:空白组加入PBS、鲨鱼软骨糖蛋白组加入鲨鱼软骨糖蛋白200mg/L的混悬液,实施例5组加入5g生药/mL的实施例5所得浸膏的混悬液、对比比例2组添加加入5g生药/mL的对比比例2所得浸膏的混悬液。继续培养24h后,弃去上清,加入5mg/ml MTT试剂20 μ l和200 μ l DMSO,3h后使用酶标仪测试570nm吸光度值,计算各组的肿瘤细胞增殖抑制率,具体结果见表2,其中:

[0094] 增殖抑制率 = (对照组吸光度值 - 实验组吸光度值) / 对照组吸光度值 \times 100%。

[0095] 2.3实验结果

[0096] 表2本发明药物组合物对肿瘤细胞的增殖抑制作用

[0097]

组别	增殖抑制率				
	HS-4	MCF-7	A549	HepG2	MGC80-3
鲨鱼软骨糖蛋白	42.18%	51.49%	48.22%	42.28%	56.17%
实施例 5 组	79.51%	88.93%	75.47%	52.46%	67.51%
对比比例 2 组	33.42%	42.82%	27.43%	35.62%	51.24%

[0098] 表2实验结果显示了鲨鱼软骨糖蛋白及本发明实施例5组药物组合物的提取物浸

膏针对于人皮肤癌细胞、人乳腺癌细胞、人肺腺癌细胞、人肝癌细胞和人胃癌细胞均显示了明显的增殖抑制作用,尤其是针对人皮肤癌细胞、人乳腺癌细胞、人肺腺癌细胞增殖抑制效果更为明显,表明了本发明药物组合物具有优异肿瘤细胞增殖抑制效果,而其他组成成分相同,但不含零陵香的对比比例2组药物组合物针对于各肿瘤细胞的增殖抑制作用相对于实施例5组均明显降低,该实验结果也证明了零陵香的加入可明显提高含鲨鱼软骨的药物组合的抑制肿瘤细胞的增殖作用。

[0099] 效果例3:本发明外敷膏剂对荷瘤小鼠的治疗效果

[0100] 3.1实验药物:

[0101] 实施例4外敷膏剂。

[0102] 3.2实验方法

[0103] 雄性Ba1b/c小鼠20只,体重 $20 \pm 2g$,适应性饲养1天后,酒精消毒小鼠前肢腋下,以 5×10^4 浓度接种小鼠黑色素瘤细胞B16 0.2mL,接种10天后挑选接种成功、且瘤体积大致相当的小鼠10只,随机分为2组,具体为模型组、实施例4组,每组5只,其中模型组使用生理盐水涂敷肿瘤部位,实施例4组将实施例4组制备得到的外敷膏剂涂敷于肿瘤部位,每天一次,涂敷完成后以纱布包裹涂敷部位,避免小鼠舔舐造成的涂敷物掉落,每次涂敷前清除上次涂敷的药渣,连续施用15天,末次给药2h后,记录各组存活小鼠只数,小鼠断颈处死,剥离肿瘤组织并称量,计算抑瘤率,具体实验见表3,其中:

[0104] 抑瘤率 = (模型组瘤重 - 实验组瘤重) / 模型组瘤重 $\times 100\%$ 。

[0105] 3.3实验结果

[0106] 应用统计软件SPSS的多因素方差分析模块进行数据分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

[0107] 表3实验结果显示了实验结束时模型组5只小鼠中已死亡两只,而实施例4组小鼠5只小鼠全部存活,荷瘤小鼠肿瘤的生长也受到了明显抑制,抑瘤率超过了50%,显示了优异的体内抗肿瘤效果。

[0108] 表3本发明外敷膏剂对荷瘤小鼠的治疗效果

	组别	存活小鼠只数	平均肿瘤重量 (g)	抑瘤率
[0109]	模型组	3	2.58 ± 0.84	
	实施例4组	5	$1.27 \pm 0.57^{**}$	50.78%

[0110] **,与模型组相比 $P < 0.01$ 。

[0111] 以上描述了本发明优选实施方式,然其并非用以限定本发明。本领域技术人员对在此公开的实施方案可进行并不偏离本发明范畴和精神的改进和变化。