

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 1 月 29 日 (29.01.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/010293 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/4745 (2006.01) A61K 9/12 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) A61K 9/70 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01) A61K 9/52 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2013/080059

(22) 国际申请日: 2013 年 7 月 24 日 (24.07.2013)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(72) 发明人: 及

(71) 申请人: 张苑金 (ZHANG, Yuanjin) [CN/CN]; 中国广东省河源市源城区红星路 48 号红星花园 C 栋 505 房, Guangdong 517000 (CN)。

(72) 发明人: 张明杰 (ZHANG, Mingjie); 中国广东省河源市源城区红星路 48 号红星花园 C 栋 505 房, Guangdong 517000 (CN)。

(74) 代理人: 北京清亦华知识产权代理事务所 (普通合伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROPERTY LLC); 中国北京市海淀区清华园清华大学照澜院商业楼 301 室, Beijing 100084 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: ANTICANCER PHARMACEUTICAL COMPOSITION, PREPARATION METHOD FOR SAME, AND USE THERE-OF

(54) 发明名称: 抗癌药物组合物及其制备方法和用途

(57) Abstract: Provided are an anticancer pharmaceutical composition, a preparation method for same, and a use thereof. The pharmaceutical composition comprises camptothecin or a pharmaceutically acceptable salt thereof, 9-methoxy camptothecin or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a pharmaceutically acceptable excipient.

(57) 摘要: 提供了药物组合物及其制备方法和用途。其中, 所述药物组合物包括喜树碱或其药学上可接受的盐、9-甲氧基喜树碱或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的赋形剂。



WO 2015/010293 A1

抗癌药物组合物及其制备方法和用途

优先权信息

无。

技术领域

本发明涉及医药领域，具体地，涉及抗癌药物组合物及其制备方法和用途。

背景技术

癌症是当前世界范围内严重影响人类健康、威胁人类生命的疾病之一，在世界所有国家的死亡原因中名列前三位，是我国仅次于心血管病的第二大死亡原因。近年来，肿瘤化疗取得了很大的进步，但对危害人类生命健康最严重的、占恶性肿瘤 90%以上的实体瘤的治疗效果不尽人意；绝大多数抗肿瘤药物在抑制或杀伤肿瘤细胞的同时，不可避免地正常组织、器官产生损害或毒性作用，给患者带来痛苦，甚至导致死亡。因此，开发与研究新型有效的抗肿瘤药物是医药科研领域的重大课题和长期任务。

发明内容

本发明旨在至少在一定程度上解决上述技术问题之一。为此，本发明的目的在于提出一种具有可以有效预防和治疗癌症的药物组合物及其制备方法和用途。

本发明是基于发明人以下的事实发现的，越来越多的研究表明，拓扑异构酶是直接控制癌细胞生死存亡的酶，只要能清除它，癌细胞就会死亡。而临床上喜树碱能够抑制、破坏拓扑异构酶的活性，杀死癌细胞的效果显著。但是，通常从喜树获得的喜树碱毒性较高，高剂量或者长期使用喜树碱可引起食欲不振、恶心、呕吐、胃肠炎，抑制骨髓细胞的生长，引起出血性膀胱炎，出现尿频、尿痛及血尿等症状，并引起口腔粘膜感染和脱发等不良反应。由此，很多研究以降低其毒性为目的对喜树碱的结构进行了化学修饰，从而得到了一系列的化合物，其中包括 9-甲氧基喜树碱等，然而尽管其毒性有所降低，但杀死肿瘤细胞的效果却没有进行结构修饰前的喜树碱好。因此，本发明的发明人在此基础上进行了一系列的实验研究，首先是从臭马比木中分离纯化出喜树碱、9-甲氧基喜树碱、及包括亚油酸、东莨菪素、二氧嘧啶、胸腺嘧啶、植物甾醇、葫芦巴碱及多种维生素、氨基酸等活性成分在内的臭马比木水溶性提取物；进而提出了一

种包括臭马比木水溶性提取物及不同比例喜树碱和 9-甲氧基喜树碱的药物组合物，从而达到有效杀死肿瘤细胞却不损伤正常细胞的理想效果。

由此，本发明的第一个方面提供了一种药物组合物，包括：喜树碱或其药学上可接受的盐，9-甲氧基喜树碱或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的赋形剂。根据本发明实施例的药物组合物在预防或治疗癌症方面的作用非常显著，并且该药物组合物在治疗癌症方面的组合作用效果优于单一使用喜树碱或 9-甲氧基喜树碱，并且相同剂量下其毒副作用明显低于喜树碱或 9-甲氧基喜树碱，因此臭马比木水溶性提取物与喜树碱及 9-甲氧基喜树碱的药物组合物具有明显的协同增效减毒的作用。

本发明的第二个方面提供了一种制备上述药物组合物的方法。所述方法包括：将臭马比木树叶进行加醇提取，以便获得喜树碱、9-甲氧基喜树碱和臭马比木树叶残渣；将所获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树按照预定比例进行混合，以便获得混合物；以及向所述混合物中加入药学上可接受的赋形剂从而获得所述药物组合物。由此，根据本发明的制备药物组合物的方法，可以高效地获得有效成分为喜树碱、9-甲氧基喜树碱的药物组合物，该药物组合物可以用于特异性地治疗癌症。

本发明的第三个方面提供了上述药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或者预防癌症。根据本发明实施例的药物组合物的用途，在预防或治疗癌症方面的作用非常显著，并且该药物组合物在治疗癌症方面的组合作用效果优于单一使用喜树碱或 9-甲氧基喜树碱，并且相同剂量下其毒副作用明显低于喜树碱及 9-甲氧基喜树碱，因此臭马比木水提取物与喜树碱或 9-甲氧基喜树碱的药物组合物具有明显的协同增效减毒作用。

下面的描述中将会涉及本发明的部分特点，然后通过实施例描述本发明的其它等多的特点。

发明详细描述

下面详细描述本发明的实施例。需要说明的是，所描述的实施例是示例性的，仅用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

近年来，肿瘤化疗取得了很大的进步，但对危害人类生命健康最严重的、占恶性肿瘤 90%以上的实体瘤的治疗效果不尽人意；绝大多数抗肿瘤药物在抑制或杀伤肿瘤细胞的同时，不可避免地对正常组织、器官产生损害或毒性作用，给患者带来痛苦，甚至导致死亡。因此，开发与研究新型有效的抗肿瘤药物是医药科研领域的重大课题

和长期任务。

临床上用于治疗恶性肿瘤的药物主要有烷化剂、抗代谢抗肿瘤药、抗肿瘤抗生素、抗肿瘤血管生成药、抗肿瘤植物药和其它药物六大类，约有几百种。目前，抗肿瘤植物药已成为抗肿瘤用药的主体，约占 41% 的市场份额，这与该类药的毒副作用相对较小有关。因此，研究开发出毒副作用低、疗效显著、价格适中的天然抗肿瘤药物，是植物药开发的一个重要课题。

我国的药用植物物种资源丰富，含抗癌活性成分的物种有 200 种左右，迄今已通过肿瘤细胞株及动物移植性肿瘤筛选的植物单体成分已超过 4000 余种。植物来源药物在化学结构和作用机制方面均具有多样性；同时，长期以来中医治疗肿瘤的研究已积累丰富的资料和经验，有助于开发和研制植物来源的抗肿瘤新药。

但迄今为止，临床上能独立担当抗癌主角的植物药尚不多见。自上世纪 60 年代以来的半个多世纪里，国内外药学研究人员先后开发上市了包括长春花碱系列、紫杉醇类、喜树碱系列、鬼臼毒素类、三尖杉酯碱、鸦胆子提取物、薏苡仁提取物、莪术提取物等在内的多个植物来源的抗癌药物。据统计，植物来源抗癌药物的销售额合计已占国际抗癌药物市场的半壁江山，而且仍在不断增长之中。

在形形色色的植物抗癌药中，紫杉醇尤其令人瞩目。紫杉醇具有专门针对癌细胞微管蛋白有丝分裂的靶向作用，对正常细胞无影响，而且对晚期卵巢癌、何杰 金斯症、卡波济氏肉瘤和晚期非小细胞肺癌等恶性肿瘤有一定疗效，故自 1992 年上市后迅速风靡全球，并由此创造了化疗药物的新纪录。在众多抗肿瘤药中，天然植物类抗肿瘤药所占的比重最大。比如，在 11 个亚类的抗肿瘤药中，市场份额最大的是植物药，占整个市场的 23.1%。紫杉系列的植物药和抗代谢药在临床中的应用程度较高，其中抗肿瘤植物药主要为多西他赛和紫杉醇，分别占抗肿瘤植物药的 44.92% 和 44.36%。在单品排名前 10 位的抗肿瘤药中，占据了两大强席位。全世界的紫杉醇类植物抗癌药基本上都是由美国的施贵宝垄断。

以紫杉醇为代表的植物抗癌药的成功极大地激发了世界药学界开发植物抗癌药的热情。喜树碱衍生物类化合物已成为继紫杉醇之后另一种天然植物来源的最重要的抗癌药。喜树碱是 1966 年由美国的 WALL 等从我国植物喜树中提取出的具有抗肿瘤活性的一种生物碱。它虽然对胃肠道肿瘤、膀胱癌、肝癌和白血病等恶性肿瘤均有一定疗效，但由于水溶性较差，会引起骨髓抑制、呕吐、腹泻和严重的出血性膀胱炎等毒副作用，其临床应用严重受限。随后的十多年间，相关研究大大减少。直到 1985 年，

HSIANG 等阐明了喜树碱抑制拓扑异构酶 I(TOPO I)的作用机制,才又掀起了研制高效、低毒的喜树碱衍生物的高潮,对喜树碱进行了多样的结构修饰,大量衍生物应运而生,有的已应用于临床,取得了满意的治疗效果;如依利替康(Irinotecan, CPT-11)和拓扑替康(Topotecan, TPT),有的还在进行临床试验。由美国 Supergen 开发的卢比替康(Rubitecan, 9-NC)曾被称为新一代半合成喜树碱衍生物,它对实体瘤具有广泛的抑瘤活性,且对血液肿瘤亦有显著疗效,可口服、毒性颇低。目前美国、日本、法国、德国、韩国和意大利的喜树碱及其衍生物研究在世界上处于领先。

由此可见,国际植物抗癌药的成功令人鼓舞,但中国在植物抗癌药的发展中,则几乎没有做出有自主知识产权的产品。虽然中药以植物药为主,中国人却与这些本来产于国内的植物抗癌药的开发无缘。一直以来,由于缺乏拥有自主知识产权的抗癌药,国内癌症患者不得不一直依赖价格高昂的进口药缓解病情;国内的化学药物更有 97% 是仿制而来;没有自己的“东西”只能受制于人,老牌植物药的价格常让患者望而却步。以紫杉醇药物为例,一支 80mg 的多西紫杉醇注射用粉针剂价格约 2500 元,普通家庭的患者,往往只能被迫选择停止治疗。近年来,中国医药制造业正加强对研发的投入力度,正从简单的仿制向自主创新的产业方向发展。对于市场前景极好的抗肿瘤植物药而言,国内制药企业已经把研发重点专注于这一领域。植物抗肿瘤药物市场的快速增长,激发出国内药企持续高涨的研发热情,植物抗肿瘤药研发已成为国内企业抢占肿瘤治疗领域的制高点。

发明人通过对臭马比木植物中活性成分进行充分的研究发现,臭马比木中含有许多喜树碱类似物,具有比较好的抗肿瘤活性和较低的毒副作用。发明人在前期研究中发现,臭马比木除含有丰富的喜树碱外,还含有一定量的 9-甲氧基喜树碱和 9-甲氧基-18,19-脱氢喜树碱和 10-羟基喜树碱等喜树碱类似物。通过对各肿瘤细胞的实验证实,对多种不同肿瘤细胞的增殖都具有显著的抑制活性。利用流式细胞检测 9-甲氧基喜树碱、喜树碱和 10-羟基喜树碱(非对映异构体)对肿瘤凋亡过程的影响,结果表明,9-甲氧基喜树碱诱导 S180 腹水瘤细胞早期凋亡率显著高于其他成分,凋亡率为 66.46%,MTT 法测得 9-甲氧基喜树碱的 IC_{50} 为 0.385 微摩。采用 quantitative Real-time PCR 分析 9-甲氧基喜树碱处理的小鼠 S180 腹水瘤细胞表明,Bax mRNA 水平显著上升,Bcl-2 蛋白水平呈下降趋势,导致 Bax/Bcl-2 比例显著上升;同时发现 9-甲氧基喜树碱具有调节细胞凋亡信号 Bax/Bcl-2 上升引起细胞凋亡;基于 9-甲氧基喜树碱具有显著靶向诱导癌细胞凋亡作用和抗癌活性,其有望发展成为抗癌新药。

因此，本发明的发明人在此基础上进行了一系列的实验研究，从而提出了一种包括臭马比木水提取物和不同比例的喜树碱及 9-甲氧基喜树碱的药物组合物，从而达到有效杀死肿瘤细胞却不损伤正常细胞的理想效果。

由此，本发明的第一个方面提供了一种药物组合物。根据本发明实施例的药物组合物包括：喜树碱或其药学上可接受的盐；9-甲氧基喜树碱或其药学上可接受的盐；以及药学上可接受的赋形剂。根据本发明实施例的药物组合物在预防或治疗癌症方面的作用非常显著，并且该药物组合物在治疗癌症方面的组合作用效果优于单一使用喜树碱或 9-甲氧基喜树碱的效果，并且相同剂量下其毒副作用明显低于喜树碱或 9-甲氧基喜树碱，因此喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的药物组合物具有明显的协同增效减毒的作用。

这里所使用的术语“药学上可以接受的盐”是指药物化学领域常用的盐形式，即实质上是无毒的并且能提供所需药代动力学特性、可口性、吸收、分布、代谢或排泄作用的盐形式，可以为常见的酸加成盐或者碱加成盐。

根据本发明的一些实施例，喜树碱药学上可接受的盐可以为选自盐酸盐、硫酸盐、甲酸盐、乙酸盐、丁酸盐、苯甲酸盐、富马酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、2,5-二羟基苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和月桂基磺酸盐中的任意一种。由此，本发明实施例的喜树碱的盐比较稳定，可以与本发明实施例的药物组合物中的另一有效成分 9-甲氧基喜树碱或其药学上可接受的盐容合在一起形成可以有效治疗或预防癌症的药物组合物。

根据本发明的另一些具体实施例，9-甲氧基喜树碱药学上可接受的盐可以为选自盐酸盐、硫酸盐、乙酸盐、苯甲酸盐、富马酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、2,5-二羟基苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、月桂基磺酸盐、氢醌磺酸盐和氢溴酸盐中的任意一种。由此，本发明实施例的 9-甲氧基喜树碱的盐比较稳定，可以与本发明实施例的药物组合物中的另一有效成分喜树碱或其药学上可接受的盐容合在一起形成可以有效治疗或预防癌症的药物组合物。

根据本发明的实施例，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例并不受特别限制，只要可以有效地对癌症动物模型和临床癌症病例起到治疗作用，本领域技术人员可以根据模型或病例的具体情况进行适当配比，根据本发明的具体实施例，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例可以为 1:2~8，优选地，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例可以为 1:4~6。由此，该药物组合物可以更加有效地治疗癌症。根据本发明一个优选的实施例，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例为 1:5，以该比例进行配比的药物组合物可以达到最显著的治

疗效果。

根据本发明实施例的药物组合物可以进一步包括臭马比木水提取物，该水提取物的有效活性成分包括但不限于：亚油酸、东莨菪素、二氧嘧啶、胸腺嘧啶、植物甾醇、葫芦巴碱以及多种维生素和氨基酸。上述臭马比木水溶性成份配合本发明实施例的药物组合物可以降低药物组合物的毒副作用，进一步提高药物组合物对于癌症的预防和治疗效果，并对机体免疫力起到协调作用。

根据本发明的实施例，所述药物组合物呈药学上可接受的任意剂型中至少一种。根据本发明的具体实施例，所述药物组合物呈固体制剂或液体制剂，例如可以呈散剂、颗粒剂、偏剂、胶囊剂、丸剂、膏剂、喷雾剂、滴剂、搽剂、贴剂、口服液、注射剂、缓释制剂和控释制剂中的至少一种。由此，该药物组合物可以有效地以各种剂型形式进入机体作用，作用于恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞，以多种途径提高治疗恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞的效果，从而对癌症起到预防和治疗的作用。

根据本发明的实施例，药物组合物可以呈经胃肠道给药剂型和非经肠道给药剂型。根据本发明的实施例，所述经胃肠道给药剂型为所述药物组合物经口服后进入胃肠道，在给药部位起局部作用或经吸收而发挥功效的制剂。根据本发明的实施例，所述非经胃肠道给药剂型为所述药物组合物除口服给药途径以外在给药部位起局部作用或被吸收后发挥功效的制剂。由此，药物组合物可以以各种适宜且便捷的形式给人体服用，作用于恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞，以多种途径提高治疗恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞的效果，从而对癌症起到预防和治疗的作用。

在这里所使用的术语“药学上可以接受的赋形剂”可以包括任何药学上可以使用的常见赋形剂，例如包括但不限于粘合剂、填充剂、涂膜聚合物、增塑剂、助流剂、崩解剂、润滑剂和释放速度调节剂。

本发明第二个方面的实施例提供了一种制备上述药物组合物的方法。所述方法包括：将臭马比木树叶进行加醇提取，以便获得喜树碱、9-甲氧基喜树碱和臭马比木树叶残渣；将所获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树按照预定比例进行混合，以便获得混合物；以及向所述混合物中加入药学上可接受的赋形剂从而获得药物组合物。由此，根据本发明的制备药物组合物的方法，可以高效地获得有效成分为喜树碱和 9-甲氧基喜树碱的药物组合物，该药物组合物可以用于特异性地治疗癌症。

根据本发明的实施例，将臭马比木树叶进行加醇提取的方法并不受特别限制，只要可以有效地从臭马比木树叶中提取出喜树碱和 9-甲氧基喜树碱，可以为本领域常用的各种醇提取方法，根据本发明的具体施实例，从臭马比木树叶中提取喜树碱的方法包括但不限于以下步骤：将臭马比木树叶用 8 倍重量的 40-80%乙醇进行加热回流提取 1 次~3 次，每次 0.5 小时~2 小时，过滤后合并以便获得所述臭马比木醇提取液；将所述臭马比木醇提取液进行第一浓缩，以便获得第一浓缩液；利用盐酸将所述第一浓缩液进行 pH 调节，其中，所述经过 pH 调节的第一浓缩液的 pH 为 3~6；利用乙酸乙酯依次对经过 pH 调节的第一浓缩液进行 2 次~3 次萃取，合并萃取相以便获得喜树碱粗提浸膏；向所获得的喜树碱粗提浸膏中加入 70%的丙酮水溶液，搅拌均匀后静止 20 小时进行抽滤，从而获得第一滤饼和第一滤液；然后向一部分第一滤饼中加入脂肪醇与氯代甲烷，搅拌均匀后静止 10 小时进行抽滤，以便获得第二滤饼和第二滤液，所获得的第二滤饼为喜树碱粗品，其中脂肪醇与氯代甲烷的体积比为 1:20；最后利用阳离子交换树脂对所获得的喜树碱粗品进行纯化，以便获得喜树碱。由此，可以提高从臭马比木树叶中提取喜树碱的效率，并且所获的喜树碱纯度比较高，从而进一步与 9-甲氧基喜树碱配合在一起形成本发明的药物组合物，用于治疗癌症等相关疾病。

根据本发明的实施例，从臭马比木树叶中提取 9-甲氧基喜树碱的方法并不受特别限制，只要可以有效地从臭马比木树叶中提取出 9-甲氧基喜树碱，可以为本领域常用的各种提取方法，根据本发明的具体施实例，从臭马比木树叶中提取 9-甲氧基喜树碱的方法包括但不限于以下步骤：回收提取喜树碱过程中所获得的第一滤液中的溶剂后获得第一 9-甲氧基喜树碱粗品；向另一部分第一滤饼中加入脂肪醇与乙酸乙酯，搅拌均匀后静止 10 小时进行抽滤，以便获得第三滤饼和第三滤液，回收第三滤液中的溶剂后获得第二 9-甲氧基喜树碱粗品；以及合并第一 9-甲氧基喜树碱粗品和第二 9-甲氧基喜树碱粗品后，利用阳离子交换树脂对经过合并的 9-甲氧基树碱粗品进行纯化，以便获得 9-甲氧基喜树碱。由此，可以提高从马比木树叶中提取 9-甲氧基喜树碱的效率，并且所获的 9-甲氧基喜树碱纯度比较高，从而进一步与喜树碱配合在一起形成本发明的药物组合物，用于治疗癌症等相关疾病。

根据本发明的实施例，上述方法中将所获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树按照预定比例进行混合从而获得的混合物可以进一步包括臭马比木水提取物。根据本发明的实施例，臭马比木水提取物的制备方法并不受特别限制，只要可以从醇提取臭马比木树叶后的残渣中进一步提取出剩余的水溶性有效成分，可以为本领域常用的各种水提取方法，根据本发明的具体实施例，将臭马比木树叶残渣进行加水提取的步骤可以包括但不限于：将醇提法剩余

的臭马比木树叶残渣用 5~10 倍重量的水煎煮 1 次~3 次，每次 0.5 小时~3 小时，过滤后合并以便获得粗提液；然后将粗提液进行第二浓缩，以便获得第二浓缩液；以及将所获得的第二浓缩液进行纯化，以便获得臭马比木水提取物。根据本发明的实施例，上述臭马比木水提取物中的有效活性成分包括但不限于：亚油酸、东莨菪素、二氧嘧啶、胸腺嘧啶、植物甾醇、葫芦巴碱以及多种维生素和氨基酸。

根据本发明的实施例，以臭马比木水溶性提取物为基质，将喜树碱与 9-甲氧基喜树碱进行混合的预定比例并不受特别限制，只要可以有效地对癌症动物模型和临床癌症病例起到治疗作用，本领域技术人员可以根据模型或病例的具体情况进行适当配比，根据本发明的具体实施例，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例可以为 1:2~8，优选地，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例可以为 1:4~6。由此，该药物组合物可以更加有效地治疗癌症。根据本发明一个优选的实施例，喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例为 1:5。以该比例进行配比的药物组合物可以达到最显著的治疗效果。

本发明第三个方面的实施例提供了上述药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或者预防癌症。根据本发明实施例的药物组合物在制备药物中的用途，在预防或治疗癌症方面的作用非常显著，并且该药物在治疗癌症方面的组合作用效果优于单一使用喜树碱或 9-甲氧基喜树碱的效果，并且相同剂量下其毒副作用明显低于喜树碱或 9-甲氧基喜树碱，因此喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的药物组合物配合臭马比木水溶性提取物具有明显的协同增效减毒的作用。

这里所使用的术语“治疗”是指治疗方法，是指为使有生命的人体或者动物体恢复或获得健康或减少痛苦，进行阻断、缓解或者消除病因或病灶的过程。

根据本发明的实施例，药物组合物的有效成分以治疗有效剂量存在于药学上可接受的赋形剂中，治疗有效剂量为人体吸收后能产生所需效果响应的量，可容易地由本领域技术人员确定。在确定该剂量时，如本领域技术领域所知，必须考虑所施用的具体药物组合物的生物利用率特性、给药方案、患者的年龄和体重以及其他因素。

根据本发明的实施例，所述用于抑制肿瘤细胞的增殖。通过抑制肿瘤细胞的增殖，从而抑制肿瘤细胞生长，进而达到治疗癌症的目的。

根据本发明的实施例，所述肿瘤细胞为恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞。由此，利用本发明的药物组合物，可以有效的抑制恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞的生长，从而达到治疗癌症的效果。

根据本发明的实施例，所述恶性肿瘤细胞为选自肝癌细胞、肺癌细胞、胃癌细胞、

卵巢癌细胞、乳腺癌细胞、宫颈癌细胞、前列腺癌细胞、直肠癌细胞、结直肠癌细胞、胰腺癌细胞、食道癌细胞、鼻咽癌细胞及血癌细胞至少一种。由此，利用本发明的药物组合物，可以有效地抑制各种肿瘤细胞的生长，从而治疗各种类型的癌症。

根据本发明的实施例，使用该药物组合物的途径也不受特别限制。例如根据本发明的具体实施例，施用所制备的药物组合物方式可以为肠胃外施用（如皮内、肌内、腹膜内、静脉内和皮下），硬膜外施用，瘤内施用和粘膜施用（如鼻内和经口途径）。根据本发明的实施例，该药物组合物可以是全身施用或局部施用。由此，该药物组合物可以有效地通过各种途径进行施用，到达并作用于肿瘤细胞中的拓扑异构酶，从而抑制肿瘤细胞增殖，并进一步损伤肿瘤细胞的 DNA、RNA，从而影响肿瘤细胞增殖过程中的信号转导以及遗传信息的翻译过程，由此可以有效地杀死肿瘤细胞，治疗癌症。

根据本发明的具体实施例，该药物组合物可以局部施用在需要治疗的区域。根据本发明的具体实施例，该药物组合物可以通过例如但不限于局部输注、注射或通过植入物来完成。根据本发明的实施例，该植入物为多孔或无孔材料，包括膜和基质，例如硅橡胶膜、聚合物、纤维基质（例如，Tissuel®）或胶原基质。由此，该药物组合物可以有效地通过各种途径进行施用，到达并作用于肿瘤细胞中的拓扑异构酶，从而抑制肿瘤细胞增殖，并进一步损伤肿瘤细胞的 DNA、RNA，从而影响肿瘤细胞增殖过程中的信号转导以及遗传信息的翻译过程，由此可以有效地杀死肿瘤细胞，治疗癌症。

散剂(Powders)也称粉剂，是指药物与适宜的辅料经粉碎、均匀混合而制成的干燥粉末状制剂，可供内服和外用。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成散剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的散剂制备技术，根据本发明的一些实施例，将本发明的药物组合物中的有效活性成分分别粉碎后，与散剂辅料均匀混合，分装并包装后获得本发明的药物组合物的散剂。由于散剂比表面积较大，因而具有易于分散，利于敷布吸收，奏效快；制备方法简便，剂量容易控制，药质比较稳定；适于小儿服用；运输携带比较方便。

颗粒剂(Granules)是将药物与适宜的辅料配合而制成的颗粒状制剂，一般可分为可溶性颗粒剂、混悬型颗粒剂和泡腾性颗粒剂，其主要特点是可以直接吞服，也可以冲入水中饮入，应用和携带比较方便，溶出和吸收速度较快。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成颗粒剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，例如根据本发明的具体实施例，预先将根据本发明实施例的方法提取出的药物组合物的活性成分进行粉碎和过筛处理，加入颗粒剂辅料混合均匀后进行制粒，然后对所获得的粗颗粒进行干燥处理，再将干燥后的粗颗粒进行整粒处理，然后经分级处理后进行包衣和分装，从而获得本发明

的药物组合物颗粒剂。其中分级处理是指先再按照粒度规格的上限要求，将经过整理的颗粒过一号筛，并将不能通过的部分进行适当粉碎；然后再按照粒度规格的下限要求，将经过筛选的颗粒过四号筛以除去粉末部分。根据本发明的实施例，颗粒剂辅料的种类并不受特别限制，例如包括但不限于，稀释剂、润湿剂、粘合剂、崩解剂、助流剂、矫味剂和着色剂。根据本发明的实施例，进行制粒的方法可以为干法制粒技术和湿法制粒技术，其中湿法制粒技术可以包括但不限于，挤出制粒法、快速搅拌制粒法、流化喷雾制粒法和喷雾干燥制粒法；干法制粒技术可以包括但不限于，滚压法制粒和重压法制粒。根据本发明的具体实施例，当制成缓、控释颗粒，可以在药物组合物中加入可以调节药物释放速度的骨架材料或者缓、控释膜，从而制成缓、控释颗粒，封装得缓、控释颗粒剂。由此，制成颗粒剂的本发明的药物组合物吸收快、显效迅速，并且服用方便，口感良好。

胶囊剂 (capsules) 系指将药物填装于空心胶囊中或密封于弹性软质胶囊中而制成的固体制剂，其中胶囊剂的种类主要有硬胶囊剂、软胶囊剂和肠溶胶囊剂。根据本发明的一些实施例，制成硬胶囊剂的囊壳材料可以包括主要成囊材料明胶、增塑剂和水，还可以包括或不包括增稠剂、遮光剂、着色剂、防腐剂和芳香剂中。其中主要成囊材料明胶可以来源于骨胶或皮胶，增塑剂可以增加胶囊壳的韧性和可塑性以保持其弹性、柔软性，例如包括但不限于甘油、山梨醇、CMC-Na、HPC 和油酸酰胺磺酸钠。根据本发明的一些实施例，将本发明的药物组合物制成硬胶囊剂的方法包括分别制备药物组合物的有效活性成分和空胶囊，然后将所获得的药物组合物的有效活性成分填充于所获得的空胶囊，封口后进行抛光和包装，从而获得本发明药物组合物的胶囊剂。其中，将所获得的药物组合物的有效活性成分填充于所获得的空胶囊的填充形式并不受特别限制，只要不会影响本发明的药物组合物的活性并且不会造成胶囊壳的变质，可以采用本领域常用的各种胶囊剂填充形式，例如可以将本发明的药物组合物的有效活性成分直接填充于空胶囊中；也可以将本发明的药物组合物的有效活性成分加入适宜的辅料如稀释剂、助流剂、崩解剂等制成均匀的粉末、颗粒或小片后填充于空胶囊中；也可以将本发明的药物组合物的有效活性成分制成将普通小丸、速释小丸、缓释小丸、控释小丸或肠溶小丸单独填充或混合后填充于空胶囊中（必要时加入适量空白小丸作填充剂）；还可以将本发明的药物组合物的有效活性成分制成包合物、固体分散体、微囊或微球后填充于空胶囊中；还可以将将本发明的药物组合物的有效活性成分的溶液、混悬液、乳状液等也可采用特制灌囊机填充于空心胶囊中。根据本发明的具体实施例，当制成缓、控释胶囊剂时，可在药物组合物中加入可以调节药物释放速度的骨架材料或者缓、控释膜，以制成缓、控释颗粒，灌装后获得缓、控释胶囊剂。由此，

制成胶囊剂的药物组合物能掩盖药物不良嗅味并提高药物稳定性；由于本发明的药物组合物以粉末或颗粒状态直接填装于囊壳中，不受压力等因素的影响，所以在胃肠道中迅速分散、溶出和吸收，其生物利用度将高于传统剂型；并且可达到延缓药物的释放和定位释药的效果。

片剂是药物与辅料均匀混合后压制而成的片状制剂。片剂以口服普通片为主，也有含片、舌下片、口腔贴片、咀嚼片、分散片、泡腾片、阴道片、速释或缓释或控释片与肠溶片等。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成片剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，将本发明的药物组合物的活性成分控制在 80 目~300 目。根据本发明的一些实施例，将药物组合物制备成片剂的方法可以采用干轧法、湿法或硫化喷雾等制粒技术制粒后压片，也可以采用将药物组合物直接粉碎过筛后进行压片。根据本发明的另一些实施例，可以将药物组合物制备成单层片，也可以将药物组合物制成双层片以及缓控释片等本领域公知的片型。根据本发明的具体实施例，药物组合物片剂的片芯外面可以包薄膜衣层或糖衣衣层也可以不包薄膜衣层或糖衣衣层。此外，在将药物组合物制备成片剂的过程中也可以依据需要加入适量矫味剂，以迎合不同口感的需求。由此，制成片剂的本发明的药物组合物由于片剂内药物含量的差异较小，因此可以提高给药剂量的准确性，并且片剂形式的本发明药物组合物服用、携带、运输较方便，适于机械化大生产，成分较低。

根据本发明的一个实施例，将本发明的药物组合物制成片剂的方法不受特别限制，可以采用本领域常用的各种压片技术，例如，可以采用如下步骤将本发明的药物组合物制成片剂：将粉末状的药物组合物的各组分共混在一起，送料进设备的冲模腔中，该设备施加压力以形成片剂。可使用任何合适的压实设备，包括但不限于常规的单冲式或旋转式压片机。在一个实施例中，可通过用旋转式压片机进行压实来形成片剂。通常，将计量体积的粉末充填进旋转式压片机的冲模腔中，其中粉末是从送料器重力式送料或者机械式送料，并且冲模腔作为“模具台”的一部分从填充位置旋转至压实位置。在压实位置，粉末在上冲头和下冲头之间被压实，然后所得的片剂通过下冲头从冲模腔被推出，接着通过静止的“引离棒(take-off bar)”引导至注射斜槽。有利的是，直接压制工艺使得能尽量少用或不用可能会对溶出有负面影响的水溶性非糖类聚合物粘结剂，例如聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸盐、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素。

根据本发明的又一个实施例，可通过湿法制粒方法制备片剂，其中可将赋形剂和湿粘结剂溶液或分散体(如含水熟淀粉糊或聚乙烯吡咯烷酮溶液)混合并制粒。适用于湿法制粒的

设备包括低剪切混合机(如行星混合机)、高剪切混合机和流化床(包括旋转流化床)。然后可对所得的粒状材料进行干燥,并任选与另外的成分(如赋形剂,例如润滑剂、着色剂等)进行干式混合。最终的干共混物则适于通过前面段落中描述的方法进行压制。

根据本发明的一些实施例,片剂可以是基本上不含水溶性聚合物粘结剂和水合聚合物的粉末制成的直接压制片剂。本文所用的“基本上不含”意思是少于5%,例如少于1%,例如少于0.1%,例如完全不含(如,0%)。这对于保持速释溶出特性(profile)、使加工和材料成本减至最低以及使片剂的物理和化学稳定性最佳是有利的。该片剂可具有多种不同形状中的其中一种。例如,片剂可成形为多面体,例如立方体、锥体、棱柱体等;或可具有带某些非平坦面的空间图形的几何形状,例如圆锥体、截头圆锥体、圆柱体、球体、轮环等。在某些实施例中,片剂具有一个或多个主表面。例如,片剂表面通常具有通过与压制机器中的上冲头表面和下冲头表面接触而形成的相对的上表面和下表面。在这类实施例中,片剂表面通常还包括位于上表面和下表面之间的“腹带”,其通过与压制机器中的冲模壁接触而形成。片剂还可以是多层片剂。

根据本发明的一些实施例,可药物组合物制备成多层片剂(例如可制备双层或三层片剂)。在一个实施例中,用粉末的第一部分填充片剂冲模,将液体药物组合物注射进冲模腔中,任选第一次压制粉末床,加入粉末的第二部分,压制片剂,从冲模弹出片剂。在一个实施例中,粉末的第二部分具有与粉末的第一部分相同的共混物组成。在另一个实施例中,粉末的第二部分具有与粉末的第一部分不同的组成。在一个实施例中,粉末的第一部分含有药物组合物,粉末的第二部分含有另一不同的药物组合物。

如上面所论述的,通过压制含有可药用载体的粉末来制造片剂。载体可含有一种或多种适用于配制片剂的赋形剂。合适的赋形剂的例子包括但不限于:填充剂、吸附剂、粘结剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、调节释放的赋形剂、甜味剂、超级崩解剂、风味剂和芳香剂、抗氧化剂、质构增强剂以及它们的混合物。合适的填充剂包括但不限于:水溶性可压缩碳水化合物例如糖类(如,右旋糖、蔗糖、麦芽糖和乳糖)、淀粉类(如,玉米淀粉)、糖醇类(如,甘露糖醇、山梨糖醇、麦芽糖醇和木糖醇)、淀粉水解物(如,糊精和麦芽糊精)和水不溶性塑性变形性材料(如,微晶纤维素或其他纤维素衍生物)以及它们的混合物。合适的吸附剂(如,吸附液体药物组合物)包括但不限于:水不溶性吸附剂如磷酸二钙、磷酸三钙、硅化微晶纤维素、偏硅酸铝镁、粘土类、硅石类、膨润土、沸石类、硅酸镁类、水滑石、胶体硅酸镁铝以及它们的混合物。合适的粘结剂包括但不限于:干性粘结剂,例如聚乙烯吡咯烷酮和羟丙基甲基纤维素;湿性粘结剂,例如水溶性聚合物,包括亲水胶体如金合欢树

胶、海藻酸盐、琼脂、瓜耳胶、刺槐豆胶、卡拉胶、羧甲基纤维素、塔拉胶、阿拉伯树胶、黄耆胶、果胶、黄原胶、结冷胶、明胶、麦芽糊精、半乳甘露聚糖、石耳素、昆布多糖、小核菌葡聚糖、菊粉、威兰胶、鼠李胶、菌胶团、甲兰胶、几丁质、环糊精、壳多糖、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、蔗糖、淀粉等等以及它们的混合物。合适的崩解剂包括但不限于：羟基乙酸淀粉钠、交联聚乙烯吡咯烷酮、交联羧甲基纤维素、淀粉类、微晶纤维素以及它们的混合物。合适的润滑剂包括但不限于：长链脂肪酸以及它们的盐(例如硬脂酸镁和硬脂酸)、滑石、甘油酯、蜡以及它们的混合物。合适的助流剂包括但不限于胶态二氧化硅。合适的调节释放的赋形剂包括但不限于：溶胀性可溶蚀亲水性材料、不溶性可食用材料、pH依赖性聚合物以及它们的混合物。适于用作调节释放的赋形剂的溶胀性可溶蚀亲水性材料包括但不限于：水溶胀性纤维素衍生物、聚亚烷基二醇、热塑性聚环氧烷、丙烯酸类聚合物、亲水胶体、粘土、胶凝淀粉、溶胀交联聚合物以及它们的混合物。合适的水可溶胀性纤维素衍生物的例子包括但不限于：羧甲基纤维素钠、交联羟丙基纤维素、羟丙基纤维素(HPc)、羟丙基甲基纤维素(HPMc)、羟异丙基纤维素、羟丁基纤维素、羟苯基纤维素、羟乙基纤维素(HEc)、羟戊基纤维素、羟丙乙基纤维素、羟丙丁基纤维素和羟丙乙基纤维素以及它们的混合物。合适的聚亚烷基二醇的例子包括但不限于聚乙二醇。合适的热塑性聚环氧烷的例子包括但不限于聚环氧乙烷。合适的丙烯酸类聚合物的例子包括但不限于：甲基丙烯酸钾一二乙烯基苯共聚物、聚甲基丙烯酸甲酯、高分子量交联丙烯酸均聚物和共聚物。合适的亲水胶体的例子包括但不限于：海藻酸盐、琼脂、瓜耳胶、刺槐豆胶、k 卡拉胶、t 卡拉胶、塔拉胶、阿拉伯树胶、黄耆胶、果胶、黄原胶、结冷胶、麦芽糊精、半乳甘露聚糖、石耳素、昆布多糖、小核菌葡聚糖、阿拉伯树胶、菊粉、果胶、明胶、威兰胶、鼠李胶、菌胶团、甲兰胶、几丁质、环糊精、壳聚糖以及它们的混合物。合适的粘土的例子包括但不限于蒙脱石类，例如膨润土、高岭土和合成锂皂石；三硅酸镁；硅酸镁铝以及它们的混合物。合适的胶化淀粉的例子包括但不限于：酸水解淀粉、溶胀淀粉(例如羟基乙酸淀粉钠及其衍生物)以及它们的混合物。合适的溶胀交联聚合物的例子包括但不限于：交联聚乙烯吡咯烷酮、交联琼脂和交联羧甲基纤维素钠以及它们的混合物。适于用作调节释放的赋形剂的不溶性可食用材料包括但不限于：水不溶性聚合物和低熔点疏水性材料、它们的共聚物以及它们的混合物。合适的水不溶性聚合物的例子包括但不限于：乙基纤维素、聚乙烯醇、聚乙酸乙烯酯、聚己酸内酯、乙酸纤维素及其衍生物、丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯、丙烯酸共聚物、它们的共聚物以及它们的混合物。合适的低熔点疏水性材料包括但不限于：脂肪、脂肪酸酯、磷脂、蜡以及它们的混合物。合适的脂肪的例子包括但不限于：氢化植

物油(例如可可脂、氢化棕榈仁油、氢化棉籽油、氢化向日葵油和氢化大豆油)、游离脂肪酸和它们的盐以及它们的混合物。合适的脂肪酸酯的例子包括但不限于:蔗糖脂肪酸酯、甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯、甘油基二十二烷酸酯、甘油基棕榈酰硬脂酸酯、甘油基单硬脂酸酯、甘油基三硬脂酸酯、甘油基三月桂酸酯、甘油基肉豆蔻酸酯、Glycowax-932、月桂酰聚乙二醇-32 甘油酯和硬脂酰聚乙二醇-32 甘油酯以及它们的混合物。合适的磷脂的例子包括磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸以及它们的混合物。合适的蜡的例子包括但不限于:巴西棕榈蜡、鲸蜡、蜂蜡、小烛树蜡、紫胶蜡、微晶蜡和石蜡;含脂肪的混合物如巧克力以及它们的混合物。适用做调节释放的赋形剂的 pH 依赖性聚合物包括但不限于:肠溶性纤维素衍生物,例如羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、乙酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯、乙酸邻苯二甲酸纤维素;天然树脂,例如紫胶和玉米醇溶蛋白;肠溶性乙酸酯衍生物,例如聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯、乙酸邻苯二甲酸纤维素、乙醛二甲基乙酸纤维素;以及肠溶性丙烯酸酯衍生物,例如基于聚甲基丙烯酸酯的聚合物的聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2 和聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:1,以及它们的混合物。合适的甜味剂的例子包括但不限于:合成的或天然的糖类、三氯蔗糖、糖精、糖精钠、阿斯巴甜、丁磺氨 K 或丁磺氨、丁磺氨钾、奇异果甜蛋白、甘草素、二氢查尔酮、阿力甜、神秘果素、应乐果甜蛋白、甜菊糖以及它们的混合物。超级崩解剂的例子包括但不限于:交联羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠和交联聚维酮(交联聚乙烯吡咯烷酮)。在一个实施例中,片剂含有最多约 5 重量%的这类超级崩解剂。合适的风味剂和芳香剂的例子包括但不限于:精油,包括切细的花、叶、皮或捣浆全果的蒸馏物、溶剂提取物或冷压榨物,其包含醇、酯、醛和内酯的混合物;香精,包括精油的稀溶液或共混成与水果(例如草莓、悬钩子和黑醋栗)的天然香味匹配的合成化学物质的混合物;酿造物和酒类(例如科涅克白兰地酒、威士忌酒、浪姆酒、杜松子酒、雪利酒、波尔图葡萄酒和葡萄酒)的人造的和天然的风味剂;烟草、咖啡、茶、可可和薄荷;果汁,包括从洗擦过的水果例如柠檬、橙和酸橙压榨的汁;薄荷;姜;肉桂;可可;香草;甘草;薄荷醇;桉树;八角;坚果(如花生、椰子、榛子、栗子、胡桃和可拉果);杏仁;葡萄干;以及粉末、面粉或植物材料部分(包括其量不会显著促成治疗性尼古丁的水平烟草属烟草植物部分)以及它们的混合物。抗氧化剂的例子包括但不限于:生育酚、抗坏血酸、焦亚硫酸钠、丁基羟基甲苯、丁基化羟基苯甲醚、依地酸和依地酸盐,以及它们的混合物。防腐剂的例子包括但不限于:柠檬酸、酒石酸、乳酸、苹果酸、乙酸、苯甲酸和山梨酸以及它们的混合物。质构增强剂的例子包括但不限于:果胶、聚环氧乙烷和卡拉胶以及它们的混合物。

搽剂系指药物用乙醇、油或适当的溶剂制成的溶液、乳状液或悬浮液搽剂，供无破损皮肤揉擦用的液体制剂。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成搽剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，将药物组合物的有效活性成分按照预定比例混合后加入搽剂辅料，混匀后进行过滤，然后按照制剂标准调整至规定量，从而获得本发明药物组合物的搽剂。根据本发明的实施例，搽剂辅料的种类并不受特别限制，例如可以包括但不限于聚山梨酸酯-80（吐温 80）、甘油和氮酮。其中，吐温-80 有稳定和分散的作用，也有一定的防腐保鲜作用；甘油有润肤作用，氮酮又增加药物渗透的作用。由此，该药物组合物可以以搽剂的形式有效地用于治疗由于癌症引起的皮肤表面的疾病，比如黑色素瘤等。

贴剂是指可粘贴在皮肤上，其承载的药物可产生全身性或局部作用的一种薄片状制剂。其中透皮吸收制剂是一种通过皮肤吸收，并可通过控释机制按病情需要剂量，快速、持久进入全身的贴片或贴剂药物。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成贴剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，将药物组合物的有效活性成分按照预定比例混合后加入贴剂辅料，混合后涂布在载体材料上，进行剪切和分装后获得本发明药物组合物的贴剂。其中，贴剂辅料可以包括但不限于，胶黏剂、增黏剂、增塑剂、填充剂、吸收促进剂、渗透促进剂。由此，本发明的药物组合物一方面可以透过角质层和表皮进入真皮，扩散进入毛细血管，转移至体循环；另一方面也可以通过毛囊、皮脂腺和汗腺等附属器官吸收，与传统给药方式相比，贴剂具有一定的优势：可以通过恒定速率持续释放药物来延长有效作用时间，减少给药频率，维持最佳血药浓度，并减少由血浆峰浓度造成的不良反应；也可以避免口服给药可能发生的肝首关效应，从而提高生物利用度并减少药物的相互作用，除此之外，贴剂还可以解决某些给药过程中的实际问题，提高患者的顺应性。

滴剂是指用适宜的量具以小体积或以滴计量的口服溶液剂、口服混悬剂、口服乳剂的液体制剂。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成滴剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，根据本发明的一些实施例，将本发明的药物组合物的有效活性成分与分散介质和滴剂辅料混合后，然后按照制剂标准调整至规定量，从而获得本发明药物组合物的滴剂。其中，分散介质常用纯化水；滴剂辅料可以包括但不限于，增稠剂、助溶剂、稳定剂、矫味剂和防腐剂。由此，本发明的药物组合物滴剂可以针对局部病灶进行给药，提高治疗的效果。

喷雾剂（sprays）是指系用压缩空气或惰性气体作动力，以非金属喷雾器将药液喷出的剂型。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成喷雾剂的方法并不受特别限制，可以使

用本领域常规的制备技术，根据本发明的一些实施例，将本发明的药物组合物的有效活性成分与喷雾剂辅料进行混合后，然后按照制剂标准调整至规定量，从而获得本发明药物组合物的喷雾剂。其中喷雾剂辅料包括但不限于注射用水、甜味剂、矫味剂、防腐剂、增溶剂和压缩气体，混合均匀后静置，装入气雾瓶中，并向瓶内压入抛射剂，灌装，灭菌，制成本发明的药物组合物的喷雾剂。由于本发明的药物组合物的喷雾剂可以直接喷洒在肿瘤部位，具有局部浓度高、起效快、疗效好的特点，能充分发挥药物组合物治疗癌症的作用。

丸剂是指药材细粉或药材提取物加适宜的粘合辅料制成的球形或类球形制剂，包括但不限于蜜丸、水丸、水蜜丸、糊丸、浓缩丸、蜡丸、滴丸和微丸。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成丸剂的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，根据本发明的实施例，将本发明的药物组合物的有效活性成分与丸剂辅料进行混合，然后按照制剂标准调整至规定量，从而获得本发明药物组合物的丸剂。其中，丸剂辅料包括但不限于，稀释剂、润湿剂、粘合剂、矫味剂、包衣剂。稀释剂可以为淀粉、乳糖、糊精、微粉硅胶和微晶纤维素中的至少一种。润湿剂可以为水和乙醇的至少一种。包衣剂可以包括但不限于肠溶性辅料、增塑剂和抗粘剂。肠溶性辅料可以为丙烯酸树脂；抗粘剂可以为选自微粉硅胶、滑石粉、硬脂酸镁、二氧化钛和单硬脂酸甘油酯中的至少一种；增塑剂可以为选自丙二醇、柠檬酸三乙酯、邻苯二甲酸二乙酯和 PEG6000 的至少一种。由此，可以将本发明的药物组合物的有效活性成分制备成结肠靶向微丸剂，保证各药物直接对结肠病灶产生作用，不仅提高了药效活性，减少了药物对胃、小肠等消化系统的副作用，还提高了患者的顺应性，为治疗结肠癌提供了新的用药选择。

注射剂 (injection) 是指将药物与适宜的溶剂或分散介质制成的供注入体内的溶液、乳状液或混悬液及供临用前配制或稀释成溶液或混悬液的粉末或浓溶液的无菌制剂，包括溶液型注射剂、乳剂型注射剂、混悬型注射剂和注射用无菌粉末。根据本发明的一些实施例，将药物组合物制成注射剂的方法并不受特别限制，可以采用本领域常用的各种方法，根据本发明的一些实施例，可以将本发明的药物组合物的有效活性成分与注射剂附加剂和注射剂溶剂混合后，然后按照制剂标准调整至规定量，将所获得的药物过滤后灌装至经过洗涤、干燥和灭菌的安瓿中、然后对装有药物的安瓿进行封口及灭菌操作，经过检验后获得本发明药物组合物的注射剂。其中，注射用附加剂包括但不限于抑菌剂、抗氧剂、增溶剂、螯合剂、缓冲剂、pH 调节剂、等渗与等张调节剂和局麻剂，从而增加药物组合物有效活性成分的溶解度和理化稳定性，并抑制微生物的生长，此外还可以减轻疼痛或对组织的刺激性。注射剂溶剂包括但不限于，注射用水、注射用油和其他注射用非水溶剂。由此，制成注射

剂的本发明的药物组合物作用非常可靠，临床应用时均以液体状态直接注射入人体的组织、血管或器官内。吸收快，作用迅速。特别是以静脉注射，药液可直接进入血循环，更适于抢救危重病症之用。并且因注射剂不经胃肠道，故不受消化系统及食物的影响。

例如根据本发明的一个具体实施例将助悬剂为“0”的缓释微粒(A)直接混于特殊溶媒中，得到相应的缓释微粒注射剂；例如根据本发明的另一个具体实施例将助悬剂不为“0”的缓释微粒(A)混于特殊溶媒或普通溶媒中，得到相应的缓释微粒注射剂；例如根据本发明的再一个具体实施例将缓释微粒(A)混于普通溶媒中，然后加入助悬剂混匀，得到相应的缓释微粒注射剂。例如根据本发明的又一个具体实施例，还可先将缓释微粒(A)混于特殊溶媒中制得相应的混悬液，然后用真空干燥等办法去除混悬液中的水分，之后再用特殊溶媒或普通溶媒混悬，得到相应的缓释微粒注射剂。以上方法只是用于说明而非限制本发明。

根据本发明的实施例，将药物组合物制成缓释注射剂的方法不受特别限制，可以采用本领域常用的各种方法：例如但不限于，混合法、熔融法、溶解法、喷雾干燥法制备微球、溶解法结合冷冻(干燥)粉碎法制成微粉、脂质体包药法及乳化法等。其中以溶解法(即溶剂挥发法)、干燥法、喷雾干燥法和乳化法为优选。微球则可用于制备上述各种缓释注射剂，其方法是任意的。微球还可用于制备其他缓释注射剂，如凝胶注射剂、嵌段共聚物胶束注射剂。其中，嵌段共聚物胶束由疏水-亲水嵌段共聚物在水溶液中形成，具有球形内核-外壳结构，疏水嵌段形成内核，亲水嵌段形成外壳。载药胶束注射进入体内达到控制药物释放或靶向治疗的目的。所用药物载体为上述任意一种或其组合。其中优选分子量为 1000-15000 的聚乙二醇(PEG)作为胶束共聚物的亲水嵌段，优选生物降解聚合物(如 PLA、聚丙交酯、聚己内酯及其共聚物(分子量 1500-25000))作为胶束共聚物的疏水嵌段。凝胶注射剂系将生物降解聚合物溶于某些两亲性溶媒，再加入药物与之混溶(或混悬)后形成流动性较好的凝胶，可经瘤周或瘤内注射。一旦注入，两亲性溶媒很快扩散至体液，而体液中的水分则渗入凝胶，使聚合物固化，缓慢释放药物。缓释微球还可用于制备缓释植入剂，所用的药用辅料可为上述药用辅料中的任何一种或多种物质，但以水溶性高分子聚合物为主选，在各种高分子聚合物中，以聚乳酸、癸二酸、含聚乳酸或癸二酸的高分子多聚物的混合物或共聚物为首选，混合物和共聚物可选自，但不限于，PLA、PLGA、PLA 与 PLGA 的混合物、癸二酸与芳香聚酐或脂肪族聚酐的混合物或共聚物。共混的方法是任意的。本发明抗癌药物组合物的缓释剂的另一种形式是抗癌药物组合物缓释剂制成缓释植入剂。抗癌植入剂的有效成分可均匀地包装于整个药用辅料中，也可包装于载体支持物中心或其表面；可通过直接扩散和 / 或经多聚物降解的方式将有效成分释放。

缓释植入剂的特点在于所用的缓释辅料除高分子聚合物外，还含有上述任意一种或多种其它辅料。添加的药用辅料统称为添加剂。添加剂可根据其功能分为充填剂、致孔剂、赋型剂、分散剂、等渗剂、保存剂、阻滞剂、增溶剂、吸收促进剂、成膜剂、胶凝剂等。缓释植入剂的主要成份可制成多种剂型。如，但不限于，胶囊、缓释剂、植入剂、缓释剂植入剂等；呈多种形状，如，但不限于，颗粒剂、丸剂、片剂、散剂、颗粒剂、球形、块状、针状、棒状、柱状及膜状。在各种剂型中，以体内缓慢释放植入剂为优选。缓释植入剂的最佳剂型为生物相容性、可降解吸收的缓释剂植入，可因不同临床需要而制成各种形状及各种剂型。制备缓释制剂的方法：例如，但不限于，把载体支持物粉末与药物混合然后压制成植入剂，即所谓的混合法；把载体支持物熔化，与待包装的药物相混合，然后固体冷却，即所谓的熔融法；把载体支持物溶解于溶剂中，把待包装的药物溶解或分散于聚合物溶液中，然后蒸发溶剂，干燥，即所谓的溶解法；喷雾干燥法；及冷冻干燥法等。

口服液是指以单剂量灌装的合剂。根据本发明的实施例，将药物组合物制备成口服液的方法并不受特别限制，可以使用本领域常规的制备技术，根据本发明的一些实施例，可以将本发明的药物组合物中的有效活性成分加入适宜的附加剂，溶解并混合均匀后，进行过滤澄清，并按照注射剂的工艺要求，灌封于安瓿或易拉盖瓶中，最后经灭菌获得本发明药物组合物的口服液。其中，适宜的附加剂包括但不限于矫味剂、防腐剂和表面活性剂。其中，矫味剂可以为选自蔗糖、红糖、饴糖、甜菊素、果糖、葡萄糖、果葡糖浆、蜂蜜、阿斯巴甜、蛋白糖、木糖醇、甘露醇、乳糖、山梨醇、麦芽糖醇、甘草甜素、甘茶叶素和环己氨基磺酸钠中的至少一种；防腐剂可以为选自尼泊金甲酯、尼泊金乙酯、尼泊金丙酯、苯甲醇、乙醇、苯乙醇、三氯叔丁醇、苯甲酸和山梨酸中的至少一种；表面活性剂可以为选自吐温-80、吐温-20、溴化十六烷三甲胺、月桂醇硫酸钠、硬脂醇磺酸钠、聚氧乙烯高级脂肪醇、蔗糖酯、山梨醇脂肪酯和大豆磷脂中的至少一种；此外还可以包括适量的除杂剂如壳聚糖絮凝剂等；澄清剂如 ZTC 或果汁澄清剂等；稳定剂如复合磷酸盐等。由此，本发明的药物组合物的口服液服用剂量小而且规格统一、其具有吸收较快、质量稳定、携带和服用方便、易保存等优点，尤其适合工业化生产。

根据本发明的实施例，给药途径取决于多种因素，为于原发或转移肿瘤所在部位获得有效浓度，药物可经多种途径给予，如皮下、腔内(如腹腔、胸腔及椎管内)、瘤内、瘤周注射或放置、选择性动脉注射、淋巴结内及骨髓内注射。以选择性动脉注射、腔内、瘤内、瘤周注射或放置为优选。本发明可以用于制备治疗人及动物的各种肿瘤的药物制剂，主要为缓释注射剂或缓释植入剂，所指肿瘤包括起源于大脑、中枢神经系统、肾脏、肝、胆囊、

头颈部、口腔、甲状腺、皮肤、黏膜、腺体、血管、骨组织、淋巴结、肺脏、食管、胃、乳腺、胰腺、眼睛、鼻咽部、子宫、卵巢、子宫内膜、子宫颈、前列腺、膀胱、结肠、直肠的原发或转移的癌或肉瘤或癌肉瘤。

实施例 1 提取喜树碱

将臭马比木树叶用 8 倍重量的 60%乙醇进行加热回流提取 3 次，每次 1.5 小时，过滤后合并获得臭马比木醇提取液；将臭马比木醇提取液进行浓缩，获得臭马比木浓缩液；利用盐酸将臭马比木浓缩液进行 pH 调节，至臭马比木浓缩液的 pH 为 5；然后利用乙酸乙酯对经过 pH 调节的臭马比木浓缩液萃取 3 次，合并萃取相获得喜树碱粗提浸膏；向所获得的喜树碱粗提浸膏中加入 70%的丙酮水溶液，搅拌均匀后静止 20 小时进行抽滤，获得第一滤饼和第一滤液；向一部分第一滤饼中加入 3 倍量体积比为 1:20 的脂肪醇与氯代甲烷混合液，搅拌均匀后静止 10 小时进行抽滤，从而获得第二滤饼和第二滤液，其中第二滤饼为喜树碱粗品；最后利用阳离子交换树脂对所获得的喜树碱粗品进行纯化处理，最终获得喜树碱。

实施例 2 提取 9-甲氧基喜树碱

回收实施例 1 中所获得的第一滤液中的溶剂后获得第一 9-甲氧基喜树碱粗品；向另一部分第一滤饼中加入 5 倍量体积比为 1:20 的脂肪醇与乙酸乙酯，搅拌均匀后静止 10 小时进行抽滤，从而获得第三滤饼和第三滤液，回收第三滤液中的溶剂后获得第二 9-甲氧基喜树碱粗品；然后将所获得的第一 9-甲氧基喜树碱粗品和第二 9-甲氧基喜树碱粗品合并，并利用阳离子交换树脂对经过合并的 9-甲氧基树碱粗品进行纯化处理，最终获得 9-甲氧基喜树碱。

实施例 3 制备臭马比木水提取物

向实施例 1 中加醇提取喜树碱剩余的臭马比木树叶残渣中加入 8 倍量的水煎煮 2 次，每次 2 个小时，过滤后合并从而获得粗提液；然后利用减压旋蒸装置和大孔树脂对所获得的粗提液依次进行浓缩和纯化处理，从而获得臭马比木水提取物。利用 HPLC-MS 和 GC-MS 的方法，分析所获得的水提取物中的成分，其结果显示所获得的臭马比木的水提取物中主要含有亚油酸、东莨菪素、二氧嘧啶、胸腺嘧啶、植物甾醇、葫芦巴碱，以及多种维生素和氨基酸等活性成分。

实施例 4 喜树碱、9-甲氧基喜树碱的药物相容性实验

以臭马比木水提取物为基质，将喜树碱与 9-甲氧基喜树碱这两种化合物准备和贮存于 3 种不同的温度湿度条件下，即 25 摄氏度/10%RH；30 摄氏度/60%RH；40 摄氏度/75%RH。将药物分为混合组和未混合组作对照，分别置于这三种温度下。样品在第 1 天、第 2 天、第 7 天、第 14 天、第 30 天进行颜色、物理性状、化学稳定性(通过色析法)的评价，每一种活性成分在所有贮存条件下活性恢复的程度(%混合组/%对照组)，喜树碱为 97.0%~102.7%，9-甲氧基喜树碱为 98.3%~103.6%。观察中混合组和对照组在物理形状和化学色系法分析上无明显差别，说明这两种成分在臭马比木水提取物基质中混合后，其物理性和化学性仍具有很好的相容性。

实施例 5 喜树碱与 9-甲氧基喜树碱对 LLC-1 细胞和 CCD19Lu 细胞增殖的抑制作用

分别取对数生长期的 LLC-1(肺癌细胞)及 CCD19Lu(肺正常细胞)，采用 0.25%-EDTA 胰蛋白酶消化后制成浓度为 5×10^4 个/毫升的细胞悬液。将该细胞悬液接种于 96 孔细胞培养板中，每孔 200 微升；空白组为每孔加入 200 微升不含细胞的培养基的组。将上述接种了细胞的 96 孔细胞培养板放入细胞培养箱中孵育过夜，使细胞贴壁。不同比例的药物组合物分别用 DMSO 溶解，均配制为 100 毫摩的储存液，然后使用前用相应培养基稀释成不同浓度(DMSO 终浓度小于 0.1%)的样品溶液。在不同的实验组中分别加入 200 微升不同比例的药物组合物溶液(1:2、1:4、1:5、1:6 和 1:8)分别以 0.1 微摩、1 微摩、10 微摩、50 微摩和 100 微摩的浓度；对照组为往贴壁细胞中加入 200 微升培养基的组；空白组为无细胞只加 200 微升培养基的组。然后将此加过不同比例、不同浓度的药物组合物溶液(1:2、1:4、1:5、1:6 和 1:8)的 96 孔细胞培养板在细胞培养箱中培养 72 小时后，在取出的上述 96 孔细胞培养板的每个孔中加入 20 微升 0.5 毫克/毫升的噻唑蓝(MTT)，然后继续放入细胞培养箱中培养。2 小时后，将与 MTT 共同孵育的 96 孔细胞培养板在高速离心机中以 2000 rpm 离心 10 分钟。离心后，去除 96 孔细胞培养板中上清液，然后通过向每孔加 200 微升二甲基亚砷(DMSO)溶解在 96 孔板底部生成的甲臞蓝色结晶。该加过 DMSO 的 96 孔细胞培养板在平板振荡器上振荡 5 分钟后，利用酶联免疫检测仪，在 570 纳米波长下检测 OD 值(参比波长为 490 纳米)，计算抑制率及 IC_{50} (半数抑制率)。

$$\text{抑制率}\% = (A - A_0) / (A - A_1) \times 100\%$$

式中：A 代表对照组的 OD 值；A₀ 代表样品组的 OD 值；A₁ 代表空白组的 OD 值。

表 1. 喜树碱与 9-甲氧基喜树碱对 LLC1 和 CCD19Lu 的 IC₅₀ 值

药物组合物 (喜树碱与 9-甲 氧基喜树碱)	对 LLC-1 的 IC ₅₀ (微摩/升)	对 CCD19Lu 的 IC ₅₀ (微摩/升)
1:2	0.98	40
1:4	1.16	75
1:5	1.32	85
1:6	5.28	90
1:8	9.87	100

由表 1 所示的结果可知, 当药物组合物中喜树碱的比例较多时, 可以更有效的杀死肿瘤细胞, 显示为更低的 IC₅₀ 值, 但其对正常肺组织成纤维细胞 CCD19Lu 的生长也有较强的抑制作用; 当药物组合物中 9-甲氧基喜树碱的比例较多时, 其对正常肺组织成纤维细胞 CCD19Lu 的生长没有影响, 但对恶性肿瘤细胞快速增殖的抑制作用略有降低, IC₅₀ 值为 9.87 微摩。因此表 1 的结构可知, 当药物组合物中喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例为 1:5 时, 不仅可以以较低的有效药物浓度抑制肿瘤细胞的增殖, 并且对正常肺组织成纤维细胞的生长没有明显的抑制作用。

实施例 6 药物组合物对体外各种细胞株增殖的抑制作用

实验方法同实施例 5, 所不同的是, 检测喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例为 1:5 的药物组合物对不同肿瘤细胞株的增殖抑制作用, 所选的细胞株为 Bel-7402 (人肝癌细胞)、HepG2 (人肝癌细胞)、NCI-H460 (人肺癌细胞)、SGC-7901 (人胃癌细胞)、HO-8910 (人卵巢癌细胞)、MCF-7 (人乳腺癌细胞)、Hela (人宫颈癌细胞)、PC-3 (人前列腺癌)、Colo320 (人直肠癌细胞)、LoVo (人结直肠癌细胞)、Panc-1 (人胰腺癌细胞)、EC109 (人食道癌细胞)、KB (人鼻咽癌细胞) 及 HL-60 (人白血病细胞)。

表 2. 药物组合物对不同肿瘤细胞株的 IC_{50} 值

药物组合物 (喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5)	IC_{50} (微摩/升)
Bel-7402	4.68
HepG2	3.16
NCI-H460	1.32
SGC-7901	5.38
HO-8910	4.15
MCF-7	6.67
Hela	3.28
PC- 3	1.57
Colo320	0.48
LoVo	0.53
Panc-1	6.96
EC109	2.33
KB	4.55
HL-60	1.28

由表 2 的结果可知, 喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的比例为 1:5 的药物组合物对 Bel-7402、HepG2、NCI-H460、SGC-7901、HO-8910、MCF-7、Hela、PC- 3、Colo320、LoVo、Panc-1、EC109、KB 及 HL-60 细胞体外增殖有不同程度的抑制作用, 其中, Colo320 对药物组合物最为敏感, 表现为最低 IC_{50} 值。由此可知, 药物组合物对以上肿瘤细胞的增殖均有较好的抑制作用。

实施例 7 药物组合物对体外耐药肿瘤细胞增殖的抑制作用

实验方法同实施例 5，所不同的是，所选细胞为 Bel-7402（人肝癌细胞）；Bel-7402/5-Fu（人肝癌耐药细胞），药物组合物中的喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5。

表 3. 药物组合物对 Bel-7402 及 Bel-7402/5-Fu 的 IC₅₀ 值

受试物	对 Bel-7402 的 IC ₅₀ (微摩/升)	对 Bel-7402/5-Fu 的 IC ₅₀ (微摩/升)
药物组合物	4.68	4.83
喜树碱	2.13	37
9-甲氧基喜树碱	8.42	78

由表 3 所示的实验结果可知，药物组合物对耐药 Bel-7402/5-Fu 与非耐药肿瘤细胞株 Bel-7402 的细胞增殖均有较好抑制作用；而单用喜树碱或 9-甲氧基喜树碱对耐药 Bel-7402/5-Fu 肿瘤细胞株增殖抑制作用效果低于非耐药肿瘤细胞株 Bel-7402 肿瘤细胞株的增殖抑制作用的 10 倍~20 倍作用。由此，以上实验提示本发明的药物组合物药物组合物在抗肿瘤耐药性方面有独特的优势，是一个有开发前景的潜在药物。

实施例 8：药物组合物对体外抗肿瘤干细胞株增殖的抑制作用

所选细胞为：分别取对数生长的 Bel-7402（人肝癌细胞）及 MCF-7（人乳腺癌细胞），采用 0.25%-EDTA 胰酶消化后机械吹打制成单细胞悬液。然后在培养基中分别加入肝癌干细胞培养配伍剂（肝素、白蛋白及氢化可的松）或乳腺癌干细胞培养配伍剂（5U/L 胰岛素、20 U/L 表皮生长因子和 10 U/L 成纤维细胞生长因子）进行无血清悬浮培养，21 天后以流式细胞仪分选出干细胞，肝癌干细胞的筛选标志为 CD133 及 CD90 阳性表达，乳腺癌干细胞为 CD24 及 CD44 阳性表达。分别取相应的肝癌干细胞和乳腺癌干细胞，参照实施例 1 的方法检测各细胞株的 IC₅₀ 值。其中药物组合物中喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5。

表 4 药物组合物对 Bel-7402、MCF-7 干细胞的 IC₅₀

受试物	对 Bel-7402 干细胞的 IC ₅₀ (微摩/升)	对 MCF-7 干细胞的 IC ₅₀ (微摩/升)
药物组合物	8.21	9.33

由表 4 所示的实验结果可知，药物组合物对 Bel-7402 干细胞和 MCF-7 干细胞的 IC₅₀

分别为 Bel-7402、MCF-7 的 1.75 倍、1.40 倍（药物组合物对 Bel-7402 和 MCF-7 的 IC_{50} 值分别为 4.68 微摩/升、6.67 微摩/升）。该实验说明药物组合物对人肝癌干细胞 Bel-7402 及人乳腺癌干细胞 MCF-7 有较好的抑制作用。

实施例 9 药物组合物体内抗肿瘤作用

取健康裸鼠 30 只，雌雄各半，经适应性喂养后，随机分组后随机分为正常对照组、喜树碱组和药物组合物组（喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5）。选择收集对数生长期的 S180（人肺癌细胞），以 PBS 重悬该细胞，并使该细胞在 PBS 中的密度达到 1×10^6 个/毫升。在每只裸鼠右侧胸壁皮下接种上述肿瘤细胞悬液 0.2 毫升（含细胞数约 2×10^6 个），建立实体瘤模型。将上述荷瘤裸鼠随机分为 3 组，每组 10 只，即模型对照组、药物组合物组（喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5）及喜树碱组。其中，模型对照组每隔一日腹腔注射生理盐水；药物组合物组（喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5）每隔一日腹腔注射 5 毫克/公斤药物组合物组（喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5）；喜树碱组每隔一日腹腔注射喜树碱 5 毫克/公斤。连续给药半个月后，断颈处死小鼠，剥取瘤块并称重，计算药物组合物（喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5）对实体瘤的抑瘤率：

$$\text{抑瘤率}\% = (\text{模型组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}) / \text{模型组平均瘤重} \times 100\%$$

表 5 药物组合物对荷瘤小鼠瘤体增长的抑制作用比较

组别	瘤块重量 (克)	抑瘤率 (%)	存活率 (%)
模型对照组	2.15 ± 0.26	-	70
药物组合物组 (喜树碱:9-甲氧基喜树碱=1:5)	0.56 ± 0.15	74.0 %	100
喜树碱组	0.67 ± 0.11	58.8%	60

如表 5 结果所示的实验结果提示药物组合物有效的抑制了耐药肿瘤细胞实体瘤的增长，并且其抑瘤效果略优于醇，但其可以显著提高动物的存活率，因此具有很好的开发前景。

实施例 10 制备药物组合物散剂

以臭马比木水提取物为基质，将 100 毫克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱进行粉碎，过 120 目筛后按照 1:5 的比例进行混合，从而获得药物组合物散剂。

实施例 11 制备药物组合物颗粒剂

以臭马比木水提取物为基质，将 50 克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱进行粉碎，过 120 目筛后按照 1:5 的比例与过 80 目筛的 30 克的羟丙甲纤维素、60 克的乳糖、50 克的淀粉混合均匀，利用干轧法制粒，选取 20 目~40 目筛之间的颗粒，与 3 克的硬脂酸镁混合均匀，获得药物组合物颗粒剂。

实施例 12 制备药物组合物胶囊剂

以臭马比木水提取物为基质，将 50 克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱进行粉碎，过 120 目筛后按照 1:5 的比例与过 80 目筛的 20 克的羟丙甲纤维素、60 克的乳糖、20 克的预交联淀粉、3 克的硬脂酸镁混合均匀，灌装得到药物组合物胶囊剂。

实施例 13 制备药物组合物片剂

以臭马比木水提取物为基质，将 50 克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱进行粉碎，过 120 目筛后按照 1:5 的比例与过 80 目筛的 15 克的交联羧甲基纤维素钠、80 克的乳糖、12 克的微晶纤维素、20 克的预交联淀粉混合均匀，加入 30 克的 10%淀粉浆制软材，过 25 目筛制粒，然后在 50 摄氏度下通风干燥，并使用 20 目筛整粒后，与 5 克的硬脂酸镁混合均匀，利用压片机获得药物组合物片剂。

实施例 14 制备药物组合物搽剂

以臭马比木水提取物为基质，将 100 毫克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱按照 1:5 的比例溶解于 20 毫升的聚山梨酸酯-80 水溶液、50 毫升的甘油溶液、10 毫升的氮酮水溶液和 500 毫升的 30 的乙醇溶液中，混合均匀并过滤后，用无菌蒸馏水添加至 1000 毫升，从而获得药物组合物搽剂。

实施例 15 制备药物组合物贴剂

将 0.375 克的丙二醇、0.375 克的氮酮和 0.6 克的甘油加入 65%的乙醇溶液中，混合均

匀后，加入以臭马比木水提取物为基质的 100 毫克重量比为 1:5 的分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱，混合均匀后，再加入 2 克的聚乙烯醇(PVA205)和 0.8 克的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)，在 45 摄氏度条件下溶胀过夜后，在 60 摄氏度水浴条件下溶解至澄清，利用磁力搅拌均匀后，进行脱气处理，然后均匀涂布与防粘纸上，在 50 摄氏度温度下进行干燥，然后覆盖铝箔复合聚乙烯，切割分剂量，密封包存，获得药物组合物贴剂。

实施例 16 制备药物组合物滴剂

以臭马比木水提取物为基质，按照 1:5 的比例称取 40 克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱，以及 222 克的聚乙二醇-400、100 克的丙二醇、120 克的药用乙醇和 25 克的蛋白糖，先将聚乙二醇-400、丙二醇、药用乙醇及蛋白糖混合，搅拌均匀后获得混合溶液，在上述混合溶液混合至液面无药粉时将喜树碱和 9-甲氧基喜树碱匀速加入到该混合溶液中，混合均匀后加入无菌蒸馏水调整至 1000 毫升，获得药物组合物滴剂。

实施例 17 制备药物组合物喷雾剂

以臭马比木水提取物为基质，按照 1:5 的比例称取 100 毫克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱，与 0.6 毫克/毫升蔗糖、0.05%尼泊金和 0.25%苯甲酸钠溶解于 80 毫升 10%的丙二醇中，加入适量的注射用水调整至 100 毫升，充分摇匀，静置，装入气雾剂瓶中，向瓶内压入经微孔滤膜滤过的抛射剂 F12，灌装，灭菌，即得获得药物组合物喷雾剂。

实施例 18 制备药物组合物丸剂

以臭马比木水提取物为基质，将重量比为 1:5 的 50 克分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱混合物过 100 目筛，然后与 50 克的微晶纤维素混合均匀，并以 50%的乙醇适量润湿，制备软材，过 20 目筛，至离心包衣造粒机中，在 30 摄氏度下，转速 35 转/分钟，风速为 8cfm，滚圆 4 分钟，取出后在 50 摄氏度条件下进行干燥，获得药物组合物的丸剂。

实施例 19 制备药物组合物注射剂

以臭马比木水提取物为基质，将重量比为 1:5 的分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱混合物用注射用蒸馏水溶解为在 60 摄氏度~70 摄氏度条件下相对密度为度

1.10~1.20 的浸膏，加入 3 克聚山梨酯-80、10 毫升 10% 的亚硫酸氢钠、8 毫升 3% 的甘露醇和 7 毫升 3% 的右旋糖苷后，用注射用蒸馏水加至 800 毫升，用 10% 盐酸溶液调节 pH 值至 6，冷却静置后，加入注射用蒸馏水至 1000 毫升，加入 0.01% 的活性炭处理，过滤，经过灭菌处理后得到无菌无热源澄明溶液，然后进行将无菌无热源澄明溶液分装到经过洗涤、干燥和灭菌的安瓿中、然后对装有药物的安瓿进行封口及灭菌操作，经过检验后获得药物组合物的注射剂。

实施例 20 制备药物组合物口服液

以臭马比木水提取物为基质，将重量比为 1:5 的分别由实施例 1 和 2 获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树碱混合物用臭马比木水提取物溶解为在 60 摄氏度~70 摄氏度条件下相对密度为 1.10~1.20 的浸膏，向浸膏中加入 200 克的蔗糖，煮沸溶解后，加入 10 克的吐温-80，搅拌均匀并冷却至 70 摄氏度~80 摄氏度后，加入 1 克的山梨酸，搅拌均匀并冷却至 40 摄氏度以下，加臭马比木水提取物至 1000 毫升，搅拌均匀，滤过，灌封，灭菌，包装，获得药物组合物的口服液。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不一定指的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任何一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在不脱离本发明的原理和宗旨的情况下在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

权利要求书

- 1、一种药物组合物，其特征在于，包括：
喜树碱或其药学上可接受的盐；
9-甲氧基喜树碱或其药学上可接受的盐；
以及药学上可接受的赋形剂。
- 2、根据权利要求1所述的药物组合物，其特征在于，喜树碱与9-甲氧基喜树碱的比例为1:2~8。
- 3、根据权利要求2所述的药物组合物，其特征在于，喜树碱与9-甲氧基喜树碱的比例为1:4~6。
- 4、根据权利要求3所述的药物组合物，其特征在于，喜树碱与9-甲氧基喜树碱的比例为1:5。
- 5、根据权利要求1所述的药物组合物，其特征在于，进一步包括臭马比木水提取物。
- 6、根据权利要求5所述的药物组合物，其特征在于，所述臭马比木水提取物包括亚油酸、东莨菪素、二氧嘧啶、胸腺嘧啶、植物甾醇、葫芦巴碱、维生素和氨基酸。
- 7、根据权利要求5所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物呈药学上可接受的任意剂型中至少一种。
- 8、根据权利要求7所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物呈胃肠道给药剂型和非胃肠道给药剂型。
- 9、根据权利要求7所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物呈固体制剂或液体制剂。
- 10、根据权利要求7所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物呈散剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、丸剂、膏剂、喷雾剂、滴剂、搽剂、贴剂、注射剂、口服液、缓释制剂或控释制剂。
- 11、根据权利要求1所述的药物组合物，其特征在于，所述药学上可以接受的赋形剂包括粘合剂、填充剂、涂膜聚合物、增塑剂、助流剂、崩解剂、润滑剂和释放速度调节剂中的至少一种。
- 12、一种制备药物组合物的方法，其特征在于，包括：
将臭马比木树叶进行加醇提取，以便获得喜树碱、9-甲氧基喜树碱和臭马比木树叶残渣；

将所获得的喜树碱和 9-甲氧基喜树按照预定比例进行混合，以便获得混合物；以及向所述混合物中加入所述药学上可接受的赋形剂从而获得所述药物组合物。

13、根据权利要求 12 所述的方法，其特征在于，将臭马比木树叶进行加醇提取进一步包括：

将所述臭马比木树叶用 8 倍重量的 40-80%乙醇进行加热回流提取 1 次~3 次，每次 0.5 小时~2 小时，过滤后合并以便获得所述臭马比木醇提取液；

将所述臭马比木醇提取液进行第一浓缩，以便获得第一浓缩液；

利用盐酸将所述第一浓缩液进行 pH 调节，其中，所述经过 pH 调节的第一浓缩液的 pH 为 3~6；

利用乙酸乙酯对经过 pH 调节的第一浓缩液进行 2~3 次萃取，合并萃取相以便获得喜树碱粗提浸膏；

向所述喜树碱粗提浸膏中加入 70%的丙酮水溶液，搅拌均匀后静止 20 小时进行抽滤，从而获得第一滤饼和第一滤液；

向一部分所述第一滤饼中加入脂肪醇与氯代甲烷，搅拌均匀后静止 10 小时进行抽滤，以便获得第二滤饼和第二滤液，所述第二滤饼为喜树碱粗品，其中脂肪醇与氯代甲烷的体积比为 1:20；以及

利用阳离子交换树脂对所述喜树碱粗品进行纯化，以便获得喜树碱。

14、根据权利要求 13 所述的方法，其特征在于，进一步包括：

回收权利要求 13 中所述第一滤液中的溶剂后获得第一 9-甲氧基喜树碱粗品；

向另一部分所述第一滤饼中加入脂肪醇与乙酸乙酯，搅拌均匀后静止 10 小时进行抽滤，以便获得第三滤饼和第三滤液，回收所述第三滤液中的溶剂后获得第二 9-甲氧基喜树碱粗品；以及

合并所述第一 9-甲氧基喜树碱粗品和所述第二 9-甲氧基喜树碱粗品，利用阳离子交换树脂对经过合并的 9-甲氧基树碱粗品进行纯化，以便获得 9-甲氧基喜树碱。

15、根据权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述混合物进一步包括臭马比木水提取物，其中，所述臭马比木水提取物是通过将所述臭马比木树叶残渣进行加水提取获得的。

16、根据权利要求 15 所述的方法，其特征在于，将所述臭马比木树叶残渣进行加水提取进一步包括：

将所述臭马比木树叶残渣用 5 倍~10 倍重量的水煎煮 1 次~3 次，每次 0.5 小时~3 小时，过滤后合并以便获得粗提液；

将所述粗提液进行第二浓缩，以便获得第二浓缩液；以及

将所述第二浓缩液进行纯化，以便获得所述臭马比木水提取物。

17、根据权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述预定比例为喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的摩尔比例为 1:2~8。

18、根据权利要求 17 所述的方法，其特征在于，所述预定比例为喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的摩尔比例为 1:4~6。

19、根据权利要求 18 所述的方法，其特征在于，所述预定比例为喜树碱与 9-甲氧基喜树碱的摩尔比例为 1:5。

20、权利要求 1~11 任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或者预防癌症。

21、根据权利要求 20 所述的用途，其特征在于，所述药物用于抑制肿瘤细胞的增殖。

22、根据权利要求 21 所述的用途，其特征在于，所述肿瘤细胞为恶性肿瘤细胞、耐药性恶性肿瘤细胞及恶性肿瘤干细胞。

23、根据权利要求 22 所述的用途，其特征在于，所述恶性肿瘤细胞为选自肝癌细胞、肺癌细胞、胃癌细胞、卵巢癌细胞、乳腺癌细胞、宫颈癌细胞、前列腺癌细胞、直肠癌细胞、结直肠癌细胞、胰腺癌细胞、食道癌细胞、鼻咽癌细胞及血癌细胞至少一种。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/080059

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4745 (2006.01) i; A61K 9/14 (2006.01) i; A61K 9/20 (2006.01) i; A61K 9/48 (2006.01) i; A61K 9/06 (2006.01) i; A61K 9/12 (2006.01) i; A61K 9/70 (2006.01) i; A61K 9/08 (2006.01) i; A61K 9/52 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CPRSABS, CNMED, MOABS, HKABS, TWABS, DWPI, SIPOABS, JPABS, CNTXT, USTXT, JPTXT, EPTXT, WOTXT, CNKI, CHINESE PHARMACEUTICAL PATENT DATABASE, CHINESE PHARMACEUTICAL ABSTRACTS, CA, EMBASE: Nothapodytes nimmoniana, Camptothecin, 9-Methoxycamptothecin, normmoniana, cancer, tumor, tumour, 7689-03-4/RN, 39026-92-1/RN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WANG, Jing, "Distribution, Preparation and Physiological Activities of Anticancer Effective Components in <i>Nothapodytes Nimmoniana</i> " MEDICINE & PUBLIC HEALTH, CHINA MASTER'S THESES FULL-TEXT DATABASE, vol. 7, 15 July 2012 (15.07.2012), the whole document, particularly pages 3, 5-7, 12, 28-32 and 46-49	1-23
A	CN 102603758 A (ZHANG, Yuanjin), 25 July 2012 (25.07.2012), the whole document	1-23
A	CN 1121075 A (INDENA S.P.A. et al.), 24 April 1996 (24.04.1996), the whole document	1-23
A	CN 102080112 A (ZHANG, Yuanjin), 01 June 2011 (01.06.2011), the whole document	1-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 15 April 2014 (15.04.2014)	Date of mailing of the international search report 22 April 2014 (22.04.2014)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer FAN, Chanjuan Telephone No.: (86-10) 62411209

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2013/080059

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102603758 A	25 July 2012	None	
CN 1121075 A	24 April 1996	DE 69406430 D1	27 November 1997
		AT 159527 T	15 November 1997
		GR 96300006 T1	29 February 1996
		CN 1052233 C	10 May 2000
		ES 2081783 T3	16 December 1997
		RU 2123005 C1	10 December 1998
		EP 0685481 A2	06 December 1995
		DE 685481 T1	10 October 1996
		HK 1003833 A1	06 November 1998
		FI 943294 A	01 December 1995
		EP 0685481 A3	06 March 1996
		NO 942633 A	01 December 1995
		US 5525609 A	11 June 1996
		KR 0149723 B1	17 August 1998
		ES 2081783 T1	16 March 1996
		SK 83494 A3	06 December 1995
		HUT 71510 A	28 December 1995
		FI 106202 B	15 December 2000
		HU 216844 B	28 September 1999
		DE 69406430 T2	26 February 1998
		NO 179640 C	20 November 1996
		JP 3615240 B2	02 February 2005
		CZ 9401718 A3	13 December 1995
		PL 304577 A1	11 December 1995
		NO 179640 B	12 August 1996
		CA 2127763 A1	01 December 1995
		JPH 07330772 A	19 December 1995
		DK 0685481 T3	25 May 1998
		GR 3025120 T3	30 January 1998
		ITMI 941112 D0	30 May 1994
		FI 943294 A0	11 July 1994
		PL 177042 B1	30 September 1999
		NO 942633 D0	13 July 1994
		CA 2127763 C	25 February 1997
		SK 279615 B6	11 January 1999
		RU 94026100 A	27 May 1996
		HU 9402089 D0	28 September 1994
		ITMI 941112 A1	30 November 1995
		IT 1269862 B	15 April 1997
		CZ 290320 B6	17 July 2002
		EP 0685481 B1	22 October 1997
CN 102080112 A	01 June 2011	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2013/080059

A. 主题的分类

A61K 31/4745(2006.01)i; A61K 9/14(2006.01)i; A61K 9/20(2006.01)i; A61K 9/48(2006.01)i; A61K 9/06(2006.01)i; A61K 9/12(2006.01)i; A61K 9/70(2006.01)i; A61K 9/08(2006.01)i; A61K 9/52(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CPRSABS, CNMED, MOABS, HKABS, TWABS, DWPI, SIPOABS, JPABS, CNTXT, USTXT, JPTXT, EPTXT, WOTXT, CNKI, 中国药物专利数据库, 中国药学文摘, CA, EMBASE: 喜树碱, 9-甲氧基喜树碱, 臭马比木, 马比木, 青脆枝, 癌, 肿瘤, Camptothecin, 9-Methoxycamptothecin, nommoniana, cancer, tumor, tumour, 7689-03-4/RN, 39026-92-1/RN

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	王晶. "臭马比木中抗癌药效成分分布、制备及药理活性研究" 中国优秀硕士学位论文全文数据库医药卫生科技辑, 卷 第7期, 2012年 7月 15日 (2012 - 07 - 15), 全文, 特别是第3, 5-7, 12, 28-32和46-49页	1-23
A	CN 102603758A (张苑金) 2012年 7月 25日 (2012 - 07 - 25) 全文	1-23
A	CN 1121075A (因迪纳有限公司等) 1996年 4月 24日 (1996 - 04 - 24) 全文	1-23
A	CN 102080112A (张苑金) 2011年 6月 01日 (2011 - 06 - 01) 全文	1-23

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利	"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)	"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件	"&" 同族专利的文件
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	

国际检索实际完成的日期

2014年 4月 15日

国际检索报告邮寄日期

2014年 4月 22日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

受权官员

樊婵娟

电话号码 (86-10)62411209

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2013/080059

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 102603758A	2012年 7月 25日	无	
CN 1121075A	1996年 4月 24日	DE 69406430D1	1997年 11月 27日
		AT 159527T	1997年 11月 15日
		GR 96300006T1	1996年 2月 29日
		CN 1052233C	2000年 5月 10日
		ES 2081783T3	1997年 12月 16日
		RU 2123005C1	1998年 12月 10日
		EP 0685481A2	1995年 12月 06日
		DE 685481T1	1996年 10月 10日
		HK 1003833A1	1998年 11月 06日
		FI 943294A	1995年 12月 01日
		EP 0685481A3	1996年 3月 06日
		NO 942633A	1995年 12月 01日
		US 5525609A	1996年 6月 11日
		KR 0149723B1	1998年 8月 17日
		ES 2081783T1	1996年 3月 16日
		SK 83494A3	1995年 12月 06日
		HU T71510A	1995年 12月 28日
		FI 106202B	2000年 12月 15日
		HU 216844B	1999年 9月 28日
		DE 69406430T2	1998年 2月 26日
		NO 179640C	1996年 11月 20日
		JP 3615240B2	2005年 2月 02日
		CZ 9401718A3	1995年 12月 13日
		PL 304577A1	1995年 12月 11日
		NO 179640B	1996年 8月 12日
		CA 2127763A1	1995年 12月 01日
		JP H07330772A	1995年 12月 19日
		DK 0685481T3	1998年 5月 25日
		GR 3025120T3	1998年 1月 30日
		IT MI941112D0	1994年 5月 30日
		FI 943294A0	1994年 7月 11日
		PL 177042B1	1999年 9月 30日
		NO 942633D0	1994年 7月 13日
		CA 2127763C	1997年 2月 25日
		SK 279615B6	1999年 1月 11日
		RU 94026100A	1996年 5月 27日
		HU 9402089D0	1994年 9月 28日
		IT MI941112A1	1995年 11月 30日
		IT 1269862B	1997年 4月 15日
		CZ 290320B6	2002年 7月 17日
		EP 0685481B1	1997年 10月 22日
CN 102080112A	2011年 6月 01日	无	

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)