

## (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  
2020 年 3 月 19 日 (19.03.2020)



(10) 国际公布号  
**WO 2020/052526 A1**

(51) 国际专利分类号:

*A61K 31/473* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)  
*A61K 36/62* (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)  
*A61P 1/04* (2006.01)

(72) 发明人; 及

(71) 申请人 (仅对US): 李 梢 (LI, Shao) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学 FIT 楼 1-107 室, Beijing 100084 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/104997

(22) 国际申请日: 2019 年 9 月 9 日 (09.09.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201811065059.3 2018 年 9 月 13 日 (13.09.2018) CN  
201910530555.X 2019 年 6 月 18 日 (18.06.2019) CN

(71) 申请人: 清华大学 (TSINGHUA UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国北京市海淀区清华大学 100084 信箱 82 分箱, Beijing 100084 (CN)。

(74) 代理人: 北京金恒联合知识产权代理事务所 (JINHENG LAW FIRM); 中国北京市西城区白广路枣林前街 37 号裕隆苑宾馆 217 室, Beijing 100053 (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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: USE OF NUCIFERIN AND LOTUS LEAF EXTRACT IN THE PREPARATION OF A MEDICAMENT FOR TREATING ATROPHIC GASTRITIS AND/OR BLOCKING TRANSFORMATION OF GASTRITIS INTO CANCER

(54) 发明名称: 荷叶碱和荷叶提取物作为制备治疗萎缩性胃炎和/或阻断胃炎癌转化发生药物的应用

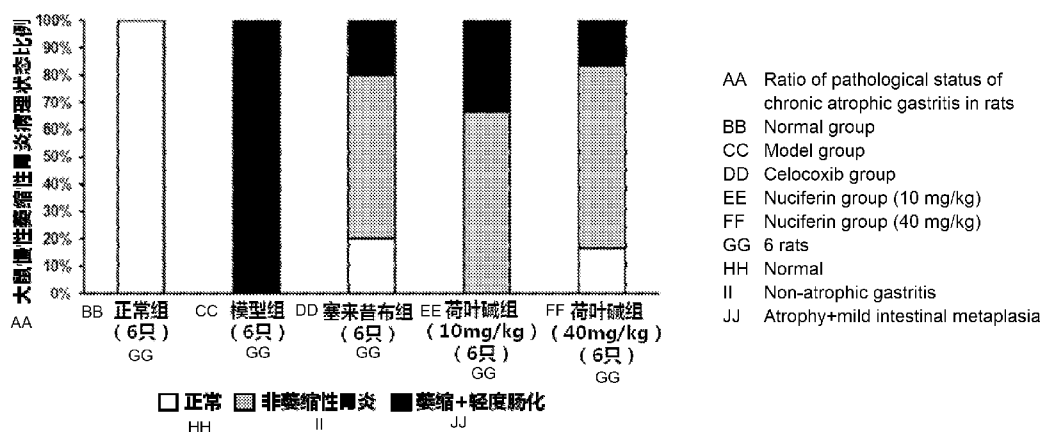


图 1

(57) Abstract: The present invention provides a use of a substance in the preparation of a product for treating chronic atrophic gastritis, protecting gastric mucosa, treating gastric precancerous lesions, blocking transformation of gastritis into cancer, and preventing occurrence of gastric cancer, the product being one selected from a medicament, a healthcare product and a foodstuff, and the substance being selected from the group consisting of: nuciferin, a nuciferin derivative, a lotus leaf extract, and a mixture of at least two selected from the above substances. The use includes at least one of treating chronic atrophic gastritis, protecting gastric mucosa, blocking transformation of gastritis into cancer, treating gastric precancerous lesions, and preventing occurrence of gastric cancer. In vitro experiments showed that nuciferin can block transformation of gastritis into cancer and cell proliferation. In vivo experiments showed that nuciferin and lotus leaf extract can treat atrophic gastritis in rats (especially chronic atrophic gastritis with intestinal metaplasia or dysplasia), protect rats from gastric mucosal damage and inhibit abnormal proliferation of gastrointestinal stem cells in *Drosophila*. Clinical tests indicated that lotus leaf extract can improve symptoms and objective indicators in patients with atrophic gastritis or gastric precancerous lesions.

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, ST, 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)。

根据细则4.17的声明:

- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 本发明提供了一种物质作为制备治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、治疗胃癌前病变、阻断胃炎癌转化、预防胃癌发生的产品的应用, 所述产品为选自药品、保健品、食品的一种, 该物质是从下列中选出的: 荷叶碱, 荷叶碱的衍生物, 荷叶提取物, 以及前述物质中选出的至少两种的混合物。所述应用包括治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、阻断胃炎癌转化、治疗胃癌前病变、阻止胃癌发生中的至少一种。体外实验表明, 荷叶碱能够阻断胃炎癌转化细胞增殖。体内实验表明, 荷叶碱、荷叶提取物能够治疗大鼠萎缩性胃炎(尤其是慢性萎缩性胃炎伴有肠上皮化生或异型增生)、保护大鼠胃黏膜损伤、抑制果蝇胃肠道干细胞异常增殖。临床测试表明, 荷叶提取物能够改善萎缩性胃炎或胃癌前病变患者的症状和客观指标。

## 荷叶碱和荷叶提取物作为制备治疗萎缩性胃炎和/或 阻断胃炎癌转化发生药物的应用

### 技术领域

本发明属于中药天然小分子化合物和中药提取物领域，具体涉及荷叶碱及荷叶提取物作为制备治疗慢性萎缩性胃炎、治疗胃癌前病变和/或阻断胃炎癌转化发生的药物、保健品、食品的应用。

### 背景技术

慢性炎症与肿瘤发生具有密切相关性[1]。目前流行病学调查和多项科学研究结果表明，大部分的肿瘤发生除了遗传因素之外，还与环境因素和生活方式息息相关，如吸烟、饮食和感染等，这些致癌因素均可导致不同形式的慢性炎症，而非可控性炎症可促使肿瘤发生[2,3]。尤其典型的是，胃癌的发生和胃炎、幽门螺杆菌感染具有密切关联[4,5]。全国肿瘤登记中心统计，我国半数以上的肿瘤相关死亡是消化系统肿瘤。其中胃癌发病率和死亡率均位居前列，全球胃癌几乎一半发生于中国。胃癌是我国农村地区发生率和死亡率均居第一位的肿瘤[6,7]。胃癌的早期防控至关重要。而缺乏胃炎癌转化有效的防治措施，则是导致胃癌发病率居高不下的主要原因。

在炎症环境下，免疫细胞能够释放多种细胞因子和趋化因子等，通过激活体细胞内的 NF- $\kappa$ B、STAT、SMAD 等关键转录因子，引起体细胞基因组、表观遗传学发生变化，进而导致细胞增殖、凋亡和分化等异常。同时，炎症微环境中存在大量的活性氧 ROS、活性氮等基团，不仅通过影响 DNA 和蛋白质的化学修饰来影响体细胞的表观基因组变化，而且在 DNA 损伤中发挥关键作用，最终引起体细胞变异和肿瘤发生[8-10]。

如何治疗轻度炎症到重度炎症进而阻断炎症转化对于预防肿瘤发生具有极为重要的意义。近年来，发现具有治疗慢性炎症进而阻断或抑制炎症转化作用的药物也成为备受人们关注的重点。

预防肿瘤和治疗肿瘤是两个截然不同的概念。目前虽然有很多的抗肿瘤药物，但能够有效抑制炎症转化、预防肿瘤发生的药物迄今为止还很少见。有研究报道显示，长期服用阿司匹林的人群结肠癌发病率降低24%[11]。此外，临床上用于治疗关节炎的 COX-2 抑制剂塞来昔布（商品名西乐葆，英文商品名 Celebrex，全球第一个上市的选择性环氧化酶-2 抑制剂）也被用于预防肠炎引起的肠癌。但是消化系统不同部位（如食管、胃、肠、肝、胰腺等）炎症转化的机制不同，阿司匹林、塞来昔布针对的是肠炎癌转化，并非胃炎癌转化，而且这两种药物对于胃均具有一定的副作用。总之，目前尚缺乏有效防治胃炎癌转化发生的药物。

荷叶为睡莲科植物莲（*Nelumbo nuficera Gaertn*）的叶，又名莲叶、藕叶，在我国南北方均有种植。荷叶 1991 年 11 月开始被列入中国卫生部卫监发（1991）第 45 号文件中的“既是食品又是药品”的药食同源中药名单，最近国家卫生与计划生育委员会 2018 年公布的“药食同源”目录里也有荷叶。荷叶碱，是一种阿朴啡型生物碱类化合物，是中药荷叶的主要活性成分之一。荷叶碱能够溶解于甲醇、氯仿等有机溶剂，其提取一般以晒干粉碎的荷叶为原料，采用有机溶剂法，为了提高得率，一般辅助以超声、临界萃取和超临界萃取等方式。荷叶碱能够改善血脂过多[12]、降低脂肪酶活性[13]。许多研究表明，荷叶碱具有治疗多种疾病的药理活性，诸如心血管疾病和癌症等。目前报道称，荷叶碱具有抗动脉粥样硬化、抑菌、抗病毒和抗肿瘤等生物活性[14-16]。荷叶提取物指的是以荷叶为原料、经水或有机溶剂等方式提取得到的物质，主要成分包括荷叶生物碱、荷叶黄酮、柠檬酸、草酸等。荷叶提取物已报道具有降血脂、减肥、清除自由基等生物活性[17,18]。荷叶碱和荷叶提取物作为目前减肥保健品中的物质，其价格低廉，安全性好，为其临床上用于治疗慢性萎缩性胃炎和阻断胃炎癌转化发生提供了更大可能性。本发明人前期研究首次发现荷叶碱对于肠炎癌转化具有抑制作用，并获得发明专利授权[19]。但肠炎癌转化与胃炎癌转化是两类明显不同的疾病过程，文献调研尚未发现荷叶碱、荷叶提取物对胃炎引发的胃癌、胃癌前病变、胃炎癌转化有关治疗作用的报道。

## 发明内容

阻断炎症转化的预防肿瘤药物是独立于抗肿瘤药物的一个专门领域。由于抗肿瘤药物研究是直接利用肿瘤细胞系或肿瘤组织来进行研究，临床上对应的是肿瘤中晚期的治疗。这与预防肿瘤发生，尤其是阻断发生炎症的细胞或组织向肿瘤的转化功能是完全不同的概念。

本发明的目的在于提供荷叶碱、荷叶提取物作为治疗慢性萎缩性胃炎伴有肠化或异型增生的癌前病变、和阻断胃炎癌转化发生的应用，可用于胃癌的预防。本发明涉及的药食同源中药是荷叶碱及荷叶提取物，其提取技术成熟，提取率较高，成本低廉。荷叶碱和荷叶提取物制备主要是从天然植物荷叶中提取获得。

本发明人经过一系列实验，证实了荷叶碱、荷叶提取物具有治疗慢性萎缩性胃炎和胃癌前病变，以及阻止胃炎向胃癌转化的功效。

本发明提供了一种物质作为制备预防胃癌发生的产品的应用，所述产品为选自药品、保健品、食品的一种，该物质是从下列中选出的：荷叶碱、荷叶碱的衍生物及荷叶提取物的混合物。所述预防胃癌发生包括治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、阻断胃炎癌转化、预防胃炎转变为胃癌、治疗胃癌前病变和阻止胃癌发生中的至少一种。

根据本发明的一个方面，提供了一种物质作为制备治疗慢性萎缩性胃炎、胃癌前病变和阻断胃炎癌转化的应用，该物质是从下列中选出的的一种：

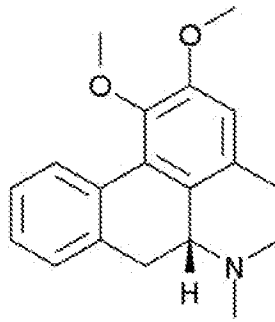
荷叶碱，

荷叶碱的衍生物，

荷叶提取物，

混合物，包含荷叶碱、荷叶碱的衍生物、荷叶提取物组成的物质中选出的至少两种。

根据本发明的一个进一步的方面，上述荷叶碱属于阿朴啡型生物碱类化合物，分子式为  $C_{19}H_{21}NO_2$ ，分子量为 295.38 g/mol；结构式为：



根据本发明的另一个方面，提供了一种物质作为制备预防肿瘤发生的产品的应用，所述产品为选自药品、保健品、食品的一种，所述物质是从下列中选出的一种：

荷叶碱，

荷叶碱的衍生物，

荷叶提取物，以及

混合物，包含荷叶碱、荷叶碱的衍生物、荷叶提取物组成的物质中选出的至少两种。

根据本发明的一个进一步的方面，上述预防肿瘤发生包括治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、阻断胃炎癌转化、治疗胃癌前病变和阻止胃癌发生中的至少一种。

根据本发明的又一个方面，提供了一种产品，其特征在于：以下列物质中选出的一种作为活性成分：

荷叶碱，

荷叶碱的衍生物，

荷叶提取物，以及

混合物，包含荷叶碱、荷叶碱的衍生物、荷叶提取物组成的物质中选出的至少两种。

并含有其他辅料，其中所述产品选自药物、保健品、食品中的一种。

根据本发明的一个进一步的方面，上述药物具有选自片剂、胶囊、丸剂、针剂、缓释剂、控释剂、粉剂、饮料等剂型。

根据本发明的一个进一步的方面，上述保健品具有选自片剂、胶囊、丸剂、针剂、缓释剂、控释剂、粉剂、饮料等剂型。

## 附图说明

图 1 显示了本发明的一个实施例中荷叶碱治疗慢性胃炎萎缩伴肠化实验中胃组织慢性炎症病理状态的统计结果。

图 2A—2E 显示了本发明的一个实施例中相应组有代表性的个体在正常、慢性胃炎萎缩伴肠化发生、荷叶碱干预下的胃组织病理切片 HE 染色图。

图 3 显示了本发明的一个实施例中荷叶提取物治疗慢性胃炎萎缩伴异型增生实验中胃组织慢性炎症病理状态的统计结果。

图 4A—4D 显示了本发明的一个实施例中相应组有代表性的个体在正常、慢性胃炎萎缩伴异型增生发生、荷叶提取物干预下的胃组织病理切片 HE 染色图。

图 5A—5E 显示了本发明的一个实施例中相应组有代表性的个体在正常、胃黏膜损伤模型、荷叶碱干预和荷叶提取物干预下的胃黏膜损伤改善情况。

图 6 显示了本发明的一个实施例中统计荷叶碱抑制果蝇胃肠道干细胞异常增殖和粘膜溃烂的作用。

图 7 显示了本发明的一个实施例中统计荷叶提取物抑制果蝇胃肠道干细胞异常增殖和粘膜溃烂的作用。

图 8A—8G 显示了本发明的一个实施例中相应组代表性个体在模型组、荷叶碱干预和荷叶提取物干预下抑制胃肠道干细胞异常增殖和粘膜溃烂改善情况的荧光染色图。

图 9 显示了本发明的一个实施例中荷叶碱对胃炎癌转化细胞生长抑制作用的统计结果。

图 10 显示了本发明的一个实施例中荷叶碱对胃炎癌转化细胞生长抑制作用的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 为 92.72 $\mu$ mol/L 的结果。

图 11 显示了本发明的一个实施例中荷叶提取物对慢性萎缩性胃炎或胃癌前病变患者相关病情改善情况。

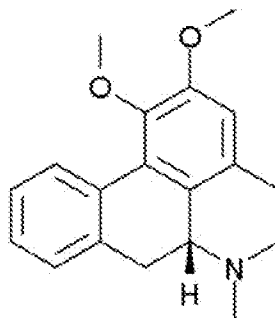
## 具体实施方式

根据本发明的一个方面，提供了一种新型治疗萎缩性胃炎、胃癌前病变和阻断胃炎癌转化的药物，该药物所包含的活性物质包含荷叶碱、

荷叶提取物。荷叶提取物来源于植物荷叶，通过水或有机溶剂方式提取得到。本发明人通过试验证实荷叶碱、荷叶提取物安全性好，且能够有效地治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、阻断胃炎癌转化、预防胃炎转变为胃癌、治疗胃癌前病变和阻止胃癌发生。

根据本发明的另一个方面，提供了含有荷叶碱的植物或天然产物作为制备治疗慢性萎缩性胃炎、抑制胃炎癌转化和/或预防胃癌发生的药物的应用。

为了实现本发明上述方面而采用的荷叶碱（英文名 **nuciferine**）属于阿朴啡型生物碱类化合物，分子式为  $C_{19}H_{21}NO_2$ ，分子量为 295.38 g/mol；结构式为：



在根据本发明所述用途中，所述预防肿瘤发生包括治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、阻断胃炎癌转化、治疗胃癌前病变和阻止肿瘤的发生中的至少一种。

在进行并完成本发明的过程中，本发明人进行了一系列实验。在下文中对实施例的相关说明中，给出了这些实验的结果。这些实验结果表明了，荷叶碱和荷叶提取物在安全的剂量下能够显著治疗萎缩性胃炎（尤其是慢性萎缩性胃炎伴有肠上皮化生或异型增生）和/或提供阻断胃炎癌转化的功能。在上述实验中，以及在与本发明相关的其他工作中，本发明人的发现包括：

（1） 荷叶碱治疗慢性萎缩性胃炎伴有肠上皮化生

选择脱氧胆酸钠和氨水联合诱导的大鼠慢性萎缩性胃炎动物模型[20]，造模成功后给予塞来昔布、荷叶碱灌胃，病理结果显示荷叶碱能够有效治疗慢性萎缩性胃炎大鼠、逆转肠上皮化生，使部分大鼠胃部恢复正常状态，大部分大鼠炎症减轻到轻度慢性非萎缩性胃炎状态。

## (2) 荷叶提取物治疗慢性萎缩性胃炎伴有异型增生

利用脱氧胆酸钠和乙醇、氨水联合诱导的大鼠慢性萎缩性胃炎动物模型[21]，造模成功后给予荷叶提取物灌胃，病理结果显示荷叶提取物能够有效治疗慢性萎缩性伴异型增生胃炎大鼠，使部分大鼠胃部恢复正常状态，部分大鼠胃炎减轻。

## (3) 荷叶碱、荷叶提取物保护胃黏膜损伤

在大鼠连续给予荷叶碱、荷叶提取物灌胃后，通过无水乙醇诱导大鼠胃黏膜损伤[22]，解剖后在镜下观察胃黏膜损伤情况。可见模型组大鼠出现不同程度胃黏膜损伤，给予荷叶碱组、给予荷叶提取物组大鼠胃黏膜损伤较模型组有明显改善、大鼠活动能力增多。

## (4) 荷叶碱、荷叶提取物抑制胃干细胞异常增殖

选择《细胞》出版社的刊物《细胞干细胞》(Cell Stem Cell)曾报道的胃肠道肿瘤发生模型[23]。利用葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium, DSS)诱导果蝇胃肠道干细胞异常增殖模拟肿瘤发生过程。造模期间给予荷叶碱和荷叶提取物。显微镜下结果显示，荷叶碱、荷叶提取物均能够有效抑制果蝇胃肠道干细胞异常增殖和粘膜溃烂情况。

## (5) 荷叶碱抑制胃炎癌转化相关细胞增殖

选择肿瘤研究知名刊物、英国自然出版社《致癌基因》(Oncogene)曾报道的胃炎癌转化的细胞模型——以化学诱变剂 N-甲基 N-硝基亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)刺激的人胃上皮细胞 GES-1 胃炎癌转化模型为对象[24]，经 MTT 法(3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐比色法)测定，荷叶碱对 MNNG 刺激下的 GES-1 胃炎癌转化模型细胞的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为 92.72μmol/L。结果表明荷叶碱能够抑制胃炎癌转化相关细胞增殖、阻断胃炎癌转化过程。

## (6) 荷叶提取物改善萎缩性胃炎伴肠化或异型增生患者的症状和指标

依据新悉尼标准，纳入内镜病理诊断为慢性萎缩性胃炎伴肠上皮化生或异型增生的患者(年龄在 18 岁-70 岁)，在受试患者填写知情同意后，进行荷叶提取物治疗胃炎癌转化的临床观察试验，记录症状和化验胃炎相关血液指标(血清胃泌素 17)。结果表明荷叶提取物能够改善慢性萎缩性胃炎伴肠化或异型增生患者的症状和客观指标。

以下参照具体的实施例来说明本发明。本领域技术人员能够理解，这些实施例仅用于说明本发明，其不以任何方式限制本发明的范围。

### 实施例 1：荷叶碱具有治疗慢性萎缩性伴有肠化胃炎大鼠的作用

实施方案：实验动物来自北京维通利华实验动物技术有限公司。选择无特定病原体动物（Specific pathogen free, SPF）级  $200 \pm 20\text{g}$  SD 大鼠 30 只，雌雄各半，随机分为 5 组：正常对照组、慢性萎缩性胃炎（Chronic atrophic gastritis, CAG）模型组、阳性药塞来昔布干预组和荷叶碱两个剂量干预组，每组 6 只。荷叶碱购自成都瑞芬思生物科技有限公司，规格 5g，纯度 98% 以上。塞来昔布购自北京百灵威科技有限公司，品牌 J&K，规格 1g，纯度 98% 以上。脱氧胆酸钠购自美国 Amresco 公司，规格 100g。模型组、塞来昔布干预组和荷叶碱干预组采用大鼠给予脱氧胆酸钠溶液、氨水，诱发大鼠发生慢性萎缩性胃炎。20mmol/L 的脱氧胆酸钠每日灌胃，剂量 6ml/kg，每周两次空腹灌胃，0.1% 氨水自由饮用，连续造模 8 周，造模大鼠胃粘膜出现不同程度的萎缩并伴有肠上皮化生。在造模结束后，塞来昔布组和荷叶碱干预组分别给予塞来昔布 10mg/kg，荷叶碱 40mg/kg，10mg/kg 灌胃给药，一天一次。实验期间观察大鼠体重和摄食量的改变。

治疗性给药 4 周后，大鼠体重增加，摄食量较造模阶段有恢复，毛色恢复光亮等外观正常状态。给药实验结束阶段，将大鼠脱椎处死后，迅速取出胃组织，并进行病理切片准备。将获取的胃组织沿胃大弯剪开，用生理盐水冲洗，滤纸吸干，用福尔马林溶液（10% 甲醛溶液）固定。包埋切片，逐级酒精脱水，然后二甲苯透明。浸蜡，进行石蜡包埋。染色阶段，将切片放入二甲苯溶液中浸泡，每次 10 分钟，共 3 次；随后放入无水乙醇浸泡和自来水中漂洗。最后用苏木精（染细胞核）和伊红（染细胞浆）染色，用中性树胶封片。最后在光镜下观察大鼠胃部组织病理变化。

表 1 荷叶碱治疗慢性萎缩性胃炎实验分组

| 分组      | 给药内容             | 分组数量 | 总数量 | 标记    |
|---------|------------------|------|-----|-------|
| 正常对照组   | 等容积蒸馏水           | 6    | 30  | A1-A6 |
| CAG 模型组 | 等容积蒸馏水           | 6    |     | B1-B6 |
| 阳性药对照组  | 塞来昔布、剂量 10mg /kg | 6    |     | C1-C6 |
| 荷叶碱低剂量组 | 剂量 10m g /kg     | 6    |     | D1-D6 |
| 荷叶碱高剂量组 | 剂量 40m g /kg     | 6    |     | E1-E6 |

实验结果:

### 1. 慢性萎缩性胃炎组大鼠表型的观察

慢性萎缩性胃炎模型组大鼠出现了体态消瘦, 毛发无光泽、精神萎靡和食欲减退等表现, 其中正常组和模型组各取 2 只进行检验发现, 模型组大鼠出现不同程度慢性萎缩并伴有肠上皮化生状态。

实验中模型组大鼠体重相比正常组明显下降, 给予塞来昔布和荷叶碱可以增加大鼠体重、食欲有所恢复和活动增多, 表明塞来昔布和荷叶碱可以改善大鼠慢性萎缩性胃炎的外观表现, 对慢性萎缩性胃炎有一定的治疗作用。

### 2. 光镜下观察胃组织病理切片

根据病理切片判读结果统计, 相比正常组大鼠, 造模阶段大鼠均发生慢性萎缩性胃炎及轻度肠化病理状态, 塞来昔布干预组和荷叶碱干预组可以有效治疗大鼠慢性萎缩性胃炎和肠化病理状态, 其中塞来昔布和荷叶碱高剂量组效果最好, 有胃部恢复正常状态的大鼠, 其余大部分减弱到轻度非萎缩性胃炎病理状态。对病理判读结果进行统计作图, 所获得的结果被显示在图 1 中。

光镜下观察, 正常组大鼠胃粘膜表面光滑, 结构层次完整, 上皮细胞排列紧密, 无明显炎症细胞浸润和糜烂溃疡形成, 见图 2A 显示的正常组。慢性萎缩性胃炎模型组可见胃粘膜固有层内见淋巴细胞、浆细胞、嗜酸性细胞浸润和大量杯状细胞, 多数炎症细胞聚集, 肠上皮化生, 局部灶性区域出现增生, 见图 2B 显示的模型组。塞来昔布组 (图 2C) 和荷叶碱高剂量组 (见图 2E) 较模型组慢性萎缩性胃炎病理状态明显减轻, 有恢复正常状态的大鼠。大部分大鼠的固有层内见少许淋巴细胞、浆细胞和嗜酸性细胞浸润, 肠上皮化生消失。荷叶碱低剂量组 (见图 2D) 胃组织固有层内有少量淋巴细胞和浆细胞浸润, 病理状态减轻到慢性非萎缩胃炎状态, 未见溃疡形成。

## 实施例 2: 荷叶提取物具有治疗慢性萎缩伴异型增生胃炎大鼠的作用

实验方案: 实验动物来自北京斯贝福生物技术有限公司。选择无特定

病原体级 (Specific pathogen free, SPF) 200±20g SD 大鼠 24 只, 雌雄各半, 随机分为 4 组: 正常对照组、慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 模型组、荷叶提取物两个剂量干预组, 每组 6 只, 如表 2 所示。荷叶提取物购自河北晨光生物科技集团邯郸有限公司, 规格: 1kg, 荷叶碱含量 0.4%以上。脱氧胆酸钠购自美国 Amresco 公司, 规格 100g。模型组和荷叶提取物干预组采用大鼠给予脱氧胆酸钠溶液、氨水和乙醇, 诱发大鼠发生慢性萎缩性胃炎。20mmol/L 的脱氧胆酸钠每日灌胃及 60%乙醇, 剂量 6ml/kg, 每周两次空腹灌胃, 0.1%氨水自由饮用, 连续造模 12 周, 造模大鼠胃粘膜出现萎缩并伴有不同程度的肠上皮化生或异型增生。在造模结束后, 荷叶提取物干预组分别给予高剂量 (含荷叶碱 20mg/kg)、低剂量 (含荷叶碱 10mg/kg) 灌胃给药, 一天一次。实验期间观察大鼠体重和摄食量的改变。

治疗性给药 4 周后, 大鼠摄食量和体重较造模阶段增加, 毛色恢复光亮, 活动能力恢复等表型恢复正常状态。给药结束阶段, 将大鼠椎处死后, 迅速取出胃组织, 并进行病理切片准备。将获取的胃组织沿胃大弯剪开, 用生理盐水冲洗, 滤纸吸干, 用福尔马林溶液(10%甲醛溶液)固定。包埋切片, 逐级酒精脱水, 然后二甲苯透明。浸蜡, 进行石蜡包埋。染色阶段, 将切片放入二甲苯溶液中浸泡, 每次 10 分钟, 共 3 次; 随后放入无水乙醇浸泡和自来水中漂洗。最后用苏木精 (染细胞核) 和伊红 (染细胞浆) 染色, 用中性树胶封片。最后在光镜下观察大鼠胃部组织病理变化。

表 2 荷叶提取物治疗慢性萎缩性胃炎实验分组

| 分组            | 给药内容                          | 分组数量 | 总数量 | 标记    |
|---------------|-------------------------------|------|-----|-------|
| 正常对照组         | 等容积蒸馏水                        | 6    | 24  | A1-A6 |
| CAG 模型组       | 等容积蒸馏水                        | 6    |     | B1-B6 |
| 荷叶提取物<br>低剂量组 | 剂量 2.5g/kg (含 10mg/kg<br>荷叶碱) | 6    |     | C1-C6 |
| 荷叶提取物<br>高剂量组 | 剂量 5g/kg (含 20mg/kg<br>荷叶碱)   | 6    |     | D1-D6 |

## 实验结果：

### 1.光镜下观察胃组织病理切片

根据病理切片判读结果统计，相比正常组大鼠，造模阶段大鼠发生慢性萎缩性胃炎中度肠化或异型增生病理状态，荷叶碱提取物组可以有效治疗大鼠慢性萎缩性胃炎异型增生病理状态，其中荷叶提取物高剂量组效果最好，有胃部恢复正常状态的大鼠，其余减弱到轻度肠化病理状态。对病理判读结果进行统计作图，所获得的结果见图 3。

光镜下观察，正常组大鼠胃粘膜表面光滑，纹理清晰，上皮细胞排列紧密，无明显糜烂溃疡形成，见图 4A。慢性萎缩性胃炎模型组可见局灶间质出血，大量杯状细胞聚集，腺体中度异型增生，见图 4B。荷叶提取物低剂量组部分大鼠腺体异型增生消失，有少量淋巴细胞聚集和嗜酸性粒细胞浸润。见图 4C。荷叶提取物高剂量组较模型组病理状态明显减轻，有恢复正常状态的大鼠。部分大鼠有少许嗜酸性粒细胞浸润，腺体异型增生消失，中度肠化减轻为轻度肠化或消失，见图 4D。

### 实施例 3：荷叶碱及荷叶提取物对胃黏膜损伤有保护作用

实验方案：实验动物来自北京斯贝福生物技术有限公司，选择无特定病原体动物（Specific pathogen free, SPF）级  $200 \pm 20\text{g}$  SD 大鼠 30 只，雄性，随机分为 5 组：正常对照组、胃粘膜损伤模型组、荷叶碱低剂量组、荷叶碱高剂量组和荷叶提取物组，如表 3 所示。荷叶碱低剂量组、荷叶碱高剂量组和荷叶提取物组连续灌胃 14 天，每天一次。荷叶碱购自成都瑞芬思生物科技有限公司，规格 5g，纯度 98% 以上。荷叶提取物购自河北晨光生物科技集团邯郸有限公司，规格：1kg，荷叶碱含量 0.4% 以上。荷叶碱低剂量组、荷叶碱高剂量组和荷叶提取物组大鼠连续给药结束 1h 后，对照组和模型组的大鼠严格禁食 24 小时（不禁水），此期间亦禁止给予药物。模型组、荷叶碱低剂量组、荷叶碱高剂量组和荷叶提取物组大鼠灌胃给予无水乙醇 1.0mL/只；造模结束 1h 后，大鼠腹主动脉采血处死，切腹取胃，向胃内注入 10% 甲醛溶液，固定 20min，然后沿胃大弯曲部剪开，洗净胃内容物，在解剖显微镜下进行大体观察，并测量损伤长度（mm）。

表 3 保护胃黏膜损伤实验分组

| 分组       | 给药内容                       | 分组数量 | 总数量 | 标记    |
|----------|----------------------------|------|-----|-------|
| 正常对照组    | 等容积生理盐水                    | 6    | 30  | A1-A6 |
| 胃黏膜损伤模型组 | 等容积生理盐水                    | 6    |     | B1-B6 |
| 荷叶碱低剂量组  | 剂量 20mg /kg                | 6    |     | C1-C6 |
| 荷叶碱高剂量组  | 剂量 40mg /kg                | 6    |     | D1-D6 |
| 荷叶提取物组   | 剂量 2.5g/kg (含 10mg/kg 荷叶碱) | 6    |     | E1-E6 |

#### 实验结果：

在正常组和模型组解剖中发现，模型组大鼠出现不同程度胃黏膜损伤。给予荷叶碱和荷叶提取物组大鼠胃黏膜损伤较模型组有改善、大鼠活动能力增多，表明荷叶碱和荷叶提取物能够保护胃黏膜损伤。

解剖后镜下观察，结果如图 5A—5E 所示。正常组无充血和出血，见图 5A。模型组胃黏膜局部高度充血和出血、粘膜下层水肿，见图 5B。荷叶碱低剂量组胃黏膜局部充血和出血减轻，见图 5C。荷叶碱高剂量组胃黏膜无充血和出血，见图 5D。荷叶提取物组胃黏膜充血和粘膜下层水肿减轻，见图 5E。

#### 实施例 4：荷叶碱及荷叶提取物能够抑制胃肠道干细胞异常增殖

实验方案：利用葡聚糖硫酸钠（Dextran sulfate sodiu, DSS）诱导果蝇胃肠道干细胞异常增殖模拟肿瘤发生过程。实验用果蝇为 esg-GFP，购自清华果蝇中心。GFP（esg-Gal4 驱动表达的绿色荧光蛋白）可以特异性标记肠道干细胞和成肠细胞。配置含 20%蔗糖，3%DSS（平均分子量 40kDa）和 0.5%二甲基亚砷（DMSO）的溶液，将该溶液与果蝇食物混合，放置半干后用于喂食果蝇造模。造模期间不同组给予荷叶碱和荷叶提取物。荷叶碱购自成都瑞芬思生物科技有限公司，规格 5g，纯度 98% 以上。荷叶提取物购自河北晨光生物科技集团邯郸有限公司，规格：100g，荷叶碱含量 0.4% 以上。葡聚糖硫酸钠购自北京中科科奥生物科技有限公司，品牌 mp，规格 50g。二甲基亚砷购自美国 Amresco 公司，规格 500ml。

### 实验分组：

#### 1) 荷叶碱实验分组

模型对照组：培养基 + 0.5%DMSO+3%DSS

荷叶碱低剂量组：培养基 + 0.5% DMSO + 3% DSS + 荷叶碱 100  $\mu$  M

荷叶碱高剂量组：培养基 + 0.5% DMSO + 3% DSS + 荷叶碱 200  $\mu$  M

#### 2) 荷叶提取物实验分组

模型对照组：培养基 + 0.5%DMSO+3%DSS

荷叶提取物低剂量组：培养基 + 0.5% DMSO + 3% DSS + 荷叶提取物  
(含 100  $\mu$  M 荷叶碱)

荷叶提取物中剂量组：培养基 + 0.5% DMSO + 3% DSS + 荷叶提取物  
(含 200  $\mu$  M 荷叶碱)

荷叶提取物高剂量组：培养基 + 0.5% DMSO + 3% DSS + 荷叶提取物  
(含 300  $\mu$  M 荷叶碱)

每个组 3 个平行管。收集一天内孵化的处女蝇，在 25℃用正常培养基饲养 3 天，果蝇转移到模型组、荷叶碱低剂量组、荷叶碱高剂量组、荷叶提取物低剂量组、荷叶提取物中剂量组和荷叶提取物高剂量组培养基中，每组约 20 只，在 25℃继续培养 3-5 天。实验结束时，解剖出胃肠道，观察 GFP 变化。

### 实验结果：

显微镜下统计结果显示，荷叶碱和荷叶提取物组能够有效抑制果蝇胃肠道干细胞异常增殖和胃肠道粘膜溃烂。荷叶碱实验中，荷叶碱低剂量组和高剂量组减少胃肠道干细胞异常增殖比例，部分果蝇胃肠道干细胞增殖恢复正常，如图 6 所示。荷叶提取物实验中，荷叶提取物随剂量升高不同程度地减轻果蝇胃肠道干细胞异常增殖，部分果蝇胃肠道干细胞增殖恢复正常，胃肠道粘膜溃烂消失，如图 7 所示。果蝇胃肠道显微镜下解剖结果，如图 8A-8G 所示。荷叶碱实验 DSS 模型组果蝇胃肠道干细胞出现重度异常增殖，见图 8A。荷叶碱低剂量组果蝇胃肠道干细胞异常增殖减轻，如图 8B 所示。荷叶碱高剂量组果蝇胃肠道干细胞增殖恢复正常（见图 8C）。荷叶提取物实验 DSS 模型组果蝇胃肠道粘膜溃烂、干细

胞重度异常增殖，见图 8D。荷叶提取物低剂量组果蝇胃肠道干细胞异常增殖减轻（见图 8E）。荷叶提取物中剂量组果蝇胃肠道黏膜溃烂消失，胃肠道干细胞异常增殖减轻，见图 8F。荷叶提取物高剂量组果蝇胃肠道黏膜溃烂消失，胃肠道干细胞增殖恢复正常，如图 8G 所示。

### 实施例 5：荷叶碱对胃炎癌转化细胞模型有显著抑制作用

本实施例中采用的化学诱变剂 N-甲基 N-硝基亚硝基胍（MNNG）诱导人胃上皮细胞（GES-1）形成的胃炎癌转化模型按文献[21]的报道。荷叶碱购自成都瑞芬思生物科技有限公司，规格 1g，纯度 98%以上。MNNG 购自北京百盈利创生物科技有限公司，品牌梯希爱，规格 5g。GES-1 细胞购自上海栩冉生物科技有限公司。磷酸盐缓冲生理盐水（PBS）购自美国 Amresco 公司，规格 10L。二甲基亚砷（DMSO）购自美国 Amresco 公司，规格 500ml。胎牛血清（FBS）购自美国 Amresco 公司，规格 100ml。3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐（MTT）购自上海碧云天生物技术有限公司，规格 500mg。实验方案：

将 GES-1 细胞种到 96 孔板中（8000 个细胞/孔，留一列空白孔，边缘孔弃用并加等体积 PBS 减少蒸发），次日将旧液吸出，加入含 10%FBS 不含双抗培养基，加入  $2 \times 10^{-5}$  的 MNNG 诱导刺激，避光培养 24h，，弃除含 MNNG 的培养液。加药组设置 7 个荷叶碱浓度梯度(0.1 $\mu$ M, 1 $\mu$ M, 10 $\mu$ M, 100 $\mu$ M, 200 $\mu$ M, 500 $\mu$ M, 1000 $\mu$ M)，每个梯度 3 个重复孔；每孔加入已配好的荷叶碱作用 48h，将旧液吸出，加入含 0.5mg/ml MTT 的完全培养基（含 10%FBS，总体积 100  $\mu$ l/孔），37℃孵育 4h，将旧液吸出，加入 100  $\mu$ l/DMSO，水平震荡仪混匀 10min 后，酶标仪检测吸光度。

#### 实验结果：

与正常对照组比较，MNNG 刺激的 GES-1 细胞活力显著增强，荷叶碱具有显著抑制 MNNG-GES-1 细胞活力的作用( $P < 0.05$ )，如图 9 所示。对实验结果进行数据处理，测得荷叶碱对胃炎癌转化细胞的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>）为 92.72 $\mu$ mol/L，如表 4、图 10 所示。体现了荷叶碱对胃炎癌转化细胞有抑制作用。

表 4：荷叶碱对胃炎癌转化细胞的生长抑制作用

| 化合物                              | 荷叶碱     |
|----------------------------------|---------|
|                                  | 胃炎癌转化细胞 |
| 半数抑制浓度 IC <sub>50</sub> (μmol/L) | 92.72   |

**实施例 6：荷叶提取物改善慢性萎缩性胃炎或胃癌前病变患者症状和客观指标**

实验方案：本实验针对慢性萎缩性胃炎伴肠化或异型增生患者，给予荷叶提取物治疗，通过调查患者相关血液指标和临床症状改善情况评估其疗效。荷叶提取物由河北晨光生物科技集团邯郸有限公司提供。依据新悉尼标准，纳入病理诊断为慢性萎缩性胃炎或伴肠上皮化生、异型增生的患者。受试者在填写知情同意书后，每天饮用荷叶提取物 1 袋(10g/袋)，每周反馈一次慢性萎缩性胃炎症状改善情况，饮用 2 个月后到医院复查并化验血液相关指标（血清胃泌素 17）。血清胃泌素 17 在胃癌发生、发展中有促进作用，当血清胃泌素 17 水平升高提示存在胃癌发生风险。血清胃泌素 17 在胃癌发生、发展中有促进作用，当血清胃泌素 17 水平升高提示存在胃癌发生风险[25]。本实验中症状统计的受试患者共 10 人。受试患者总体情况为：男性 3 人，女性 7 人；年龄为 45-50 岁 2 人，50-55 岁 1 人，60-65 岁 4 人，65-70 岁 3 人；受试前诊断为慢性萎缩性胃炎 3 人、慢性萎缩性胃炎伴肠化 3 人、慢性萎缩性胃炎伴肠化及异型增生 4 人。其中，化验血液指标患者 2 名，受试患者 1 年龄为 60 岁，性别女，受试前诊断为慢性萎缩性胃炎伴有中度肠化及轻度异型增生；受试患者 2 年龄为 52 岁，性别女，受试前诊断为慢性萎缩性胃炎。

实验结果：如表 5 所示，饮用荷叶提取物前，患者 1 血液化验指标血清胃泌素为 25.84pmol/L 偏高，饮用荷叶提取物 2 个月后该指标恢复为正常范围。患者 2 血液化验指标血清胃泌素 17 pmol/L 偏高，饮用荷叶提取物 2 个月后该指标恢复为正常范围（如表 5 所示）。如图 11 所示，通过统计受试患者在饮用荷叶提取物前后的症状情况，发现荷叶提取物能够缓解慢性萎缩性胃炎相关症状，如胃痛改善率为 100%，暖气吞酸改善率为 87.5%，胃胀改善率为 83.3%。上述实验结果表明，荷叶提取物能够有效改善慢性萎缩性胃炎伴肠化或异型增生患者的症状和客观指标。

表 5. 荷叶提取物对萎缩性胃炎或胃癌前病变患者血液指标改善情况

|            | 血清胃泌素 17 (pmol/L) |
|------------|-------------------|
| 患者 1 (饮用前) | 25.84 (偏高)        |
| 患者 1 (饮用后) | 3.71              |
| 患者 2 (饮用前) | 16.25 (偏高)        |
| 患者 2 (饮用后) | 1.99              |

以上各实施例的实验结果综合表明：荷叶碱、荷叶提取物可以有效地治疗慢性萎缩性胃炎和胃癌前病变、防止和/或阻断胃炎癌转化；而且，荷叶碱、荷叶提取物安全性好，能够保护胃黏膜损伤。由此可见，荷叶碱、荷叶提取物可以作为有效治疗慢性萎缩性胃炎、治疗胃癌前病变和/或阻断胃炎癌发生的药物、保健品和/或食品；荷叶碱、荷叶提取物可以作为有效治疗慢性萎缩性胃炎、治疗胃癌前病变和/或阻断胃炎癌发生的药物、保健品和/或食品的有效组成部分。

**参考文献:**

1. Crusz S M, Balkwill F R. Inflammation and cancer: advances and new agents. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2015, 12(10):584-96.
2. Grinberg-Bleyer Y, Ghosh S. A Novel Link between Inflammation and Cancer. *Cancer Cell*, 2016, 30(6):829-830.
3. Anand P, Kunnumakara A B, Sundaram C, et al. Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. *Pharmaceutical Research*, 2008, 25(9):2097-2116.
4. Ohata H, Kitauchi S, Yoshimura N, et al. Progression of chronic atrophic gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection increases risk of gastric cancer. *International journal of cancer*, 2004, 109(1): 138-143.
5. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *New England Journal of Medicine*, 2001, 345(11): 784-789.
6. Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2016, 66(2): 115-132.
7. 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(1):52-58.
8. Grivennikov S I, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell*, 2010, 140(6):883-899.
9. Ziech D, Franco R, Pappa A, et al. Reactive Oxygen Species (ROS)—Induced genetic and epigenetic alterations in human carcinogenesis. *Mutation Research/fundamental & Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2011, 711(1-2):167-73.
10. Denicola G M, Karreth F A, Humpton T J, et al. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis. *Nature*, 2011, 475(7354):106-9.
11. Benamouzig R, Uzzan B. Aspirin to prevent colorectal cancer: time to act?. *Lancet*, 2010, 376(9754):1713-4.
12. 朱兰镇, 李伟. 荷叶总生物碱提取物对高血脂大鼠调节血脂作用研究. *黑龙江医药*, 2010, 23(3):363-364.
13. Guo FC, Yang X, Li XX, et al. Nuciferine prevents Hepatic Steatosis and injury induced by a high-fat diet in Hamsters. *PLoS One*, 2013, 8(5):1-10.
14. 况军, 王巍. 荷叶碱对小鼠动脉粥样硬化血管炎症及基质金属蛋白酶的影响. *临床心血管病杂志*, 2015, 31(1):97-100.
15. Li MY, Xu ZT. The inhibition of dentifrice containing the lotus leaf-derived inhibitor on periodontitis-related bacteria in vitro. *Int Dent*, 2007, 57(10):303-306.
16. Liu W, Yi DD, Guo JL, et al. Nuciferine, extracted from *Nelumbo nucifera* Gaertn, inhibits tumor-promoting effect of nicotine involving Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in non-small cell lung cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 165(15): 83-93.
17. 陶波, 帅景贤, 吴凤莲. 荷叶水煎剂对高脂血症大鼠血脂及血液流变学的影响. *中医药学报*, 2000, 28(6):55-56.

18. 孔文琦, 李严巍. 荷叶活性化学成分及药理研究进展. 中药研究与信息, 2005(6):22-24.
19. 李梢, 李慧颖. 一种生物碱作为阻断炎癌转化和预防肿瘤药物的用途. 中国发明专利. ZL201310455974.4, 2018.1.8.
20. Si J, Zhou W, Wu J, et al. Establishment of an animal model of chronic atrophic gastritis and a study on the factors inducing atrophy. Chinese Medical Journal, 2001, 114(12):1323-1325.
21. Chen S, Zhong J, Zhou Q, et al. The Regenerating Gene  $I\alpha$  Is Overexpressed in Atrophic Gastritis Rats with Hypergastrinemia. Gastroenterology Research and Practice, 2011, 2011(5):403956.
22. Chauhan AK, Kang SC. Therapeutic potential and mechanism of thymol action against ethanol-induced gastric mucosal injury in rat model. 2015, 49(7):739-45.
23. Alla A, Jiang J, Tony Y.L.P. Tissue Damage-Induced Intestinal Stem Cell Division in *Drosophila*. Cell Stem Cell, 2009, 4:49-61.
24. Yang Q, Jie Z, Ye S, et al. Genetic variations in miR-27a gene decrease mature miR-27a level and reduce gastric cancer susceptibility. Oncogene, 2014, 33(2):193.
25. Sun L, Tu H, Liu J, et al. A comprehensive evaluation of fasting serum gastrin-17 as a predictor of diseased stomach in Chinese population. Scand J Gastroenterol, 2014, 49(10): 1164-1172.

## 权利要求书

1、一种物质作为制备治疗慢性萎缩性胃炎的产品的应用，其中：  
所述产品是从下列中选出的一种：

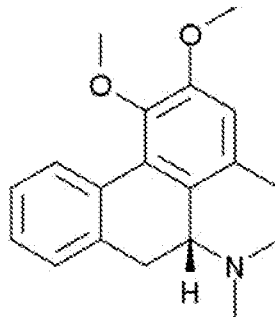
药品，  
保健品，以及  
食品

所述物质是从下列中选出的一种：

荷叶碱，  
荷叶碱的衍生物，  
荷叶提取物，  
以及

包含从荷叶碱、荷叶碱的衍生物、荷叶提取物组成的物质中选出的至少两种的混合物。

2、根据权利要求 1 所述的应用，其中，荷叶碱属于阿朴啡型生物碱类化合物，分子式为  $C_{19}H_{21}NO_2$ ，分子量为 295.38 g/mol；结构式为：



3、一种物质作为制备阻断胃炎癌转化发生的产品的应用，其中：  
所述产品是从下列中选出的一种：

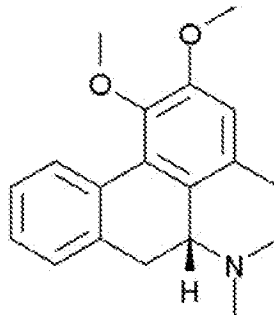
药品，  
保健品，以及  
食品，

所述物质是从下列中选出的一种：

荷叶碱，  
荷叶碱的衍生物，  
荷叶提取物，  
以及

包含从荷叶碱、荷叶碱的衍生物、荷叶提取物组成的物质中选出的至少两种的混合物。

4、根据权利要求 3 所述的应用，其中，荷叶碱属于阿朴啡型生物碱类化合物，分子式为  $C_{19}H_{21}NO_2$ ，分子量为 295.38 g/mol；结构式为：



5、一种产品，其特征在于其以从下列物质中选出的一种作为活性成分：

荷叶碱，  
荷叶碱的衍生物，  
荷叶提取物，  
以及

包含从荷叶碱、荷叶碱的衍生物、荷叶提取物组成的物质中选出的至少两种的混合物，并含有其他辅料，其中所述产品为选自药品、保健品、食品的一种。

6、根据权利要求 5 所述的产品，其中，所述产品用于治疗慢性萎缩性胃炎、保护胃黏膜、阻断胃炎癌转化、治疗胃癌前病变、阻止胃癌的发生中的至少一种。

7、根据权利要求 5-6 之一所述的产品，其中，所述药品、保健品、食品的剂型是从片剂、胶囊、丸剂、针剂、缓释剂、控释剂、粉剂、饮料等剂型中选出的一种。

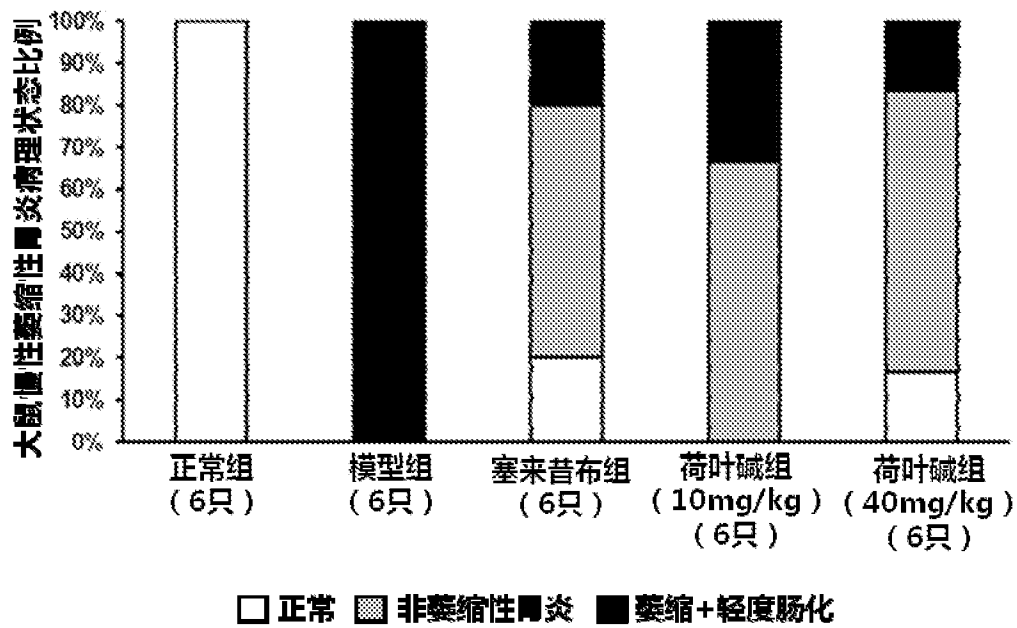


图 1

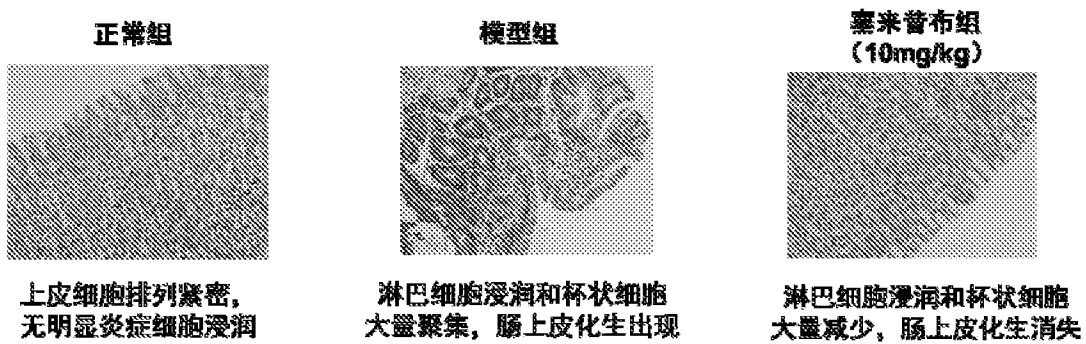


图 2A

图 2B

图 2C

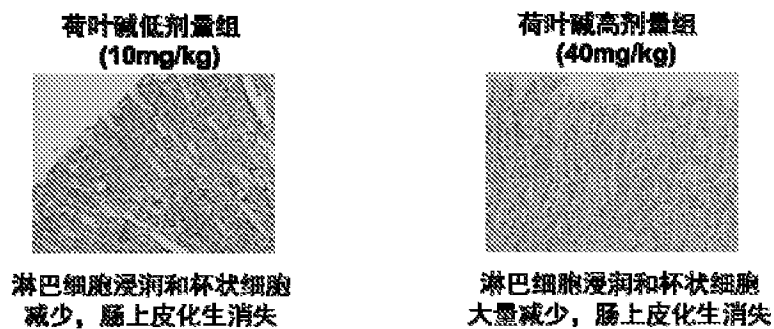


图 2D

图 2E

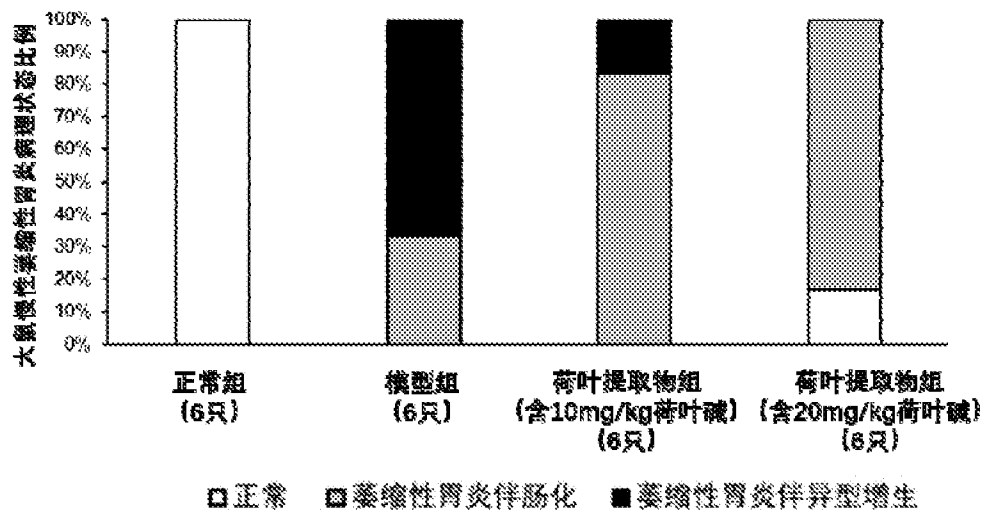
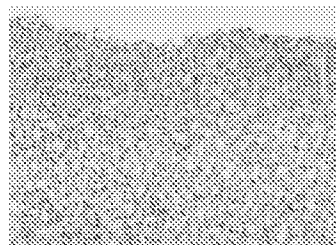


图 3

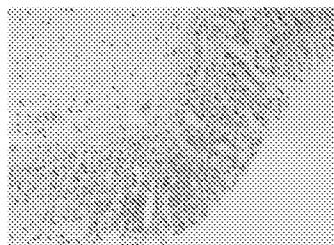
正常组



上皮细胞排列紧密，  
无明显糜烂溃疡形成

图 4A

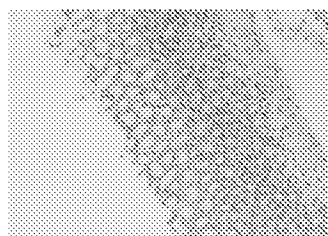
模型组



局灶间质出血，大量杯状  
细胞聚集，中度异型增生

图 4B

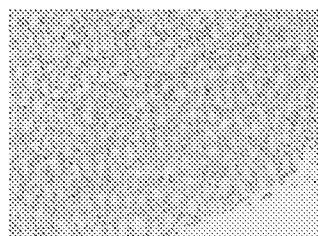
荷叶提取物低剂量组  
(含10mg/kg荷叶碱)



少量淋巴细胞聚集和嗜酸性  
粒细胞浸润，异型增生消失

图 4C

荷叶提取物高剂量组  
(含20mg/kg荷叶碱)



少量嗜酸性粒细胞浸润，  
异型增生消失

图 4D

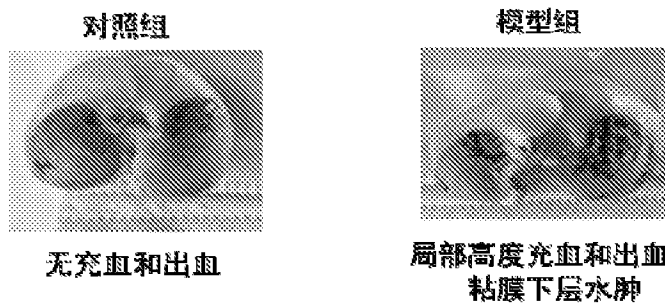


图 5A

图 5B

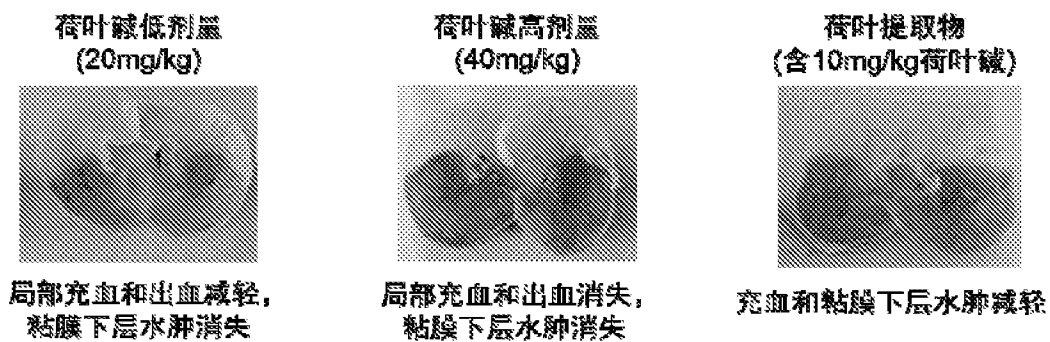


图 5C

图 5D

图 5E

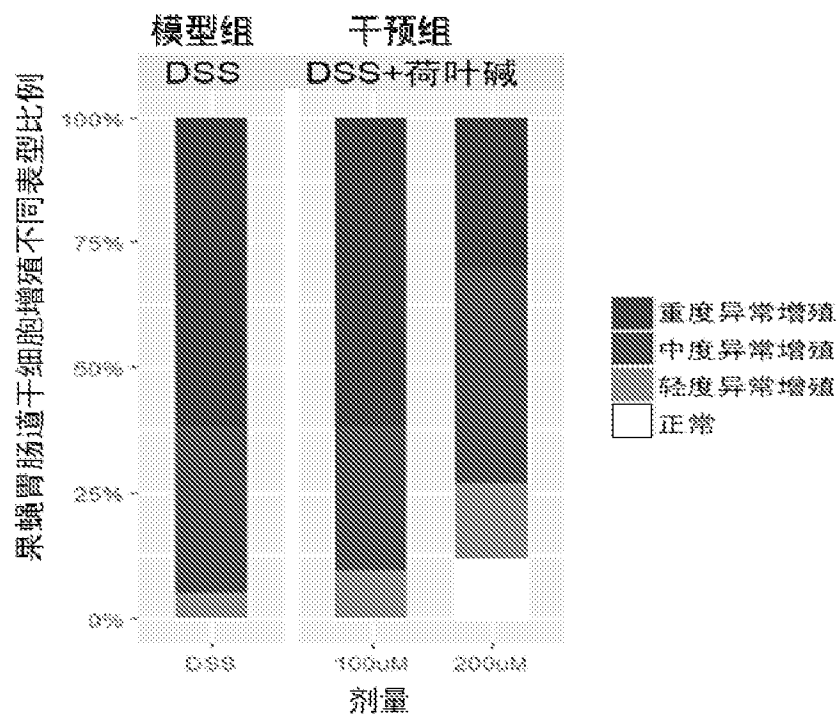


图 6

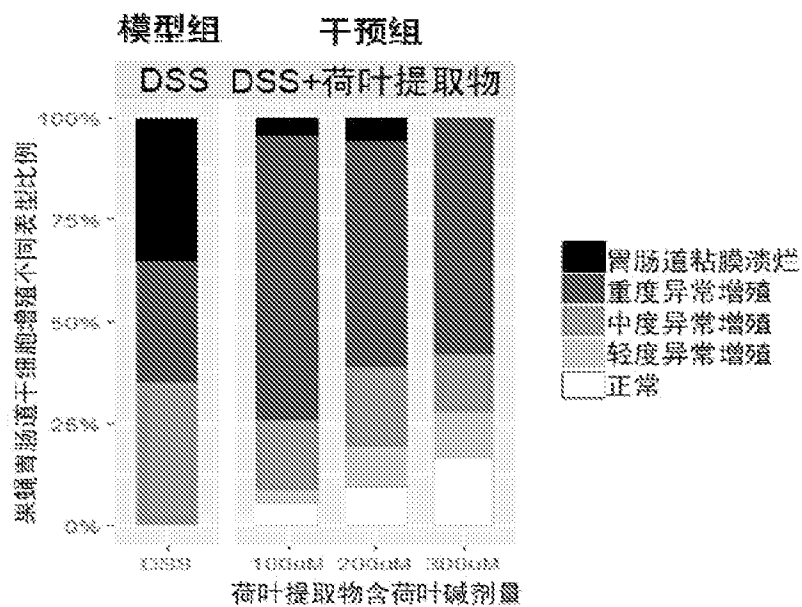


图 7

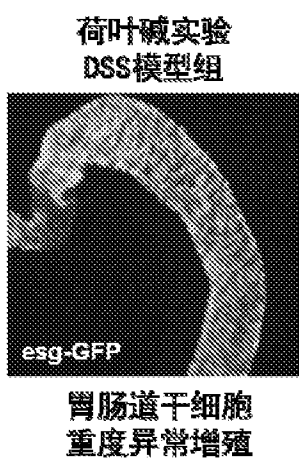


图 8A

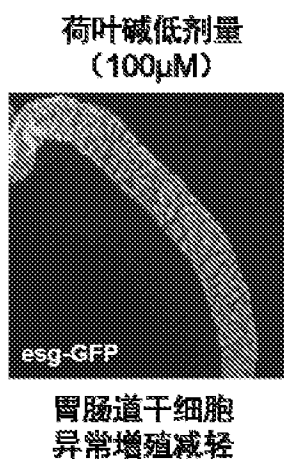


图 8B

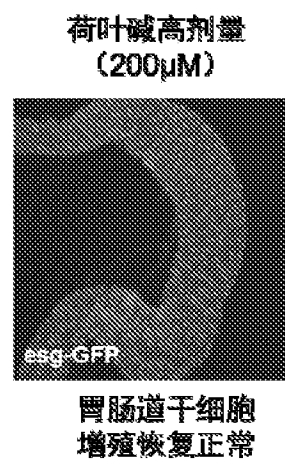


图 8C

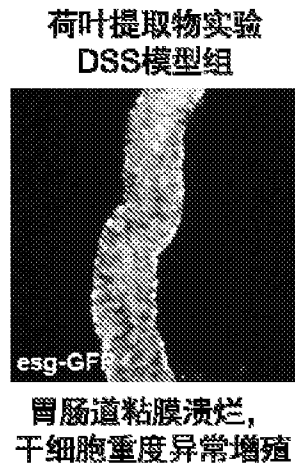


图 8D

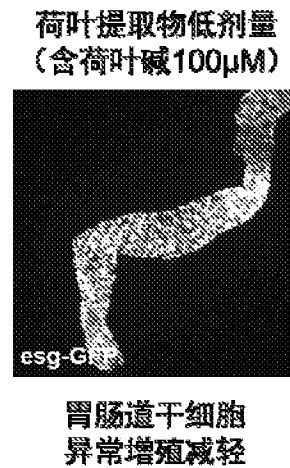


图 8E

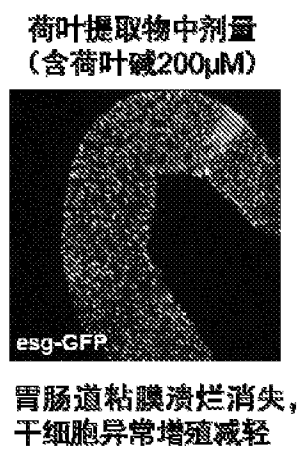


图 8F

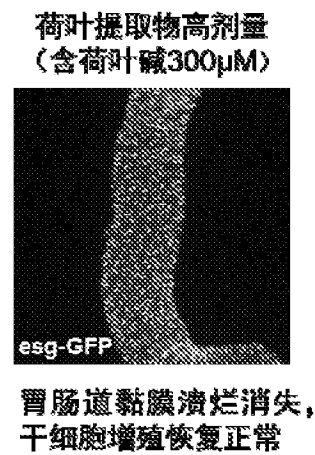


图 8G

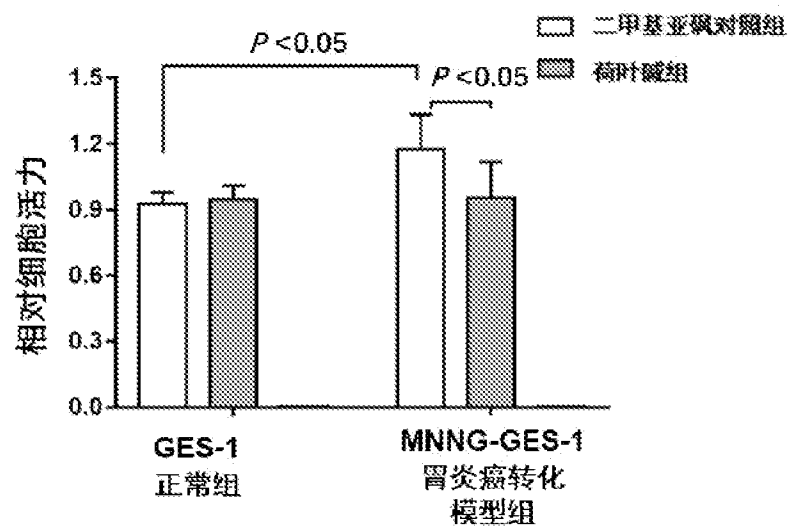


图 9

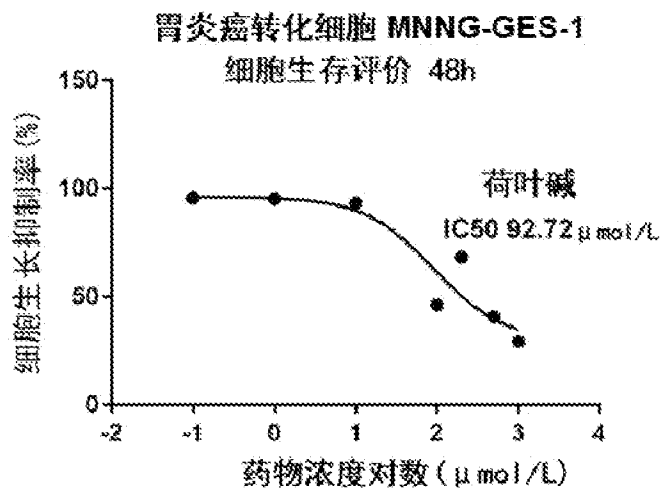


图 10

荷叶提取物对慢性胃炎伴肠化或异型增生患者症状改善情况

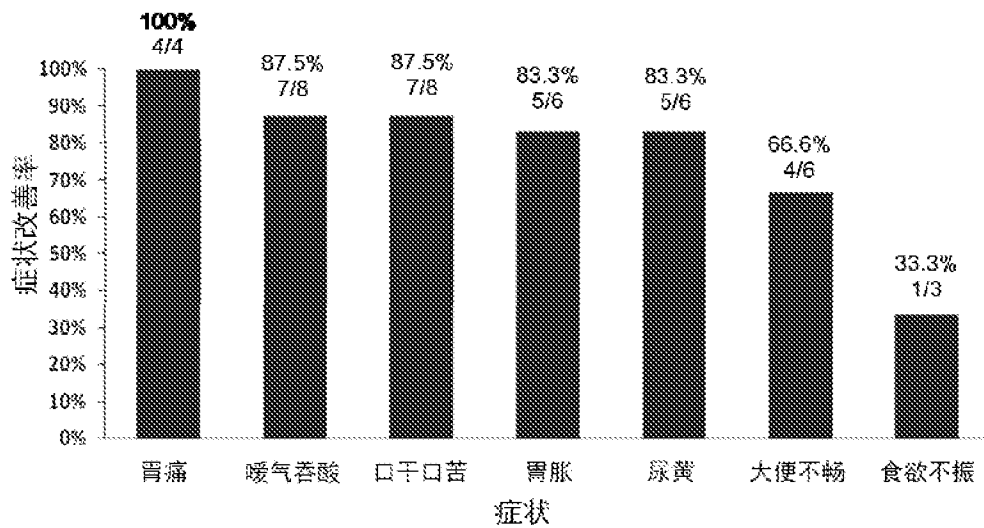


图 11

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/104997

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

A61K 31/473(2006.01)i; A61K 36/62(2006.01)i; A61P 1/04(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A23L 33/105(2016.01)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 A23L

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, VEN (DWPI+SIPOABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, 中国药物专利数据库, China Medicine Patent Database, CNKI, 百度学术搜索, BAIDU SCHOLARSEARCH, 超星读秀学术(CN), 万方(CN), Medline, ISI-WEB OF SCIENCE, EMBASE, CHEMICAL ABSTRACTS, STN: 荷叶碱, 胃, nuciferine, gastritis, stomach cancer, gastric carcinoma

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | CN 101712649 A (LANZHOU UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 26 May 2010 (2010-05-26)<br>description, paragraphs [0006] and [0007]                                                                           | 5-7                   |
| A         | CN 101712649 A (LANZHOU UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 26 May 2010 (2010-05-26)<br>description, paragraphs [0006] and [0007]                                                                           | 1-4                   |
| X         | 戴淳等 (DAI, Zhun et al.). "荷叶碱的药理作用研究进展 (Research Advances in Pharmacological Effects of Nuciferine)"<br>中国药师 (CHINA PHARMACIST), Vol. 19, No. 5, 31 December 2016 (2016-12-31),<br>entire document | 5-7                   |
| A         | 戴淳等 (DAI, Zhun et al.). "荷叶碱的药理作用研究进展 (Research Advances in Pharmacological Effects of Nuciferine)"<br>中国药师 (CHINA PHARMACIST), Vol. 19, No. 5, 31 December 2016 (2016-12-31),<br>entire document | 1-4                   |
| PX        | CN 110123815 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 16 August 2019 (2019-08-16)<br>entire document                                                                                                               | 1-7                   |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"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

"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)

"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

"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

"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

"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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 November 2019

Date of mailing of the international search report

12 December 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/  
CN)  
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing  
100088  
China

Authorized officer

Facsimile No. (86-10)62019451

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2019/104997**

| Patent document<br>cited in search report |           |   | Publication date<br>(day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date<br>(day/month/year) |
|-------------------------------------------|-----------|---|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| CN                                        | 101712649 | A | 26 May 2010                          | CN 101712649 B          | 30 March 2011                        |
| CN                                        | 110123815 | A | 16 August 2019                       | None                    |                                      |

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/104997

## A. 主题的分类

A61K 31/473(2006.01)i; A61K 36/62(2006.01)i; A61P 1/04(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A23L 33/105(2016.01)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 A23L

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, VEN(DWPI+SIP0ABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, 中国药物专利数据库, CNKI, 百度学术搜索, 超星读秀学术(CN), 万方(CN), Medline, ISI-WEB OF SCIENCE, EMBASE, CHEMICAL ABSTRACTS, STN:荷叶碱, 胃, nuciferine, gastritis, stomach cancer, gastric carcinoma

## 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    | CN 101712649 A (兰州理工大学) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26)<br>说明书第[0006] - [0007]段   | 5-7     |
| A    | CN 101712649 A (兰州理工大学) 2010年 5月 26日 (2010 - 05 - 26)<br>说明书第[0006] - [0007]段   | 1-4     |
| X    | 戴淳等. "荷叶碱的药理作用研究进展"<br>《中国药师》, 第19卷, 第5期, 2016年 12月 31日 (2016 - 12 - 31),<br>全文 | 5-7     |
| A    | 戴淳等. "荷叶碱的药理作用研究进展"<br>《中国药师》, 第19卷, 第5期, 2016年 12月 31日 (2016 - 12 - 31),<br>全文 | 1-4     |
| PX   | CN 110123815 A (清华大学) 2019年 8月 16日 (2019 - 08 - 16)<br>全文                       | 1-7     |

☐ 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

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“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)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“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

“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

“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

“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

“&amp;” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2019年 11月 20日

国际检索报告邮寄日期

2019年 12月 12日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

吕青

传真号 (86-10)62019451

电话号码 62411198

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2019/104997

| 检索报告引用的专利文件 |           |   | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利           | 公布日<br>(年/月/日) |
|-------------|-----------|---|----------------|----------------|----------------|
| CN          | 101712649 | A | 2010年 5月 26日   | CN 101712649 B | 2011年 3月 30日   |
| CN          | 110123815 | A | 2019年 8月 16日   | 无              |                |