



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104825922 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 12

(21) 申请号 201510254002. 8

(22) 申请日 2015. 05. 18

(71) 申请人 南京中医药大学

地址 210046 江苏省南京市栖霞区仙林大道
138 号

(72) 发明人 程海波 周仲璞 沈卫星 李柳
孙东东 徐长亮 谭佳妮 沈政洁
吴东东

(74) 专利代理机构 江苏圣典律师事务所 32237
代理人 贺翔

(51) Int. Cl.

A61K 36/8994(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

具有抗结直肠癌活性的中药组合物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物及其制备方法和其应用,该中药组合物由潞党参 15 ~ 45 份,椿根白皮 15 ~ 45 份,白术 10 ~ 30 份,薏苡仁 15 ~ 45 份,鸡血藤 15 ~ 45 份,仙鹤草 15 ~ 30 份制成。本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,配比科学合理,用药严谨。实验结果表明对结直肠癌细胞具有强的杀灭作用,并可促进肿瘤坏死因子的产生,提高肿瘤患者免疫力,且安全性高,毒副作用低。本发明提供的制备方法,质量稳定,提取有效成分含量高,可操作性强,适合工业化大生产。

1. 一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物,其特征在于,它由下列重量份数的原料药制成:

潞党参 15 ~ 45 份,椿根白皮 15 ~ 45 份,白术 10 ~ 30 份,薏苡仁 15 ~ 45 份,鸡血藤 15 ~ 45 份,仙鹤草 15 ~ 30 份。

2. 根据权利要求 1 所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,其特征在于,它由下列重量份数的原料药制成:潞党参 15 ~ 30 份,椿根白皮 15 ~ 30 份,白术 10 ~ 20 份,薏苡仁 15 ~ 30 份,鸡血藤 15 ~ 30 份,仙鹤草 15 ~ 20 份。

3. 根据权利要求 2 所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,其特征在于,它由下列重量份数的原料药制成:潞党参 15 份,椿根白皮 15 份,白术 10 份,薏苡仁 15 份,鸡血藤 15 份,仙鹤草 15 份。

4. 根据权利要求 1 至 3 任一项所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,其特征在于,将各原料药的提取物和药学上可接受的载体制备成口服液、颗粒剂、胶囊剂或片剂剂型的药物。

5. 权利要求 1 至 3 任一项所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 按权利要求 1 至 3 任一项所述的重量份数取潞党参,椿根白皮,白术,薏苡仁,鸡血藤,仙鹤草,加入总药材重量 6 ~ 15 倍体积量的 60 ~ 80% 乙醇,超声,回流或者连续回流提取 2 ~ 3 次,每次 1~3 小时,合并提取液,60 ~ 70 摄氏度下减压浓缩,得浓缩物上大孔吸附树脂柱,先用水洗脱,然后依次用体积浓度为 20% ~ 80% 乙醇洗脱;收集合并体积浓度为 70% 的乙醇洗脱液,浓缩得提取物;

(2) 取步骤 (1) 得到的提取物和药学上可接受的载体制备成口服液、颗粒剂、胶囊剂或片剂剂型的药物。

6. 权利要求 5 所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述的大孔吸附树脂为 D101 树脂。

7. 权利要求 1 至 3 任一项所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物在制备抗结直肠癌药物中的应用。

具有抗结直肠癌活性的中药组合物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种中药,具体涉及一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 结、直肠癌是我国常见的恶性肿瘤。占我国恶性肿瘤的第四位,并有上升的趋势。中国人结、直肠癌与西方人比较有 3 个流行病学特点:①直肠癌比结肠癌发病率高,约 1.5 : 1;②低位直肠癌在直肠癌中所占比例高,约占 75%,大多数直肠癌可在直肠指检时触及;③青年人(<30 岁)患者比例较高,约占 15%。但近几十年来,随着人民生活水平的提高及饮食结构的改变,结肠癌比例亦逐渐增多。大肠癌的治疗以手术切除癌肿为首选,辅之以放射治疗、化疗药物治疗及中医药治疗等,最近不少学者对早期大肠癌采用经内镜下切除治疗,也取得较好疗效。

[0003] 临床上目前治疗结直肠癌的药物主要是化学药品,但由于化疗药物毒性大,在杀死肿瘤细胞的同时也无选择性的杀死白细胞、淋巴细胞等人体自身免疫细胞,导致病人常常由于因自身免疫能力低下并发感染,患者使用不良反应大,且疗程长,费用高,在临床使用中较大的局限性。

[0004] 中医药在治疗肿瘤方面具有独特的优势,以中药为代表的天然类药物具有毒副作用小、作用靶点多样、耐受性好等特点,在治疗肿瘤方面愈来愈受到重视。但是目前报道的抗结直肠癌药物用药量较大,杂质成分较多,起效较慢。

[0005] 因此,研究开发一种抗肿瘤效果好,用药量少,对结直肠癌具有很好的治疗效果,并且不良反应低的抗肿瘤中成药具有重要意义。

发明内容

[0006] 发明目的:本发明的目的是解决现有技术的不足,提供一种配比科学合理,抗结直肠癌疗效确切,临床使用安全,不良反应低的中药组合物,本发明另一个目的是提供该具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法及其在制备治疗结直肠癌药物中的应用。

[0007] 技术方案:为了实现以上目的,本发明采取的技术方案为:

[0008] 一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物,它由下列重量份数的原料药制成:

[0009] 潞党参 15 ~ 45 份,椿根白皮 15 ~ 45 份,白术 10 ~ 30 份,薏苡仁 15 ~ 45 份,鸡血藤 15 ~ 45 份,仙鹤草 15 ~ 30 份。

[0010] 作为优选方案,以上所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,它由下列重量份数的原料药制成:潞党参 15 ~ 30 份,椿根白皮 15 ~ 30 份,白术 10 ~ 20 份,薏苡仁 15 ~ 30 份,鸡血藤 15 ~ 30 份,仙鹤草 15 ~ 20 份。

[0011] 作为优选方案,以上所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,它由下列重量份数的原料药制成:潞党参 15 份,椿根白皮 15 份,白术 10 份,薏苡仁 15 份,鸡血藤 15 份,仙鹤草 15 份。

[0012] 作为优选方案,以上所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,将各原料药的提取物和药学上可接受的载体制备成口服液、颗粒剂、胶囊剂或片剂剂型的药物。

[0013] 本发明所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法,其包括以下步骤:

[0014] (1) 按重量份数取潞党参,椿根白皮,白术,薏苡仁,鸡血藤,仙鹤草,加入总药材重量 6 ~ 15 倍体积量的 60 ~ 80%乙醇,超声,回流或者连续回流提取 2 ~ 3 次,每次 1 ~ 3 小时,合并提取液,60 ~ 70 摄氏度下减压浓缩,得浓缩物上大孔吸附树脂柱,先用水洗脱,然后依次用体积浓度为 20% ~ 80%乙醇洗脱;收集合并体积浓度为 70%的乙醇洗脱液,浓缩得提取物;

[0015] (2) 取步骤(1)得到的提取物和药学上可接受的载体制备成口服液、颗粒剂、胶囊剂或片剂剂型的药物。

[0016] 作为优选方案,以上所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法,步骤(1)所述的大孔吸附树脂为 D101 树脂。

[0017] 本发明所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物在制备抗结直肠癌药物中的应用。

[0018] 将本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的各原料的提取物制成口服液时,将各原料的提取物加蒸馏水溶解,过滤,加入糖浆,调节 pH 值,制成口服液。

[0019] 将本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的各原料的提取物制成片剂时,把各原料的提取物和乳糖或玉米淀粉,需要时加入润滑剂硬脂酸镁,混合均匀,整粒,然后压片制成片剂。

[0020] 本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的各原料的提取物制成胶囊剂时把各原料的提取物和载体乳糖或玉米淀粉混合均匀,整粒,然后装胶囊制成胶囊剂。

[0021] 本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的各原料的提取物制成颗粒剂时,把各原料的提取物和稀释剂乳糖或玉米淀粉混合均匀,整粒,干燥,制成颗粒剂。

[0022] 本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物,潞党参味甘,性平;归脾、肺经;质润气和,具有健脾补肺,益气养血生津,主治脾胃虚弱,食少便溏,倦怠乏力,肺虚喘咳,可增强身体抵抗力、降低血压、养血、补中益气、治疗胃溃疡。

[0023] 椿根白皮苦,涩,微寒,入大肠经,具有除热,燥湿,涩肠,止血,杀虫功效。主治久泻,久痢,肠风便血,崩漏带下。

[0024] 白术性味:苦、甘,温。归经:脾经;胃经。功效:健脾益气;燥湿利水;止汗;安胎。主治:脾气虚弱;神疲乏力;食少少腹胀;大便溏薄;水饮内停。

[0025] 薏苡仁性味:甘、淡,凉。归经:归脾经、胃经、肺经;功效:利水药;渗湿利尿。主治:水肿、小便淋沥、湿温病、泄泻带下、风湿痹痛、筋脉拘挛、肺痈、肠痈、扁平疣。

[0026] 鸡血藤性味:味苦;微甘;性温。归经:心经;脾经。功效:活血舒筋;养血调经。主治:手足麻木;肢体瘫痪;风湿痹痛;妇女有经不调;痛经;闭经。

[0027] 仙鹤草性味:味苦、涩,性平。归经:肺经;肝经;脾经。具有收敛止血,止痢,高效。主治:咯血;吐血;尿血;便血;赤白痢疾;创伤出血。

[0028] 本发明根据中医药理论,采用辨证论治,通过大量实验筛选出药味组成,以上诸药合用具有很好的抗癌解毒、燥湿、益气养阴,对结直肠癌具有很好的防治效果。

[0029] 有益效果:本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物和现有技术相比具有

以下优点：

[0030] 1、本发明根据中医药理论，针对结直肠癌发病特点，采用辨证论治的理论进行中药组方筛选，提供的中药组合物配比科学合理，具有很好的抗癌解毒、活血燥湿、益气养阴等功效。实验结果表明，本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物具有很好的抑制结直肠癌细胞生长和能促进结直肠癌肿瘤细胞凋亡的作用。

[0031] 2、实验结果表明本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物具有扶正培本和免疫功能促进作用，且可促进肿瘤坏死因子（INF）的产生，发挥多靶点，多器官治疗肿瘤的作用，可减少肿瘤患者痛苦，延长生存期，提高患者生存质量的作用，且经长期实验研究表明，本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物安全性高，毒副作用低。

[0032] 3、本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的提取物可以方便和药学载体制备成多种剂型，临床上服用方便；同时本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法，可操作性强，尤其是根据各味药物有效成分化学性质设计提取精制工艺，得到的提取物有效成分含量高，杂质少，且具有吸收快、能迅速发挥药效，临床上用药量少等优点，且工艺稳定，适合工业化大生产。

具体实施方式

[0033] 下面结合具体实施例进一步阐明本发明，应理解这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围，在阅读了本发明之后，本领域技术人员对本发明的各种等价形式的修改均落于本申请所附权利要求所限定的范围。

[0034] 实施列 1

[0035] 1. 一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物，它由下列重量份数的原料药制成：潞党参 15 克，椿根白皮 15 克，白术 10 克，薏苡仁 15 克，鸡血藤 15 克，仙鹤草 15 克。

[0036] 2. 本发明所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法，其包括以下步骤：

[0037] (1) 按重量份数取潞党参 15 克，椿根白皮 15 克，白术 10 克，薏苡仁 15 克，鸡血藤 15 克，仙鹤草 15 克，加入总药材重量 12 倍体积量的 80% 乙醇，连续回流提取 2 次，每次 2 小时，合并提取液，60 ~ 70 摄氏度下减压浓缩，得浓缩物上大孔吸附树脂柱，先用水洗脱，然后依次用体积浓度为 20% ~ 80% 乙醇洗脱；收集合并体积浓度为 70% 的乙醇洗脱液，浓缩得提取物；

[0038] (2) 取步骤 (1) 得到的提取物，加入乳糖，玉米淀粉混合均匀，加入润滑剂硬脂酸镁，混合均匀，整粒，然后压片制成片剂。（批号：001）

[0039] 实施列 2

[0040] 1. 一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物，它由下列重量份数的原料药制成：潞党参 30 克，椿根白皮 30 克，白术 20 克，薏苡仁 30 克，鸡血藤 30 克，仙鹤草 30 克。

[0041] 2. 本发明所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法，其包括以下步骤：

[0042] (1) 按重量份数取潞党参 30 克，椿根白皮 30 克，白术 20 克，薏苡仁 30 克，鸡血藤 30 克，仙鹤草 30 克，加入总药材重量 10 倍体积量的 60% 乙醇，回流提取 2 次，每次 1 小时，合并提取液，60 ~ 70 摄氏度下减压浓缩，得浓缩物上大孔吸附树脂柱，先用水洗脱，然后依

次用体积浓度为 20%~80%乙醇洗脱;收集合并体积浓度为 70%的乙醇洗脱液,浓缩得提取物;

[0043] (2) 取步骤(1)得到的提取物,然后加入稀释剂乳糖或玉米淀粉混合均匀,整粒,干燥,制成颗粒剂。(批号:002)

[0044] 实施列 3

[0045] 1. 一种具有抗结直肠癌活性的中药组合物,它由下列重量份数的原料药制成:潞党参 45 克,椿根白皮 45 克,白术 30 克,薏苡仁 45 克,鸡血藤 45 克,仙鹤草 45 克。

[0046] 2. 本发明所述的具有抗结直肠癌活性的中药组合物的制备方法,其包括以下步骤:

[0047] (1) 按重量份数取潞党参 45 克,椿根白皮 45 克,白术 30 克,薏苡仁 45 克,鸡血藤 45 克,仙鹤草 45 克,加入总药材重量 12 倍体积量的 60%乙醇,超声提取 2 次,每次 2 小时,合并提取液,60~70 摄氏度下减压浓缩,得浓缩物上大孔吸附树脂柱,先用水洗脱,然后依次用体积浓度为 20%~80%乙醇洗脱;收集合并体积浓度为 70%的乙醇洗脱液,浓缩得提取物;

[0048] (2) 取步骤(1)得到的提取物,然后和乳糖,玉米淀粉混合均与,整粒,然后装胶囊制成胶囊剂。(批号:003)

[0049] 实施列 4 抗结直肠癌实验研究

[0050] (1) 对裸鼠体内人直肠癌的抑制作用

[0051] 取瘤源裸鼠,取出瘤组织,切成 0.3-0.4mm 的小块,将瘤组织接种在裸鼠的背部皮下,共接种 20 只,于接种后 24 天,随机分成治疗组(本发明提供的具有抗肿瘤活性的中药组合物,批号 001,灌胃给药,3g/kg)和空白组(等容量生理盐水),每组 10 只,连续用药 21 天,于末次给药后 24h 处死动物,剖取瘤组织称重,计算抑制率(%),具体实验结果见表 1。

[0052] 表 1 对裸鼠体内人肠粘液腺癌的抑制作用

[0053]

组别	动物数 (n)	瘤重 ($\bar{x}\pm SD$:g)	抑制率 (%)	P 值
空白组	10	1.73±0.04		
治疗组	10	0.51±0.03	70.52	<0.01

[0054] (2) 体外抗人结直肠癌实验

[0055] 细胞株:人结直肠癌细胞株 SW480;96 孔板购自 Costar 公司;RPMI1640 培养基购自 Gibco 公司;DMEM 培养基购自 Gibco 公司;新生牛血清购自杭州四季青公司;噻唑蓝 (MTT) 和 DMSO 购自 Amresco 公司。

[0056] 以下实施例所使用的实验仪器如下:

[0057] 实验仪器:超净工作台(苏州净化型号 SW-CJ-IFD),CO₂培养箱(SANYO 型号:XD-101),酶标仪 BIO-RAD (Model NO. 550 Serial NO. 16971)。

[0058] 以下实施例所使用的实验方法如下:

[0059] 实验方法:使用改良 MTT 法对本发明实施例 1 制备得到的中药组合物进行体外抗

结直肠癌细胞实验：将人结直肠癌细胞 SW480 用胰酶进行消化、计数、制成浓度为 5×10^4 个/ml 的细胞悬液。将 96 孔板中每孔加入 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液（每孔 5×10^3 个细胞），然后置于 37°C ，5% CO_2 培养箱中培养 24 小时；用非完全培养基稀释药物至所需的梯度浓度，每孔加入 $100 \mu\text{L}$ 相应的含药培养基，同时设立阴性对照组，溶媒对照组和阳性对照组，再将 96 孔板置于 37°C ，5% CO_2 培养箱中培养 72 小时。然后每孔加入 $20 \mu\text{L}$ MTT ($5\text{mg}/\text{ml}$)，继续培养 4 小时，终止培养，弃去培养基，每孔加入 $150 \mu\text{L}$ DMSO 溶解，摇床 10 分钟轻轻混匀。在 $\lambda = 4570\text{nm}$ 、 620nm 两波长下用酶标仪检测每孔的吸光度即 OD 值，以各复孔的平均值作为该组细胞的 OD 值，计算各药物的抑制率。

[0060] 实验结果显示本发明实施例 1 制备得到的中药组合物，对人结直肠癌细胞均具有较强的抑制作用，各剂量组呈现了较好的量效关系。实验结果如表 2 所示。

[0061] 表 2 对人结直肠癌细胞的作用结果

[0062]

组别		OD	抑制率
阴性对照组		0.387	--
溶媒对照组 (0.1% DMSO)		0.382	0.70%
实施例 1 中药组合物	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.141	63.57%
	5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.152	60.73%
	1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.161	58.40%

[0063] 由以上实验结果表明：本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物对人结直肠癌裸鼠体内移植具有明显的抑制作用，体外具有明显抑制人结直肠癌细胞生长的作用。表明本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物具有很强的抗结直肠癌的作用，可以用于结直肠癌疾病的治疗。

[0064] 实施例 5 具有抗结直肠癌活性的中药组合物对免疫调节作用的实验

[0065] (1) 对小鼠 IgA、IgG、IgM 含量的影响

[0066] 实验方法：取 ICR 小白鼠 36 只，体重 18 ~ 22g，随机分为正常对照组，荷瘤对照组和治疗组，常规接种结直肠癌细胞 SW480，接种后 24 小时，治疗组灌服本发明实施例 1 具有抗结直肠癌活性的中药组合物（批号 001） $0.3\text{ml}/\text{只}$ ($2\text{g}/\text{kg}$)，第 15 天小白鼠眼球采血。测定 IgA、IgG、IgM 含量，具体实验结果见表 3。

[0067] 表 3 对小鼠 IgA、IgG、IgM 含量的影响 (mg/dl $\bar{X} \pm \text{SD}$)

[0068]

组别	动物数(N)	IgA	IgG	IgM
正常对照组	12	88 \pm 2.2	863 \pm 10	79 \pm 2.1
荷瘤对照组	12	*60 \pm 2.5	*521 \pm 13	*53 \pm 2.2
治疗组	12	**78 \pm 2.1	**773 \pm 11	**67 \pm 2.0

[0069] *P<0.01(与正常对照组比较)**P<0.05(与荷瘤对照组比较)

[0070] 由以上表3的实验结果表明:接种结直肠癌的小鼠,免疫球蛋白IgA、IgG、IgM含量明显低于正常对照小鼠;本发明具有抗结直肠癌活性的中药组合物可以明显提高小鼠已经低下的IgA、IgG、IgM含量,表明本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物具有免疫促进作用,可以提高肿瘤患者自身的免疫功能。

[0071] (2)对肿瘤坏死因子(INF)诱生的提高作用

[0072] 实验方法:取Wistar大白鼠24只,随机分为对照组和治疗组,每只动物均腹腔注射10mg卡介苗,第15天腹腔内注射80 μ gLPS,90分钟后采血。治疗组灌服本发明实施例1具有抗结直肠癌活性的中药组合物2ml/只(批号001,2g/kg),连续14天,对照组灌服等容量生理盐水。

[0073] 取待测血清,稀释成不同浓度;靶细胞L929用10%小牛血清、RPM1-1640培养液调整为 2×10^6 /ml细胞,加入96孔细胞培养板中;100 μ l/孔,再加不同稀释倍数的待测血清100 μ l/孔;置37 $^{\circ}$ C,5%CO₂培养箱中培养18小时。结果判定:以50%靶细胞死亡的最大稀释倍数为INF效价。具体结果见表4。

[0074] 表4对大鼠INF诱生的促进作用

[0075]

组别	动物数(n)	INF效价(μ /ml)	P值
正常对照组	12	361	
治疗组	12	652	<0.001

[0076] *P<0.001(与正常对照组比较)

[0077] 由表4实验结果表明:本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物能够明显促进INF的诱生,(P<0.001),说明本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物可通过诱生肿瘤坏死因子INF来达到抗肿瘤的目的。

[0078] 由以上实验结果表明,本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物对结直肠癌患者的免疫功能具有提高作用,并可促进肿瘤坏死因子(INF)的产生,可以增强患者自身抗肿瘤功能。

[0079] 本发明根据中医药理论,采用辨证论治的理论进行配比组方,用药严谨,通过以上实验结果表明,本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物具有抗癌解毒、活血燥湿,益气养阴等功效,具有明显抑制结直肠癌肿瘤的生长和转移作用,且无明显毒副作用,本发明提供的具有抗结直肠癌活性的中药组合物可以用于制备抗结直肠癌的药物。

[0080] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。