

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200610006555.2

[51] Int. Cl.

A61K 31/7048 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 10 月 4 日

[11] 公开号 CN 1839865A

[22] 申请日 2006.1.16

[21] 申请号 200610006555.2

[30] 优先权

[32] 2005.2.1 [33] CN [31] 200510023724.9

[32] 2005.4.29 [33] CN [31] 200510025554.8

[71] 申请人 吴一心

地址 200051 上海市长宁区武夷路 700 弄 2  
号 1802 室

[72] 发明人 吴一心

[74] 专利代理机构 上海新天专利代理有限公司

代理人 杨 喆

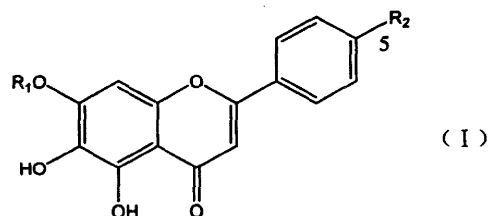
权利要求书 1 页 说明书 26 页

## [54] 发明名称

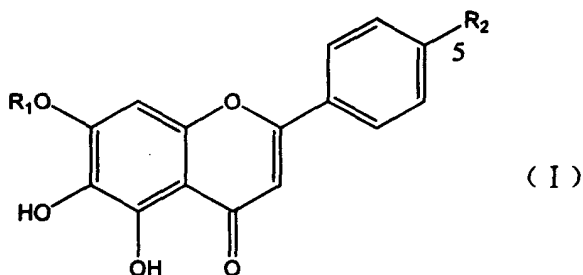
抗肿瘤的黄芩甙元和黄芩甙协同药物组合物

## [57] 摘要

本发明涉及一种具有协同抗肿瘤作用的药物组合物，该组合物含有黄芩甙元和下式(I)的化合物，其中所述黄芩甙元和式(I)化合物的摩尔浓度比为 1 : 1 至 1 : 4，其中  $R_1$  代表葡萄糖醛酸基， $R_2$  代表氢或者羟基。本发明还涉及该药物组合物的制备方法及其用途。

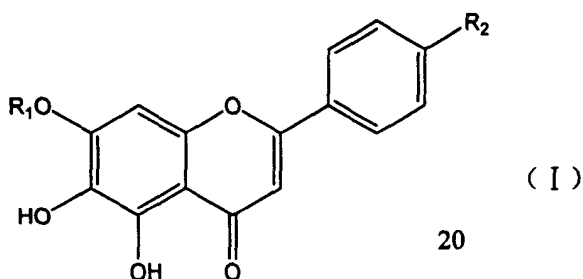


1. 具有协同抗肿瘤作用的药物组合物，该组合物包括黄芩甙元和下式 (I) 的化合物，其特征在于，所述黄芩甙元和式 (I) 化合物的摩尔浓度比为 1:1 至 1:4:



其中  $R_1$  代表葡萄糖醛酸基， $R_2$  代表氢或者羟基。

2. 权利要求 1 的药物组合物，其中所述肿瘤为实体肿瘤或血液系肿瘤。
3. 权利要求 1 的药物组合物，其中所述肿瘤选自黑色素瘤、肝癌、大肠癌、肺癌、胃癌、食道癌、乳腺癌、前列腺癌或白血病。
4. 制备权利要求 1~3 的任一药物组合物的方法，该方法包括将黄芩甙元和至少一种选自下式 (I) 的化合物混合：



其中  $R_1$  代表葡萄糖醛酸基， $R_2$  代表氢或者羟基。

5. 权利要求 4 的方法，该方法还包括加入可药用添加剂将所述混合物配制成合适的剂型。
6. 权利要求 1~3 的任一药物组合物在制备抗肿瘤药物中的用途。
7. 权利要求 6 的用途，其中所述肿瘤为实体肿瘤或血液系肿瘤。
8. 权利要求 6 的用途，其中所述肿瘤选自黑色素瘤、肝癌、大肠癌、肺癌、胃癌、食道癌、乳腺癌、前列腺癌或白血病。

## 抗肿瘤的黄芩甙元和黄芩甙协同药物组合物

## 技术领域

本发明涉及一种具有协同抗肿瘤作用的药物组合物，具体涉及一种含有黄酮类化合物的具有协同抗肿瘤作用的药物组合物。本发明还涉及该组合物的制备方法和制药用途。

## 背景技术

化疗是“化学药物治疗”的简称。目前化疗的概念一般被理解为“肿瘤的化疗”，即使用抗肿瘤化学药物，采用某些措施和方案治疗肿瘤的方法。然而，常见的化疗药物如长春新碱、顺铂、甲氨喋呤、环磷酰胺、5-氟脲嘧啶（5-Fu）等可产生注射局部疼痛、静脉栓塞、骨髓抑制、胃肠道反应、外周神经病变等毒副作用。

为减少化疗药物的毒副作用、提高疗效、减少肿瘤复发和避免抗药性的产生，选择不同的化疗药物联合使用，已成为肿瘤化疗的重要手段之一。例如，临床上将顺铂与 5-Fu、博来霉素或表鬼臼毒素等联合使用治疗食管癌。

“协同作用”（Synergistic Effect）是指两种药物联合使用时所产生的疗效大于相同剂量时两药单独使用时的疗效之和。根据中效原理（Joseph R. Bertino, Ting-Chao Chou, *Chemotherapy: Synergism and Antagonism, Encyclopedia of Cancer, 1996, Academic Press, Inc.*），两药联合使用时的作用效果可通过“联合指数”（Combination Index, CI）进行判断：

$$CI = \frac{D1}{(Dx)1} + \frac{D2}{(Dx)2} + \alpha \times \frac{D1 \times D2}{(Dx)1 \times (Dx)2}$$

其中，D1、D2 分别为药物 1 和药物 2 单独使用时，细胞增殖抑制率达到 x%时的药物浓度；(Dx)1、(Dx)2 为达到相同细胞增殖抑制率时混和物中药物 1 和药物 2 的浓度。

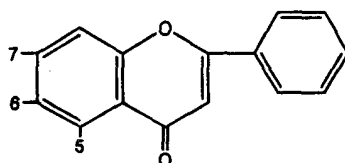
对相互独立的两种药物  $\alpha = 0$ ；而互不独立的药物  $\alpha = 1$ 。

当  $CI < 1$  时，为协同作用， $CI = 1$  时，为相加作用； $CI > 1$  时，为拮抗作用。

根据美国国立癌症研究所在 1983 年确立的抗肿瘤物质筛选的动物试验模式,用于小鼠体内移植瘤株的有:小鼠黑色素细胞瘤细胞株 B16,小鼠纤维肉瘤细胞株 M5076 等实体肿瘤(实体肿瘤)瘤株;小鼠白血病细胞株 L1210 等血液系肿瘤瘤株。故本领域的普通技术人员多采用选用某种肿瘤瘤株来作为针对移植肿瘤的动物体内试验模式:如选用小鼠黑色素细胞瘤细胞株 B16 的小鼠动物试验来作为针对实体肿瘤的动物体内试验模式;选用小鼠白血病细胞株 L1210 的小鼠动物试验来作为针对血液系肿瘤的动物体内试验模式。通过结合体内外试验结果来判断待测物质是否具有抗肿瘤作用。

中药黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)首载于《神农本草经》,又名黄文、无芩等。其药理功效味苦、性寒,功能泄实火、除湿热,具有抑菌、除热、解毒、镇静、降压、利胆等作用。

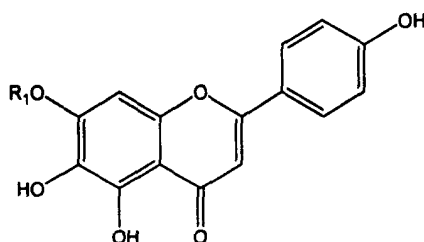
黄芩甙及黄芩甙元是黄芩根里所含的主要黄酮类化合物,两者具有相同的黄酮母体结构:



黄芩甙元是黄芩的主要活性成分之一,分子式  $C_{15}H_{10}O_5$ , 分子量 270.25。其化学结构为:黄酮母体结构上 5、6、7 三个氢基(-H)被羟基(-OH)取代。

黄芩甙的化学结构为:黄酮母体结构上 5、6 二个氢基(-H)被羟基(-OH)取代,7 位上羟基(-OH)与葡萄糖醛酸缩合,即黄芩甙元-7-O-葡萄糖醛酸,分子式  $C_{12}H_{18}O_{11}$ , 分子量 446.37。

野黄芩甙亦属于黄酮类化合物,可从半支莲等植物中提取得到。其分子量为 463, 分子式  $C_{21}H_{19}O_{12}$ , 结构式为:



25

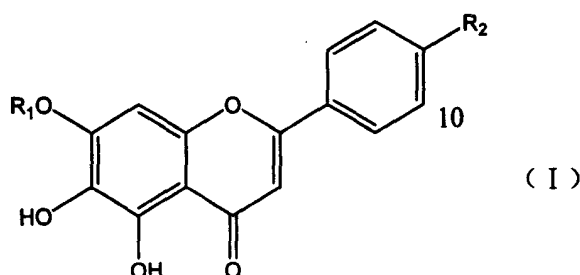
其中  $R_1$  代表葡萄糖醛酸基。

迄今未见有关黄芩甙元和黄芩甙或野黄芩甙在抗肿瘤上具有协同作用的报道。

## 发明内容

本发明的问世部分是基于这样一个发现：黄芩甙元和黄芩甙或野黄芩甙具有协同作用，含有黄芩甙元和黄芩甙或野黄芩甙的药物组合物具有增强的抗肿瘤活性，并且比仅含单一的黄芩甙元、黄芩甙或野黄芩甙的药物组合物更有效。

本发明的一个方面是涉及一种具有协同抗肿瘤作用的药物组合物，该组合物包括黄芩甙元和式（I）的化合物，其特征在于，所述黄芩甙元和式（I）化合物的摩尔浓度比为1:1至1:4：



其中  $R_1$  代表葡萄糖醛酸基， $R_2$  代表氢或者羟基；

其中所述肿瘤为实体肿瘤或血液系肿瘤；优选为黑色素瘤、肝癌、大肠癌、肺癌、胃癌、食道癌、乳腺癌、前列腺癌或白血病。

本发明的另一方面是涉及制备上述药物组合物的方法，该方法包括将黄芩甙元和至少一种选自式（I）的化合物混合；该方法还包括加入可药用添加剂将所得混合物配制成合适的剂型。

本发明还涉及上述药物组合物在制备抗肿瘤药物中的用途；

其中所述肿瘤为实体肿瘤或血液系肿瘤；优选为黑色素瘤、肝癌、大肠癌、肺癌、胃癌、食道癌、乳腺癌、前列腺癌或白血病。

本发明的具体实施方式将在以下部分阐述。本发明的其他特点、目的和优势将通过以下阐述得以彰显。

## 具体实施方式：

本发明人研究发现，当本发明的黄芩甙元与黄芩甙或野黄芩甙同时给药时，可明显提高两者的抗肿瘤活性，具有协同作用。从而可减少两者的用量，降低其毒副作用。因此，本发明的黄芩甙元与黄芩甙或野黄芩甙可用于制备抗肿瘤的具有协同作用的药物。

本发明的黄芩甙元、黄芩甙和野黄芩甙是自然存在的且可从某些植物如黄芩

(*Scutellaria baicalensis* Georgi)、半支莲等中提取得到。本发明的黄芩甙元、黄芩甙和野黄芩甙也可通过商业途径获得或者通过本领域的普通合成技术制得或者通过微生物的作用制得。用于分离或合成本发明的黄芩甙元、黄芩甙和野黄芩甙的化学药品包括溶剂、试剂、催化剂、保护基团试剂、去保护基团试剂。所述分离与合成还可以包括加入或去除适宜的保护基团以最终得到所需化合物的步骤。用于制备本发明的黄芩甙元、黄芩甙和野黄芩甙的合成化学转化和基团保护（去保护）的方法对本领域的普通技术人员来说是公知的，可参见 R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T.W. Green and P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3<sup>rd</sup> Ed., John Wiley and Sons (1999), L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); and L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995) 及其后续著作。

本发明的黄芩甙元可以和黄芩甙或野黄芩甙同时给药或者非同时给药；本发明的含有黄芩甙元和黄芩甙或野黄芩甙的药物组合物可通过肠道或者非肠道途径给药。肠道给药制剂包括丸剂、颗粒剂、胶囊剂、悬浮液或溶液。非肠道给药制剂包括注射剂、霜剂、膏剂、贴剂或喷雾剂。非肠道给药途径包括皮下、皮内、动脉、静脉、肌肉、关节、滑液、胸骨、鞘内、病灶内、颅内注射或滴注。其它给药途径可包括局部、直肠、经鼻、经颊、阴道、舌下、粘膜、气管或尿道。此外，本发明的药物组合物还可以通过气雾吸入或植入蓄积或针刺等方式给药。

本发明的药物组合物的肠道给药制剂包括但不限于胶囊、片剂、乳剂、水悬浮剂、胶体液、溶液、微胶囊、丸剂、锭剂、颗粒剂、粉剂。常用于片剂的可药用载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还会加入硬脂酸镁等润滑剂。常用于胶囊剂的可药用载体包括乳糖和干玉米淀粉。当制成口服水悬浮剂和/或乳剂时，本发明的药物组合物可悬浮或溶解于油相里并与乳化剂或悬浮剂相结合。如果需要，也可以加入一些甜味剂和/或香味剂和/或增色剂。

本发明的药物组合物可被制成无菌注射剂，如无菌水相或油相悬浮液。该悬浮液可按本领域的常规方法，使用适宜的分散剂或湿润剂（如 Tween 80）及悬浮剂等制得。其还可以是在可肠道外给药的无毒稀释剂或溶剂中的水溶液或悬浮液，如在 1, 3-丁二醇中的溶液。相关的可用载体或溶剂包括甘露醇、水、林格氏液、等渗氯化钠等。另外，无菌的固定油（bland fixed oil）常被作为溶剂或悬浮剂的媒介，因而包括合成甘油单酯或甘油二酯在内的多种柔和的固定油均适用。脂肪酸，如十八烯酸及其甘油酯衍生物（如橄榄油或蓖麻油，特别是其聚氧乙烯基衍生物）等可用于制备所述注射剂。所述油溶液或悬浮液还可

包含一种长链的乙醇稀释剂或分散剂或羧甲基纤维素或类似的其他分散剂，此类物质常用于制备可药用乳剂和/或悬浮剂。其它一些制剂常用的表面活性剂如 Tweens 或 Spans 和/或其他类似的乳化剂或生物利用度促进剂等也同样可用于制备本制剂。

本发明的药物组合物可制成栓剂通过直肠给药，方法是将本发明的药物组合物与适宜的非刺激性赋形剂混合，后者在室温下为固体而在直肠温度下为液体，因而该栓剂可溶解于直肠中并释放出活性成份。此类赋形剂包括但不限于：可可油、蜂蜡和聚乙烯。本发明的药物组合物的局部给药制剂（如油膏）可直接用于患处。此类局部制剂含有活性成份及可药用载体，后者包括但不限于：矿物油、液体石油、白石油、丙二醇、聚氧乙烯或聚氧丙烯化合物、乳化蜡或水。另外，本发明的药物组合物还可制成洗剂或油剂。适用的载体包括但不限于：矿物油、三梨醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯 60、鲸蜡酯、十六烷醇、2-十八烷醇、苯甲基乙醇或水。本发明的药物组合物还可制成灌肠剂等用于直肠局部给药。局部透皮贴剂亦在本发明的保护范围之内。本发明的药物组合物亦可经鼻喷雾或者吸入给药，即按本领域的常规方法，使用苯甲基乙醇或其他防腐剂、吸收促进剂、碳氟化合物和/或其他增溶剂或分散剂制得盐溶液。

本发明的药物组合物还可通过植入给药。采用植入给药方式可达到在给药对象体内持续，定时释放本发明的药物组合物的效果。另外，植入给药还能在局部组织和器官定位给药（Negrin et al., *Biomaterials* 22(6):563, 2001）定时释放技术亦可用于本发明的药物组合物的给药中，如基于聚合体技术的定时释药胶囊、缓释技术和制剂包裹技术（如聚合体和脂质体）等。

贴剂同样包括在本发明的保护范围之内。其包括基层（如聚合体、布、纱和绷带）和本发明的药物组合物。基层的一边可设有一保护层以防止活性成份的流出。所述贴剂还可含有一用于固定的粘合剂，后者可以是一种自然的或者合成的物质，当其于给药对象的皮肤接触时可暂时粘附于皮肤上。粘合剂可以是防水的。

“可药用载体”不会破坏本发明的药物组合物的药学活性，同时其有效用量，即能够起到药物载体作用时的用量对人体无毒。“可药用载体”包括但不限于：离子交换材料、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、自乳化药物传递系统（SEDDS）如 d- $\alpha$ -维生素 E 聚乙二醇 1000 琥珀酸酯、吐温（Tweens）或其他类似聚合介质等药物制剂用的表面活化剂、血清蛋白如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、氨基乙酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸部分甘油酯混合物、水、盐、电解质如硫酸盐精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、硅胶、硅酸镁等。聚乙烯吡咯酮、纤维素物质、聚乙烯醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、

乙烯-聚氧乙烯-嵌段聚合物和羊毛酯、环糊精如  $\alpha$ -、 $\beta$ -及  $\gamma$ -环糊精或其经化学修饰的衍生物如 2-和 3-羟丙基- $\beta$ -环糊精等羟烷基环糊精或其他可溶性衍生物等均可用于促进本发明的药物组合物的药物传递。

本发明的药物组合物所含黄芩甙元与黄芩甙或野黄芩甙协同作用的有效范围（摩尔浓度比）已通过合适的体外试验（*in vitro* assay）得以验证。WO93/23033公开了黄芩甙元与黄芩甙作为细胞凋亡诱导剂时的用量，该用量可根据给药途径、病情、患者年龄的不同作相应调整，一般口服用量为：黄芩甙或黄芩甙元100-6000毫克/日/人，分1-3次服用；非口服给药时，两者的用量可以为1-100毫克/日/人。尚未见有关野黄芩甙临床抗肿瘤剂量及其适宜的给药途径的文献报道。

本领域的普通技术人员应知如何通过本领域的常规技术，按照本发明公开的摩尔浓度比，将黄芩甙元和黄芩甙或野黄芩甙混合在一起，制备本发明的具有协同作用的抗肿瘤药物组合物。

为了便于理解本发明，特列举以下实施例。其作用应被理解为是对本发明的诠释而绝非对本发明的任何形式的限制。

#### 实施例 1 黄芩甙元联合黄芩甙在人肿瘤细胞株体外生长抑制的协同作用

将各类人肿瘤细胞株细胞悬浮在含有 10%（小）牛胎儿血清的细胞培养液中，以  $5 \times 10^3$ /孔 播种于 96 孔细胞培养盘。在培养 24 小时后，加入黄芩甙元（昆明同持医药有限公司产品）并与黄芩甙（四川超人植化开发有限公司）以不同浓度比混合加入培养液里。培养 72 小时后作 MTT 测定。用四氮唑盐（MTT）法染色并计算单用及联用黄芩甙元和黄芩甙时对细胞增殖的抑制率，用 CalcuSyn 统计软件及联合用药指数值（CI）法进行数据分析。当  $CI < 1$  时，为协同作用， $CI = 1$  时，为相加作用； $CI > 1$  时，为拮抗作用。

单独用药和联合用药时的细胞增殖抑制率，以及联合用药指数值见表 1-5

各类人肿瘤细胞株为：	人肝癌细胞株 HepG2	表 1
	人大肠 HCT116	表 2
	人肺癌细胞株 A549	表 3
	人胃癌细胞株 MKN28	表 4
	人食道癌细胞株 TE2	表 5
	人乳房癌细胞株 MCF-7	表 6
	人前列腺癌细胞株 PC3	表 7



人白血病细胞株 HL60 表 8

表 1

单剂药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	联合药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.4 $\pm$ 2	
黄元 5		34.93 $\pm$ 3	
黄元 10		50.2 $\pm$ 3	
黄元 20		58.5 $\pm$ 2.5	
黄元 40		89.18 $\pm$ 2	
黄芩甙 2.5		16.63 $\pm$ 2	
黄芩甙 5		16.8 $\pm$ 2	
黄芩甙 10		34.93 $\pm$ 3.8	
黄芩甙 20		50 $\pm$ 2.9	
黄芩甙 40		86.69 $\pm$ 3	
1:1	黄元 5+黄 5	45 $\pm$ 5	0.95
	黄元 10+黄 10	70 $\pm$ 3	0.88
	黄元 20+黄 20	97.5 $\pm$ 3	0.228
1:2	黄元 2.5+黄 5	9.64 $\pm$ 1	3.26
	黄元 5+黄 10	66.1 $\pm$ 3	0.7143
	黄元 10+黄 20	80.9 $\pm$ 2	0.7961
	黄元 20+黄 40	92.3 $\pm$ 2	0.7299
1:4	黄元 2.5+黄 10	38.43 $\pm$ 3	1.379
	黄元 5+黄 20	83.2 $\pm$ 2	0.5542
	黄元 10+黄 40	91.7 $\pm$ 2.1	0.5965

表 2

单剂药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	联合药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		5.8 $\pm$ 2	
黄元 5		20.5 $\pm$ 3	

黄元 10		29.2±3	
黄元 20		41±2.7	
黄元 40		89.15±3	
黄芩甙 2.5		17±2	
黄芩甙 5		20±3.2	
黄芩甙 10		27±3	
黄芩甙 20		33.75±3	
黄芩甙 40		90±2	
1:1	黄元 5+黄 5	32.25±3	1.15
	黄元 10+黄 10	63.45±3.2	0.88
	黄元 20+黄 20	95±1	0.31
1:2	黄元 2.5+黄 5	12.8±3.7	2.22
	黄元 5+黄 10	35.9±3	1.56
	黄元 10+黄 20	72.5±3	0.94
	黄元 20+黄 40	97±1	0.285
1:4	黄元 2.5+黄 10	29.2±2.9	1.68
	黄元 5+黄 20	60.62±3	1.17
	黄元 10+黄 40	96.71±2.1	0.2322

表 3

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率(%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		13.5±4	
黄元 5		17.18±3	
黄元 10		39.2±2	
黄元 20		63.85±3.2	
黄元 40		96.41±2	
黄芩甙 2.5		9.8±2	
黄芩甙 5		17±3	
黄芩甙 10		30.58±3.2	

黄芩甙 20		53.58±4	
黄芩甙 40		92±3	
1:1	黄元 5+黄 5	58±2	0.734
	黄元 10+黄 10	85.5±2	0.626
	黄元 20+黄 20	98±3	0.364
1:2	黄元 2.5+黄 5	15.8±3	1.742
	黄元 5+黄 10	78.3±2.2	0.54
	黄元 10+黄 20	86.03±1.95	0.8588
	黄元 20+黄 40	96.5±1	0.702
1:4	黄元 2.5+黄 10	49.55±2	0.9
	黄元 5+黄 20	96.03±1	0.295
	黄元 10+黄 40	97.2±1	0.457

表 4

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.7±3	
黄元 5		37.11±2.9	
黄元 10		53±3.2	
黄元 20		58±2	
黄元 40		77±3	
黄芩甙 2.5		5.2±2	
黄芩甙 5		12±3	
黄芩甙 10		30.2±2.9	
黄芩甙 20		62±3.2	
黄芩甙 40		85.22±2	
1:1	黄元 5+黄 5	41±3	0.95
	黄元 10+黄 10	67.8±2.2	0.853
	黄元 20+黄 20	85.7±2.3	0.815
1:2	黄元 2.5+黄 5	12±3	2.13

	黄元 5+黄 10	35.2±5	1.61
	黄元 10+黄 20	76.5±2.5	0.95
	黄元 20+黄 40	93±2	0.76
1:4	黄元 2.5+黄 10	25±3	1.76
	黄元 5+黄 20	70.7±3	0.98
	黄元 10+黄 40	95±2	0.536

表 5

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		5.5±1	
黄元 5		17.2±2.8	
黄元 10		28±2	
黄元 20		57.9±2.1	
黄元 40		85.2±2.3	
黄芩甙 2.5		6.2±1.8	
黄芩甙 5		12±3	
黄芩甙 10		28.2±2.5	
黄芩甙 20		49.8±1.78	
黄芩甙 40		72.7±2.1	
1:1	黄元 5+黄 5	18.7±2.3	1.57
	黄元 10+黄 10	47.1±2.9	1.259
	黄元 20+黄 20	81.2±2	0.87
1:2	黄元 2.5+黄 5	10.1±2	1.91
	黄元 5+黄 10	29.12±2.1	1.545
	黄元 10+黄 20	65.31±3	0.85
	黄元 20+黄 40	92±3	0.617
1:4	黄元 2.5+黄 10	7.8±1	3.89
	黄元 5+黄 20	59±3	0.99
	黄元 10+黄 40	93±2	0.428

表 6

单剂药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	联合药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.2 $\pm$ 2	
黄元 5		27.55 $\pm$ 2	
黄元 10		51 $\pm$ 3	
黄元 20		71.77 $\pm$ 2.5	
黄元 40		90.5 $\pm$ 2.5	
黄芩甙 2.5		0.5 $\pm$ 2.7	
黄芩甙 5		10.2 $\pm$ 1	
黄芩甙 10		48.02 $\pm$ 2	
黄芩甙 20		60.35 $\pm$ 3	
黄芩甙 40		90 $\pm$ 2	
1:1	黄元 5+黄 5	56.04 $\pm$ 3	0.725
	黄元 10+黄 10	88.95 $\pm$ 2	0.573
	黄元 20+黄 20	95.53 $\pm$ 1	0.711
1:2	黄元 2.5+黄 5	49.43 $\pm$ 2	0.587
	黄元 5+黄 10	80 $\pm$ 2	0.6
	黄元 10+黄 20	91.5 $\pm$ 1.5	0.762
	黄元 20+黄 40	97.7 $\pm$ 1	0.82
1:4	黄元 2.5+黄 10	68.28 $\pm$ 2.22	0.6529
	黄元 5+黄 20	89.4 $\pm$ 1	0.78
	黄元 10+黄 40	97 $\pm$ 1	0.8

表 7

单剂药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	联合药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.2 $\pm$ 5	
黄元 5		22.8 $\pm$ 6	
黄元 10		50.9 $\pm$ 5	
黄元 20		69.9 $\pm$ 5	

黄元 40		92.9±7	
黄芩甙 2.5		1±3	
黄芩甙 5		17.9±5	
黄芩甙 10		47±8	
黄芩甙 20		62±7	
黄芩甙 40		88±7	
1:1	黄元 5+黄 5	47.9±5	0.87
	黄元 10+黄 10	77±3	0.89
	黄元 20+黄 20	92±5	0.95
1:2	黄元 2.5+黄 5	45±3	0.66
	黄元 5+黄 10	72.8±5	0.73
	黄元 10+黄 20	87±3	0.92
	黄元 20+黄 40	95±5	1.1
1:4	黄元 2.5+黄 10	55.8±6	0.85
	黄元 5+黄 20	77.9±5	1
	黄元 10+黄 40	97±5	0.72

表 8

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率(%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		6.5±2	
黄元 5		21.8±3	
黄元 10		41.32±2.7	
黄元 20		67.6±3.2	
黄元 40		86.77±3.3	
黄芩甙 2.5		5±2	
黄芩甙 5		8.6±3	
黄芩甙 10		21±4	
黄芩甙 20		45.1±2.9	
黄芩甙 40		82.7±2.3	

1:1	黄元 5+黄 5	43.13±3.23	0.79
	黄元 10+黄 10	76.2±3	0.645
	黄元 20+黄 20	95±2	0.426
1:2	黄元 2.5+黄 5	10±2.5	1.81
	黄元 5+黄 10	76.5±3	0.4445
	黄元 10+黄 20	85.2±2	0.62
	黄元 20+黄 40	95±2	0.59
1:4	黄元 2.5+黄 10	40.05±3	0.929
	黄元 5+黄 20	78±2	0.66
	黄元 10+黄 40	95±3	0.465

注：黄元=黄芩甙元； 野黄=野黄芩甙；黄=黄芩甙

#### 实施例 2 黄芩甙元联合黄芩甙对移植实体肿瘤的抗肿瘤协同作用

将小鼠 B16 黑色素瘤细胞株在体外培养两代后，以  $2 \times 10^6$  细胞/只接种于实验动物雌性 C57BL/6（体重在 20 克左右）小鼠腋下皮下。接种后第二天随机分组，并按 0.1ml/10g 体重开始给药。黄芩甙元（昆明同持医药有限公司产品）与黄芩甙（四川超人植化开发有限公司）以单独给药，联合合给药等不同的给药方式分组进行抗肿瘤试验。每组的实验动物均为 10 只。给药前测定动物体重，试验第 15 日称动物体重后脱颈处死，剥取瘤块组织称重。抑瘤率的测定按计算公式：抑瘤率 =  $(1 - \text{治疗组瘤重} / \text{空白对照组瘤重}) \times 100\%$  计算瘤重抑制率和进行统计学（t 检验）处理。

试验结果见表 9

表 9

分组	剂量 mg/kg	给药日程	体重减少率 %	瘤重 (g) 均值±SD,	抑瘤率 %	动物数 (只) 始/末
对照组	—		<0	2.18±0.15		10/10
黄元	30	腹腔 1-10	<5	1.72±0.09	21.1	10/10
黄甙	25	腹腔 1-10	<5	1.81±0.1	16.97	10/10
黄甙	50	腹腔 1-10	<5	1.77±0.117	18.8	10/10

黄芩	100	腹腔 1-10	<5	1.51±0.11	30.7	10/10
黄芩	200	腹腔 1-10	<5	1.28±0.07	41.28	10/10
黄元+黄芩	30+25	各腹腔 1-10	<5	1.65±0.09	24.3* #	10/10
黄元+黄芩	30+50	各腹腔 1-10	<5	1.58±0.09	27.5** #	10/10
黄元+黄芩	30+100	各腹腔 1-10	<5	1.29±0.1	40.8** #	10/10
黄元+黄芩	30+200	各腹腔 1-10	<5	1.11±0.11	49** #	10/10
5-氟脲嘧啶	10	皮下 1-10	<5	1.35±0.1	38	10/10

黄元=黄芩元, 黄芩=黄芩

\*P<0.1 与单用黄芩元组比, \*\* P<0.01 与单用黄芩元组比

# P<0.01 与单用黄芩组比

试验结果可见黄芩元和黄芩合用时体现了明显的抗肿瘤增效作用。黄芩元+黄芩 30+50mg/kg, 黄芩元+黄芩 30+100mg/kg, 黄芩元+黄芩 30+200mg/kg 各组分别与单用黄芩元组和黄芩相比较都具有统计学上显著差异。黄芩元+黄芩 30+25mg/kg 也呈现了一定的抗肿瘤增效作用但效果不如上述的三组的明显。

从动物体重变化可以看到, 各合用组未见有任何毒性增强趋势。

黄芩元和黄芩在 1:0.5~1:4 浓度比附近的区域具有协同用药效果, 而在 1:1~1:4 浓度比附近的区域里的协同用药效果更加明显。可见动物试验结果明显地支持了体外试验的结果。

可见黄芩元和黄芩合用对实体肿瘤具有良好的协同抗肿瘤作用。

### 实施例3 黄芩元联合黄芩对移植血液肿瘤的抗肿瘤协同作用

将生长旺盛期的小鼠白血病细胞株 1210, 以  $10^5$  细胞/只接种于实验动物雌性 BDF1(体重在 20 克左右)小鼠腹腔内。接种后第二天随机分组, 并按 0.1ml/10g 体重开始给药。黄芩元(昆明同持医药有限公司产品)与黄芩(四川超人植化开发有限公司)以单独给药, 联合合给药等不同的给药方式分组进行抗肿瘤试验。每组的实验动物均为 10 只。记录动物存活时间。以小鼠生命延长率(increase of life span)的变化来判断各治疗组的疗效。生命延长率的测定按计算公式: 生命延长率=(治疗组动物生存时间/空白对照组动物生存时间-1)×100%并进行统计学(t 检验)处理。

试验结果见表 10



表 10

分组	剂量 mg/kg	给药日程	ILS (%)	动物数 (只) 始/末
对照组	—			10/10
黄元	30	腹腔 1-10	31.6	10/10
黄甙	25	腹腔 1-10	17.3	10/10
黄甙	50	腹腔 1-10	27.55	10/10
黄甙	100	腹腔 1-10	38.27	10/10
黄甙	200	腹腔 1-10	50	10/10
黄元+黄甙	30+25	各腹腔 1-10	37.2* #	10/10
黄元+黄甙	30+50	各腹腔 1-10	47.9** #	10/10
黄元+黄甙	30+100	各腹腔 1-10	55.1** #	10/10
黄元+黄甙	30+200	各腹腔 1-10	67** #	10/10
5-氟脲嘧啶	10	皮下 1-10	79	10/10

黄元=黄芩甙元，黄甙=黄芩甙

\*P<0.1 与单用黄芩甙元组比， \*\* P<0.01 与单用黄芩甙元组比

# P<0.01 与单用黄芩甙组比

试验结果可见黄芩甙元和黄芩甙合用时体现了明显的抗肿瘤增效作用。黄芩甙元+黄芩甙 30+50mg/kg，黄芩甙元+黄芩甙 30+100mg/kg，黄芩甙元+黄芩甙 30+200mg/kg 各组分别与单用黄芩甙元组和黄芩甙相比较都具有统计学上显著差异。黄芩甙元+黄芩甙 30+25mg/kg 也呈现了一定的抗肿瘤增效作用但效果不如上述的三组的明显。

黄芩甙元和黄芩甙在 1:0.5~1:4 浓度比附近的区域具有协同用药效果，而在 1:1~1:4 浓度比附近的区域里的协同用药效果更加明显。可见动物试验结果明显地支持了体外试验的结果。

可见黄芩甙元和黄芩甙合用对实体肿瘤具有良好的协同抗肿瘤作用。

实施例 4 黄芩甙元联合野黄芩甙在人肿瘤细胞株体外生长抑制的协同作用

将各类人肿瘤细胞株细胞悬浮在含有 10%(小)牛胎儿血清的细胞培养液中，以  $5 \times 10^3$ /孔 播种于 96 孔细胞培养盘。在培养 24 小时后，加入黄芩甙元（昆明同持医药有限公司产

品) 并与野黄芩甙(昆明龙津药业有限公司) 以不同浓度比混合加入培养液里。培养 72 小时后作 MTT 测定。用四氮唑盐 (MTT) 法染色并计算单用及联用黄芩甙元和黄芩甙时对细胞增殖的抑制率, 用 CalcuSyn 统计软件及联合用药指数值 (CI) 法进行数据分析。当  $CI < 1$  时, 为协同作用,  $CI = 1$  时, 为相加作用;  $CI > 1$  时, 为拮抗作用。

单独用药和联合用药时的细胞增殖抑制率, 以及联合用药指数值见表 1-5

- 各类人肿瘤细胞株为: 人肝癌细胞株 HepG2 表 11
- 人大肠 HCT116 表 12
- 人肺癌细胞株 A549 表 13
- 人胃癌细胞株 MKN28 表 14
- 人食道癌细胞株 TE2 表 15
- 人乳房癌细胞株 MCF-7 表 16
- 人前列腺癌细胞株 PC3 表 17
- 人白血病细胞株 HL60 表 18

表 11

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.35±2.2	
黄元 5		32.7±2.3	
黄元 10		49.8±2.1	
黄元 20		58.5±1.2	
黄元 40		90.18±2.5	
野黄芩甙 2.5		5.2±2.1	
野黄芩甙 5		7.7±2.3	
野黄芩甙 10		43.35±2.7	
野黄芩甙 20		86.1±2.9	
野黄芩甙 40		88.45±2.5	
	黄元 5+野黄 5	70.1±2.2	0.537
	黄元 10+野黄 10	85.2±2.5	0.647
	黄元 20+野黄 20	92.77±3	0.82

	黄元 40+野黄 40	97±3	0.987
	黄元 2.5+野黄 5	52.9±2	0.6
	黄元 5+野黄 10	88.12±2.1	0.438
	黄元 10+野黄 20	96.32±3.5	0.448
	黄元 20+野黄 40	98±3	0.64
	黄元 2.5+野黄 10	70.1±3	0.68
	黄元 5+野黄 20	87.7±2.2	0.768
	黄元 10+野黄 40	97±2.1	0.7
	黄元 20+野黄 80	99±2	0.8

表 12

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		5.8±2	
黄元 5		10.5±2.3	
黄元 10		29.2±2.7	
黄元 20		47±3.1	
黄元 40		91.15±2.5	
野黄芩甙 2.5		10.05±2.5	
野黄芩甙 5		15.1±3	
野黄芩甙 10		49±2.2	
野黄芩甙 20		83.7±2.2	
野黄芩甙 40		95±2.8	
	黄元 5+野黄 5	69.5±1.9	0.559
	黄元 10+野黄 10	87.2±2.3	0.627
	黄元 20+野黄 20	96±2.2	0.646
	黄元 40+野黄 40	98.7±2.1	0.88
	黄元 2.5+野黄 5	55±3	0.63
	黄元 5+野黄 10	85.7±3.2	0.55
	黄元 10+野黄 20	95±3.1	0.6

	黄元 20+野黄 40	98.2±2.7	0.7
	黄元 2.5+野黄 10	75.78±3.2	0.68
	黄元 5+野黄 20	91.2±2.3	0.738
	黄元 10+野黄 40	97±2.1	0.822
	黄元 20+野黄 80	99±2	0.92

表 13

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		10.55±1.2	
黄元 5		17.19±2.2	
黄元 10		40.8±3.2	
黄元 20		62.5±2	
黄元 40		90.18±2.1	
黄芩甙 2.5		1±2.1	
野黄芩甙 5		7.7±3.3	
野黄芩甙 10		32.33±2.7	
野黄芩甙 20		62.65±2.5	
野黄芩甙 40		91±2.7	
	黄元 5+野黄 5	67.15±2.1	0.512
	黄元 10+野黄 10	83.2±2.2	0.64
	黄元 20+野黄 20	95±3.5	0.65
	黄元 40+野黄 40	98±1.2	0.8
	黄元 2.5+野黄 5	54.5±2	0.49
	黄元 5+野黄 10	86.2±2.2	0.44
	黄元 10+野黄 20	95.1±2.5	0.516
	黄元 20+野黄 40	98.5±2	0.587
	黄元 2.5+野黄 10	77±3	0.5
	黄元 5+野黄 20	90.2±1.5	0.632
	黄元 10+野黄 40	97±2	0.723

	黄元 20+野黄 80	99±2	0.88
--	-------------	------	------

表 14

单剂药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	联合药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		16.5±1.1	
黄元 5		27.7±2.1	
黄元 10		42.8±2.3	
黄元 20		65.6±3	
黄元 40		80.21±2.5	
野黄芩甙 2.5		18.83±2.2	
野黄芩甙 5		21.23±3.5	
野黄芩甙 10		31.65±2.8	
野黄芩甙 20		35.34±2.8	
野黄芩甙 40		75.34±2.7	
	黄元 5+野黄 5	55±1.7	0.55
	黄元 10+野黄 10	69±2.5	0.607
	黄元 20+野黄 20	79±3.1	0.722
	黄元 40+野黄 40	90±2.2	0.615
	黄元 2.5+野黄 5	44.9±2.2	0.57
	黄元 5+野黄 10	65.2±3.1	0.476
	黄元 10+野黄 20	71.62±1.2	0.699
	黄元 20+野黄 40	87±2	0.5
	黄元 2.5+野黄 10	63.5±3.2	0.3842
	黄元 5+野黄 20	69.35±2.2	0.573
	黄元 10+野黄 40	78.7±3	0.683
	黄元 20+野黄 80	87±3	0.725

表 15

单剂药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	联合药物作用浓度( $\mu\text{m}$ )	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
---------------------------	---------------------------	-------------	-------------

黄元 2.5		5±2	
黄元 5		16.8±1.2	
黄元 10		38.4±2.1	
黄元 20		66.85±2	
黄元 40		83.1±2.1	
野黄芩甙 2.5		4.7±2.2	
野黄芩甙 5		12.97±3.1	
野黄芩甙 10		27.1±2.7	
野黄芩甙 20		66±2.9	
野黄芩甙 40		84.62±2.5	
	黄元 5+野黄 5	22.1±2.1	1.46
	黄元 10+野黄 10	51.67±2.3	1.33
	黄元 20+野黄 20	85.7±2.1	0.956
	黄元 40+野黄 40	97±2.5	0.7
	黄元 2.5+野黄 5	19.2±3	1.2
	黄元 5+野黄 10	47.7±2.3	1
	黄元 10+野黄 20	75.62±2.2	0.99
	黄元 20+野黄 40	92±3	0.97
	黄元 2.5+野黄 10	48.6±3	0.87
	黄元 5+野黄 20	77.33±2.2	0.826
	黄元 10+野黄 40	89.7±3	0.9559
	黄元 20+野黄 80	98.5±2	0.588

表 16

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率(%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		0.8±2	
黄元 5		13.02±2.5	
黄元 10		51.02±2.2	
黄元 20		64.35±2.2	

黄元 40		93±2.5	
野黄芩甙 2.5		5±2.5	
野黄芩甙 5		20.71±3.2	
野黄芩甙 10		71±2.2	
野黄芩甙 20		87.5±2.5	
野黄芩甙 40		95.57±2.2	
	黄元 5+野黄 5	71.65±2.3	0.65
	黄元 10+野黄 10	89.7±2.2	0.75
	黄元 20+野黄 20	96.5±2.5	0.917
	黄元 40+野黄 40	99±2	1
	黄元 2.5+野黄 5	61.8±2	0.62
	黄元 5+野黄 10	85.7±3.5	0.7
	黄元 10+野黄 20	95±2.5	0.8
	黄元 20+野黄 40	98.2±2.1	1
	黄元 2.5+野黄 10	72.8±2.1	0.867
	黄元 5+野黄 20	92.5±2.1	0.88
	黄元 10+野黄 40	97.2±1.7	1.1
	黄元 20+野黄 80	99.5±2	1

表 17

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率 (%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.2±5	
黄元 5		22.8±6	
黄元 10		50.9±5	
黄元 20		69.9±5	
黄元 40		92.9±7	
野黄芩甙 2.5		2±5	
野黄芩甙 5		18±3	
野黄芩甙 10		39±7	

野黄芩甙 20		72±9	
野黄芩甙 40		91.8±5	
	黄元 5+野黄 5	58±3.9	0.74
	黄元 10+野黄 10	79±5	0.89
	黄元 20+野黄 20	91±5	1
	黄元 40+野黄 40	98±7	0.96
	黄元 2.5+野黄 5	52±3	0.61
	黄元 5+野黄 10	69±5	0.858
	黄元 10+野黄 20	87±5	0.99
	黄元 20+野黄 40	97±3	0.91
	黄元 2.5+野黄 10	72±3	0.65
	黄元 5+野黄 20	82.8±5	0.97
	黄元 10+野黄 40	95±3	1
	黄元 20+野黄 80	99±5	0.91

表 18

单剂药物作用浓度(μm)	联合药物作用浓度(μm)	细胞生长抑制率(%)	联合用药系数值(CI)
黄元 2.5		7.5±2.7	
黄元 5		22.7±2.2	
黄元 10		41.8±2.7	
黄元 20		60.6±3.2	
黄元 40		89.18±2.1	
野黄芩甙 2.5		2.25±2.7	
野黄芩甙 5		8.64±3.2	
野黄芩甙 10		37±2.2	
野黄芩甙 20		64.2±2.7	
野黄芩甙 40		88.5±2.5	
	黄元 5+野黄 5	52.02±2	0.743
	黄元 10+野黄 10	72.2±2.3	0.88



	黄元 20+野黄 20	89.6±2	0.87
	黄元 40+野黄 40	95.8±2.2	0.97
	黄元 2.5+野黄 5	18±2.7	1.38
	黄元 5+野黄 10	69.3±2.7	0.72
	黄元 10+野黄 20	82.3±3.2	0.94
	黄元 20+野黄 40	95.7±2.5	0.76
	黄元 2.5+野黄 10	58±3	0.78
	黄元 5+野黄 20	77±2.1	0.95
	黄元 10+野黄 40	92.2±2.3	0.928
	黄元 20+野黄 80	98.1±3	0.8

#### 实施例 5 黄芩甙元联合野黄芩甙对移植实体肿瘤的抗肿瘤协同作用

将小鼠 B16 黑色素瘤细胞株在体外培养两代后，以  $2 \times 10^6$  细胞/只接种于实验动物雌性 C57BL/6（体重在 20 克左右）小鼠腋下皮下。接种后第二天随机分组，并按 0.1ml/10g 体重开始给药。黄芩甙元（昆明同持医药有限公司产品）与野黄芩甙（昆明龙津药业有限公司）以单独给药，联合合给药等不同的给药方式分组进行抗肿瘤试验。每组的实验动物均为 10 只。给药前测定动物体重，试验第 15 日称动物体重后脱颈处死，剥取瘤块组织称重。抑瘤率的测定按计算公式：抑瘤率 =  $(1 - \text{治疗组瘤重} / \text{空白对照组瘤重}) \times 100\%$  计算瘤重抑制率和进行统计学（t 检验）处理。

试验结果见表 19

表 19

分组	剂量 mg/kg	给药日程	体 重 减 少率 %	瘤重 (g) 均值±SD,	抑瘤率 %	动 物 数 (只) 始/末
对照组	—		<0	2.18±0.15		10/10
黄元	30	腹腔 1-10	<5	1.72±0.09	21.1	10/10
野黄甙	25	腹腔 1-10	<5	1.81±0.11	17	10/10
野黄甙	50	腹腔 1-10	<5	1.72±0.08	21.1	10/10
野黄甙	100	腹腔 1-10	<5	1.48±0.12	32.1	10/10

野黄芩	200	腹腔 1-10	<5	1.22±0.09	44	10/10
黄芩+野黄芩	30+25	各腹腔 1-10	<5	1.62±0.08	24.3* #	10/10
黄芩+野黄芩	30+50	各腹腔 1-10	<5	1.51±0.12	30.7** #	10/10
黄芩+野黄芩	30+100	各腹腔 1-10	<5	1.2±0.09	45** #	10/10
黄芩+野黄芩	30+200	各腹腔 1-10	<5	1.07±0.08	51** #	10/10
5-氟脲嘧啶	10	皮下 1-10	<5	1.35±0.1	38	10/10

黄芩=黄芩甙元，野黄芩=野黄芩甙

\*P<0.05 与单用黄芩甙元组比， \*\* P<0.01 与单用黄芩甙元组比

# P<0.01 与单用野黄芩甙组比

试验结果可见黄芩甙元和野黄芩甙合用时体现了明显的抗肿瘤增效作用。黄芩甙元+野黄芩甙 30+50mg/kg，黄芩甙元+野黄芩甙 30+100mg/kg，黄芩甙元+野黄芩甙 30+200mg/kg 各组分别与单用黄芩甙元组和野黄芩甙相比较都具有统计学上显著差异。黄芩甙元+野黄芩甙 30+25mg/kg 也呈现了一定的抗肿瘤增效作用但效果不如上述的三组的明显。

从动物体重变化可以看到，各合用组未见有任何毒性增强趋势。

黄芩甙元和黄芩甙在 1:0.5~1:4 浓度比附近的区域具有协同用药效果，而在 1:1~1:4 浓度比附近的区域里的协同用药效果更加明显。可见动物试验结果明显地支持了体外试验的结果。

可见黄芩甙元和野黄芩甙合用对实体肿瘤具有良好的协同抗肿瘤作用。

实施例 6 黄芩甙元联合野黄芩甙对移植血液肿瘤的抗肿瘤协同作用

将生长旺盛期的小鼠白血病细胞株 1210，以 10<sup>5</sup> 细胞/只接种于实验动物雌性 BDF1(体重在 20 克左右)小鼠腹腔内。接种后第二天随机分组，并按 0.1ml/10g 体重开始给药。黄芩甙元(昆明同持医药有限公司产品)与野黄芩甙(昆明龙津药业有限公司)以单独给药，联合合给药等不同的给药方式分组进行抗肿瘤试验。每组的实验动物均为 10 只。记录动物存活时间。以小鼠生命延长率(increase of life span)的变化来判断各治疗组的疗效。生命延长率的测定按计算公式：生命延长率=(治疗组动物生存时间/空白对照组动物生存时间-1)×100%并进行统计学(t 检验)处理。

试验结果见表 20

表 20

分组	剂量 mg/kg	给药日程	ILS (%)	动物数 (只) 始/末
对照组	—			10/10
黄元	30	腹腔 1-10	31.6	10/10
野黄芩	25	腹腔 1-10	11.9	10/10
野黄芩	50	腹腔 1-10	26	10/10
野黄芩	100	腹腔 1-10	37	10/10
野黄芩	200	腹腔 1-10	51	10/10
黄元+野黄芩	30+25	各腹腔 1-10	36* #	10/10
黄元+野黄芩	30+50	各腹腔 1-10	50** #	10/10
黄元+野黄芩	30+100	各腹腔 1-10	53.7** #	10/10
黄元+野黄芩	30+200	各腹腔 1-10	64.8** #	10/10
5-氟脲嘧啶	10	腹腔 1-10	79	10/10

黄元=黄芩元, 野黄芩=野黄芩

\*P<0.05 与单用黄芩元组比, \*\* P<0.01 与单用黄芩元组比

# P<0.01 与单用野黄芩组比

试验结果可见黄芩元和野黄芩合用时体现了明显的抗肿瘤增效作用。黄芩元+野黄芩 30+50mg/kg, 黄芩元+野黄芩 30+100mg/kg, 黄芩元+野黄芩 30+200mg/kg 各组分别与单用黄芩元组和野黄芩相比较都具有统计学上显著差异。黄芩元+野黄芩 30+25mg/kg 也呈现了一定的抗肿瘤增效作用但效果不如上述的三组的明显。

黄芩元和黄芩在 1:0.5~1:4 浓度比附近的区域具有协同用药效果, 而在 1:1~1:4 浓度比附近的区域里的协同用药效果更加明显。可见动物试验结果明显地支持了体外试验的结果。

可见黄芩元和野黄芩合用对实体肿瘤具有良好的协同抗肿瘤作用。

---

上文所列的各相关文献均以全篇引入本申请作为参考。本发明所涉及的多个方面已做如上阐述。然而，应理解的是，在不偏离本发明精神之前提下，本领域技术人员可对其进行等同变换和修饰。它们的范围也包括在所附的权利要求中。