



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101716173 A

(43) 申请公布日 2010.06.02

(21) 申请号 200810223710.5

(22) 申请日 2008.10.09

(71) 申请人 张宏桂

地址 100102 北京市朝阳区望京中环南路6  
号北京中医药大学中药学院

(72) 发明人 张宏桂 王春梅 张海丰 郗瑞云  
陈斌

(51) Int. Cl.

A61K 31/365(2006.01)

A61P 31/12(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

A61P 31/18(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

白头翁素及其组合物在抗病毒方面的应用

(57) 摘要

本发明公开了白头翁素及含白头翁素的组合物在抗病毒方面的应用,本发明研究人员通过体外药理实验发现白头翁素在 1.063  $\mu$ g/mL 浓度对 HepG2.2.15 细胞的抗原抑制率为 98.04%,证明了白头翁素具有抗乙肝病毒病毒的作用。含白头翁素的组合物,经过体外药理试验表明在 0.397  $\mu$ g/mL 浓度对 HepG2.2.15 细胞的抗原抑制率不低于 98.49%,证明了含白头翁素的组合物具有抗乙肝病毒的作用。

1. 白头翁素及含白头翁素的组合物在抗病毒方面的应用。
2. 如权利要求 1 所述的含白头翁素的组合物,其特征在于白头翁素与非白头翁素物质的组合。
3. 如权利要求 1 所述的白头翁素或含白头翁素的组合物来自天然界或人工化学合成或生物技术制得。
4. 如权利要求 3 所述的白头翁素及含白头翁素的组合物来自天然界,其特征在于主要来自含有白头翁素或含原白头翁素的植物或中药或草药或民间用药,经水蒸气蒸馏或水或二氧化碳或其它化学溶剂提取制得。
5. 如权利要求 1 所述的白头翁素及含白头翁素的组合物,其特征在于白头翁素纯度大于或等于 98% ;含白头翁素的组合物,其白头翁素的含量在 0.01 ~ 98%。
6. 如权利要求 1 所述的白头翁素及含白头翁素的组合物在抗病毒方面的应用,其特征在于主要用于抗乙型肝炎病毒和抗爱滋病病毒的应用。

## 白头翁素及其组合物在抗病毒方面的应用

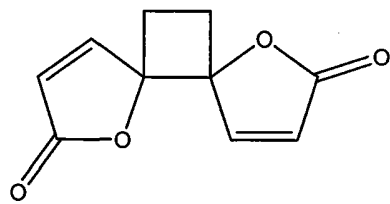
### 所属技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及白头翁素及其组合物在抗病毒方面的应用。

### 背景技术

[0002] 根据卫生部统计资料显示,我国肝炎发病率为世界之最,有 2 亿肝炎病毒携带者,住院病人约 1.2 亿,而且还有继续扩大的趋势。虽然治疗肝炎的药物很多,但真正疗效好的药物很少。拉米夫定虽然效果很好,但复发率高,因而寻找新的抗乙肝病毒药物意义重大。

[0003] 白头翁素 (Anemonin), 异名白头翁脑 (Anemone camphor; Pulsatilla camphor), 也少有文献称银莲花素 (Anemonin; Anemone camphor)。分子式是  $C_{10}H_8O_4$ , 化学名称是 the dilactone of cyclobutane-1,2-diol-1,2-diacrylic acid, 结构式是



白头翁素有显著的抗菌作用,对葡萄球菌、链球菌、白喉杆菌

的抑菌浓度为 1 : 12500,对结核杆菌为 1 : 50000。到目前为止尚未见到白头翁素及其组合物在抗病毒方面应用的文献报道,本发明研究人员经过体外药理实验验证了白头翁素具有显著的抗病毒作用。

### 发明内容

[0004] 以含有白头翁素或原白头翁素的植物或中草药为原料(经水蒸气蒸馏或溶剂提取)或经过人工合成,制得白头翁素纯品,经过体外药理试验发现白头翁素在  $1.063 \mu\text{g/mL}$  浓度对 HepG2. 2. 15 细胞的抗原抑制率不低于 98.04%,证明了白头翁素具有抗乙肝病毒的作用。

[0005] 以含有白头翁素或原白头翁素的植物或中草药为原料(经水蒸气蒸馏或溶剂提取)制得的含白头翁素的组合物,经过体外药理试验表明在  $0.397 \mu\text{g/mL}$  浓度对 HepG2. 2. 15 细胞的抗原抑制率不低于 98.49%,证明了含白头翁素的组合物具有抗乙肝病毒的作用。

[0006] 本发明的目的在于提供以白头翁素和含白头翁素的组合物为基本活性成分在抗病毒方面的用途。

[0007] 本发明的白头翁素及其组合物可以与药剂学上能接受的相应辅料结合制成中药注射剂,冻干粉针,水针,口服制剂,片剂,胶囊,颗粒剂,糊剂,涂膜剂,贴膏剂,膜剂。

[0008] 白头翁素的药理试验

[0009] 药物:白头翁素,自制(面积归一化法纯度大于 98%);含白头翁素的组合物,从威灵仙水蒸气蒸馏提取物制得(面积归一化法白头翁素含量 0.01%~98%)细胞株: HepG2. 2. 15(乙肝病毒 (HBV) DNA 克隆转染人肝癌细胞 HepG2 的 2. 2. 15 细胞系)购自北京大学医学部病毒研究所,置于  $37^{\circ}\text{C}$ 、饱和湿度、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中用 DMEM 培养。拉米夫定

(Lamivudine 3TC, 贺普丁片):葛兰素-史克制药(苏州)有限公司产品,批号:200400604。

[0010] (1) 白头翁素抗乙肝病毒的体外药理实验

[0011] 培养细胞然后用胰蛋白酶消化成单个细胞接种于 96 孔培养板,于 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 37℃培养 24h 后吸去上清液,换入不同浓度含药培养液 105 μ l,同时设不含药物对照组;每 3 天换新鲜含药培养液,共 3 次,最后吸出的细胞上清液 -20℃保存待检,采用 ELISA 法检测各孔 OD 值。要求:阳性对照(不含药物细胞培养液)OD 值应 ≥ 0.5,阴性对照(无细胞的培养液)OD 值应 ≤ 0.1(空白校零后);临界值(C.O.)计算:临界值(C.O.) = 2.1 × 阴性对照平均 OD 值(备注:阴性对照平均 OD 值小于 0.05 按 0.05 计算,大于 0.05 按实际值计算。);结果判定:样品 OD 值 ≥ 临界值(C.O.)为 HBsAg 阳性,样品 OD 值 < 临界值(C.O.)为 HBsAg 阴性。抗原抑制率(%) = (对照组平均 P/N 值 - 实验组平均 P/N 值) / 对照组平均 P/N 值 × 100%,结果见表 1。

[0012] 表 1 白头翁素抗乙肝病毒体外实验结果

	浓度 (ug/mL)	OD 值	抑制率 (%)
[0013]	白头翁素 1.063	0.0383	98.04
	白头翁素 0.27	0.3159	83.85
	白头翁素 0.106	0.3586	81.67
	拉米夫定 200	0.2641	86.4%
	阴性对照	0.05	
	阳性对照	1.9563	

[0014] 结论:白头翁素抗乙肝病毒活性比临床现用药拉米夫定强。

[0015] 将制备得到的白头翁素以一定的浓度做体外实验,用 ELISA 法检测,试验结果表明样品具有抗病毒活性,最高抗原抑制率为 98.04%。体外抗病毒实验结果表明白头翁素比临床现用药拉米夫定具有更高的抑制率。

[0016] (2). 含白头翁素的组合物抗乙肝病毒的体外药理实验

[0017] 培养细胞然后用胰蛋白酶消化成单个细胞接种于 96 孔培养板,于 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 37℃培养 24h 后吸去上清液,换入不同浓度含药培养液 105u1,同时设不含药物对照组;每 3 天换新鲜含药培养液,共 3 次,最后吸出的细胞上清液 -20℃保存待检,采用 ELISA 法检测各孔 OD 值。要求:阳性对照 OD 值应 ≥ 0.5,阴性对照 OD 值应 ≤ 0.1(空白校零后);临界值(C.O.)计算:临界值(C.O.) = 2.1 × 阴性对照平均 OD 值(备注:阴性对照平均 OD 值小于 0.05 按 0.05 计算,大于 0.05 按实际值计算。);结果判定:样品 OD 值 ≥ 临界值(C.O.)为 HBsAg 阳性,样品 OD 值 < 临界值(C.O.)为 HBsAg 阴性。抗原抑制率(%) = (对照组平均 P/N 值 - 实验组平均 P/N 值) / 对照组平均 P/N 值 × 100%,结果见表 2。

[0018] 表 2 白头翁素组合物抗乙肝病毒体外实验结果

	浓度 (ug/mL)	OD 值	抑制率 (%)
	组合物 0.397	0.0295	98.49
	组合物 0.099	0.14005	92.84
[0019]	组合物 0.0397	0.23735	87.87
	拉米夫定 200	0.2641	86.4%
	阴性对照	0.05	
	阳性对照	1.9563	

[0020] 将白头翁素组合物以一定的浓度做体外实验,用 ELISA 法检测,试验结果表明样品具有抗病毒活性,最高抗原抑制率为 98.49%,比临床现用药拉米夫定具有更高的抑制率。