



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110876803 A

(43)申请公布日 2020.03.13

(21)申请号 201911193771.6

A61P 35/00(2006.01)

(22)申请日 2019.11.28

(71)申请人 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所

地址 100193 北京市海淀区圆明园西路2号
北京畜牧兽医研究所奶业楼

(72)发明人 李慧颖 郑楠 杨怀谷 姚倩倩
张养东 王加启

(74)专利代理机构 北京知元同创知识产权代理
事务所(普通合伙) 11535

代理人 刘元霞 黄海丽

(51)Int.Cl.

A61K 38/40(2006.01)

A61K 31/201(2006.01)

A61K 31/337(2006.01)

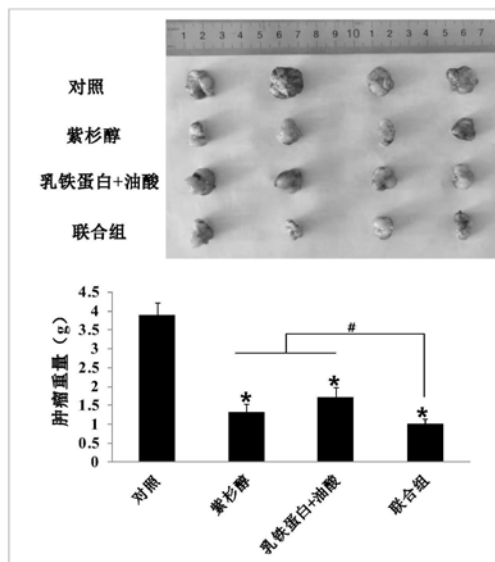
权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54)发明名称

一种包含乳蛋白和油酸的药物组合物

(57)摘要

本发明属于治疗结肠癌药物技术领域,具体涉及一种包含乳蛋白和油酸的药物组合物。本发明的药物组合物中活性蛋白和不饱和脂肪酸均来源于食品,毒副作用小,且能够有效地、多靶点、多机制抑制结肠癌细胞的存活率,在联合化疗药紫杉醇应用时可以发挥增敏、减毒活性,该含两种或三种活性成分的药物组合可用于临床上结肠癌的治疗及辅助治疗。本发明的药物组合物包含天然成分乳蛋白和油酸,两者性状稳定,来源丰富。



1. 一种药物组合物,其特征在于,包括乳蛋白和油酸或其药学上可接受的盐、多晶形物。
2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述乳蛋白选自 α -乳白蛋白、 α -酪蛋白、 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白、乳铁蛋白和 β -乳球蛋白中的一种或多种。
3. 根据权利要求1或2所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物中乳蛋白与油酸或其药学上可接受的盐、多晶形物的质量比为10:1。
4. 根据权利要求1-3任一项所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物还包括其他抗癌活性成分。
5. 根据权利要求1-4任一项所述的药物组合物,其特征在于,所述其他抗癌活性成分为紫杉醇。
6. 根据权利要求1-5任一项所述的药物组合物,其特征在于,当所述药物组合物还包括紫杉醇时,所述药物组合物中乳蛋白、油酸及紫杉醇的质量比为10:1:(0.1~0.5)。
7. 根据权利要求1-6任一项所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物用于治疗结肠癌。
8. 权利要求1-7任一项所述的药物组合物在制备治疗结肠癌的药物中的用途。
9. 根据权利要求8所述的用途,其特征在于,所述药物为口服制剂或注射剂。
10. 根据权利要求8或9所述的用途,其特征在于,所述注射剂为静脉注射制剂、腹腔注射剂、或皮下注射剂。

一种包含乳蛋白和油酸的药物组合物

技术领域

[0001] 本发明属于治疗结肠癌药物技术领域,具体涉及一种包含乳蛋白和油酸的药物组合物。

背景技术

[0002] 结肠癌是较为常见的、位于结肠部位的消化道恶性肿瘤,多数发生于直肠与乙状结肠交界处,大体形态呈息肉状、溃疡型等。结肠癌可沿肠壁环行发展,沿肠管纵径上下蔓延或向肠壁深层浸润,除经淋巴管、血流转移和局部侵犯外,还可向腹腔内种植或沿缝线、切口面扩散转移,属于恶性程度较高的癌种(Klaver CE,et al.J.Nation.Compre.Can.N et.2017.;Weisburger JH,et al.Semin.Oncol.1991.)。

[0003] 目前临床上治疗结肠癌,手术是常见方法,但其存在创伤性大、癌细胞易残存复发等问题。所以采用药物治疗较为普遍,药物治疗主要包括化疗药物。常见结肠癌临床化疗药物种类较多,包括氟尿嘧啶、卡培他滨、奥沙利铂、伊立替康、西妥昔单抗和贝伐珠单抗等。上述药物多通过静脉滴注的方式给药,基本上可以快速控制病情恶化(华彬等.中国药业,2011.;宫媛等.中国新药杂志,2007.)。但是这些化疗药物存在一些弊端。首先,这些药物对患者的体质和免疫力具有一定要求,身体虚弱和抵抗力低下患者不被建议使用该疗法。此外化疗药物副作用较大,轻则导致病人出现恶心、呕吐、食欲不振等胃肠道反应,重则会致使出现罕见且严重的酮尿、心脏病、肝病、肾衰竭等病症(丁寿亮.中国普外基础与临床杂志,2016.;宋秀远.实用医技杂志,2006.);其次,化疗药物对正常细胞和癌细胞缺乏一定的选择性,具有“敌我不分”、“饮鸩止渴”等弊端,对患者产生了严重的毒副作用。如多数患者在化疗期间体内白细胞和血小板含量下降严重,引发感染和出血,甚至危及生命(王威廉等.中华肿瘤防治杂志,1999.;王泽.求医问药,2012.;钟江鸣等.临床合理用药杂志,2018.);最后,化疗药物无法改造癌灶生存环境,存在治标不治本的问题,远期疗效差,难以帮助患者彻底康复。

[0004] 由于结肠癌发病涉及到人体代谢的各个环节,发病原因众说纷纭,作用靶点丰富,所以最佳治疗药物很难单一机制、单一调节。

发明内容

[0005] 为改善上述技术问题,本发明首先提供一种药物组合物,其包括乳蛋白和油酸或其药学上可接受的盐、多晶形物。

[0006] 根据本发明的实施方案,所述乳蛋白选自 α -乳白蛋白、 α -酪蛋白、 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白、乳铁蛋白和 β -乳球蛋白中的一种或多种,优选为乳铁蛋白。

[0007] 根据本发明的实施方案,所述药物组合物中乳蛋白与油酸或其药学上可接受的盐、多晶形物的质量比为10:1。

[0008] 根据本发明的实施方案,所述药物组合物还包括其他抗癌活性成分,例如紫杉醇。

[0009] 根据本发明的实施方案,当所述药物组合物还包括紫杉醇时,所述药物组合物中

乳蛋白、油酸及紫杉醇的质量比为10:1:(0.1~0.5),例如为10:1:0.2。

[0010] 根据本发明的实施方案,所述药物组合物用于治疗结肠癌,例如抑制HT29细胞。

[0011] 本发明还提供所述药物组合物在制备治疗结肠癌的药物中的用途。

[0012] 根据本发明的实施方案,所述药物为口服制剂,例如包括口服的各种剂型。

[0013] 根据本发明的实施方案,所述药物为注射剂。

[0014] 根据本发明的实施方案,所述注射剂为静脉注射制剂、腹腔注射剂、或皮下注射剂。

[0015] 本发明还提供一种治疗结肠癌的方法,包括将上述药物组合物施用于有此需要的个体。

[0016] 有益效果

[0017] 本发明提供了一种治疗结肠癌的药物组合物(乳蛋白联合油酸,按照质量比10:1配比),该药物组合物中活性蛋白和不饱和脂肪酸均来源于食品,毒副作用小,且能够有效地、多靶点、多机制抑制结肠癌细胞的存活率,在联合化疗药紫杉醇应用时可以发挥增敏、减毒活性,该含两种或三种活性成分的药物组合可用于临床上结肠癌的治疗及辅助治疗。

[0018] 本发明的药物组合物包含天然成分乳蛋白和油酸,两者性状稳定,来源丰富。

附图说明

[0019] 图1显示了本发明实施例1中对照组、不同浓度的乳铁蛋白和油酸对结肠癌细胞(HT29)存活率影响的检测结果。

[0020] 图2显示了本发明实施例1中对照组、乳铁蛋白和油酸按不同质量比组合对结肠癌细胞(HT29)存活率影响的检测结果。

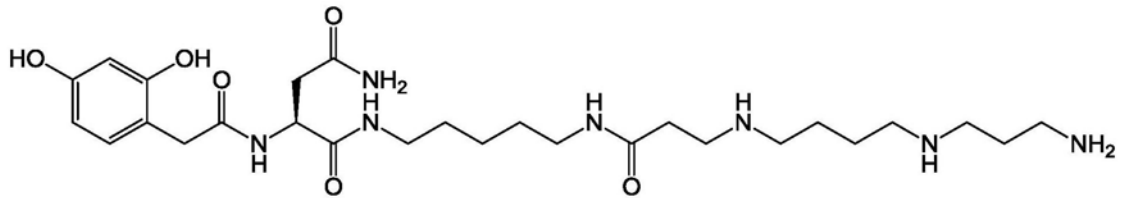
[0021] 图3显示了本发明实施例2中对照组、乳铁蛋白、油酸、乳铁蛋白联合油酸组(10:1质量比)对裸鼠荷结肠肿瘤(HT29)生长影响的检测结果。

[0022] 图4显示了本发明实施例3中对照组、紫杉醇、乳铁蛋白联合油酸组(10:1质量比)、乳铁蛋白和油酸(10:1质量比)联合化疗药紫杉醇对裸鼠荷结肠肿瘤(HT29)生长的影响。

[0023] 图5显示了本发明实施例3中对照组、紫杉醇、乳铁蛋白联合油酸组(10:1质量比)、乳铁蛋白和油酸(10:1质量比)联合化疗药紫杉醇对裸鼠荷肝脏、肾脏组织的减毒作用。

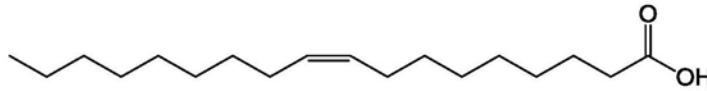
具体实施方式

[0024] 如下实施例中使用的乳铁蛋白由一条多肽单链和多条多聚糖侧链组成,分子量为80kDa。油酸,分子式为 $C_{18}H_{34}O_2$,分子量为282.47。两者的结构式如下:



[0025]

乳铁蛋白



油酸

[0026] 本发明上述应用中,所述治疗结肠癌是指抑制结肠癌的发生、发展。

[0027] 下文将结合具体实施例对本发明的技术方案做更进一步的详细说明。应当理解,下列实施例仅为示例性地说明和解释本发明,而不应被解释为对本发明保护范围的限制。凡基于本发明上述内容所实现的技术均涵盖在本发明旨在保护的范围内。

[0028] 除非另有说明,以下实施例中使用的原料和试剂均为市售商品,或者可以通过已知方法制备。

[0029] 实施例1抑制结肠癌细胞存活的作用

[0030] 为了验证本发明质量比为10:1的乳铁蛋白和油酸药物组合物及其他质量比药物组合物对结肠癌细胞HT29细胞存活的影响,进行了如下体外实验。

[0031] 将HT29细胞接种于96孔培养皿中(10⁵个细胞/孔,每孔100μL培养基),培养24h后,分别用浓度为10mg/L、50mg/L、100mg/L、500mg/L和1g/L的乳铁蛋白、油酸处理细胞[每组实验给与相同体积(10微升)的乳铁蛋白或油酸],此外还设置对照组,即不加入任何药物,作用24h。之后弃培养基,加入MTT(终浓度为5g/L)作用4h,酶标仪检测吸光度(OD)值,计算细胞存活率。

[0032] 此外还设置联合给药组,联合给药组设置如下:200mg/L剂量乳铁蛋白联合10mg/L剂量油酸(质量比20:1)、100mg/L剂量乳铁蛋白联合10mg/L剂量油酸(质量比10:1)、100mg/L剂量乳铁蛋白联合100mg/L剂量油酸(质量比1:1)、10mg/L剂量乳铁蛋白联合100mg/L剂量油酸(质量比1:10)、10mg/L剂量乳铁蛋白联合200mg/L剂量油酸(质量比1:20),并设置对照组,即不加入任何药物。每组实验给与相同体积(每组总共给与20微升,即联合给药组中每一个药物各10微升)的药剂,作用24h。之后弃培养基,加入MTT(终浓度为5g/L)作用4h,酶标仪检测吸光度(OD)值,计算细胞存活率。

[0033] 单独给与乳铁蛋白或油酸的实验结果如图1所示。

[0034] 乳铁蛋白和油酸联合给药组的实验结果如图2所示。

[0035] 由图1可知,100mg/L-1g/L剂量的乳铁蛋白、10mg/L-1g/L剂量的油酸分别作用结肠癌HT29细胞24h后,细胞存活率下降(与对照组比, $P < 0.05$,具有显著的统计学差异)。

[0036] 由图2可知,相对于其它联合作用组,100mg/L剂量乳铁蛋白联合10mg/L剂量油酸组细胞存活率为 $55.4 \pm 3.6\%$,对HT29细胞的抑制作用最强(与对照组比, $P < 0.05$,具有显著的统计学差异)。其次为10mg/L剂量乳铁蛋白联合200mg/L剂量油酸组细胞存活率为 $61.7 \pm 5.9\%$ (与对照组比, $P < 0.05$,具有显著的统计学差异),而10mg/L剂量乳铁蛋白联合

100mg/L剂量油酸组细胞存活率为 $66.9 \pm 4.2\%$ (与对照组比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异)。联合给药组的抑制作用优于同等剂量下乳铁蛋白或油酸单独作用组 (与单独作用组比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异)。图1和2中符号*表示与无任何处理的对照组水平比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异。

[0037] 实施例2乳铁蛋白和油酸药物组合物抑制裸鼠荷HT29肿瘤的生长

[0038] 为了验证本申请质量比为10:1的乳铁蛋白和油酸药物组合物及其他质量比药物组合物在体内抑制HT29肿瘤的生长作用, 设置以下组别进行验证: 无处理对照组 (即不加入任何药物)、50mg/kg剂量的乳铁蛋白、5mg/kg剂量的油酸、50mg/kg剂量乳铁蛋白联合5mg/kg剂量油酸。

[0039] 检测过程如下: 在16个10cm培养皿中大规模培养HT29细胞, 待细胞密度达到90%左右, 收集细胞, 注射至16只BALb/C裸鼠右腋皮下。约两周后, 肿瘤体积达到 $90-100\text{mm}^3$, 将小鼠分为4组, 每组4只。将50mg/kg剂量的乳铁蛋白、5mg/kg剂量的油酸、50mg/kg剂量乳铁蛋白联合5mg/kg剂量油酸, 分别对小鼠行口服灌胃, 每天一次, 连续28天。第29天, 处死小鼠后, 剖出肿瘤, 拍照, 称重。

[0040] 实验结果如图3所示, 由图3可知50mg/kg剂量的乳铁蛋白、5mg/kg剂量的油酸、50mg/kg剂量乳铁蛋白联合5mg/kg剂量油酸对HT29肿瘤均具有抑制作用。且联合作用组抑制作用显著优于乳铁蛋白或油酸单独作用组。图3中符号*表示与无任何处理的对照组水平比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异; 符号#表示与联合作用组比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异。

[0041] 上述结果表明, 50mg/kg剂量乳铁蛋白联合5mg/kg剂量油酸抑制结肠癌肿瘤生长效果显著优于50mg/kg剂量的乳铁蛋白、5mg/kg剂量单独给药组。

[0042] 实施例3乳铁蛋白和油酸联合化疗药紫杉醇抑制裸鼠荷HT29肿瘤生长、减轻紫杉醇毒性的作用

[0043] 为验证乳铁蛋白和油酸联合化疗药紫杉醇抑制HT29肿瘤生长、减轻紫杉醇毒性的作用, 进行小鼠体内实验。分别设置以下给药组: 无处理对照组 (即不加入任何药物)、1mg/kg剂量紫杉醇、50mg/kg剂量乳铁蛋白联合5mg/kg剂量油酸、50mg/kg剂量乳铁蛋白和5mg/kg剂量油酸联合1mg/kg剂量紫杉醇, 进行裸鼠荷HT29肿瘤生长检测。

[0044] 在16个10cm培养皿中大规模培养HT29细胞, 待细胞密度达到90%左右, 收集细胞, 注射至16只BALb/C裸鼠右腋皮下。约两周后, 肿瘤体积达到 $90-100\text{mm}^3$, 将小鼠分为4组, 每组4只。将乳铁蛋白组和油酸组, 对小鼠行口服灌胃, 每天一次, 连续28天, 对1mg/kg剂量紫杉醇对小鼠行腹腔注射, 每天一次, 连续28天。第29天, 处死小鼠后, 剖出肿瘤, 拍照, 称重。

[0045] 实验结果如图4所示, 由图4可知紫杉醇、乳铁蛋白联合油酸、三者联合组对HT29肿瘤均具有抑制作用 (与对照组比, $P < 0.05$)。且三者联合作用组抑制作用显著优于另外两组 ($P < 0.05$)。

[0046] 此外, 还对上述小鼠进行了肝脏、肾脏组织病理切片苏木精-伊红染色, 以便观察裸鼠肝脏、肾脏损伤程度。图5显示不同处理组中小鼠肝脏和肾脏组织病理染色结果。符号*表示与无任何处理的对照组水平比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异; 符号#表示与三者联合作用组比, $P < 0.05$, 具有显著的统计学差异。通过染色结果观察小鼠肝脏、肾脏病理情况, 发现三者联合组中肝脏、肾脏损伤程度明显轻于紫杉醇组, 这主要表现在变形细胞较

少、组织出血点减少和水肿程度减轻等方面。

[0047] 上述结果表明,乳铁蛋白和油酸联合紫杉醇作用时,抑制结肠癌肿瘤生长效果最佳,且可以减轻化疗药对肝脏、肾脏的损伤。

[0048] 综上,乳铁蛋白和油酸以质量比10:1联用时,可以有效地抑制结肠癌HT29细胞的存活和结肠癌肿瘤的生长。而且,乳铁蛋白联合油酸组的作用显著强于乳铁蛋白或油酸单独作用组。此外,乳铁蛋白和油酸联合紫杉醇给药时,抑制结肠癌HT29细胞的活性最佳,且可以显著减轻紫杉醇引发的肝脏、肾脏损伤,表明三者联合给药发挥协同、减毒作用。因此,本申请的乳铁蛋白和油酸联用,以及乳铁蛋白和油酸联合紫杉醇可以作为安全且有效的结肠癌治疗方案。

[0049] 以上,对本发明的实施方式进行了说明。但是,本发明不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

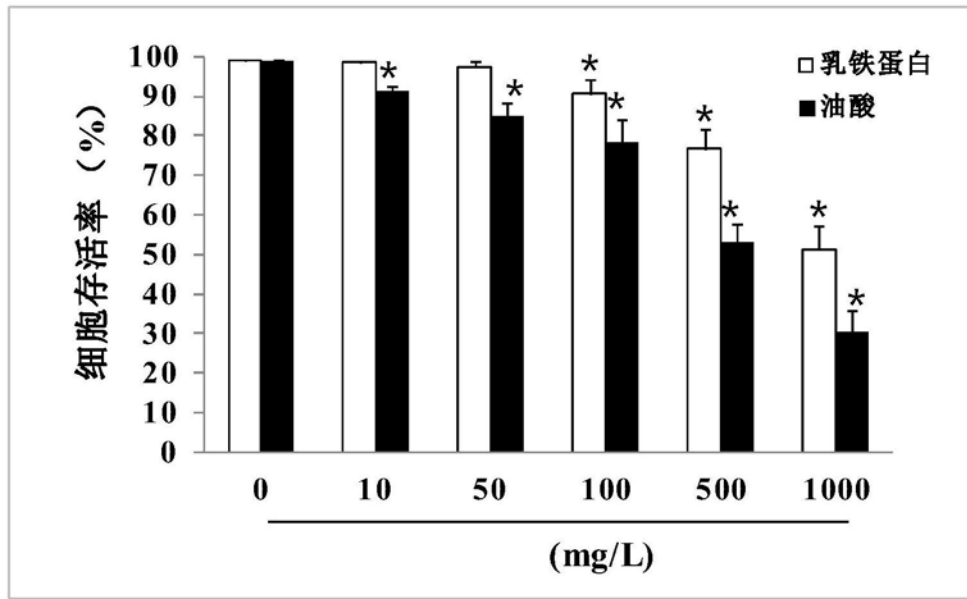


图1

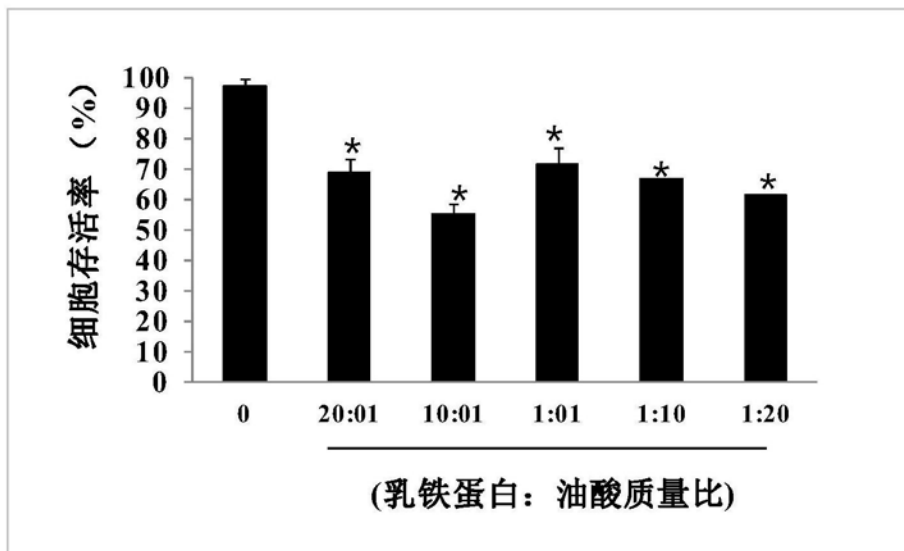


图2

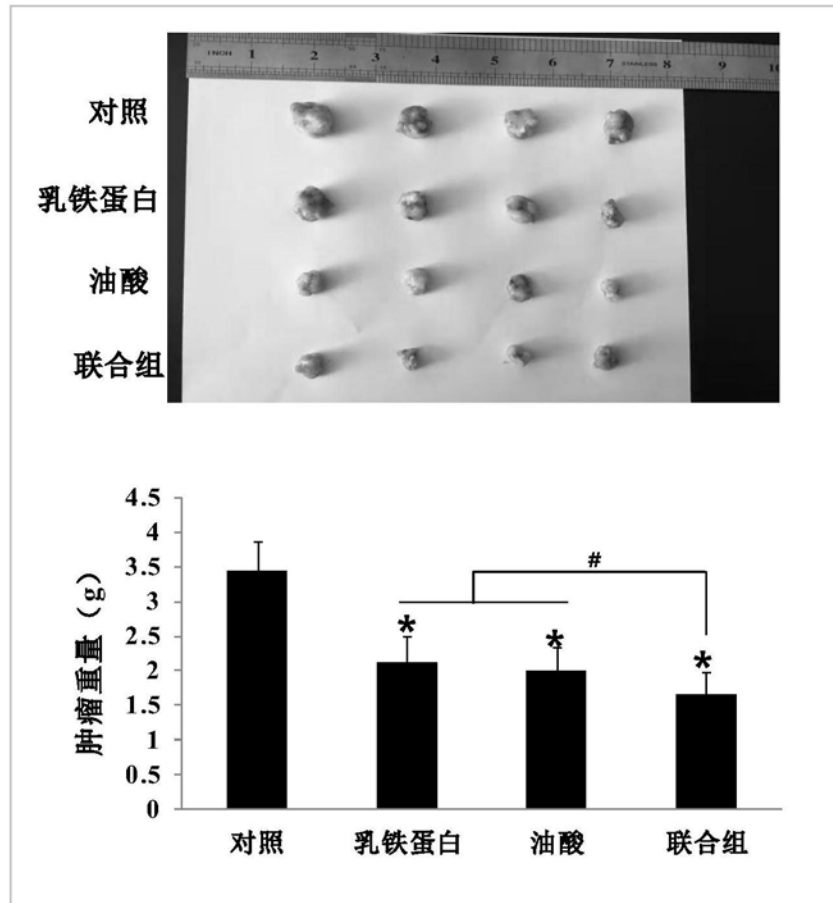


图3

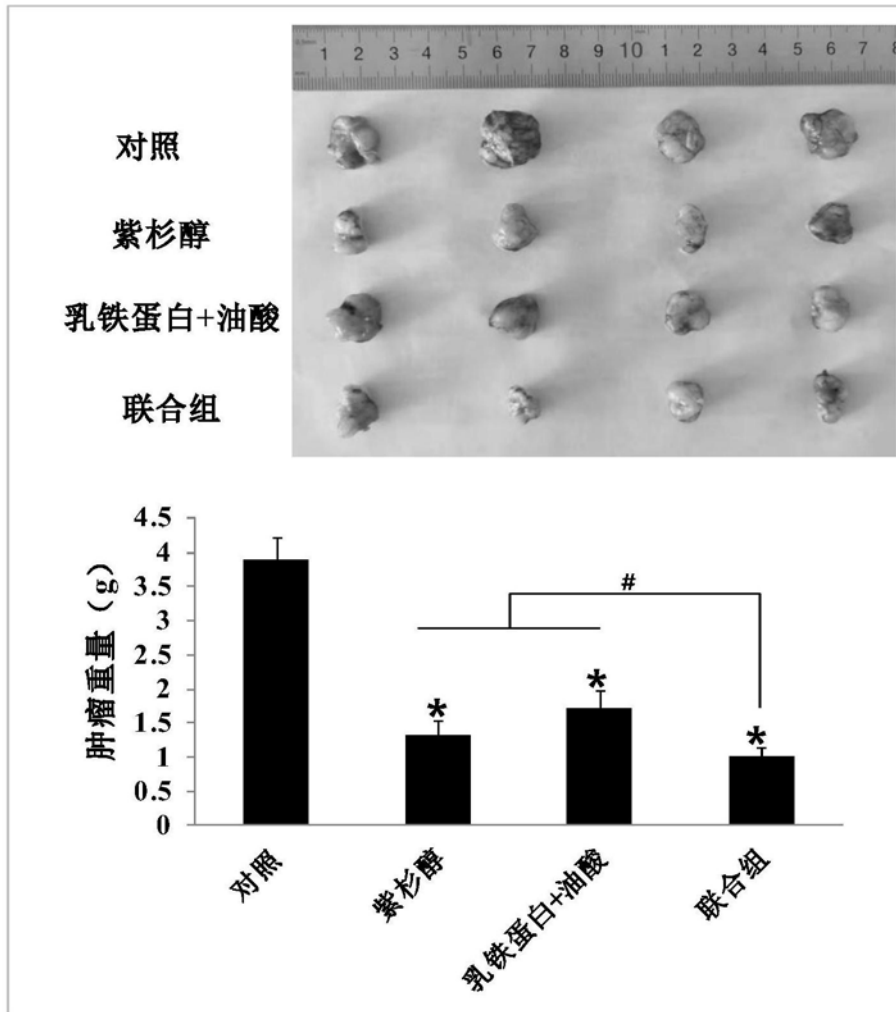


图4

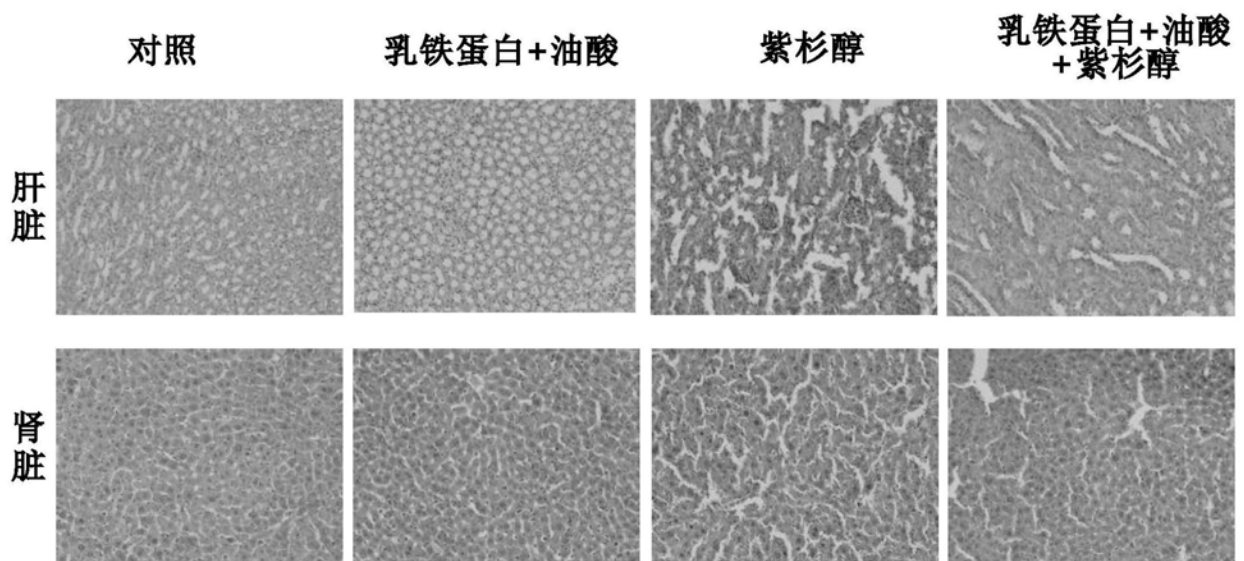


图5