



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111358952 A

(43)申请公布日 2020.07.03

(21)申请号 202010296042.X

A61K 31/506(2006.01)

(22)申请日 2020.04.15

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

(71)申请人 中山大学肿瘤防治中心(中山大学附属肿瘤医院、中山大学肿瘤研究所)

地址 510060 广东省广州市越秀区东风东路651号

(72)发明人 刘然义 岳欣 韩辉 刘听雨 王雪滂

(74)专利代理机构 广州海心联合专利代理事务所(普通合伙) 44295

代理人 黄强

(51) Int. Cl.

A61K 45/06(2006.01)

A61K 31/404(2006.01)

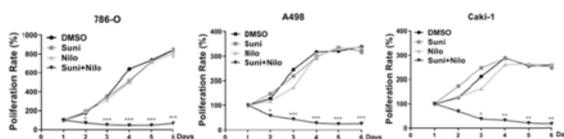
权利要求书1页 说明书7页 附图5页

(54)发明名称

一种抗肿瘤药物组合物及其制剂和应用

(57)摘要

本发明提供了一种抗肿瘤药物组合物及其制剂和应用,原有舒尼替尼的基础上,进一步加入至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂,尤其是尼洛替尼,能够与之产生非常显著的协同增效作用,能够联合促进癌细胞的凋亡,同时能够明显抑制癌细胞的增殖,对癌细胞具有极为显著的杀伤效率。本发明所提供的药物组合物能够明显改善现有技术中单纯采用舒尼替尼所带来的严重耐药性以及明显减低的治疗效果,对于临床治疗提供了新的方案,具有十分广阔的市场前景以及极其重大的社会意义。



1. 一种抗肿瘤药物组合物,包括舒尼替尼或其药用盐以及除舒尼替尼外的至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂或其药用盐。

2. 根据权利要求1所述的抗肿瘤药物组合物,其特征在于,所述酪氨酸激酶受体抑制剂选自尼洛替尼、吉非替尼、厄洛替尼、拉帕替尼、阿法替尼、达可替尼、凡德他尼、来那替尼、奥希替尼、Rociletinib、Olmotinib、Naquotinib、Tesevatinib、Nazartinib中的一种或多种。

3. 根据权利要求2所述的抗肿瘤药物组合物,其特征在于,所述酪氨酸激酶抑制剂选自尼洛替尼。

4. 根据权利要求1所述的抗肿瘤药物组合物,其特征在于,所述肿瘤选自肾癌、肺癌、肠癌、胃癌、食管癌、肝癌、宫颈癌、乳腺癌、白血病、恶性淋巴瘤、鼻咽癌、胰腺癌中的一种或多种。

5. 根据权利要求4所述的抗肿瘤药物组合物,其特征在于,所述肿瘤选自肾癌。

6. 一种抗肿瘤药物制剂,其特征在于,包括权利要求1-5任一项所述的抗肿瘤药物组合物以及药学上可接受的药用辅料。

7. 根据权利要求6所述的抗肿瘤药物制剂,其特征在于,所述制剂剂型选自片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、注射剂、气雾剂、喷雾剂、膜剂、栓剂中的一种或多种。

8. 根据权利要求6所述的抗肿瘤药物制剂,其特征在于,所述药学上可接受的药用辅料选自填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、矫味剂、防腐剂、抗氧化剂、着色剂中的一种或多种。

9. 根据权利要求1-5任一项所述抗肿瘤药物组合物在制备治疗肿瘤的制剂中的应用。

10. 根据权利要求9所述的应用,其特征在于,所述肿瘤选自肾癌、肺癌、肠癌、胃癌、食管癌、肝癌、宫颈癌、乳腺癌、白血病、恶性淋巴瘤、鼻咽癌、胰腺癌中的一种或多种。

## 一种抗肿瘤药物组合物及其制剂和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于肿瘤治疗技术领域,具体涉及一种抗肿瘤药物组合物及其制剂和应用。

### 背景技术

[0002] 恶性肿瘤的发生总的来说是因为癌基因的激活和(或)抑癌基因的失活使得细胞获得持续分裂能力,成为癌细胞。肿瘤的治疗包括手术、放疗和化疗,其中化疗又进一步分为传统化疗、靶向治疗和免疫治疗等。而不同的恶性肿瘤由于其始动因素不同,再加上肿瘤本身的异质性,导致它们对不同治疗的敏感性和耐受性,这给临床治疗肿瘤疾病带来了很大的困难,也是研究者们重点研究方向。

[0003] 肾癌(Kidney cancer)是泌尿系统的三大恶性肿瘤之一。其中,肾细胞癌(Renal Cell Carcinoma, RCC)是起源于肾小管上皮细胞的恶性肿瘤,占有肾癌的90%,是最常见的肾脏恶性肿瘤类型。由于超声、CT等筛查手段的应用和人们健康体检意识的增强,肾癌的发病率有所增加,但早期的肾癌通过根治性手术治疗,预后较好。肾癌的总体5年生存率为49%,但其预后与疾病的临床分期以及病理分级都有很大关系,临床III、IV期或病理3、4级的患者预后极差。

[0004] 肾癌的复发是指行根治性手术后,在手术部位或附近组织重新长出肿瘤;晚期肾癌是指首诊时就达到IV期的肾癌(即原发肿瘤达到T4或已出现远处转移)。此时,根据2020年NCCN(The National Comprehensive Cancer Network)肾癌指南的推荐,肿瘤治疗应该以系统治疗为主。

[0005] 肾癌对传统化疗药不敏感。目前,肾癌的系统治疗主要有靶向治疗和免疫治疗。肾癌的预后与其临床分期和病理分级相关。肾癌的总体5年生存率为49%,这一数据相比于2006年以前已经有很大的提高。其原因可能是早期肾癌的检出率增加使得根治性手术得以实施以及靶向药的应用。尤其是靶向药的出现大大提高了晚期转移性肾癌患者的预后。即使如此,现在晚期肾癌患者的总体生存率(Overall Survival, OS)与靶向药未出现之前相比也只提高了2个月(29%)左右。很大一部分原因是耐药的存在,因此,迫切需要解决肾癌靶向药耐药的问题,从而进一步提高肾癌患者的预后。

[0006] 舒尼替尼(Sunitinib)是一种高效的、多靶点的酪氨酸激酶受体抑制剂,其靶点包括血管内皮细胞生长因子受体1,2,3(VEGF Receptor, VEGFR-1,2,3),血小板生长因子受体 $\alpha,\beta$ (PDGF Receptor, PDGFR- $\alpha,\beta$ ),c-KIT等等。根据已有的研究结果,舒尼替尼主要通过三种途径来发挥抗肿瘤效应:抑制肿瘤血管生成、破坏肿瘤血管以及直接杀伤肿瘤细胞。目前,舒尼替尼被批准用于治疗晚期转移性肾细胞癌和伊马替尼耐药的胃肠间质肿瘤(Gastrointestinal Stromal Tumor, GIST)。其它癌种如非小细胞肺癌、肠癌、骨肉瘤中也有相应的研究与临床试验正在进行。在肾癌领域,自2006年美国FDA批准以来,舒尼替尼一直都是转移性肾癌的一线用药。

[0007] 虽然舒尼替尼延缓了转移性肾癌的进展,改善了患者预后,但几乎所有的患者最

终都会发生耐药,最终再次进展。据目前已有的研究报道,尽管各研究的评价标准略有差异,还是能看出,大约70%的患者一线治疗对舒尼替尼敏感,还有30%的患者对舒尼替尼表现出原发性的耐药。在敏感患者中,有效期通常只有6-15个月,此后就会发生获得性耐药,疾病进展。对于获得性耐药的机制,目前已有很多研究,总的可以分为以下几种:促血管生成信号激活、肿瘤微环境的改变、溶酶体的滞留、非编码RNA的作用以及其它信号通路的激活。

[0008] 促血管生成信号激活主要有成纤维细胞生长因子(Fibroblast Growth Factor, FGF)、白介素8(Interleukin 8, IL-8)、胎盘生长因子(Placental Growth Factor, PIGF)以及血管生成素(Angiopoietin, Ang)的表达升高,从而对抗舒尼替尼带来的抗血管生成及破坏肿瘤血管作用;肿瘤微环境种的成纤维细胞、周细胞、内皮细胞以及造血细胞等等可能通过分泌化学因子、细胞因子和直接接触介导舒尼替尼的耐药;有研究发现,耐药细胞的舒尼替尼都被聚集在溶酶体中,因此,虽然细胞中的舒尼替尼浓度很高,但p-ERK和p-AKT的水平并不受影响;非编码RNA也参与了舒尼替尼的耐药,有研究者比较了使用舒尼替尼的mRCC患者中,预后较差(PSF<6个月)和预后较好(PSF>6个月)的miRNA表达谱发现:miRNA-410, miRNA-1181, miRNA-424的下调与延长药物反应时间有关,而miRNA-192, miRNA-193a-3p, miRNA-501-3p的表达降低与不良预后有关,近期有研究报道,lncARSR这一长链非编码RNA可以通过竞争性内源性RNA(Competitive endogenous RNA, ceRNA)机制介导舒尼替尼的耐药,并且可以通过外泌体使得敏感细胞获得耐药性;此外,其它的一些信号通路如SK-1的激活可能也参与了舒尼替尼耐药的发生。总的来说,肾癌对舒尼替尼耐药涉及多种分子机制,虽然目前已有许多研究,但如何解决其耐药问题,仍是肾癌研究领域的一个热点与难点。

## 发明内容

[0009] 针对上述存在问题和不足,本发明提供一种抗肿瘤药物组合物,以解决现有技术中单纯采用舒尼替尼所带来的严重耐药性以及明显减低的治疗效果的问题,从而获得更为显著的临床治疗作用和降低的舒尼替尼耐药性。

[0010] 本发明是通过如下技术方案得以实现的:

本发明第一方面提供了一种抗肿瘤药物组合物,包括舒尼替尼或其药用盐以及除舒尼替尼外的至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂或其药用盐。

[0011] 作为优选地,所述酪氨酸激酶受体抑制剂选自尼洛替尼(Nilotinib)、吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、拉帕替尼(Lapatinib)、阿法替尼(Afatinib)、达可替尼(Dacomitinib)、凡德他尼(Vandetanib)、来那替尼(Neratinib)、奥希替尼(Osimertinib)、Rociletinib、Olmudinib、Naquotinib、Tesevatinib、Nazartinib中的一种或多种。

[0012] 作为优选的,所述酪氨酸激酶受体抑制剂选自尼洛替尼。

[0013] 作为优选的,所述肿瘤选自肾癌、肺癌、肠癌、胃癌、食管癌、肝癌、宫颈癌、乳腺癌、白血病、恶性淋巴瘤、鼻咽癌、胰腺癌中的一种或多种。

[0014] 作为优选地,所述肿瘤选自肾癌。

[0015] 本发明第二方面提供了一种包含上述抗肿瘤药物组合物的制剂,包括舒尼替尼或其药用盐、除舒尼替尼外的至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂或其药用盐以及药学上可接受

的药用辅料。

[0016] 作为优选地,所述制剂剂型选自片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、注射剂、气雾剂、喷雾剂、膜剂、栓剂中的一种或多种。

[0017] 作为优选地,所述药学上可接受的药用辅料选自填充剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、矫味剂、防腐剂、抗氧化剂、着色剂中的一种或多种。

[0018] 作为优选地,所述酪氨酸激酶受体抑制剂选自尼洛替尼(Nilotinib)、吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、拉帕替尼(Lapatinib)、阿法替尼(Afatinib)、达可替尼(Dacomitinib)、凡德他尼(Vandetanib)、来那替尼(Neratinib)、奥希替尼(Osimertinib)、Rociletinib、Olmotinib、Naquotinib、Tesevatinib、Nazartinib中的一种或多种。

[0019] 作为优选的,所述酪氨酸激酶抑制剂选自尼洛替尼。

[0020] 作为优选的,所述肿瘤选自肾癌、肺癌、肠癌、胃癌、食管癌、肝癌、宫颈癌、乳腺癌、白血病、恶性淋巴瘤、鼻咽癌、胰腺癌中的一种或多种。

[0021] 作为优选地,所述肿瘤选自肾癌。

[0022] 本发明第三方面提供了一种上述抗肿瘤药物组合物在制备治疗肿瘤的制剂中的应用。

[0023] 作为优选地,所述酪氨酸激酶受体抑制剂选自尼洛替尼(Nilotinib)、吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、拉帕替尼(Lapatinib)、阿法替尼(Afatinib)、达可替尼(Dacomitinib)、凡德他尼(Vandetanib)、来那替尼(Neratinib)、奥希替尼(Osimertinib)、Rociletinib、Olmotinib、Naquotinib、Tesevatinib、Nazartinib中的一种或多种。

[0024] 作为优选的,所述酪氨酸激酶抑制剂选自尼洛替尼。

[0025] 作为优选的,所述肿瘤选自肾癌、肺癌、肠癌、胃癌、食管癌、肝癌、宫颈癌、乳腺癌、白血病、恶性淋巴瘤、鼻咽癌、胰腺癌中的一种或多种。

[0026] 作为优选地,所述肿瘤选自肾癌。

[0027] 尽管临床上广泛使用舒尼替尼进行癌症的治疗,并能取得相对显著的成效,尤其在肾癌等疾病的治疗中已经作为一线药物使用。然而,患者预后的改善以及癌症进展的延缓都不能阻止患者对舒尼替尼耐药的产生,并最终导致疾病再次发生进展。研究人员对改耐药性的产生进行了大量的研究,发现该耐药性发生的原因主要有以下几点:促血管生成信号激活、肿瘤微环境的改变、溶酶体的滞留、非编码RNA的作用以及其它信号通路的激活。但是遗憾的是,尽管该耐药机制以及被发现并被证实,但并未有较好的治疗方案出现以改善舒尼替尼的严重耐药性,从而使得其临床使用以及对患者的治疗效果大打折扣。

[0028] 对于此,发明人进行了大量的研究,利用陶素公司的化合物库进行筛选,该化合物包括1374种FDA批准上市的药物,以期能够获得改善舒尼替尼临床耐药性并能够获得与之产生相加甚至协同的治疗作用的化合物。在筛选过程中发现,在原有舒尼替尼基础上,进一步加入至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂与之联合使用,尤其是尼洛替尼,能够产生非常显著的协同作用(CI<1)。

[0029] 本发明与现有技术相比,有如下有益效果:

(1)本发明对现有的临床癌症治疗方案进行了改进,从大量化合物中进行筛选,从而获

得了能够与舒尼替尼联合用药以显著降低其耐药性的化合物。

[0030] (2) 本发明在原有舒尼替尼的基础上,进一步加入至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂,尤其是尼洛替尼,能够与之产生非常显著的协同增效作用,能够联合促进癌细胞的凋亡,同时能够明显抑制癌细胞的增殖,对癌细胞具有极为显著的杀伤效率。

[0031] (3) 本发明所提供的药物组合物能够明显改善现有技术中单纯采用舒尼替尼所带来的严重耐药性以及明显减低的治疗效果,对于临床治疗提供了新的方案,具有十分广阔的市场前景以及极其重大的社会意义。

### 附图说明

[0032] 图1为体外细胞杀伤实验结果。

[0033] 图2为体外细胞克隆形成能力抑制实验结果。

[0034] 图3为EDU实验结果。

[0035] 图4为体内肿瘤生长抑制实验瘤体大小示意图。

[0036] 图5为体内肿瘤生长抑制实验肿瘤生长曲线。

[0037] 图6为体内肿瘤生长抑制实验抑瘤率实验结果。

[0038] 图7为体外细胞凋亡实验结果。

[0039] 图8为TUNEL实验结果。

[0040] 图9为体外凋亡双染实验结果。

[0041] 图10为凋亡通路中的关键蛋白检测结果。

[0042] 图11为体内病理情况与凋亡通路相关蛋白表达情况。

### 具体实施方式

[0043] 为使本发明的目的、技术方案及效果更加清楚、明确,以下参照实施例对本发明作进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0044] 在无特别说明的情况下,本发明上下文中所列出的包括786-0、A498和Caki-1等细胞系从American Type Culture Collection(ATCC、Manassas、VA、USA)购入并根据ATCC指南进行培养。所有细胞系均通过中国典型培养物保藏中心(武汉)的短串联重复分析鉴定,并使用PCR检测试剂盒(上海Biothrive Sci)验证是否存在支原体污染,同时在液氮中冷冻保存并用于后续实验。本发明所使用的试剂中,均通过市售获得。

[0045] 生物学重复中选择具有代表性的结果呈现在上下文附图中,数据按照图示中规定的以 $\text{mean} \pm \text{SD}$  和  $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 展示。所有体外实验至少重复三次,动物实验重复两次。数据采用GraphPad Prism 5.0或SPSS 20.0软件进行分析。采用t检验或方差分析比较两组或两组以上的平均值差异。 $p < 0.05$ 被认为是一个显著的差异。

[0046] 实施例1 体外细胞增殖抑制实验

选择单独用药对786-0、A498、Caki-1三种细胞进行体外细胞增殖实验,具体实验方法如下:

细胞增殖实验:(1)取对数生长期的细胞按一定密度种于96孔板中,24h后弃旧培养基,加入含有不同药物的培养基,此时药物浓度为舒尼替尼(2 $\mu\text{M}$ )和尼洛替尼(2 $\mu\text{M}$ ),每组设3个

复孔；

(2) 继续培养48h天, 每一天取一块板, 弃药液, 加入含5% CCK8的培养基, 置于37℃中孵育3h, 然后用酶标仪检测450nm的OD值。

[0047] 以DMSO组为基准, 每一天每组细胞生长率=(加药组OD值-空白组OD值)/(DMSO组OD值-空白组OD值)×100%。比较各组细胞的生长率。

[0048] 克隆形成实验:(1) 在六孔板中铺500个细胞/孔, 24h后加入相应药物, 此时选用的药物浓度是舒尼替尼(80nM)和尼洛替尼(200nM);

(2) 继续培养14天后, 弃培养基, 用PBS清洗2遍后用0.5%的结晶紫甲醇溶液染色, 计数各组细胞的克隆数(>50个细胞记为一个克隆)。计算平板克隆形成率=(克隆形成数/铺板细胞数)×100%。

[0049] 结果发现, 与对照组(DMSO)相比, 单独用药在三个细胞种都没有表现出明显的增殖抑制效应, 而联合用药则明显抑制细胞增殖, 甚至表现出细胞杀伤效果(如图1所示)。然后用786-0细胞进行了克隆形成实验, 结果发现, 与对照组相比, 单独用药并不影响786-0细胞的克隆形成能力, 而联合用药组的细胞克隆数量明显减少, 克隆的面积也明显缩小(如图2所示)。

[0050] 进一步地, 在三个细胞株种进行EDU实验, 具体实验方法如下:

(1) 取对数生长期肿瘤细胞, 按 $1 \times 10^5$ /孔的密度将细胞铺至玻璃底培养皿中, 细胞孵育过夜, 第二天贴壁过夜之后细胞密度达到60%左右为宜;

(2) 待细胞贴壁后更换含不同药物的新鲜培养基培养细胞24h。此时药物浓度为舒尼替尼(4 $\mu$ M)和尼洛替尼(4 $\mu$ M), 联合给药组为舒尼替尼(2 $\mu$ M)和尼洛替尼(2 $\mu$ M);

(3) 继续培养24h后按照EDU实验试剂盒的说明, 加入相应试剂处理后, 通过共聚焦显微镜检测实验结果

在EDU实验当中, 设置了更为严苛的实验条件, 即联合用药组的两种药物浓度在单独用药组的基础上减半。结果显示, 联合用药组的增殖细胞比例明显减少, 而单独用药组与对照组相比无明显差异(结果如图3所示)。

[0051] 由上述结果可以得知, 即便在对舒尼替尼单独用药极不敏感的786-0、A498、Caki-1三种细胞中, 舒尼替尼与尼洛替尼的联合使用, 仍然能够产生非常显著的体外增殖抑制作用。

[0052] 实施例2 体内肿瘤生长抑制实验

选择7周左右雌性裸鼠进行体内肿瘤生长抑制实验, 具体实验方法如下:

(1) 体外培养786-0细胞, 搜集对数期细胞离心、悬浮;

(2) 将细胞悬液注射至3只裸鼠皮下, 待其成瘤后, 将瘤体取出, 均分成5mm<sup>3</sup>左右大小的小瘤块;

(3) 将获得的小瘤块重新移植到20只新的裸鼠皮下;

(4) 待成瘤后, 将20只裸鼠随机分为4组, 每组5只, 依次编号为1-5, 进行灌胃给药; 其中组1给与舒尼替尼10mg/kg·d, 组2给与尼洛替尼10mg/kg·d, 组3给与舒尼替尼5mg/kg·d+尼洛替尼5mg/kg·d, 组4给与DMSO, 连续给药5天, 停药2天, 以此为一个周期, 总共给药4个周期, 每周测量一次肿瘤体积, 治疗结束后处死小鼠并取出瘤块。

[0053] 结果显示, 通过肉眼可明显看出, 联合用药组的瘤块明显小于对照组和单独用药

组;舒尼替尼组与对照组相比瘤块体积略小;尼洛替尼组与对照组相比差异不大。根据对肿瘤体积的连续测量结果,联合给药组的肿瘤体积与对照组和单独给药组相比均明显减少,而且这种差异在给药后1周即得到体现,在最后的观察中差异逐渐变大,最终的统计结果均有显著差异。此外舒尼替尼组肿瘤体积与对照组相比也有一定程度的缩小,尼洛替尼组与对照组相比差异无统计学意义(结果如图4-图5所示)。

[0054] 对肿瘤重量的分析结果,其变化趋势与肿瘤体积所表现出的结果基本一致。联合给药组的抑瘤率均高于舒尼替尼组和尼洛替尼组,且具有统计学意义(结果如图6所示)。

[0055] 由上述结果可以得知,舒尼替尼与尼洛替尼联合用药可以抑制肾癌细胞的增殖  
实施例3 体外细胞凋亡促进实验

选择单独用药对786-0、A498、Caki-1三种细胞进行体外细胞凋亡实验,结果显示,联合给药组的细胞明显皱缩,且贴壁细胞数量减少,而在相应浓度的药物单独处理时,细胞的形态和密度均未受到明显影响(结果如图7所示)。

[0056] 随后在786-0、A498以及Caki-1细胞中用药物处理后进行TUNEL实验,具体实验方法如下:

(1)取对数生长期肿瘤细胞,按 $1 \times 10^5$ /孔的密度将细胞铺至玻璃底培养皿中,细胞孵育过夜,第二天贴壁过夜之后细胞密度达到60%左右为宜;

(2)待细胞贴壁后更换含不同药物的新鲜培养基培养细胞24h。此时药物浓度为舒尼替尼(4 $\mu$ M)和尼洛替尼(4 $\mu$ M),联合给药组为舒尼替尼(2 $\mu$ M)和尼洛替尼(2 $\mu$ M);

(3)继续培养24h后按照TUNEL实验试剂盒的说明,加入相应试剂处理后,通过共聚焦显微镜检测实验结果。

[0057] 结果发现,在单独给药组呈现阴性的药物浓度下,将两种药物浓度减半后联合给药,细胞仍然呈现TUNEL实验阳性结果,(A498及Caki-1细胞实验结果未展示)(结果如图8所示)。

[0058] 进一步地,在三个细胞中进行了凋亡双染实验,具体实验方法如下:

(1)取对数生长期肿瘤细胞,按 $1 \times 10^5$ /孔的密度将细胞铺至6孔板中,细胞孵育过夜,第二天贴壁过夜之后细胞密度达到60%左右为宜;

(2)待细胞贴壁后更换含不同药物的新鲜培养基培养细胞24h。此时药物浓度为舒尼替尼(2 $\mu$ M)和尼洛替尼(2 $\mu$ M);

(3)24h后按照凋亡双染试剂计盒的说明,收集细胞并加入相应试剂后,通过流式细胞仪检测凋亡细胞比例。

[0059] 结果显示,联合给药组的细胞凋亡比例较单独给药组明显升高(结果如图9所示)。随后又检测了凋亡通路中的关键蛋白cleaved caspase-3、cleaved caspase-7和cleaved PARP-1,结果发现,这些凋亡相关蛋白在联合给药组中的水平明显上调,而在对照组和单独给药组中检测不到(结果如图10所示)。

[0060] 最后将体内实验的肿瘤制作成病理切片后进行H&E与免疫组化染色。如图11所示,在联合给药组的肿瘤中,凋亡效应蛋白cleaved caspase-3 和cleaved PARP-1的水平较对照组和单独给药组明显升高。

[0061] 由上述结果可以得知,舒尼替尼与尼洛替尼联合用药能促进肾癌细胞的凋亡。

[0062] 本发明在原有舒尼替尼的基础上,进一步加入至少一种酪氨酸激酶受体抑制剂,

尤其是尼洛替尼,能够与之产生非常显著的协同增效作用,能够联合促进癌细胞的凋亡,同时能够明显抑制癌细胞的增殖,对癌细胞具有极为显著的杀伤效率。本发明所提供的药物组合物能够明显改善现有技术中单纯采用舒尼替尼所带来的严重耐药性以及明显减低的治疗效果,对于临床治疗提供了新的方案,具有十分广阔的市场前景以及极其重大的社会意义。

[0063] 以上具体实施方式部分对本发明所涉及的分析方法进行了具体的介绍。应当注意的是,上述介绍仅是为了帮助本领域技术人员更好地理解本发明的方法及思路,而不是对相关内容的限制。在不脱离本发明原理的情况下,本领域技术人员还可以对本发明进行适当的调整或修改,上述调整和修改也应当属于本发明的保护范围。

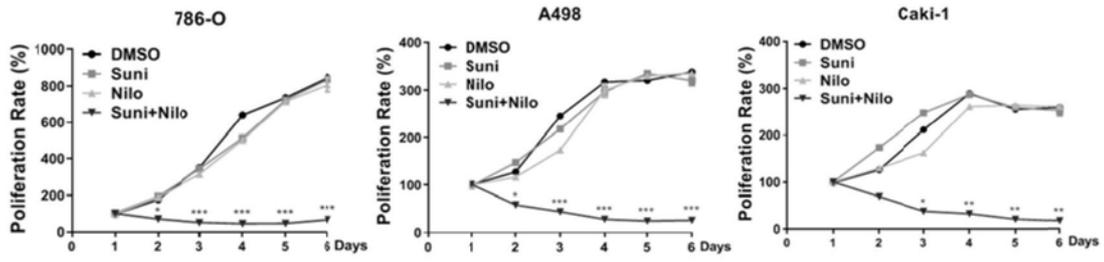


图1

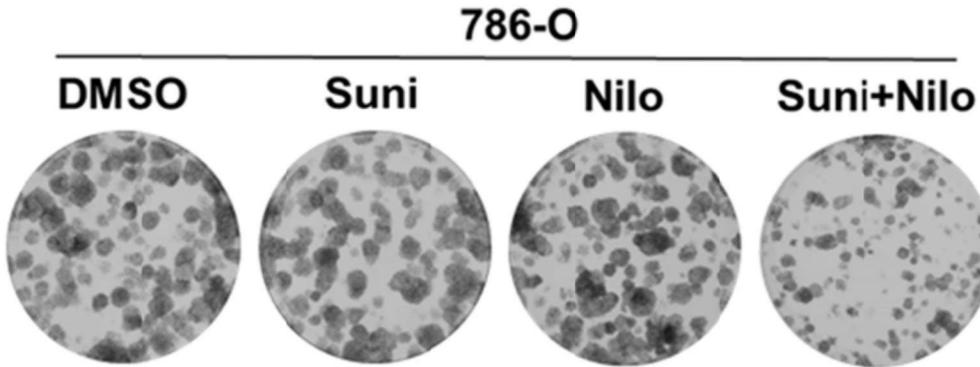


图2

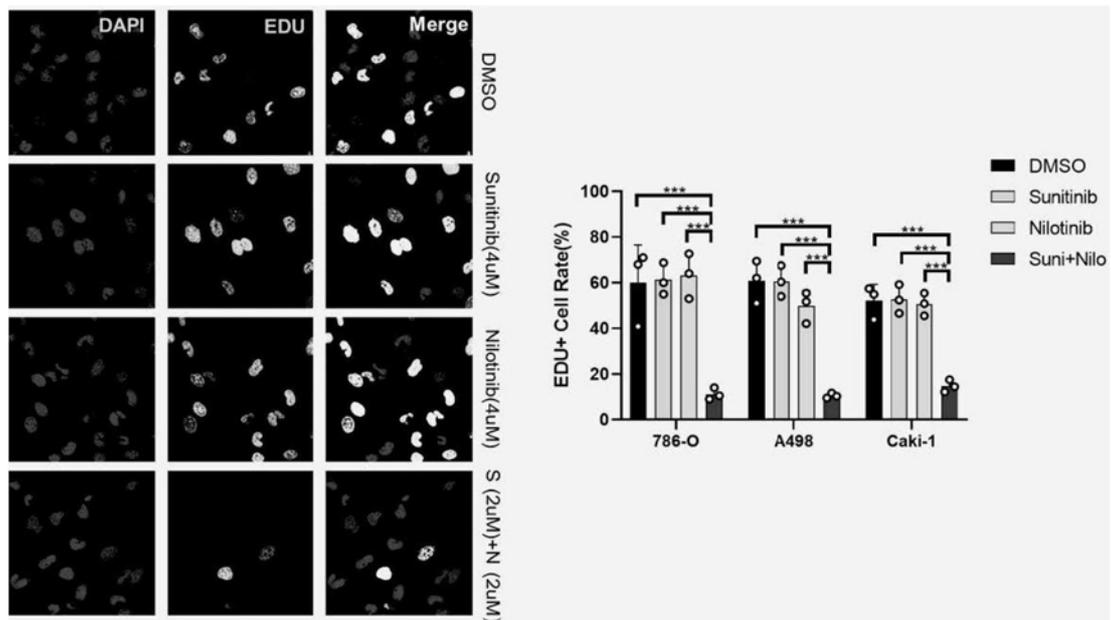


图3

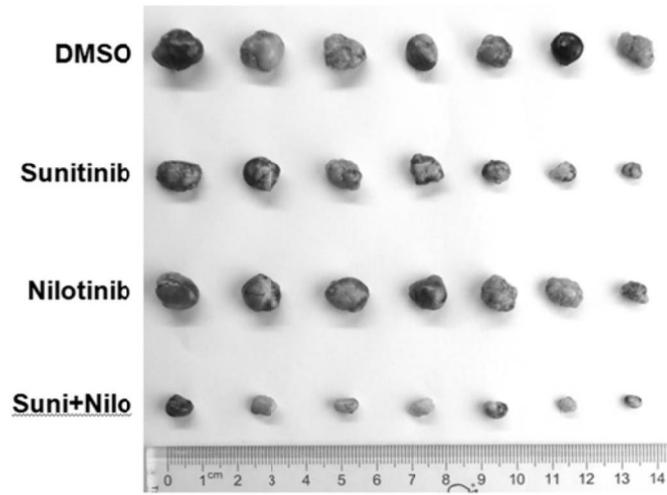


图4

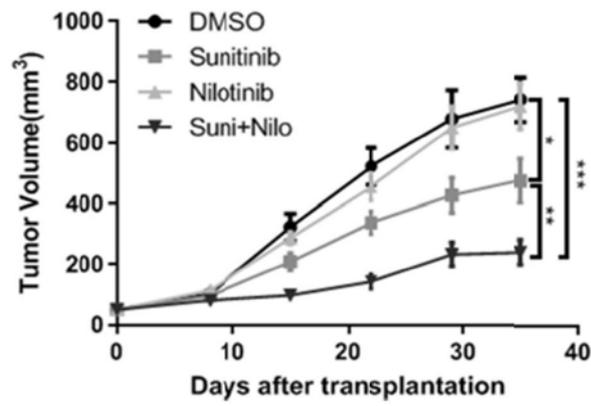


图5

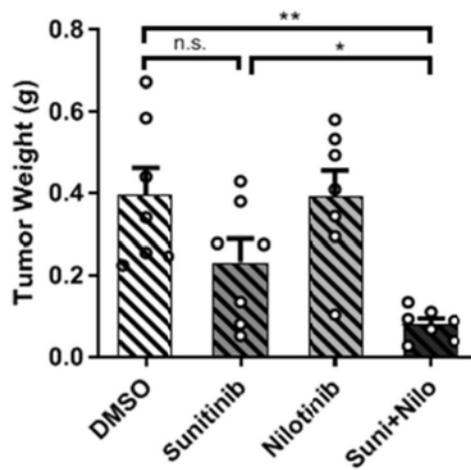


图6

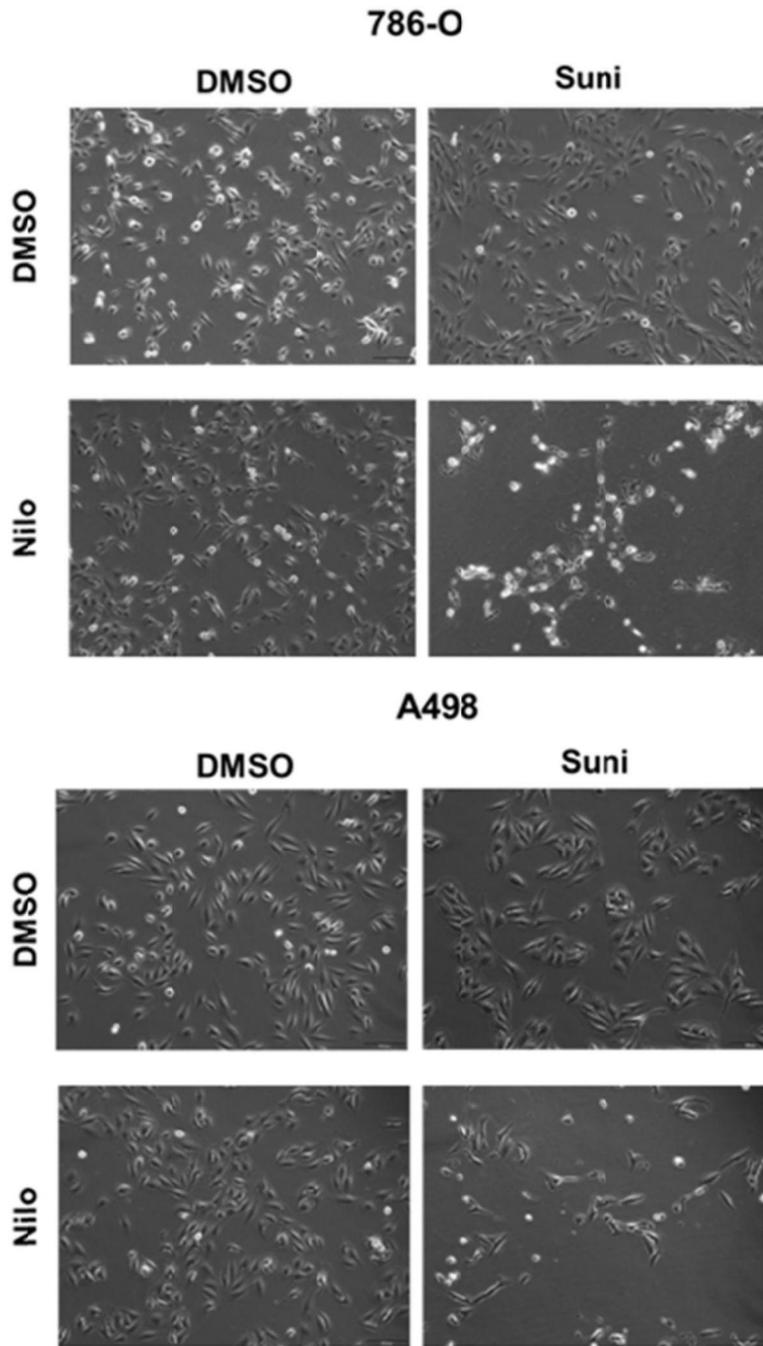


图7

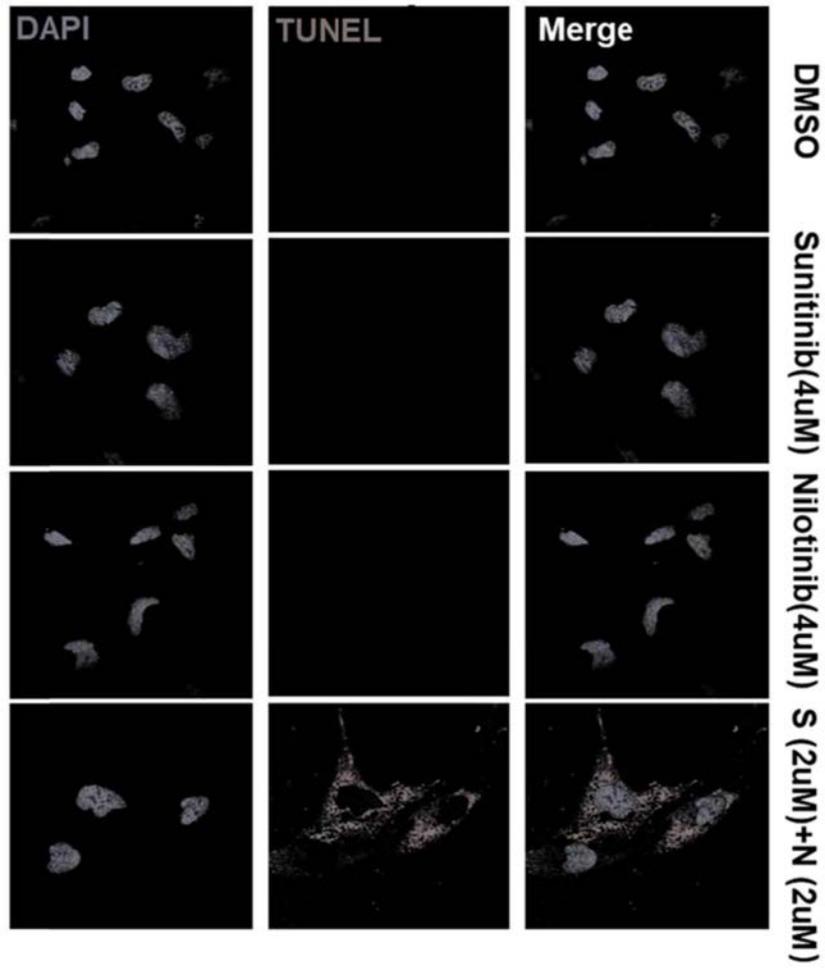


图8

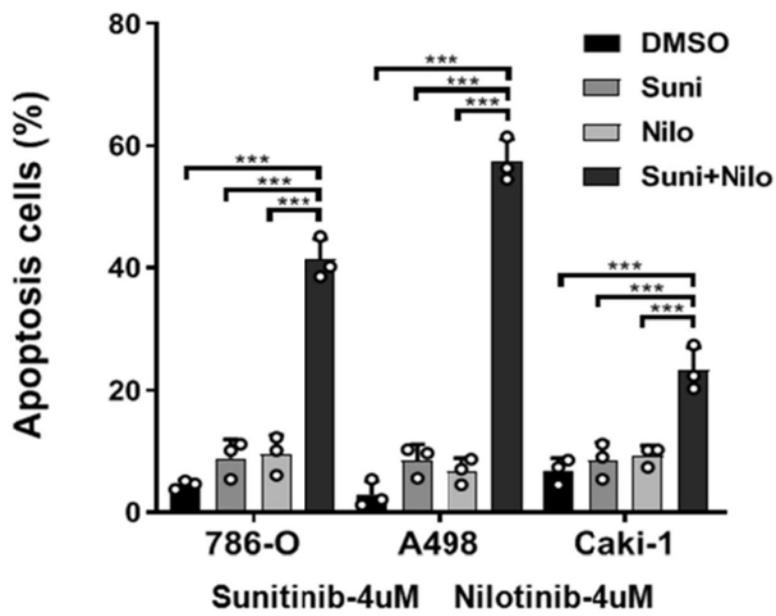


图9

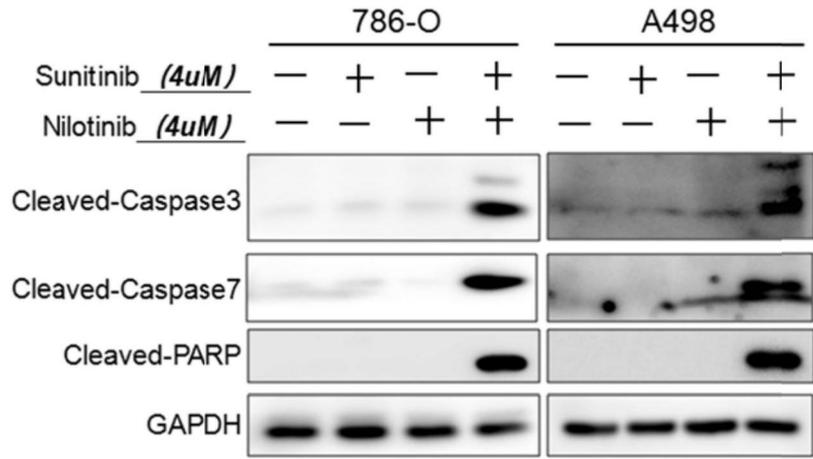


图10

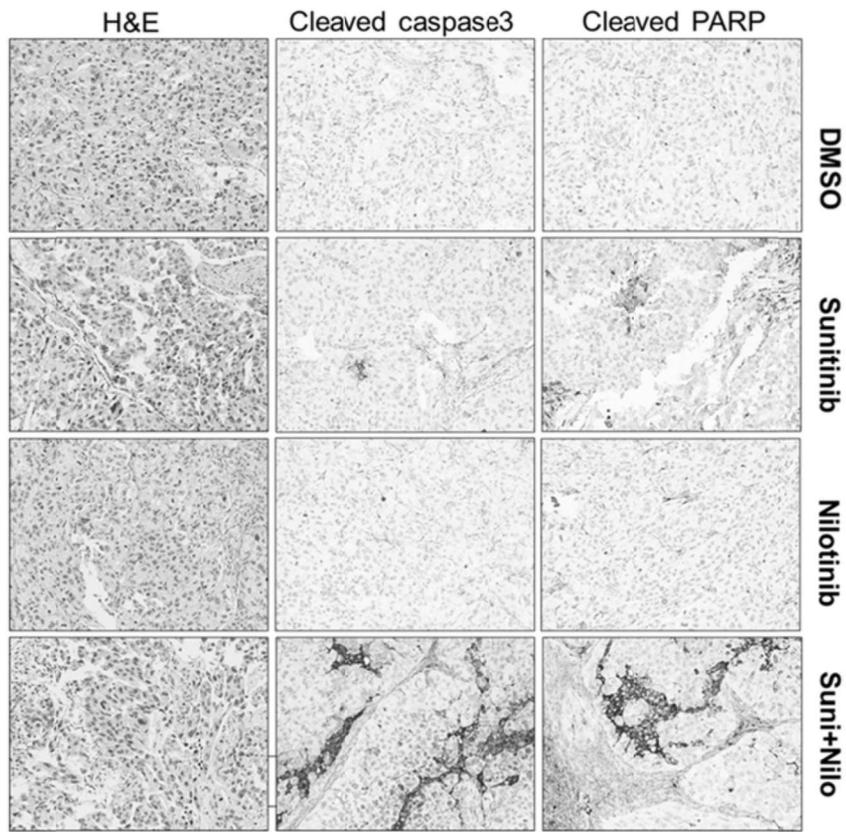


图11