



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 108721270 B

(45)授权公告日 2020.01.07

(21)申请号 201810699880.4

A61K 31/58(2006.01)

(22)申请日 2018.06.29

A61P 35/00(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

审查员 姜晖

申请公布号 CN 108721270 A

(43)申请公布日 2018.11.02

(73)专利权人 佛山科学技术学院

地址 528000 广东省佛山市南海区狮山镇

仙溪水库西路佛山科学技术学院

(72)发明人 刘连 李雄 李亚君 刘腾

彭咏波 刘武昆 谢国健

(74)专利代理机构 广东广信君达律师事务所

44329

代理人 张燕玲 杨晓松

(51)Int.Cl.

A61K 31/22(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种腺花素和丹参酮IIA复方药物组合物及其用途

(57)摘要

本发明属于天然药物领域,公开了一种腺花素和丹参酮IIA复方药物组合物及其用途。该复方药物组合物的活性成分是由摩尔比为1:1~1:20的腺花素和丹参酮IIA组成。两者联合用药具有较强的协同治疗淋巴瘤的用途。

1. 一种腺花素和丹参酮ⅡA复方药物组合物,其特征在于:该复方药物组合物的活性成分是由腺花素和丹参酮ⅡA组成;所述腺花素和丹参酮ⅡA的摩尔比为1:1~1:20。

2. 根据权利要求1所述的一种腺花素和丹参酮ⅡA复方药物组合物,其特征在于:所述腺花素和丹参酮ⅡA的摩尔比为1:1~1:10。

3. 根据权利要求1所述的一种腺花素和丹参酮ⅡA复方药物组合物,其特征在于:所述腺花素和丹参酮ⅡA的摩尔比为1:5或者1:10。

4. 根据权利要求1所述的一种腺花素和丹参酮ⅡA复方药物组合物,其特征在于:该复方药物组合物还含有药物上可接受的载体。

5. 根据权利要求1~4任一项所述的腺花素和丹参酮ⅡA复方药物组合物在制备抗淋巴瘤药物中的用途。

一种腺花素和丹参酮IIA复方药物组合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明属于天然药物领域,公开了一种腺花素和丹参酮IIA复方药物组合物及其用途。

背景技术

[0002] 癌症是严重危害人类健康的一大顽症,现已成为仅次于心血管病的第二大杀手,所以寻找安全、有效、低毒的抗肿瘤药物和研究其作用机理,具有重要意义。

[0003] 丹参,为双子叶植物唇形科(labiatae)鼠尾草属(salvia)丹参(salvia miltiotthiza bunge)的干燥根及根茎春、秋二季采挖,除去泥沙,干燥。全国大部分地区都有分布。具有活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痈之功效。用于胸痹心痛,脘腹胁痛,癥瘕积聚,热痹疼痛,心烦不眠,月经不调,痛经经闭,疮疡肿痛。丹参在我国的传统中药中占据着重要地位,《神农本草经》最早记录了它的药效,并且被列为上品,也就是没有毒性。丹参的主要化学成分是萘醌类化合物,由乙醇或乙醚来提取,称之为总丹参酮,主要含有隐丹参酮、丹参酮I、丹参酮IIA,其他诸如异丹参酮(I、II、IIB)、异隐丹参酮等含量较少。近年来研究表明,隐丹参酮、丹参酮IIA等具有抗炎、抗肿瘤及治疗心血管疾病等,其中丹参酮IIA(Tanshinone IIA,TS IIA)抗肿瘤的药效较佳,备受研究关注(Eur J Pharmacol.2015;764:480-8.;Cell Death Discov.2016;2:16065.;Oncol Rep.2017;37(3):1394-1400.;Sci Rep.2017;7:40382.doi:10.1038/srep40382.)。

[0004] 腺花素(Adenanthin,ADE),我国云南一种称为腺花香茶菜植物中,提取到一种小分子二萜类化合物,腺花素是一种植物中天然存在的化合物,具有较高的安全性。最近研究发现,ADE可诱导白血病APL分化和杀死肝癌细胞(Nat Chem Biol.2012 Apr 8;8(5):486-93.Cell Death Dis.2014 Sep 4;5:e1400.),具有开发成新型肿瘤药物的潜力。

[0005] ADE及其与TS IIA组合协同对淋巴瘤的作用尚未见报道。这些为复合TS IIA和ADE给药治疗恶性肿瘤淋巴瘤提供了全新的机会。

发明内容

[0006] 为了克服现有技术中存在的缺点和不足,本发明的首要目的在于提供一种腺花素和丹参酮IIA复方药物组合物;该复方药物组合物的活性成分是由腺花素和丹参酮IIA组成。

[0007] 本发明的另一目的在于提供一种上述复方药物组合物的用途;药理试验证明该复方药物组合物具有协同抗淋巴瘤作用。

[0008] 本发明的目的通过下述技术方案实现:

[0009] 一种腺花素和丹参酮IIA复方药物组合物,该复方药物组合物的活性成分是由腺花素和丹参酮IIA组成。

[0010] 优选的,所述腺花素和丹参酮IIA的摩尔比为1:1~1:20。

[0011] 更加优选的,所述腺花素和丹参酮IIA的摩尔比为1:1~1:10。

- [0012] 更加优选的,所述腺花素和丹参酮 II A 的摩尔比为 1:5 或者 1:10。
- [0013] 该复方药物组合物还含有药物上可接受的载体。
- [0014] 所述复方药物组合物按照常规制备工艺制备得到。
- [0015] 上述的腺花素和丹参酮 II A 复方药物组合物在制备抗淋巴瘤药物中的用途。
- [0016] 上述药物可用于包括人在内的哺乳动物的淋巴瘤的治疗。
- [0017] 本发明与现有技术相比具有如下突出的优点及有益效果:
- [0018] 本发明人在对腺花素 (ADE) 和丹参酮 II A (TS II A) 配伍药理活性的研究中发现,将 ADE 和 TS II A 组合给药,特别是当两者摩尔比为 1:1-1:10 配伍时具有很好抗癌细胞的协同作用;发明人分别对 Daudi, Raji 和 BC-3 为模型进行体外 MTT 筛选,发现其具有很强的抗增殖活性并呈良好的时效与量效关系,结合经典联合给药分析原理 (Median-effect Principle) 和统计分析,结果表明其具有协同作用,尤其是在 $fa < 0.5$ 时可明显产生协同效应抑制三种癌细胞增殖,这说明 TS II A 和 ADE 组合物可在低剂量配伍时产生 TS II A 或 ADE 单药高剂量的生物学效应,从而可以大大降低药物的毒副作用产生,具有良好的临床用药开发前景;同时,等效剂量评价表明,复合药物对正常肝细胞 L-02 的毒性尚未增加。

附图说明

- [0019] 图 1 为 TS II A 和 ADE 及优化配伍组合作用 PBMC 细胞 72 小时的安全性评价 (细胞凋亡率)。

具体实施方式

- [0020] 下面结合实施例对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。
- [0021] 实施例 1: 采用 Daudi 细胞、Raji 细胞和 BC-3 细胞筛选优化腺花素 (ADE) 和丹参酮 II A (TS II A) 复方药物组合物
- [0022] 取对数生长期的细胞,分别接种 3×10^4 个细胞/孔于 96 孔板上,待生长 6 小时后,离心弃上清,然后按以下分组给药: 肿瘤细胞设不加药组和加药组,其中加药组设 TS II A 和 ADE 单药组、TS II A 和 ADE 联合用药不同摩尔比例组,每组设 4-6 个复孔,培养 24 小时,弃上清,加入 100 μ l 含 0.5mg/ml 的 MTT (四氮唑盐) 无血清培养液培养 4 小时,加入 100 μ l DMSO (二甲亚砜),放置于微型振荡仪上振荡 10min,再置于酶标仪上 570nm 处检测 OD 值。结果按照以下抑制率公式计算每种情况下肿瘤细胞生长的抑制率,具体结果见表 1。
- [0023] 抑制率 = $(1 - \text{加药组 OD 值} / \text{对照组 OD 值})$
- [0024] 表 1 为 TS II A 和 ADE 单独和联合给药作用细胞 72 小时后不同浓度的 IC_{50} 抑制率。
- [0025] ADE 和 TS II A 按摩尔比 1:1-1:20 配伍组合时的抑制情况如表 1,当摩尔比为 1:5, 1:10 和 1:20 时, ADE 配伍的浓度相应调整增加。从其中我们可以获得随着配伍浓度的增加,其抑制率呈浓度依赖性。其中我们发现随着配伍浓度的增加,其抑制率呈浓度依赖性。
- [0026] 表 1 TS II A 和 ADE 单药作用 72 小时 IC_{50} (μ M)

		TS II A	ADE	ADE/TS II A =1:1	ADE/TS II A =1:5	ADE/TS II A =1:10	ADE/TS II A =1:20
[0027]	IC ₅₀ Daudi	51.5	6.5	5.9	3.1	1.3	0.7
	Raji	56.4	6.8	5.8	2.9	1.2	0.6
	BC-3	55.8	7.8	6.6	2.8	1.4	0.6
	LO2	>200	>50	>50	>50	>50	>50

[0028] 实施例2:ADE和TS II A联合给药效应分析

[0029] 以Median-effect Principle(中效原理或Chou-Talalay联合指数法)为评价基础,应用CombiDrug统计软件绘制剂量-效应曲线及不同效应下的合用指数曲线(fa-C曲线),从两药合用的效应与合用指数的关系定量评价两药之间是协同、拮抗或相加关系。具体步骤如下:

[0030] 药物作用效应即抑制率(fa)=1-(试验组平均OD570值/肿瘤细胞空白对照组平均OD570)根据中效方程式 $fa/fu = (D/D_m)^m$,两边取对数 $\log fa/fu = m \log D - m \log D_m$,设 $a = -m \log D_m$, $b = m$, $x = \log D$, $y = \log fa/fu$,代入中效方程式得 $y = bx - a$;其中fa为药物作用效应, $fu = 1 - fa$,D为药物浓度,m为斜率,D_m为中效浓度,即50%效应时的药物浓度。依上述公式,计算出两种抗癌药单用及合用时各自的中效浓度D_m($\log D_m = -a/m$),再计算出单用及两药合用时在各种效应时所需药物浓度($D = D_m (fa/fu)^{1/m}$),可计算出两药合用时在各种效应时的合用指数($CI = D_1/DX_1 + D_2/DX_2 + \alpha (D_1 D_2) / (DX_1 DX_2)$,D₁、D₂为两药合用时产生X效应时两药各自所需浓度,DX₁、DX₂为两药单独使用时产生X效应时两药各自浓度)。 $\alpha = 0$ 为两种相互排斥性药物, $\alpha = 1$ 为两种相互非排斥性药物。因TS II A与ADE作用机制不同,故本实验中取 $\alpha = 0$ 。当CI<1,两药合用效应为协同;CI=1,两药合用效应相加;CI>1,两药合用效应拮抗。

[0031] 经过软件分析,本发明的复方药物组合物具有良好的协同作用,具体效应见表2,根据Median-effect Principle评价效应的原则,即CI指数<0.1时具有很强的协同作用(Very strong synergism);CI指数为0.1-0.3时为强协同效应(Strong synergism);CI指数为0.3-0.7具有协同效应(Synergism);CI指数为0.7-0.85具有中度协同效应(Moderate synergism);CI指数为0.85-0.90区间时具有弱协同效应(Slight synergism);CI指数为0.90-1.10区间时具有近叠加效应(Nearly additive);CI指数>1.10及以上时具有拮抗效应。

[0032] 表2可见,ADE和TS II A配伍具有协同效应;尤其是当两者摩尔比为1-1:10配伍时具有良好的协同效应,当两者摩尔比为1:5或1:10时协同效应最强。

[0033] 表2 TS II A和ADE不同配伍组合作用72小时的联合指数CI比较

摩尔比(ADE/TS II A)					
		抑制率 (fa)	1:1	1:5	1:10
[0034]	0.40	0.98	0.49	0.45	0.47
	0.50	0.88	0.41	0.40	0.44
	0.60	0.78	0.37	0.35	0.39
	0.75	0.46	0.32	0.24	0.35
	0.90	0.41	0.26	0.22	0.28
	0.95	0.38	0.22	0.19	0.25

[0035] 实施例3: ADE和TS II A对外周血单核淋巴细胞的安全性

[0036] 将健康志愿者单核淋巴细胞PBMC进行分离和加药培养后评价TS II A和ADE对PBMC细胞的安全性(图1): ①抽取健康志愿者的新鲜血液到肝素抗凝管中(无菌); 然后用等体积量PBS(或无血清的D-Hank缓冲液)重悬细胞(无菌); ②将悬浮细胞加入预先铺好的人淋巴细胞分离液(预热37℃), 淋巴分离液与细胞悬液的体积比不低于1:1; ③500×g(或2000rpm)水平离心机离心20-30min, 室温(20-30℃)慢速; ④丢弃上层血浆, 把中间白色雾层小心吸出加入到5ml(或1-2倍体积)的PBS(或无血清细胞培养缓冲液)中, 200×g或1000rpm离心10min, 室温(20-30℃), 慢速, 弃上清, 所得沉淀即为外周血单核淋巴细胞(PBMC); ⑤再按上述操作洗涤2次, 每次500×g水平离心10min, 室温(20-30℃)慢速, 收集细胞沉淀; ⑥采用活细胞拒染法(如台盼蓝)等检测细胞活力; ⑦按加药设计方案放入细胞培养箱孵育72小时(ADE 10μM, TS II A 50μM, AD/ETS II A=1/5(10μM/50μM)), 加药及对照进行流式检测细胞凋亡率。D1-D6为志愿者1-6号的血液样本。

[0037] 实施例4: 腺花素(ADE)和丹参酮II A(TS II A)复方药物组合物按照以下处方制成片剂:

[0038] 处方如下:

[0039]	腺花素	40 克
	丹参酮II A	335 克
	微晶纤维素	72 克
	淀粉	15 克
	羧甲基淀粉钠	20 克
	硬脂酸镁	2.5 克
	10%淀粉浆	5.5 克
		压制 1000 片

[0040] 制备工艺如下：

[0041] 将药物和辅料分别过80目筛，将ADE与48克微晶纤维素和12克羧甲基淀粉钠充分混合，10%淀粉浆制软材，18目筛制粒，60℃下干燥，得颗粒1。将丹参酮ⅡA与24克微晶纤维素、15克淀粉和8克羧甲基淀粉钠充分混合，10%淀粉浆制软材，18目筛制粒，60℃下干燥，得颗粒2。按等量递增原则，将颗粒1和颗粒2充分混合，16目筛整粒，加入硬脂酸镁，混匀，压片，片重500mg。

[0042] 上述实施例为本发明较佳的实施方式，但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制，其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化，均应为等效的置换方式，都包含在本发明的保护范围之内。

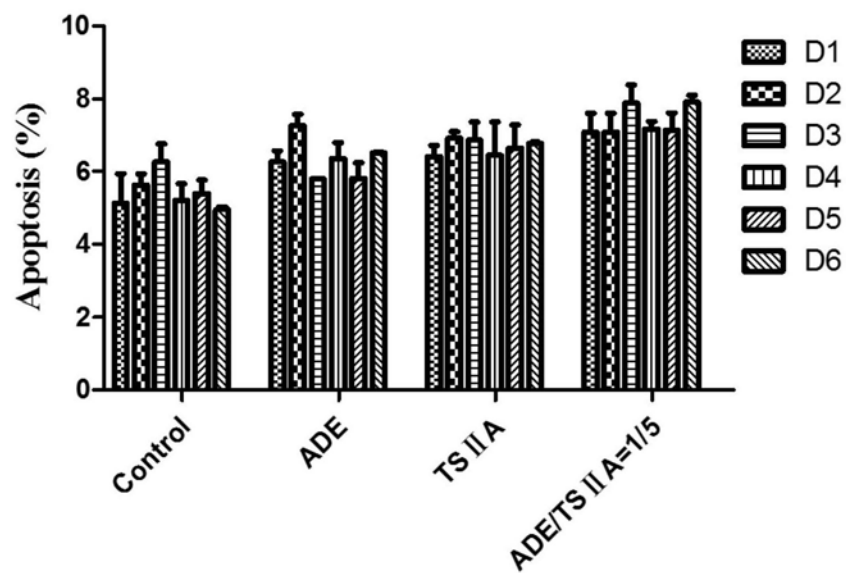


图1