



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114522158 B

(45) 授权公告日 2023. 06. 27

(21) 申请号 202210072182.8

A61P 1/16 (2006.01)

(22) 申请日 2022.01.21

A61P 35/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

审查员 于凡

申请公布号 CN 114522158 A

(43) 申请公布日 2022.05.24

(73) 专利权人 武汉大学

地址 430072 湖北省武汉市武昌区珞珈山
武汉大学

(72) 发明人 黄赞 孙佳琪

(74) 专利代理机构 武汉科皓知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 42222

专利代理师 齐晨涵

(51) Int. Cl.

A61K 31/221 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

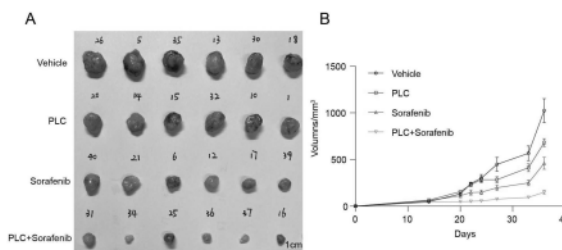
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

用于制备治疗肝癌药物的代谢物及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种用于制备治疗肝癌药物的代谢物及其应用。通过在人源肝癌细胞系中使用不同药物处理,同时结合细胞增殖进行关联分析,发现丙酰肉碱可以有效抑制肝癌细胞增殖。通过与索拉非尼进行联合用药,可以显著提高索拉非尼对肝癌细胞增殖的抑制作用。通过裸鼠皮下注射肝癌细胞,使用丙酰肉碱及其与索拉非尼联合用药,发现丙酰肉碱可以有效抑制肿瘤的形成,并且显著提高索拉非尼对小鼠肿瘤形成的抑制作用。本发明中的代谢物可以作为肝癌治疗的新型药物,提高索拉非尼的疗效,降低由于药物浓度过高的副作用,显著提高肝癌的治疗效果。



1. 一种丙酰肉碱与索拉非尼的组合物在制备治疗肝癌药物中的应用, 其特征在于: 所述丙酰肉碱作为用于制备治疗肝癌药物的代谢物; 所述丙酰肉碱抑制肝癌细胞增殖和皮下成瘤; 通过丙酰肉碱与索拉非尼组合用药, 能显著增强索拉非尼抑制肝癌细胞的增殖和皮下肿瘤形成的疗效。

用于制备治疗肝癌药物的代谢物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及代谢物的功能和应用领域,具体涉及一种用于制备治疗肝癌药物的代谢物及其应用。

背景技术

[0002] 肝癌是第六大常见癌症,相关死亡位列癌症第四位。最常见的肝癌是肝细胞癌(HCC),占肝癌的90%以上。HCC的早期诊断率低,患者确诊时通常已经晚期,无法采用治愈性疗法,例如手术切除和肝移植。非治愈性疗法,例如经导管动脉化疗栓塞消融提高总体生存率有限,部分原因是晚期HCC在临床上具有相当的异质性。

[0003] 索拉非尼是目前唯一获得美国FDA批准的一线治疗药物用于晚期肝细胞癌(HCC),对多种激酶有抑制作用,特别是抑制Raf-丝裂原激活的细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)激酶(MEK)-ERK信号传导,减少肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡,并抑制血管生成。然而,索拉非尼在HCC治疗中的疗效远不能令人满意。口服索拉非尼400毫克每天两次只能延长患者的中位总生存时间2.8个月。此外,在这个剂量下,索拉非尼会导致严重和广泛的不良事件包括疲劳、厌食、腹泻、皮疹脱屑、手足皮肤反应、高血压。这些不利影响显著限制了药物的耐受性在临床上使用药物并损害其有益结果。

[0004] 丙酰-L-肉碱(PLC)是左旋肉碱酯,用于运输脂肪酸进入线粒体。丙酰肉碱已被证明是一种抗氧化剂,保护组织免受氧化损伤。丙酰肉碱能够减少膜脂过氧化和心肌细胞缺氧的影响,丙酰-L-肉碱(PLC)成为具有治疗各种心血管疾病潜力的内源性化合物。近年来,随着不断深入的研究,丙酰肉碱代谢有可能在肝癌发生及调控中扮演着重要的角色。

发明内容

[0005] 针对现有技术的不足,本发明提供一种用于制备治疗肝癌药物的代谢物及其应用,即丙酰肉碱在治疗肝癌中的功能及应用,以及作为新型药物在联合索拉非尼治疗肝癌中的应用。本发明通过实验研究发现,丙酰肉碱在肝癌中发挥重要作用,通过丙酰肉碱及其与索拉非尼联合治疗,发现可以显著抑制肝癌细胞的增殖,也可以抑制肝癌细胞皮下肿瘤形成的能力。

[0006] 为实现上述目的,本发明提供了以下技术方案:

[0007] 第一方面,本发明提供一种用于制备治疗肝癌药物的代谢物,其特征在于:所述代谢物为丙酰肉碱。

[0008] 第二方面,本发明提供一种丙酰肉碱在制备治疗肝癌药物中的应用。

[0009] 作为一种优选方案,所述丙酰肉碱具有显著抑制肝癌的治疗效果。

[0010] 作为另一种优选方案,通过丙酰肉碱与索拉非尼联合用药,发现能丙酰肉碱显著提高索拉非尼抑制肝癌的治疗效果。

[0011] 本发明的优点及有益效果如下:

[0012] 本发明以多种人源肝癌细胞包括HCCLM9, MHCC97H, Huh7为实验对象,通过丙酰肉

碱、丙酰肉碱与索拉非尼联合用药构建细胞模型,结果发现丙酰肉碱在不同肝癌细胞中可以不同程度抑制其细胞增殖速率,增强索拉非尼抑制肝癌细胞增殖速率;通过丙酰肉碱及其与索拉非尼的联合用药,发现丙酰肉碱可以显著抑制HCCLM9在提高索拉非尼对肝癌细胞增殖的抑制作用。本发明还以HCCLM9细胞注射至BALB/C裸鼠皮下,通过口服将丙酰肉碱、丙酰肉碱与索拉非尼联合用药构建小鼠模型,结果发现丙酰肉碱可以抑制皮下肿瘤形成速度,与索拉非尼联合用药可以显著提高索拉非尼抑制皮下肿瘤形成的效果。以上结果表明丙酰肉碱可以有效改善和治疗肝癌。

附图说明

[0013] 图1中:

[0014] A:Huh7细胞经丙酰肉碱(1mM)和索拉非尼(2 μ M)处理,RTCA检测细胞增殖;丙酰肉碱单独对Huh7细胞增殖无显著影响,丙酰肉碱联合索拉非尼可以显著抑制Huh7的细胞增殖速率(相比空白组、索拉非尼组、丙酰肉碱组)。

[0015] B:HCCLM9细胞经丙酰肉碱(1mM)和索拉非尼(0.5 μ M)处理,RTCA检测细胞增殖;丙酰肉碱显著抑制HCCLM9的细胞增殖速率,丙酰肉碱联合索拉非尼可以显著抑制

[0016] HCCLM9的细胞增殖速率(相比空白组、索拉非尼组、丙酰肉碱组)。

[0017] C:MHCC97H细胞经丙酰肉碱(1mM)和索拉非尼(2 μ M)处理,RTCA检测细胞增殖;丙酰肉碱显著抑制MHCC97H的细胞增殖速率,丙酰肉碱联合索拉非尼可以显著抑制

[0018] MHCC97H的细胞增殖速率(相比空白组、索拉非尼组、丙酰肉碱组)。

[0019] 图2中:

[0020] A:皮下肿瘤图片,在空白组(Vehicle),丙酰肉碱组(PLC),索拉非尼组(Sorafenib),丙酰肉碱和索拉非尼联合组(PLC+Sorafenib);在实验终点,丙酰肉碱和索拉非尼联合组的肿瘤大小显著低于空白组、丙酰肉碱组和索拉非尼组的肿瘤大小。

[0021] B:皮下肿瘤体积统计图。在不同时间点测量小鼠皮下肿瘤的体积,丙酰肉碱和索拉非尼联合组的肿瘤体积显著低于空白组、丙酰肉碱组和索拉非尼组的肿瘤体积。

具体实施方式

[0022] 下面结合实施例及附图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。

[0023] 实施例1

[0024] 1、肝癌细胞培养,包括HCCLM9,MHCC97H,Huh7等人源肝癌细胞,在37 $^{\circ}$ C,5%CO₂培养箱培养,细胞传代及操作均在无菌细胞间生物安全柜中进行。细胞培养于DMEM培养基,10%胎牛血清,1%双抗的培养条件。

[0025] 2、RTCA检测细胞增殖:xCELLigence Cell FunctionAnalyzer(DP System)用于检测细胞增殖。贴壁细胞经胰酶消化后重悬于完全DMEM培养基中,密度约为4.0 \times 10⁴/mL。然后用50 μ L完整DMEM培养基填充E-Plate View 16以执行基线检查(细胞指数应小于0.063)。之后,每孔加入100 μ L细胞悬液,再向每孔加入不同药物处理,开始进行实时检测约96小时。

[0026] 本发明以HCCLM9,MHCC97H,Huh7等人源肝癌细胞,将丙酰肉碱、丙酰肉碱与索拉非尼联合用药添加到细胞培养基中,构建肝癌细胞模型,结果发现丙酰肉碱可以抑制细胞增

殖速率,与索拉非尼联合可以显著抑制细胞增殖速率。以上结果表明丙酰肉碱可以有效改善和治疗肝癌。

[0027] 实施例2

[0028] 1、BABLc-nude裸鼠皮下成瘤:将4周龄的BALB/c裸鼠在SPF级动物房饲养。取对数生长期的HCCLM9细胞,PBS重悬细胞至 7×10^7 /ml。将4℃解冻的基质胶按1:1体积加入细胞悬液混匀。在超净台内于将细胞悬液200 μ l接种于裸鼠皮下,定期测量接种部位肿瘤大小。皮下注射15天后,将裸鼠随机分为四组,分别用生理盐水(Vehicle空白组),丙酰肉碱(PLC组),索拉非尼(Sorafenib组),丙酰肉碱+索拉非尼(PLC+Sorafenib组)隔天灌胃。灌胃约21天后,待Vehicle组肿瘤长至大约1000mm³,断颈处死裸鼠,取出肿瘤块拍照。

[0029] 本发明以HCCLM9细胞注射至BALB/c裸鼠皮下,通过口服将丙酰肉碱、丙酰肉碱与索拉非尼联合用药构建小鼠模型,结果发现发现丙酰肉碱可以抑制皮下肿瘤形成速度,与索拉非尼联合用药可以显著抑制皮下肿瘤的形成。以上结果表明丙酰肉碱可以有效改善和治疗肝癌。

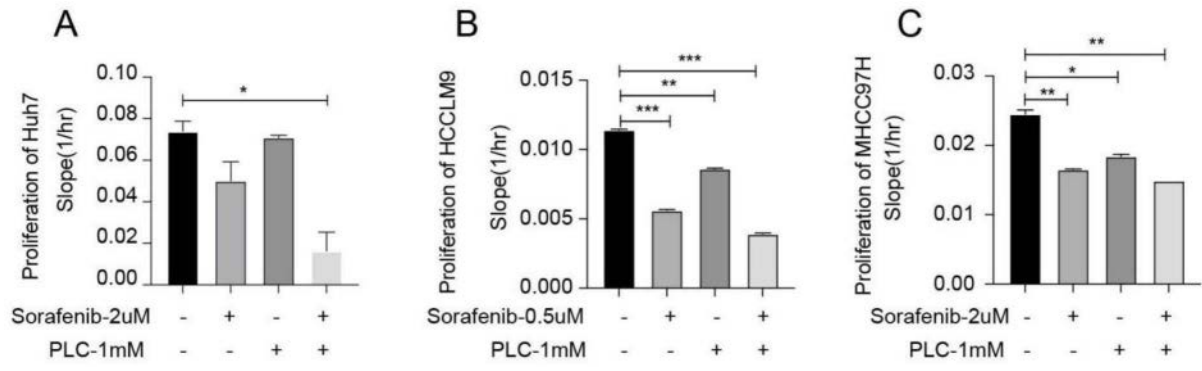


图1

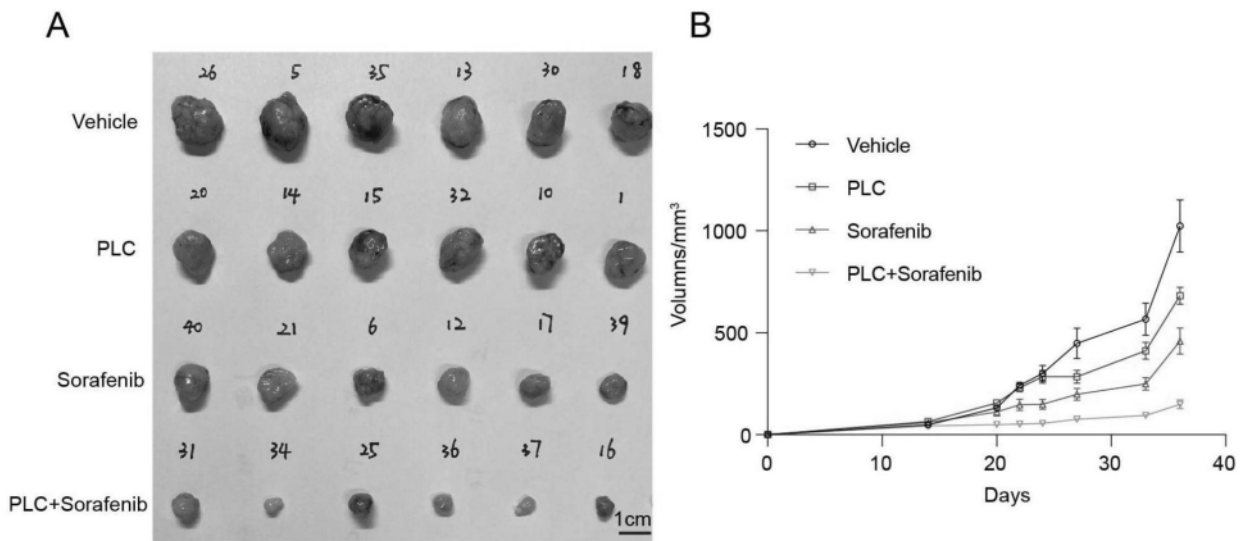


图2