

说明书

蟾毒它灵在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用

技术领域

本发明涉及蟾毒它灵的新用途，具体是涉及蟾毒它灵及其组合物在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用。

背景技术

肺癌是最常见的肺原发性恶性肿瘤，绝大多数肺癌起源于支气管粘膜上皮，故亦称支气管肺癌。近 50 多年来，世界各国特别是工业发达国家，肺癌的发病率和病死率均迅速上升，死于癌病的男性病人中肺癌已居首位。

肺癌晚期可出现各个不同脏器的转移，可引起相应的症状，常常给病人带来极大的痛苦，甚至威胁到生命。临床最常见肺癌转移到脑、骨、肝及肾与肾上腺等部位。

肺癌有以下两种基本类型：1) 小细胞肺癌 (SCLC) 近 20% 的肺癌患者属于这种类型；2) 非小细胞肺癌 (NSCLC) 类，约 80% 的肺癌患者属于这种类型。

目前肺癌的治疗有化疗、放疗及手术治疗等，但是由于 SCLC 特有的生物学行为，且对化疗敏感，所以化疗全身治疗很重要。许多化疗药如环磷酰胺 (CTX)、异环磷酰胺 (IFO)、长春花碱 (VLB)、长春新碱 (VCR)、氮芥 (HN2)、足叶乙甙 (VP16) 及其口服胶囊、蒽环类药、卡铂 (CBP) 等，其单药的近期有效率在 40% 以上。

非小细胞肺癌(NSCLC)，对放疗或化疗不甚敏感或不敏感，所以

一经确诊，首选手术切除治疗，术后再根据情况予以补充治疗。一方面切除率低，另一方面即使切除，术后复发、转移的机率也高，所以对于 NSCLC，需手术、放疗、化疗等综合治疗，才有可能改善生活质量，提高生存率。凡术前可能切除困难的、术后有潜在的复发转移倾向的、术后出现复发转移的、病期晚已失去手术切除机会的，均需化疗治疗。

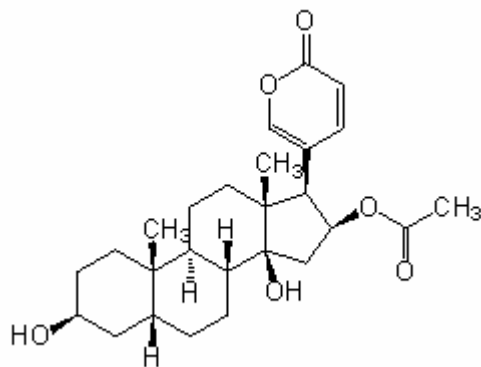
由于化疗的进展及有效化疗药物的增多，提高了 NSCLC 化疗的近期有效率，但达到 CR 的病例不多。但近年来，综观文献报道，已在逐渐改变对转移性 NSCLC 化疗不能延长生存期的状况，而出现部分病例通过化疗可适当延长生存期，因之化疗在 NSCLC 的综合治疗中，已成为不可缺少的手段。当然现有化疗的毒性不容忽视，如肾毒性及胃肠道反应等。

现有化疗药物的治疗效果、毒性及病人对化疗药物的耐受性均对新的化疗药物的出现寄予极大期待。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是公开一致蟾毒它灵在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用，以满足临床应用的需要。

蟾毒它灵，是从中药蟾酥或蟾皮以及蟾蜍分泌物中提取分离得到的一种化合物，其结构式为：



所述蟾毒它灵可采用文献报道的方法进行制备（杨秀伟 等，华蟾毒精和羟基华蟾毒精的人肠内细菌代谢研究[J]. 北京大学学报（医学版），2001, 33(3):199-204.；张英 等. 中华大蟾蜍皮的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(8):484-487.），或者可采用商业化的产品，如 J&K CHEMICAL LTD. 公司提供 CAS 号为 471-95-4 的产品。

发明人发现，所述蟾毒它灵，具有优异的抑制肿瘤生长的功能，尤其是抑制肺部肿瘤生长的功能，可以用于治疗肺部肿瘤。

可以以组合物的形式，通过口服、静脉注射或者是透皮渗透方式，施加于需要治疗的患者，剂量一般为 0.05~3mg/天/Kg，具体可根据病人的病情、年龄等，由医师决定；

所述组合物，包括治疗有效量的蟾毒它灵和医药学上可接受的载体，所述载体包括稀释剂、赋形剂如水等，填充剂，如淀粉、蔗糖等，粘合剂，如纤维素衍生物明胶、聚乙烯吡咯烷酮等，润滑剂，如滑石粉等。

含有蟾毒它灵的组合物中，蟾毒它灵的重量含量为 0.01%~99.9%；优选的重量含量为 0.1%~99.0%。

可采用本领域公知的方法，将含有蟾毒它灵的组合物，制备成为粉针剂、颗粒剂、胶囊、膏剂、霜剂、透皮贴剂或其他口服剂。

经过蟾毒它灵体外抗肿瘤实验，申请人发现，动物肺部药物浓度

均高于起效药物浓度，蟾毒它灵对人非小细胞肺癌及其它肺部肿瘤细胞株具有较强的抑制活性， IC_{50} 在 15~200ng/ml，并且具有较好的量效关系。实验结果显示，蟾毒它灵的抑制肿瘤生长效果优于临床现在应用的药物，具有很大开发应用前景。

具体实施方式

实施例 1

化合物蟾毒它灵的分离精制

将蟾酥药材敲碎后利用粉碎机打成细小颗粒，称取300g置于5L圆底烧瓶中，加入3L体积浓度为 95%的乙醇，水浴加热回流6h，提取液过滤；药渣再加5L体积浓度为95%乙醇同上操作，共提取3次，合并全部滤液，在55℃水浴旋转浓缩至250ml时，转移至大梨型瓶中再加入500ml纯水，加入500ml氯仿，盖塞振摇并超声2h，放置过夜分层，分取氯仿层；剩余水层再加入氯仿同上操作，共萃取多次。合并全部氯仿层减压浓缩至干，得固体。

取氯仿萃取物，用氯仿溶解后，加薄层层析硅胶G拌样，用硅胶H上柱，用石油醚和乙酸乙酯梯度洗脱层析分离，得到多个流份。将含有蟾毒它灵的流份，以体积浓度为45%的甲醇为流动相进行分离收集相应组分并浓缩至干，即可获得蟾毒它灵纯品。

实施例2

配制蟾毒它灵注射液：

配方：（以重量比例计）

蟾毒它灵 1-10份，

药用级乙醇 5~100份

Cremophor EL 5~100份.

维生素 C 0.001~2份.

采用公知的方法，配制成为注射液。

实施例3

片剂：（以重量比例计）

蟾毒它灵 1-10份

淀粉 5-100份

羟丙甲纤维素 0.1-10份

微粉硅胶 0.01-0.5份

硬脂酸镁 0.01-0.5份

采用公知的方法，制备成为片剂。

实施例 4

蟾毒它灵对人非小细胞肺癌 A549 的抑制作用

采用文献（黄银久,等"SRB法和MTT法抗肿瘤药物筛选结果相关性研究." 生物学杂志(04): 13-16.）报道相同的SRB法，对人非小细胞肺癌A549进行体外抑制活性测试。

人非小细胞肺癌 A549 由中国科学院上海细胞库提供。

试验药物：将蟾毒它灵溶解在甲醇或 DMSO 中配制成不同浓度的溶液，其中，蟾毒它灵由 J&K CHEMICAL LTD 提供。将不同浓度的药物分别加样测其对人非小细胞肺癌 A549 细胞生长的抑制活性，加样量不超过 1%。试验结果见表 1。

1, 对人非小细胞肺癌 A549 细胞生长的抑制率%

浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.0063	0.0031	0.0016	0.00078	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
蟾毒它灵	80.4	75.3	62.7	49.3	21.8				0.017

实验结果显示蟾毒它灵对人非小细胞肺癌 A549 具有较强的抑制作用，呈现了较好的量效关系，其 IC_{50} 在 $0.018\mu\text{g/ml}$ 。

实施例 5

蟾毒它灵在肺内药物浓度测定

采用 HPLC 分析方法，采用 C_{18} $5\mu\text{m}$ $250\times 4.6\text{mm}$ 色谱柱，以 $0.5\% \text{KH}_2\text{PO}_4$ -乙腈（用磷酸调 pH 值至 3.0）（60:40）作为流动相，流速 1.0ml/min ，检测波长： $\text{UV}296\text{nm}$ ，柱温： 40°C 。

将蟾毒它灵配制成 1mg/ml 的注射液，取小鼠，准确称重后，以每 28 分钟输入 4mg/kg 的剂量进行小鼠尾静脉恒速注射。

注射结束后，迅速脱臼处死小鼠，取出肺组织，纯水洗后吸干，用剪刀剪碎后放入 10ml 具塞玻璃离心管中并精密称定重量，加入乙酸乙脂 3.0ml ，涡旋振荡 2min ，超声 20min ， 3000R/min 离心 10min ，顷出上层（其中血浆放入 -20°C 冰箱，待下部结冰固化后再顷出上层）吹干后，各加入 $100\mu\text{l}$ 甲醇溶解，静置，取上清液 $20\mu\text{l}$ 进行 HPLC 分析。

分析结果见表 2。

表 2 恒速输注小鼠（ $4\text{mg/kg}\cdot 28\text{min}$ ）肺组织中蟾毒它灵分布结果（单位： $\mu\text{g/g}$ ）

	1#小鼠	2#小鼠	3#小鼠	4#小鼠	5#小鼠	平均	SD
药物浓度 $\mu\text{g/g}$	0.7984	1.3372	0.5465	0.6509	1.0270	0.8720	0.3165

由表 2 可见，小鼠肺内组织药物浓度可以达到 $0.872\pm 0.3165\mu\text{g/g}$ ，

远远高于药物起效的有效浓度，显示了蟾毒它灵可以很好的分布到肺组织。

蟾毒它灵及含有蟾毒它灵的组合物可以很好的分布到肺组织，，并能在稳态状况下达到有效药物浓度之上，而且具有很高的对肺部肿瘤组织的生长抑制活性，因此具有很大的开发成治疗肺部肿瘤药物的前景。

上海光华专利事务所

一、化工领域技术资料准备的说明

(一) 以产品为主：技术/产品创新主要是基于化学产品，则申请时应考虑提供：

- 1、本专利的应用领域（即本专利直接所属或直接应用的具体技术领域）；
- 2、本专利的任务是什么，或要解决的技术问题是什么？
- 3、已有技术/产品的不足：即说明与本专利的内容最相似的技术/产品，需要说明已有技术/产品的结构式/分子量/配方等，以及已知功能及应用，尤其指出该已有技术/产品存在的缺点或不足之处。如有引用文献，需要说明出处。
- 4、本专利的内容：应说明本专利达到目的或解决问题的技术手段。如果应当描述产品的结构/配方，制备方法，应用，原理。说明技术优化的思路。
- 5、本专利的效果：即新化学产品的用途。
- 6、附图与说明：与发明有关的试验结果，方法流程图等等图解，附图中如涉及多个产品同时检验的情况，请用中文说明各个条带表示什么内容。
- 7、本专利的具体实施例：对照附图，说明本专利的具体试验例子，必须有相应的技术参数、数据，及具体实验条件，如是产品，则需要产品的制备、鉴定、应用实施例，要说明有益效果，可以提供对比数据为好。

(二) 以方法或工艺为主：技术/产品创新主要是基于方法或工艺，则申请时应考虑提供：

- 1、本专利的应用领域（即本专利直接所属或直接应用的具体技术领域）；
- 2、本专利的任务是什么，或要解决的技术问题是什么？
- 3、已有技术/产品的不足：即说明与本专利的内容最相似的方法/工艺。对于方法，需要说明已有方法的主要思路、步骤、效果，尤其指出该方法在解决本专利目的上的缺点或不足之处。对于工艺，需要说明已有工艺的主要原理及工艺步骤、工艺条件、原料，尤其指出该工艺存在的缺点或不足之处。如有引用文献，需要说明出处；如有参照产品，指出其规格、厂家。
- 4、本专利的内容：应说明本专利达到目的或解决问题的技术手段。对于方法，应当说明本方法的主要思路、步骤。对于工艺，应当说明工艺步骤、工艺条件、使用原料，如可能需说明工艺原理。说明技术优化的思路。

5、本专利的效果：有益效果可以由运算效率提高、降低能耗、产率提高、精度提高、工序简化、控制方便，以及有用性能的出现等方面反映出来。

6、附图与说明：如有必要可以给出工艺流程图。

7、本专利的具体实施例：说明本专利的具体试验例子，必须有相应的技术参数、数据。数据说明可以采用图表形式。说明有益效果，以提供对比数据为好。

（三）以装置或设备为主：技术/产品创新主要是基于装置或设备，则申请时应提供：

1、本专利的应用领域（即本专利直接所属或直接应用的具体技术领域）：

2、本专利的任务是什么，或要解决的技术问题是什么？

3、已有技术/产品的不足：即说明与本专利的内容最相似的技术/产品，需要说明已有技术/产品的主要结构及原理，尤其指出该已有技术/产品存在的缺点或不足之处。如有引用文献，需要说明出处；如有参考产品，指出其型号、厂家。

4、本专利的内容：应说明本专利达到目的或解决问题的技术手段。如果涉及装置或设备，应当描述装置或设备的机械构成，尤其说明各组成部分之间的相互关系，例如形状、位置、连接关系、相互作用原理，创新点对于装置或设备的作用。说明技术优化的思路。

5、本专利的效果：有益效果可以由产率、质量、精度和效率的提高，能耗、原材料、工序的节省，加工、操作、控制、使用的简便，环境污染的治理或者根治，以及有用性能的出现等方面反映出来。

6、附图与说明：装置或设备的图解，图应以机械制图的标准绘制，实用新型申请必须带附图。

7、本专利的具体实施例：对照附图，说明本专利的具体试验例子，必须有相应的技术参数、数据，如需要说明有益效果，可以提供对比数据为好。

二、生物医药领域技术资料准备的提纲

（一）专利申请以药物产品和用途为主：产品创新主要是基于药物的活性成分或配方，则申请时应考虑提供：

1、本专利的应用领域（即本专利直接所属或直接应用的具体技术领域）：

- 2、本专利的任务是什么，或要解决的技术问题是什么？
- 3、已有技术/产品的不足：即说明与本专利的内容最相似的产品，需要说明已有药物产品的结构式/分子量/序列等，以及已知的功能及应用，尤其指出该已有药物产品存在的缺点或不足之处。对于药物配方，需要说明已有配方的组成成份、比例、成份性能、用途，尤其指出该配方在用途方面的缺点或不足之处。如有引用文献，需要说明出处；如有参照产品，指出其规格、厂家。
- 4、本专利的内容：应说明本专利达到目的或解决问题的技术手段。对于药物活性成分：应当描述该活性成分的名称及结构式/序列（包括各种官能基团、分子立体构型等），制备方法，应用，原理；并应当记载与发明要解决的技术问题相关的化学、物理性能参数（如各种定性或者定量数据和图谱等）。对于配方：应当说明配方组份、各组分可选择的范围、各组分的含量范围、各组份的性质，配方用途，如可能需说明配方制作工艺。说明技术优化的思路。
对于新的药物化合物或者药物组合物，应当记载其具体的医药用途或者药理作用，同时还应当记载其有效量及使用方法。如果本领域技术人员无法根据现有技术预测发明能够实现所述医药用途、药理作用，则应当记载对于本领域技术人员来说，足以证明发明的技术方案可以解决预期要解决的技术问题或者达到预期的技术效果的实验室试验（包括动物实验）或者临床试验的定性或者定量数据。
- 5、本专利的效果：即新药物产品的用途，如用作制备治疗某类疾病的药或者诊断某类疾病等等。
- 6、附图与说明：与发明有关的试验结果，方法流程图等等图解，附图中如涉及多个产品同时检验的情况，请用中文说明各个条带表示什么内容。
- 7、本专利的具体实施例：对照附图，说明本专利的具体试验例子，必须有相应的技术参数、数据，及具体实验条件。如是药物化合物，则需要化合物的制备、鉴定、应用实施例，要说明有益效果，可以提供对比数据为好。

（二）以方法或工艺为主：技术/产品创新主要是基于药物产品的制备方法或工艺，则申请时应考虑提供：

- 1、本专利的应用领域（即本专利直接所属或直接应用的具体技术领域）：
- 2 本专利的任务是什么，或要解决的技术问题是什么？

- 3、已有技术/产品的不足：即说明与本专利的内容最相似的方法/工艺。对于方法，需要说明已有方法的主要思路、步骤、效果，尤其指出该方法在解决本专利目的上的缺点或不足之处。对于工艺，需要说明已有工艺的主要原理及工艺步骤、工艺条件、原料，尤其指出该工艺存在的缺点或不足之处。如有引用文献，需要说明出处；如有参照产品，指出其规格、厂家。
- 4、本专利的内容：应说明本专利达到目的或解决问题的技术手段。对于方法，应当说明本方法的主要思路、步骤。对于工艺，应当说明工艺步骤、工艺条件、使用原料，如可能需说明工艺原理。说明技术优化的思路。
- 5、本专利的效果：有益效果可以由运算效率提高、降低能耗、产率提高、精度提高、工序简化、控制方便，以及有用性能的出现等方面反映出来。
- 6、附图与说明：如有必要可以给出工艺流程图。
- 7、本专利的具体实施例：说明本专利的具体试验例子，必须有相应的技术参数、数据。数据说明可以采用图表形式。说明有益效果，以提供对比数据为好。

(三) 以医疗器具为主：技术/产品创新主要是基于医疗器具，则申请时应提供：

- 1、本专利的应用领域（即本专利直接所属或直接应用的具体技术领域）：
- 2、本专利的任务是什么，或要解决的技术问题是什么？
- 3、已有技术/产品的不足：即说明与本专利的内容最相似的产品，需要说明已有产品的主要结构及原理，尤其指出该已有产品存在的缺点或不足之处。如有引用文献，需要说明出处；如有参考产品，指出其型号、厂家。
- 4、本专利的内容：应说明本专利达到目的或解决问题的技术手段。如果涉及器械或设备，应当描述器械或设备的机械构成，尤其说明各组成部分之间的相互关系，例如形状、位置、连接关系、相互作用原理，创新点对于装置或设备的作用。说明技术优化的思路。
- 5、本专利的效果：有益效果可以由质量、精度和效率的提高，原材料、工序的节省，加工、操作、控制、使用的简便，以及有用性能的出现等方面反映出来。
- 6、附图与说明：器械或设备的图解，图应以机械制图的标准绘制，实用新型申请必须带附图。

7、本专利的具体实施例：对照附图，说明本专利的具体试验例子，必须有相应的技术参数、数据，如需要说明有益效果，可以提供对比数据为好。

更详细的信息，您可以咨询上海光华专利事务所化工医药部经理，许律师，
021-51096606*829; email:xyl@iprtop.com。

关于我们的情况，您可以浏览网页：<http://www.iprtop.com>