

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103860572 A

(43) 申请公布日 2014.06.18

(21) 申请号 201410066491.X

(22) 申请日 2014.02.26

(71) 申请人 吉林大学

地址 130012 吉林省长春市前进大街 2699 号

申请人 中国科学院生物物理研究所

(72) 发明人 邓旭明 饶子和 董靖 李雪梅
张勇 陈瑜涛 邱家章

(74) 专利代理机构 长春市四环专利事务所(普通合伙) 22103

代理人 鞠传龙

(51) Int. Cl.

A61K 31/7048(2006.01)

A61P 39/02(2006.01)

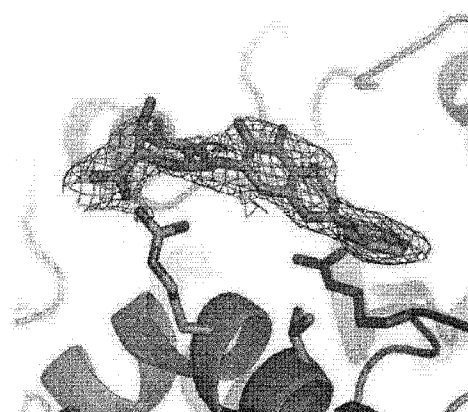
权利要求书1页 说明书3页 附图3页

(54) 发明名称

黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用

(57) 摘要

本发明公开了黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用,黄芩苷能在细胞水平抑制蓖麻毒素引起的细胞死亡,在体内对小鼠蓖麻毒素中毒有明显的解救作用,研究表明黄芩苷能够应用在制备治疗蓖麻毒素中毒的药物中,本发明的有益效果:黄芩苷能在细胞水平抑制蓖麻毒素引起的细胞死亡,对于蓖麻毒素中毒的解救具有重大意义,不管是吸入或食入或注射引起的蓖麻毒素中毒,上述含有黄芩苷的药物均有确切的疗效。



1. 黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用。
2. 根据权利要求 1 所述的黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用,其特征在
于:所述的治疗蓖麻毒素中毒的药物为注射剂或胶囊或片剂或粉针剂。

黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种药物在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用,特别涉及黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用。

背景技术

[0002] 蓖麻毒素是从蓖麻种子中提取出来的一种强毒性蛋白,属于 II 型核糖体失活蛋白家族,具有 N-糖苷酶活性,能组织哺乳动物细胞蛋白合成而引起细胞凋亡和死亡。因此蓖麻毒素自从 20 世纪初期开始被用于生物战剂,由于其毒性高、容易提取和高稳定性,容易被恐怖组织利用,对人类的生命安全造成了极大的威胁。美国疾控中心将其列为生物恐怖级别 B 类,但目前临床中尚未有针对蓖麻毒素的有效解毒药。因此,研究能拮抗蓖麻毒素活性的小分子拮抗剂对于蓖麻毒素中毒的解救具有重大意义。

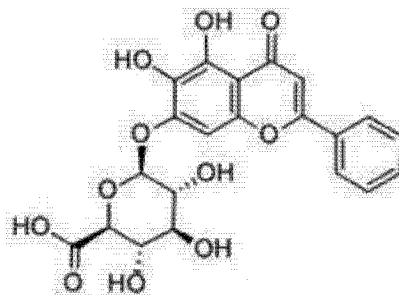
发明内容

[0003] 本发明的目的在于目前临床中尚未有针对蓖麻毒素的有效解毒药的问题而提供的黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用。

[0004] 本发明所述的黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用。

[0005] 黄芩苷(Baicalin)是从中药黄芩、木蝴蝶等植物中提取分离出来的一种黄酮类化合物,具有明显的抗真菌活性,尤其对酵母菌具选择性作用,最低抑菌浓度(MIC)在 70-100 μ g/ml 之间,具体分子式如下:

[0006]



[0007] 黄芩苷能在细胞水平抑制蓖麻毒素引起的细胞死亡,在体内对小鼠蓖麻毒素中毒有明显的解救作用,研究表明黄芩苷能够应用在制备治疗蓖麻毒素中毒的药物中。

[0008] 上述的治疗蓖麻毒素中毒的药物为注射剂或胶囊或片剂或粉针剂。

[0009] 不管是吸入或食入或注射引起的蓖麻毒素中毒,上述含有黄芩苷的药物均有确切的疗效。

[0010] 本发明的有益效果:

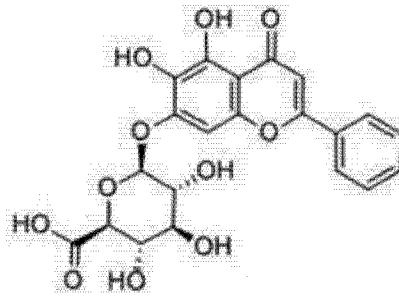
[0011] 黄芩苷能在细胞水平抑制蓖麻毒素引起的细胞死亡,对于蓖麻毒素中毒的解救具有重大意义,不管是吸入或食入或注射引起的蓖麻毒素中毒,上述含有黄芩苷的药物均有确切的疗效。

附图说明

- [0012] 图 1 是蓖麻毒素与黄芩苷晶体复合物的结构图。
 [0013] 图 2 是蓖麻毒素与黄芩苷的结合位点图。
 [0014] 图 3 是黄芩苷对小鼠蓖麻毒素中毒存活率的影响曲线图。
 [0015] 图 4 是蓖麻毒素中毒小鼠肾脏组织阳性对照图。
 [0016] 图 5 是蓖麻毒素中毒小鼠经黄芩苷治疗后的肾脏组织切片图。
 [0017] 图 6 是小鼠肾脏组织阴性对照图。

具体实施方式

- [0018] 本发明所述的黄芩苷在制备治疗蓖麻毒素中毒药物中的应用。
 [0019] 黄芩苷(Baicalin)是从中药黄芩、木蝴蝶等植物中提取分离出来的一种黄酮类化合物,具有明显的抗真菌活性,尤其对酵母菌具选择性作用,最低抑菌浓度(MIC)在 70-100 μ g/ml 之间,具体分子式如下:
 [0020]



- [0021] 黄芩苷能在细胞水平抑制蓖麻毒素引起的细胞死亡,在体内对小鼠蓖麻毒素中毒有明显的解救作用,研究表明黄芩苷能够应用在制备治疗蓖麻毒素中毒的药物中。
 [0022] 上述的治疗蓖麻毒素中毒的药物为注射剂或胶囊或片剂或粉针剂。
 [0023] 不管是吸入或食入或注射引起的蓖麻毒素中毒,上述含有黄芩苷的药物均有确切的疗效。
 [0024] 具体实验如下所述:
 [0025] 1、黄芩苷对 HeLa 细胞的保护作用:
 [0026] 将培养的 HeLa 细胞以每孔 15000 个细胞铺到 96 孔细胞培养板中,培养 24 小时完全贴壁后每孔加入纯化的蓖麻毒 100pg,并加入不同梯度的黄芩苷溶液,置于 CO₂ 培养箱中培养 72 小时后离心去细胞培养液上清检测其乳酸脱氢酶释放量,通过乳酸脱氢酶释放评价其对细胞的保护作用。结果显示黄芩苷能显著抑制蓖麻毒素导致的 HeLa 细胞毒性作用,并呈现剂量依赖性。加入不同浓度的黄芩苷后 HeLa 细胞的存活率如下表 1:
 [0027] 表 1. 黄芩苷对蓖麻毒素导致的 HeLa 细胞毒性的抑制作用
 [0028]

黄芩苷 (μ g/ml)	存活率 (%)
0	21.39

4	27.56
8	42.18
16	56.89
32	77.42

[0029] 2、黄芩苷抗蓖麻毒素机制分析及靶点确证：

[0030] 为了明确黄芩苷抗蓖麻毒素活性的机制，本研究以悬滴法得到黄芩苷与蓖麻毒素的蛋白晶体，晶体数据经过软件计算后得到了黄芩苷与蓖麻毒素的复合物晶体结构，见附图1。通过分析发现黄芩苷与蓖麻毒素作用后促进蓖麻毒素形成了多聚体，多聚后其活性位点被阻挡而失去大部分活性，黄芩苷与蓖麻毒素的结合位点(见附图2)为 Arg189, Thr190, Arg193, Tyr194, Arg235, Arg258。经过进一步试验验证发现黄芩苷作用于蓖麻毒素的主要作用位点为 Arg189, Thr190, Arg193, Tyr194, Arg235。

[0031] 小鼠蓖麻毒素中毒的实验治疗学研究

[0032] 3.1 小鼠蓖麻毒素中毒模型

[0033] BALB/C 小鼠(雄性, 18-22g)经乙醚麻醉后, 经腹腔给予纯化的蓖麻毒素蛋白, 小鼠平躺直至苏醒, 建立小鼠蓖麻毒素中毒模型。存活率试验、病理学试验给予 100ng 纯化的蓖麻毒素蛋白。

[0034] 3.2 保护率试验

[0035] 小鼠注射蓖麻毒素蛋白 6h 后皮下注射 200mg/kg 的黄芩苷, 每 6h 给药一次。不给药对照组给与 100 μ l 的灭菌 PBS, 每组 20 只小鼠, 统计其死亡率。结果表明, 经黄芩苷处理后, 显著提高小鼠蓖麻毒素中毒后的存活率, 见附图 3。

[0036] 3.3 病理组织学实验

[0037] 小鼠注射蓖麻毒素蛋白 6h 后皮下注射 200mg/kg 的黄芩苷, 每 6h 给药一次。不给药对照组给与 100 μ l 的灭菌 PBS, 每组 10 只小鼠, 感染 72 小时后将小鼠麻醉致死取肾脏做病理切片观察其病理变化。结果发现, 阳性对照组小鼠肾脏有出血, 肾小管上皮细胞有大量细胞脱落和管型, 肾小球肿胀; 而给药组肾组织仅有少量出血, 与正常组小鼠比较无明显差异, 见附图 4、附图 5 和附图 6 所示。

[0038] 通过以上得出黄芩苷能在细胞水平抑制蓖麻毒素引起的细胞死亡, 在体内对小鼠蓖麻毒素中毒有明显的解救作用, 表明黄芩苷能够应用在制备治疗蓖麻毒素中毒的药物中。

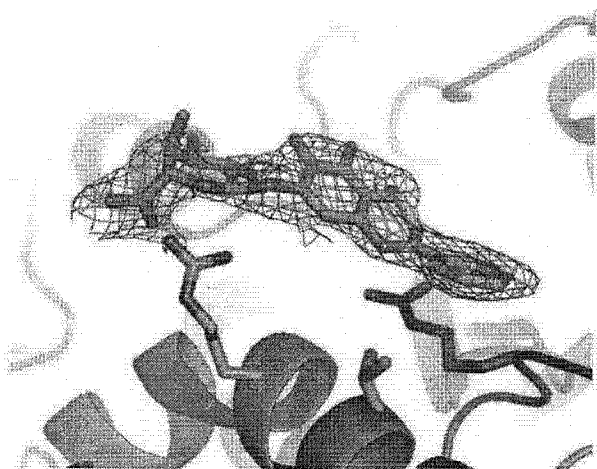


图 1

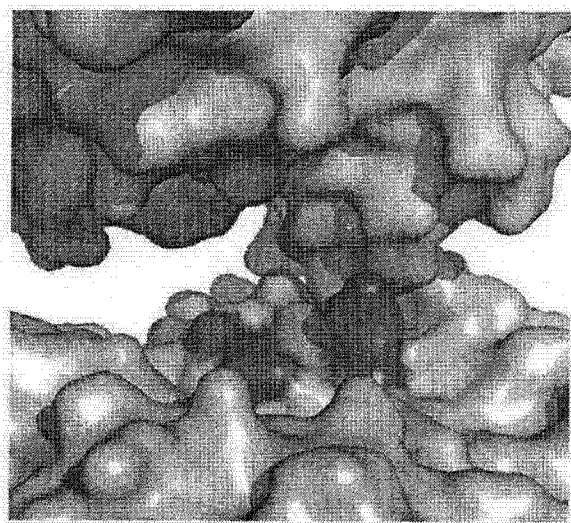


图 2

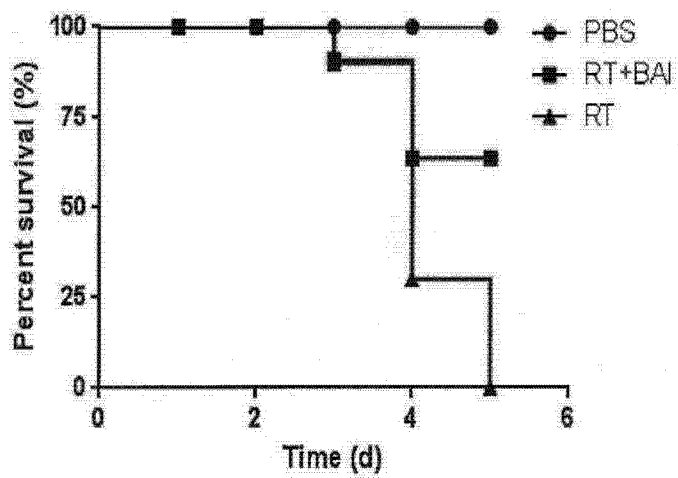


图 3

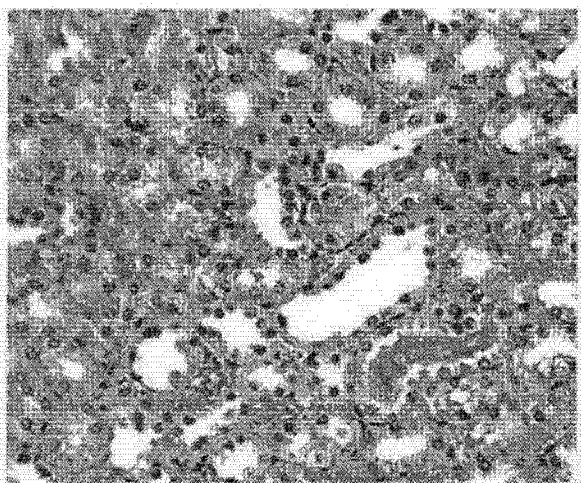


图 4

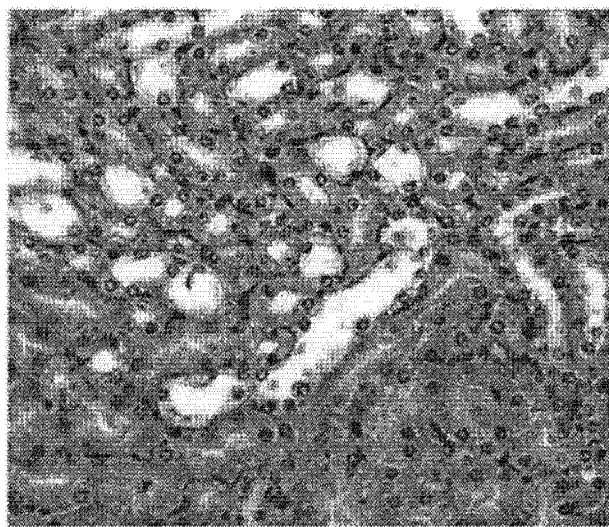


图 5

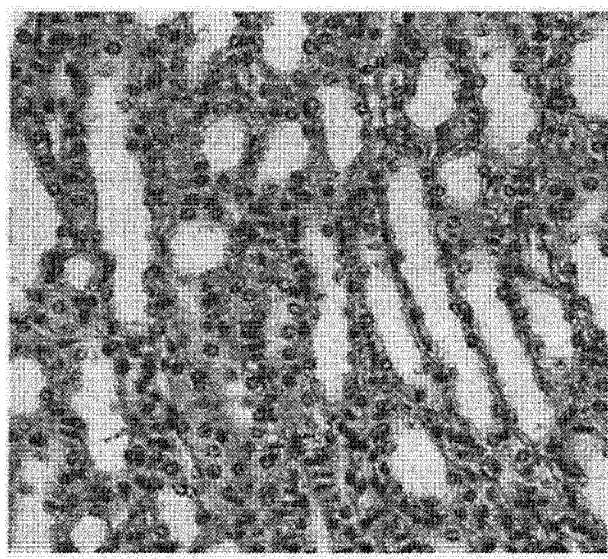


图 6