



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111407885 A

(43)申请公布日 2020.07.14

(21)申请号 201910014888.7

(22)申请日 2019.01.08

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所  
地址 100101 北京市朝阳区大屯路15号

(72)发明人 赫荣乔 王秀梅 范士超

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245  
代理人 关畅 赵静

(51)Int.Cl.

A61K 38/48(2006.01)

A61P 31/20(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页 附图2页

(54)发明名称

蚓激酶的药物用途

(57)摘要

本发明公开了蚓激酶的一种新用途。所述新用途是蚓激酶在制备用于治疗乙型肝炎的药物中的应用。实验证明,蚓激酶能够显著地降低乙型肝炎病毒麻鸭模型中DHBV-DNA的水平,因此可能发展成为一种新的治疗乙肝的药物。

1. 蚓激酶在制备用于治疗乙型肝炎的药物中的应用。
2. 蚓激酶在制备抑制乙型肝炎病毒复制的药物中的应用。
3. 蚓激酶在制备抑制乙型肝炎病毒增殖的药物中的应用。

## 蚓激酶的药物用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,具体涉及蚓激酶的一种药物用途。

### 背景技术

[0002] 蚯蚓作为传统中药,使用已有几千年的历史,李时珍在《本草纲目》中记载其“利小便、治足疾而通经络”,以及“疗伤寒,伏热狂谬,(主治)大腹黄胆”等功能。20世纪80年代,日本学者从蚯蚓中提取出一组具有丝氨酸蛋白酶活性的蛋白酶类,能够显著地溶解血栓,称之为Lumbrokinase,即“蚓激酶”(H.Mihara,H.Sumi,H.Mizumoto,T.Yoneta,R.Ikeda,and M.Maruyama,Jan.J.Physiol.1991.41,461-472)。几乎同时,我国也成功地自主开发了蚓激酶的提取工艺,并制备成胶囊,以抗血栓药物上市。二十多年来,蚓激酶在临床上取得了优异的治疗效果,成为一种安全、有效的抗血栓药物。

[0003] 尽管蚓激酶在临床上得到了广泛的应用,但这些都以抗血栓为主要目的,目前并没有蚓激酶在治疗乙肝方面的报道。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供蚓激酶的一种药物新用途。

[0005] 本发明所提供的蚓激酶的药物新用途是其在制备用于治疗乙型肝炎的药物中的应用。

[0006] 进一步的,本发明还提供了蚓激酶在制备抑制乙型肝炎病毒复制的药物中的应用;以及蚓激酶在制备抑制乙型肝炎病毒增殖的药物中的应用。

[0007] 本发明所述蚓激酶为符合国家药品标准,标准号为:WS-001(X-1)-92规定的所有蚓激酶。

[0008] 上述标准中关于蚓激酶的定义为:本品系人工养殖的赤子爱胜蚓(*Eisenia Foetida Savigny*)中提取制备的一组蛋白水解酶。按干燥品计算,每1mg效价应不得少于12000单位。每1mg蛋白中蚓激酶比活力不得少于20000单位。

[0009] 所述蚓激酶可通过市售途径获得,如北京百奥药业有限责任公司生产的蚓激酶肠溶胶囊(百奥),以及江苏联环药业股份有限公司的激酶肠溶胶囊(降宁),长春雷允上药业有限公司的蚓激酶肠溶片(星可)等。

[0010] 以蚓激酶为活性成分制备的用于治疗乙肝的药物也属于本发明的保护范围。

[0011] 需要的时候,在上述药物中还可以加入一种或多种药学上可接受的载体;所述载体包括药学领域常规的稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体、润滑剂等。

[0012] 上述药物可以制成注射液、片剂、粉剂、颗粒剂、胶囊、口服液、膏剂、霜剂等多种形式;上述各种剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。

[0013] 上述药物可通过注射、喷射、滴鼻、滴眼、渗透、吸收、物理或化学介导的方法导入机体如肌肉、皮内、皮下、静脉、粘膜组织;或是被其他物质混合或包裹后导入机体。

[0014] 本发明通过实验证明, 蚓激酶能够显著地降低乙型肝炎病毒麻鸭模型中DHBV-DNA的水平, 因此可能发展成为一种新的治疗乙肝的药物。

### 附图说明

[0015] 图1为分别采用生理盐、蚓激酶或拉米夫定给药处理后, 各组龙岩麻鸭的体重变化图。

[0016] 图2为分别采用生理盐、蚓激酶或拉米夫定给药处理后, 各组龙岩麻鸭的DHBV-DNA含量变化图。

### 具体实施方式

[0017] 下面通过具体实施例对本发明进行说明, 但本发明并不局限于此, 凡在本发明的精神和原则之内所做的任何修改、等同替换和改进等, 均应包含在本发明的保护范围之内。

[0018] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明, 均为常规方法。

[0019] 下述实施例中所用的材料、试剂等, 如无特殊说明, 均可从商业途径得到。

[0020] 下述实施例中的定量试验, 均设置至少3个平行, 结果以平均值±标准差表示; \*表示 $p < 0.05$ , \*\*表示 $p < 0.01$ , \*\*\*表示 $p < 0.001$ 。

[0021] 下述实施例中所使用的蚓激酶为北京百奥药业有限责任公司生产的蚓激酶肠溶胶囊(国药准字:H11021129), 规格为30万IU/粒。

[0022] 拉米夫定为葛兰素史克制药(苏州)有限公司生产的拉米夫定片(国药准字:H20030581), 规格为100mg/片。

[0023] 实施例1、蚓激酶降低乙型肝炎病毒麻鸭模型中DHBV-DNA的水平的试验一、抗鸭乙型肝炎病毒的实验

[0024] 1.1实验动物的选择

[0025] 一日龄龙岩麻鸭购回后, 于第2天经胫静脉取血, 分离血清后, 采用PCR的方法检测鸭乙肝病毒属(DHBV), 筛选出先天感染DHBV的麻鸭27只。

[0026] 1.2给药方法

[0027] 1. 对照组: 9只, 口服生理盐水, 每天灌胃一次, 连续28天。

[0028] 2. 阳性对照组: 9只, 口服拉米夫定溶液(用研钵将拉米夫定片碾成粉末, 溶于生理盐水, 配制为2mg/mL溶液), 每天灌胃一次, 每次灌胃剂量为20mg/kg体重, 连续28天。

[0029] 3. 蚓激酶组: 9只, 口服蚓激酶溶液(取出胶囊内粉末, 溶于生理盐水, 配制为10mg/mL溶液), 每天灌胃一次, 每次灌胃剂量为100mg/kg体重, 连续28天。

[0030] 1.3采血

[0031] 用药前( $T_0$ ), 用药7、14、21、28天( $T_7$ 、 $T_{14}$ 、 $T_{21}$ 、 $T_{28}$ )及停药后第5天( $P_5$ ), 自鸭胫静脉取血, 分离血清,  $-70^\circ\text{C}$ 冻存待检。

[0032] 1.4DHBV-DNA检测方法

[0033] 取鸭血清, 每批同时点膜, 测定鸭血清中DHBV-DNA水平的变化。按缺口翻译试剂盒说明书方法, 用 $^{32}\text{P}$ 标记DHBV-DNA探针, 并作鸭血清斑点杂交, 放射自显影膜片斑点, 在酶标仪检测仪上测定OD值(滤光片波长490nm), 计算血清DHBV-DNA密度。

[0034] 二、实验结果

[0035] 2.1 体重变化

[0036] 分别在给药前( $T_0$ )、用药7( $T_7$ )、15( $T_{15}$ )、23( $T_{23}$ )、28( $T_{28}$ )天及停药5天后( $P_5$ )测定龙岩麻鸭的体重,体重变化结果见图1。结果表明,随着实验的进行,生理盐水正常对照组,拉米夫定溶液阳性对照组及蚓激酶给药组的体重变化没有显著性差异。

[0037] 2.2 血清DHBV-DNA

[0038] 龙岩麻鸭用药后血清DHBVDNA的变化见图2。结果表明:生理盐水组动物血清DHBV-DNA水平稳定。阳性对照药物拉米夫定连续口服28天后可显著抑制血清DHBV-DNA水平,停药5天( $P_5$ )后DHBV-DNA显著回升,这与临床用药的结果相吻合。蚓激酶组在治疗21天后鸭血清DHBV-DNA出现明显下降趋势,与相同时间的生理盐水组相比较均具有显著性差异( $P < 0.05$ ),而在停药5天后也出现明显的反跳。

[0039] 三、结论

[0040] 目前,鸭乙型肝炎病毒动物模型是卫生部规定的新药抗乙型肝炎病毒药效学评价的唯一动物模型(陈压西,齐珍元,黄爱龙,碱性磷酸酶直接标记核酸探针检测血清中鸭乙型肝炎病毒DNA方法的建立及应用。重庆医科大学学报,2003.28(2):p.140-143.)。鸭乙型肝炎病毒与人类乙型肝炎病毒同属嗜肝DNA病毒科,它们在形态、基因组结构及复制方式上有相似之处。鸭子是DHBV的自然感染宿主,感染后在病因或肝脏病理方面类似人类乙型肝炎(胡权,杨东亮,鸭乙型肝炎病毒感染模型的研究进展。实用肝脏病杂志,2007.10(3):p.201.)。DHBV阳性雏鸭是用作药物筛选理想的模型。本实验在雏鸭体内病毒血症最稳定的时间内进行,能够模拟与人体感染HBV相似过程,我们认为可提示研究蚓激酶的抗HBV效应。

[0041] HBV DNA是乙肝感染最直接、特异和灵敏的指标,我们利用斑点杂交技术检测鸭血清中DHBV DNA的表达,来判断药物治疗效应,结果提示,阳性对照药拉米夫定在用药期间能迅速降低血清中DHBV DNA的水平,治疗中一直维持较低水平,但停药后病毒载量反弹明显,该现象与其在治疗HBV感染时的情况一致,其可能原因是由于病毒感染了宿主细胞后,HBV mRNA和cccDNA整合在细胞核内,而拉米夫定不能清除核内的mRNA和cccDNA。蚓激酶组血清病毒含量在用药21天后开始显效,与相同时间的生理盐水组相比较均具有显著性差异( $P < 0.05$ ),停药后DHBV DNA也出现反弹。

[0042] 从以上实验数据我们可以看出蚓激酶具有一定抑制DHBV DNA体内复制的作用,但与拉米夫定相比,其起效较慢,与用药剂量和用药时间相关。因此蚓激酶在长期治疗慢性乙型肝炎过程中有可能发展成为一种有效、安全、经济的治疗方法。

[0043] 目前对于乙型肝炎病毒引起的慢性肝病尚无较理想的治疗方案,为数不少的患者经历着从慢性肝炎到肝硬化,甚至肝细胞癌的三步曲。临床常用的两类抗病毒药包括干扰素- $\alpha$ 和核苷类药物。干扰素- $\alpha$ 具有抗病毒和免疫调节的双重作用,但较低的治愈率、难以耐受的副作用限制了其应用;而作为本实验阳性对照的核苷类代表药物拉米夫定同样因为较长的疗程及较为常见的药物耐药性而难以成为理想的治疗药物。许多中药具有抑制乙肝病毒复制的作用,而且相对副作用小。本实验采用较先进的检测方法,证实蚓激酶能够抑制DHBV DNA体内复制,其作用较拉米夫定弱但稳定。

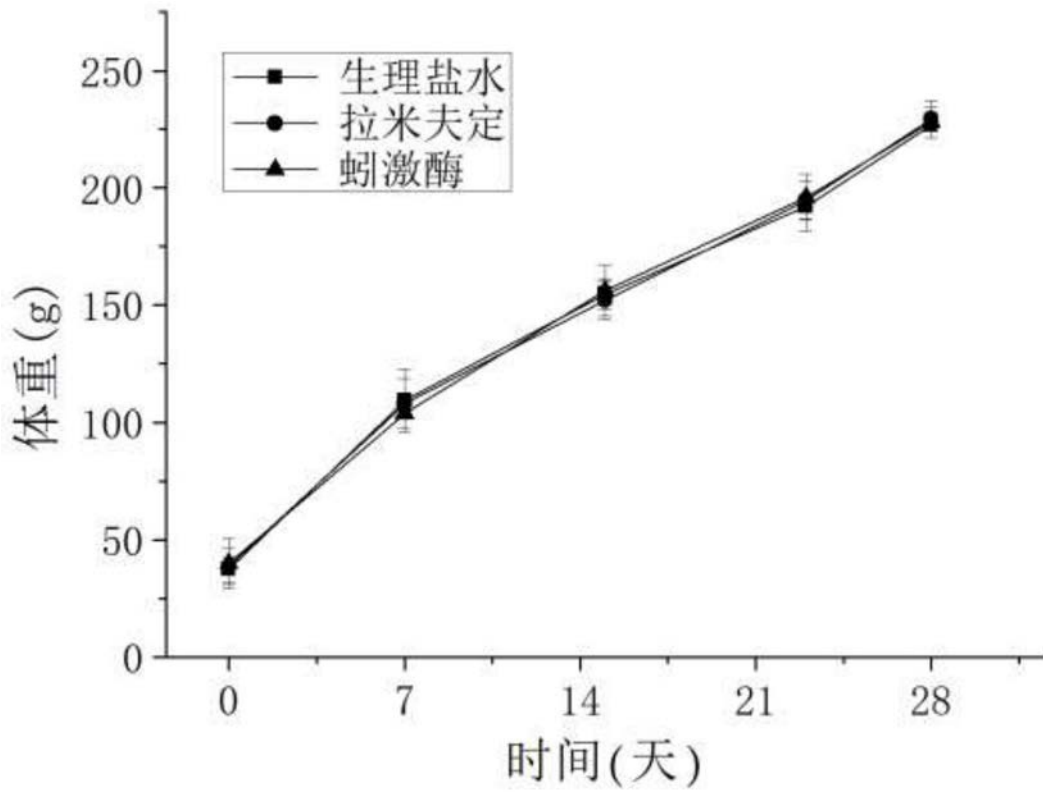


图1

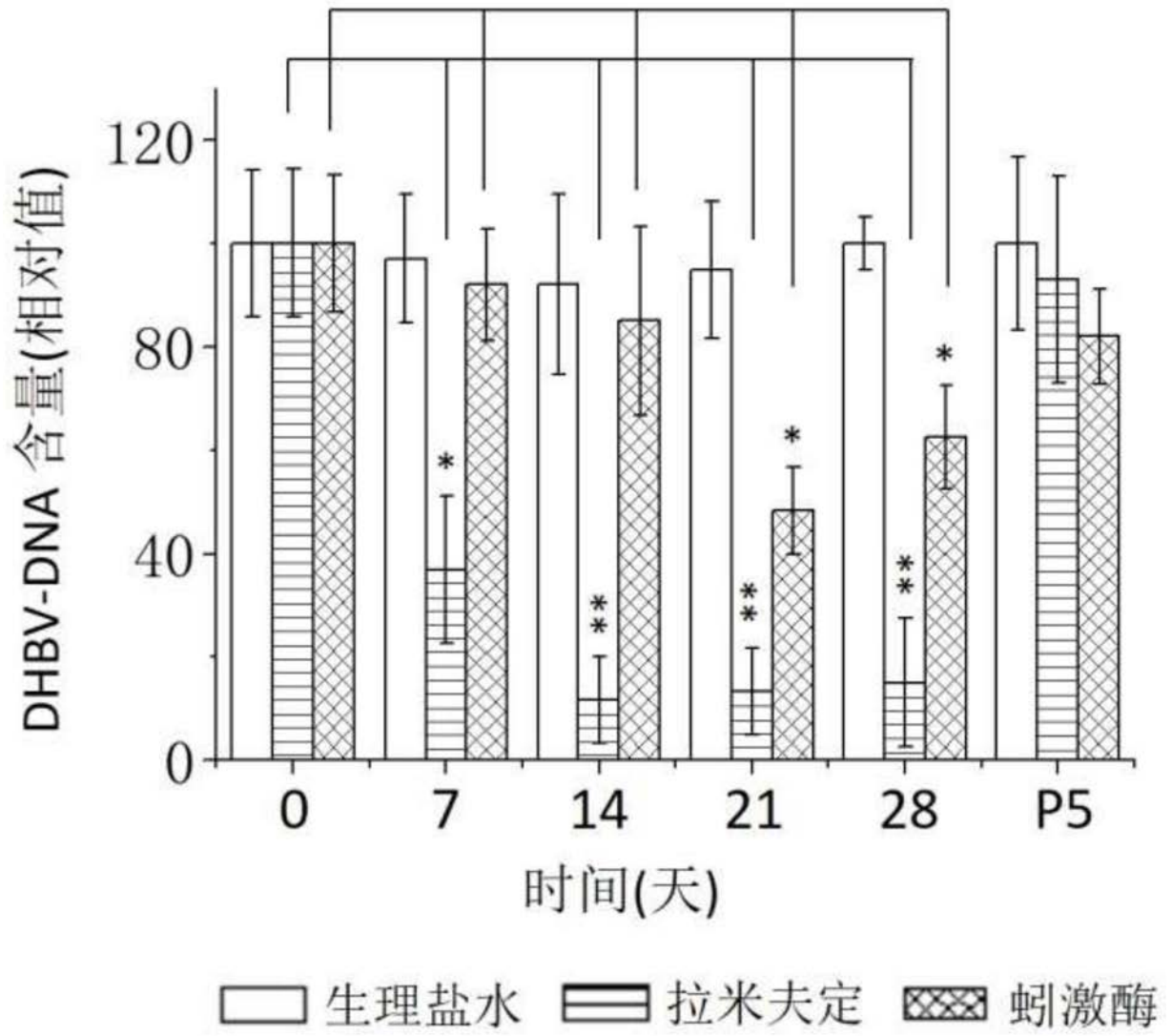


图2