



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101242823 B

(45) 授权公告日 2012.01.25

(21) 申请号 200680030221.7

(22) 申请日 2006.01.09

(30) 优先权数据

10-2005-0076324 2005.08.19 KR

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008.02.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/KR2006/000082 2006.01.09

(87) PCT申请的公布数据

W02007/021061 EN 2007.02.22

(73) 专利权人 庆熙大学校产学协力团

地址 韩国京畿道

(72) 发明人 金护哲 李大熙 金美莲 夫映旻

河妮娜 郑镇姬

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002

代理人 谢顺星

(51) Int. Cl.

A61K 31/19 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(56) 对比文件

US 20050049308 A1, 2005.03.03, 说明书第 [0007] 段、第 [0021] 段、第 [0023] 段.

Rosa A. Rodriguez-Rodriguez 等. The neurotrophic effect of oleic acid include

dendritic differentiation and the expression of the neuronal basic helix-loop-helix transcription factor neuroD2. Journal of neurochemistry 88. 2004, 881041-1051.

Jose M. Medina 等. Astrocyte-synthesized oleic acid behaves as a neurotrophic factor for neurons. Journal of physiology paris 96. 2002, 96265-271.

Begona Granda 等. Oleic acid induces GAP-43 expression through a protein kinase C-mediated mechanism that is independent of NGF but synergistic with NT-3 and NT-4/5. Brain research 988. 2003, 9881-8.

Ana Velasco 等. Role of oleic acid as a neurotrophic factor is supported in vivo by the expression of GAP-43 subsequent to the activation of SREBP-1 and the up-regulation of stearoyl-CoA desaturase during postnatal development of the brain. Brain research 977. 2003, 977103-111.

审查员 杜文华

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

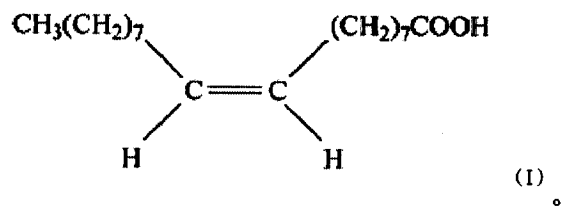
(54) 发明名称

含有油酸的组合物及其用途

(57) 摘要

本发明涉及含有具有神经保护活性的油酸的药物组合物和保健食品。本发明所述油酸在神经学性能上具有有效的神经保护作用 and 痊愈作用。因此,其在预防或治疗人或哺乳动物的退行性脑疾病的方法中是有用的。

1. 下述化学式 (I) 所示的油酸在制备预防或治疗人或动物由局部脑缺血引起的神经细胞损伤的药物中的应用：



2. 化学式 (I) 所示的油酸在制备预防或治疗人或动物由神经细胞损伤引起的脑中风或脑梗塞的药物中的应用, 其中, 所述神经细胞损伤由局部脑缺血引起。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的应用, 其中所述油酸分离自植物油或动物油。
4. 如权利要求 3 所述的应用, 其中所述植物油为橄榄油。
5. 油酸在制备预防或改善由局部脑缺血引起的神经细胞损伤的保健食品中的应用。
6. 如权利要求 5 所述的应用, 其中所述保健食品为片剂、胶囊剂、丸剂或饮料。

含有油酸的组合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种包含具有神经元细胞保护活性的油酸的组合物。

背景技术

[0002] 目前,随着老龄化问题引起社会的注意,人们对老年人的生活习性与福利诸如住房条件、健康状况、文化和休闲等方面的关注逐渐增加,对相关统计资料的需求也在增加。老龄化社会的主要死因是慢性退行性疾病而不是急性传染疾病,急性传染疾病是多年前的主要死因。特别是在慢性退行性疾病中,脑部缺血疾病非常重要,它在直接致死因中位列第二。

[0003] 脑卒中是退行性疾病中的主要公众健康问题之一,其死亡率仅次于因心脏病引发的死亡率。脑卒中主要可分为两类:脑缺血和脑出血,前者由血循环减弱引起,后者由血管出血引起。血循环减弱是由血块或其它东西引起的血管栓塞引起的。脑缺血性卒中占脑卒中的 80%。

[0004] 据报道,释放过量兴奋神经传递素、产生自由基、抑制蛋白质合成、基因异常表达及激活免疫反应等是脑神经元细胞损害的原因。但是,目前还没有开发展出有效保护脑神经元细胞免遭损害的药物。

[0005] t-PA(组织纤溶酶原激活剂)是FDA唯一批准的血小板凝结抑制剂,其能溶解血块并迅速补充氧气和葡萄糖。相应地,由于该药物不能直接保护神经元细胞,因此其需要快速使用,并且该药物的性质决定了在过量或长时间用药的情况下可由薄血管壁引发出血性脑卒中。MK-801,是一种有效抑制初始钙内流的钙通道阻碍剂,曾进行临床试验,但已经停止并进一步研究。

[0006] 因此,目前需要寻找通过可靠试验显示对脑部疾病具有治疗和预防作用的安全有效的自然资源。

[0007] 油酸是一种存在于活体中的不饱和脂肪酸,它的分子量(282.5)、熔点(13.3℃)、沸点(223℃/10mmHg),是一种无色、油状液体。自然界中,它作为诸如橄榄油等植物油和诸如牛、猪油等动物油的主要组分存在。油酸可通过硬脂酸自棕榈酸中重制,也可在植物中转变为亚油酸。它作为与甘油和酯(甘油酯)连接的模式而不是自由形式存在于细胞膜中。其在一个分子中包含一个双键且表现为不同于反式异构体(缩酸)的顺式几何异构体。

[0008] 目前已有报道称,油酸具有抗癌作用(Menendez 等, Annals of Oncology, p10, 2005),可通过降低血液粘滞性促进血液循环(Alberts 等, Gerland Publishing, Inc., New York, 1994),促进髓鞘形成和神经元细胞的再生(Medina 和 Tabernero, J. Physiology, 96, pp265-271, 2002)。

[0009] 然而,至今还没有关于油酸的神经元细胞保护活性的公开或暗示,特别是通过动物模型试验来治疗或抑制神经疾病诸如脑卒中的相关报道。

[0010] 本发明的发明人对油酸的药理作用和作用机制进行了深入的科学研究。研究结果是,发明人发现油酸具有新的药理作用,特别是,对感觉神经功能紊乱具有预防或治疗活

性,本发明将完整披露此研究结果。

发明内容

[0011] 技术问题

[0012] 因此,本发明的目的是提供一种含有油酸和药学上可接受载体的药物组合物,所述油酸以其保护神经元细胞,治疗或预防人类或哺乳动物所遭受的脑部疾病如脑卒中、脑部衰退疾病的有效剂量,作为药物组合物的活性成分。

[0013] 技术方案

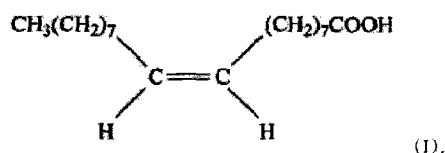
[0014] 根据本发明,本发明提供一种包含油酸的药物组合物,所述油酸以保护神经元细胞的有效剂量作为药物组合物的活性成分。

[0015] 下文中,将详述本发明。

[0016] 本发明涉及的油酸是 c/s-9-十八烯酸,以下列化学结构式 1 表示:

[0017] 化学式 1

[0018]



[0019] 这里所述的术语脑退行性疾病包括脑卒中,脑缺血,亨丁顿舞蹈症,克雅病,阿耳滋海默症 (AD),帕金森症 (PD),老年痴呆症及类似疾病。

[0020] 以上所述的油酸可通过以下方式制备:粉碎来自植物油或动物油的油料并从中提取;粉末用己烷或氯仿溶液提取并浓缩提取液,得到非极性浓缩提取液,此提取液与溶剂混合物(丙酮:己烷)作为流动相通过硅胶色谱柱,分离出所需油酸。

[0021] 本发明提供一种包含以上述方法制备的油酸和药用载体的药物组合物,油酸以其保护神经元细胞,治疗或预防人类或哺乳动物所遭受的脑部疾病如脑卒中、脑部衰退疾病的有效剂量,作为药物组合物的活性成分。

[0022] 本发明还提供油酸在制造治疗或预防人类或哺乳动物所遭受的脑部疾病如脑卒中、脑部衰退疾病的药物中的用途。

[0023] 此外,本发明还提供治疗或预防哺乳动物脑部疾病如脑卒中、脑缺血的方法,包括将有效剂量的上述提取液及药物可接受的载体一起,施用于所述的哺乳动物。

[0024] 本发明所述组合物可以是包含药学上可接受载体、佐剂或稀释剂的药物组合物,如乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、木糖醇、赤藻糖醇、麦芽糖醇、淀粉、阿拉伯树胶、藻酸盐、白凝胶、磷酸钙、硅酸钙、纤维素、甲基纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮、水、苯甲酸甲酯 (methylhydroxy benzoate)、苯甲酸丙酯 (propylhydroxy benzoate)、滑石粉、硬脂酸镁和矿物油。组分中还可以包括:填料、抗凝剂、润滑剂、湿润剂、风味剂、乳化剂、防腐剂及类似物。本发明组合物可采用本领域公知的任何方法制备,以提供将其施用于病人后的活性成分的速度,稳定或延时的释放。

[0025] 例如,本发明组合物可溶解在油、丙二醇或其它本领域常用于制备注射剂的溶剂中。适当的载体实例包括但不限于生理盐水、聚乙二醇、乙醇、植物油、肉豆蔻酸异丙酯等。

外用时,可将本发明提取物制备成油膏和乳膏。

[0026] 包含本发明组合物的药物可以制成任何形式:如口服药(粉剂、片剂、胶囊、软胶囊、药水、糖浆剂、酏丸、粉剂、囊剂、颗粒),或外用药(乳膏、油膏、洗剂、凝胶、香膏、药贴、泥膏剂、喷雾剂、气雾剂及类此物),或注射用药(溶液、悬浮液、乳化液)。

[0027] 本发明组合物的药物剂型可采用药剂学可接受的盐的形式,也可以单独使用或联合使用,还可以采用与其它活性药物复合的形式。

[0028] 本领域技术人员可根据施用对象的条件和体重、病情、剂型、给药途径和时间来确定本发明提取物的使用剂量。但为了获得期望的结果,一般本发明提取物的推荐施用量为 0.01-10g/kg,优选 1-5g/kg 体重/天,此剂量可一天一次全部施用,也可分为一天几次施用。按组合物计,本发明组合物应占组合物总重量为 0.01-80%,优选 0.5-50%。

[0029] 本发明药物组合物可以多种途径对目标动物诸如哺乳动物(老鼠,家畜或人)给药。可预期使用所有给药方式,例如:口服给药、直肠给药或通过静脉、肌肉、皮下、皮内、脑内膜、脑外膜或脑室注射。

[0030] 本发明人通过本领域公知的体内实验,例如中脑动脉阻塞模型试验(由以下步骤组成:如将尼龙丝注射进颈内动脉以阻塞中脑动脉;120 分钟后取出尼龙丝以引发动脉血液喷涌),证实包含深红色上述本发明提取物的组合物具有预防及治疗脑卒中的作用。

[0031] 因此,本发明的另一个目的是提供一种包含上述油酸的保健食品:以上述过程制备的油酸,加入营养学可接受的添加剂,保护神经元细胞,防止或改善脑部疾病如脑卒中和脑缺血。

[0032] 上述组合物可以以片剂、胶囊、药丸或饮料的形式加入食品,添加剂或饮料中,以预防脑部疾病如脑卒中和脑缺血。其中,为达到预防脑部疾病如脑卒中和脑缺血的目的,上述本发明涉及的化合物在食物或饮料中的含量一般约占保健食品复合物总重量的 0.1-15w/w%,优选 1-10w/w%,占 100ml 保健饮料的比例为 1-30 克,优选 3-10 克。

[0033] 考虑到本发明涉及的保健饮料必须包含预定比例的上述化合物,对其它液体成分就不做特殊的限制,其中,其它组分可以是各种除臭剂和自然碳水化合物等,如传统饮料。举例说明:上述自然碳水化合物可以是单糖如葡萄糖、果糖等;可以是二糖如麦芽糖、蔗糖等;可以是传统糖如糊精、环式糊精;也可以是糖醇如木糖醇、赤藻糖醇等。除去前述物质的其它除臭剂,天然除臭剂如 taumatin、甜叶菊(stevia)提取诸如 levaudioside A,甘草酸等,合成除臭剂如糖精、阿司帕坦等,也可以适当地使用。上述自然碳氢化合物在 100ml 饮料组合物中的比例为 1-20 克,优选 5-12 克。

[0034] 上述组合物之外的其它成分分为各种营养物质、维生素、矿物质或电解质、合成风味剂、色素、牛奶巧克力等的改良剂、褐藻酸及其盐、有机酸、增稠剂、pH 值调节剂、稳定剂、防腐剂、丙三醇、乙醇以及用于碳酸饮料的碳化剂等。除前面提到的组分,其它组分还可以是用于制备天然果汁、果汁饮料和蔬菜汁饮料的水果果汁,其中,各组分可单独使用或混合使用,其比例不重要但通常在组合物中约含 0-20%。

[0035] 可加入上述化合物的食物实例为各种食物、饮料、口香糖、多种维生素、改善健康的食品及类似物。

[0036] 对本领域技术人员来说,不偏离本发明精神或本发明范围的,对本发明的组分、用途及制备方法的修正和改变都是显而易见的。

[0037] 有益效果

[0038] 本发明含油酸的组合物具有保护神经细胞的作用,预防或治疗脑中风以及脑缺血的作用。因此,其可用于人或哺乳动物退行性脑疾病的预防和治疗。

附图说明

[0039] 通过下面结合附图的详述,将有助于理解本发明上述以及其它目的、特性和其它优点,其中:

[0040] 图 1 显示了利用 TTC 染色法检测的不同浓度油酸对脑损伤组织的保护作用;

[0041] 图 2 显示了使用 5%吐温 20 的对照组与试验组对脑损伤模型的脑组织切片的效果的比较;

[0042] 图 3 显示了不同浓度油酸对神经性能的修复活性。

[0043] 最佳实施方式

[0044] 下面实施例用于进一步说明本发明。

[0045] 然而,应理解本发明并不局限这些实施例中的任何方式。

[0046] 参考实施例 1. 试验准备

[0047] 实验例中的的步骤和实验方法描述如下:

[0048] 实验动物

[0049] 体重约为 300g 的 8 周龄斯普拉-道来氏雄性大鼠购自 Samtaco Co.Ltd.(首尔),1 周内自由饮水和采食以便其适应试验环境。

[0050] 实验例 1. 神经保护作用

[0051] 利用文献(Zea longa 等,Stroke 20 pp84-91,1989)公开的改进的管腔内缝线方法测定对由局部脑缺血引起的神经细胞损伤的神经细胞保护作用,具体如下:

[0052] 用 5%的异氟醚气体(将含有 70% N₂O 和 30% O₂ 的气体混合物与 5%异氟醚气体的混合)口服麻醉大鼠,并在试验过程中维持 5%的异氟醚气体。

[0053] 从大鼠颈部皮肤中央切开,从临近组织以及神经小心地剥离位于右手边的 CCA(颈总动脉)以及 ECA(颈外动脉)。将 ECA 用结扎线结扎,并将 ICA(颈内动脉)和翼腭动脉剥离开,并利用上述同样的方式将其结扎,接着利用夹子将 CCA 和 ICA 阻断。利用显微手术剪将 ECA 局部地阻断,将血管钻孔插入探针。探针由表面涂有诸如固化的聚硅氧烷的硅酮以及活化剂的 23mm 的 4-0 尼龙线组成,目的是增加其对血管的粘合力。ECA 在 20mm 的涂层探针插入到距离插入点 20mm 处或小于 20mm 处,感觉到阻塞的地方结扎。同时固定探针,防止恢复。再次将切开的皮肤缝合好,大鼠在自然条件下从麻醉状态恢复。由于探针的插入,阻碍了 MCA 的血流量,引起了局部缺血,2 小时后将大鼠再次麻醉,并取出探针恢复颈动脉血流量。再灌注 24 小时后杀死大鼠,颈部脱臼分离脑,将脑组织切片成 2mm 厚,用 2% 的 TTC 溶液染色,显微镜下观察。

[0054] 体温监控并维持在 37±0.5℃。

[0055] 剥离尾部到前卤点 +5.2, +3.2, +1.2, -0.8, -2.8, -4.8, -6.8, -8.8mm 的地方,剔除末端组织,获得 6 组来源于脑基质的厚度为 2mm 的脑切片。用双蒸水将 2%氯化三苯四唑(2,3,5-氯化三苯四唑:TTC)稀释到最适量,灌注到 16 孔板。将脑切片置于 16 孔板中,在 37℃下染色 30 分钟。利用数码相机(Olympus Co.c2500L model, USA)对染色组织进行拍

照,并将照片传到电脑。利用 OPTIMAS 程序(Media CyberneticsCo.,6.51 版本)来计算脑梗塞区域的体积,并利用图象分析系统进行分析。为了测定右半球水肿体积(A)外的脑梗塞的确切体积(B),我们利用下面的经验公式 1 和 2 来计算脑梗塞的确切体积。

[0056] 公式 1

[0057] 校正的脑梗塞体积(mm^3)=(未损坏(左)半球总体积(mm^3)-(损坏半球(右)的未受损体积(mm^3))。

[0058] 公式 2

[0059] 脑梗塞体积(%)=校正的脑梗塞体积(mm^3)/未损坏(左)半球总体积(mm^3) $\times 100$

[0060] 结果显示,用不同浓度油酸(B:1mg/kg, C:10mg/kg, D:100mg/kg)处理的试验组与对照组相比,由于神经细胞损伤较少,因而表现出较小的 TTC(白色)染色区域,如图 1 所示。图 2 所示为对照组的总脑梗塞半球组织的百分数为 37.1(4.34%)。同时,试验组 C 和 D 以剂量依赖的方式比对照组(32.9%(20.9,3.48%) 和 64.9%(13.0,2.79%))表现出对神经细胞死亡更有效的保护作用。

[0061] 实施例 2. 神经修复作用

[0062] 采用文献(Stroke,20 pp84-91,1989)公开的神经学上的评分法来鉴定油酸的神经修复活性,方法如下:

[0063] 将大白鼠举高距离底部 50cm,利用下面的标准来计算恢复评分:大鼠前掌直接朝向底部(5分);受伤大鼠掌跳起来,没有其它征兆(4分);掌完全跳起来(3分);掌往左边抽动(2分);大鼠转向左边(1分)。将按照上述估分方法获得的各组的总分平均获得各组的最终神经学评分,结果如图 3 所示。腹腔内注射 100mg/kg 油酸的试验组(3.95 $\pm$ 0.15%; $p < 0.001$)比对照组(2.86 $\pm$ 0.21%)获得更高的得分。

[0064] 实验例 3. 毒性试验

[0065] 方法(I)

[0066] 用实施例 1 中的油酸来对 ICR 小鼠(平均体重 25 $\pm$ 5g)和斯普拉-道来(氏)大鼠(300 $\pm$ 10g, Jung-Ang Lab Animal Inc.)进行急毒性试验。每组 10 只小鼠或大鼠,共分 4 组,分别口服试样或溶剂(0.2D, i. p.),剂量分别为 100mg/kg、250mg/kg、500mg/kg 和 1000mg/kg,观察两周。

[0067] 方法(II)

[0068] 用实施例 1 中的提取物来对 ICR 小鼠和斯普拉-道来(氏)大鼠进行急毒性试验。每组 10 只小鼠或大鼠,共分 4 组,分别腹腔注射试样或溶剂(0.2D, i. p.),剂量分别为 25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg 和 200mg/kg,观察 24 小时。

[0069] 结果

[0070] 在任何试验组或任何性别中,在死亡率、临床征兆、体重变化和总体表现中均未发现与治疗相关的作用。这些结果表明本发明制备的提取物安全有效。

[0071] 工业实用性

[0072] 本发明含油酸的组合物具有对神经细胞的保护作用和对脑中风和脑缺血的预防和治疗作用。因此,其可用于人或哺乳动物退行性脑疾病的预防和治疗。

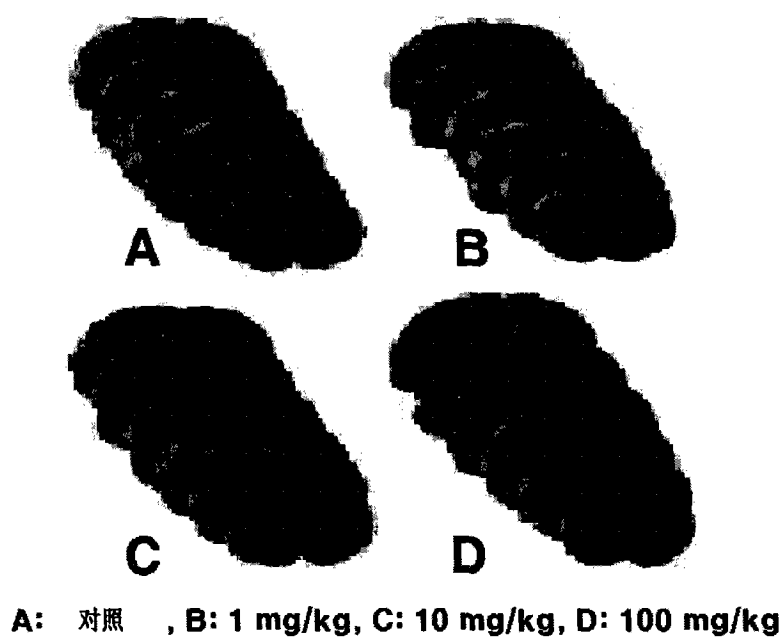


图 1

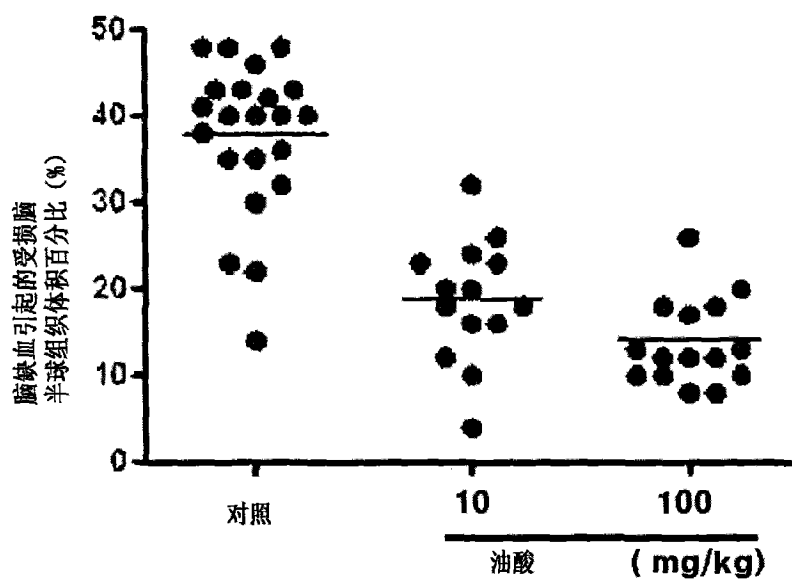


图 2

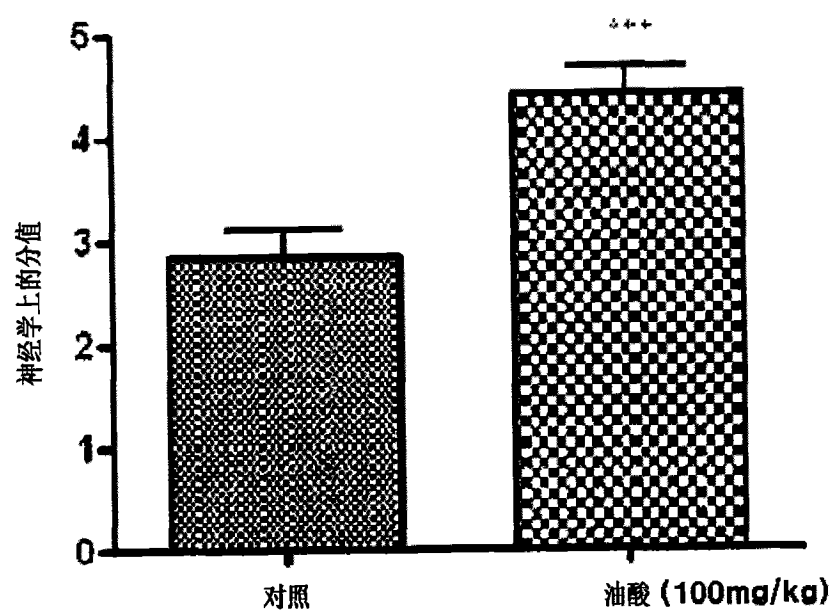


图 3