

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 2 月 27 日 (27.02.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/037895 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 31/7048 (2006.01) *A23L 2/52* (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01) *A23L 33/125* (2016.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2018/120798
- (22) 国际申请日: 2018 年 12 月 13 日 (13.12.2018)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201810960478.7 2018 年 8 月 22 日 (22.08.2018) CN
- (71) 申请人: 江南大学(JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。
- (72) 发明人: 王立(WANG, Li); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。李言(LI, Yan); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。潘海鸥(PAN, Haiou); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。钱海峰(QIAN, Haifeng); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。张晖(ZHANG, Hui); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。齐

希光(QI, Xiguang); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

- (74) 代理人: 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司(HARBIN SHINEIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国黑龙江省哈尔滨市松北区科技一街 99 号 18 栋 E501 张勇, Heilongjiang 150028 (CN)。
- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: APPLICATION OF GENIPOSIDE IN PROMOTING FORMATION OF SKELETAL MUSCLE FAST MUSCLE

(54) 发明名称: 京尼平苷在促进骨骼肌快肌生成中的应用

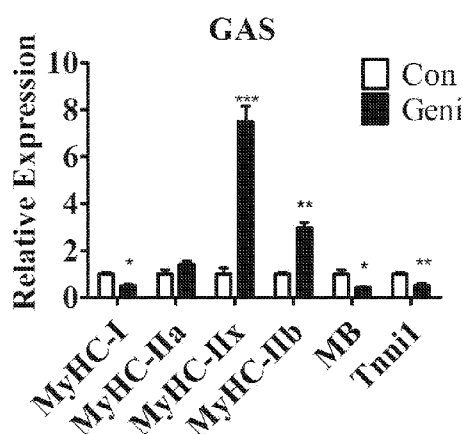


图 5

(57) Abstract: An application of geniposide in promoting the formation of skeletal muscle fast muscle. The sources of geniposide comprise: gardenia meal, gardenia fruit, eucommia ulmoides, rehmannia glutinosa, achyranthes bidentata, hedyotis diffusa, and coptis chinensis detoxifying decoction. For food for promoting the formation of skeletal muscle fast muscle, the geniposide is made into food, or the geniposide is added into beverage or protein powder. For a compound or composition for promoting the formation of skeletal muscle fast muscle, the geniposide is made into aerosol or dressing.

(57) 摘要: 京尼平苷在促进骨骼肌快肌生成中的应用, 所述京尼平苷的来源包括: 栀子粕、栀子果、杜仲、地黄、牛膝、白花蛇舌草、黄连解毒汤。用于促进骨骼肌快肌生成的食品, 将京尼平苷制成食品, 或将京尼平苷添加到饮料或蛋白粉中。用于促进骨骼肌快肌生成的化合物或组合物, 将京尼平苷制成喷雾剂或敷料。

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

京尼平苷在促进骨骼肌快肌生成中的应用

技术领域

本发明涉及京尼平苷在促进骨骼肌快肌生成中的应用，属于天然产物治疗领域。

背景技术

骨骼肌是人体直接参与运动的器官，约占人体总重量的 40%-50%，也是人体最大的组织，人体的运动和姿态维持，都离不开其功能的正常发挥。骨骼肌又可称为横纹肌，人体大约有 600 多块骨骼肌。骨骼肌细胞呈纤维状，不分支，有明显横纹，核很多，且都位于细胞膜下方。肌细胞内有许多沿细胞长轴平行排列的细丝状肌原纤维。运动系统的最基本功能单位，也称运动单元，是由运动神经元和一束肌纤维组成，其中肌纤维具有相似、但不完全相同的结构和功能。许多（从几十到几百）的运动单元组装在一起，从而构成一块完整的骨骼肌，其中每一运动单元都有着自己特殊且唯一的作用。肌肉组装所用的运动单元都是特殊选择的，这样保证肌肉可以最好的完成运动功能所需的所有要求。肌纤维的异质性是骨骼肌强大适应能力的基础，同一块骨骼肌需要适应不同的运动要求，例如持续性低强度的活动（维持身体姿态）；重复性中强度的运动（身体的运动）；以及短时间极高强度的活动（跳远、踢）。另外，肌纤维结构和功能的性质，也称为肌纤维表型。

骨骼肌纤维按形态和功能可以分为快肌纤维和慢肌纤维。从代谢特征上区别，慢肌纤维有氧化能力较高，表现为线粒体数量多，体积大，氧化酶活性较高，依赖氧化磷酸化持续产生 ATP，脂质是这类纤维的首选供能原料，甘油三酯含量高，毛细血管丰富，肌红蛋白含量高。而肌肉需要短时间内高频率收缩时快肌纤维被激活。快肌纤维无氧代谢能力较高，表现为肌纤维中参与无氧氧化过程酶的活性较慢肌纤维高，肌糖原含量较高。不同肌纤维在同一肌肉中所占的数量百分比称为肌纤维类型的百分组成。两类肌纤维百分组成与某些基本素质关系密切。慢肌百分组成与一般耐力和力量耐力有关；而快肌百分组成与速度、爆发力有关。

随着近年来研究的深入，骨骼肌肌纤维类型是由肌球蛋白重链（MyHC）亚型来决定的。MyHC 基因家族又称肌球蛋白重链基因家族，是骨骼肌纤维中最重要的肌原纤维蛋白之一，是肌肉收缩的主要功能蛋白，维持肌细胞结构的完整性，它的基因表达已经成为肌肉纤维类型划分的主要分子标记。肌肉所含肌球蛋白的亚型不同，即表现出不同的收缩能力和 ATPase 活性，并且首先在人和啮齿类动物上确定了特定的肌纤维类型与四种肌纤维肌球蛋白重链（myosin heavy chain, MyHC）异构体中的某一种类型的对应关系。至今为止，在哺乳动物

骨骼肌中发现了八种 MyHC 亚型，但在成人骨骼肌中只表达了 MyHC 家族的 I、IIa、IIx 和 IIb 型，它们分别对应 I 型（慢速氧化型）、IIa 型（快速氧化型）、IIx 型（中间型）和 IIb 型（快速酵解型）4 种肌纤维类型，代谢类型从氧化到酵解过渡，收缩速度依次增加。在锻炼过程中，肌纤维类型可以转变。有研究表明，在骨骼肌急性挫伤模型中，MyHC-IIb 的表达升高，可以促进新骨骼肌生成。IIb 型纤维含量较高的骨骼肌的直径往往较大。高比例的 MyHC-IIb 有助于增加肌肉质量。快肌质量的增加可以通过改变远程组织中脂肪酸氧化能力来引起肥胖的衰退并且改善代谢情况，力量训练可能特别有利于肥胖人群。更有研究指出，骨骼肌中氧化向糖酵解代谢转变在糖尿病状态下具有潜在益处，可以提高葡萄糖稳态。在老年人中 MyHC-IIb 往往会缺失，这表明骨骼肌的组成与衰老相关的肌肉功能丧失和肌肉疾病有关。虽然肌纤维的最大收缩速度主要由肌球蛋白的 ATP 酶来决定，但其最大力量则主要由肌纤维的横截面积来决定。

梔子果是茜草科梔子属植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的成熟果实，主要分布在热带、亚热带地区，在中国其产量约占世界总产量的 90%。梔子果是卫生部颁布的首批药食两用资源，常用来做中药、食品添加剂、食用色素、榨油等，具有消炎、镇痛、保肝利胆、抗氧化等功效。其主要活性成分包含环烯醚萜、藏红花苷类，环烯醚萜类主要以京尼平苷为主，藏红花苷类主要以藏红花素为主。京尼平苷是梔子众多药理活性的物质基础之一，含量随产地的不同主要在 3-9%，其结构式如图 1 所示。迄今为止，京尼平苷在促进骨骼肌快肌生成的作用方面还未见报道。

发明内容

本发明提供了京尼平苷的新用途，京尼平苷可用于促进骨骼肌快肌的生成，所述骨骼肌快肌为骨骼肌纤维中的 II 型肌纤维；所述促进骨骼肌快肌生成是指在一定剂量和时间范围内，成肌细胞和骨骼肌组织中 II 型肌纤维增加，包括其他肌纤维转变为 II 型肌纤维、II 型肌纤维质量增加或 II 型肌纤维面积增大的至少一种。

所述京尼平苷的来源包括：梔子粕、梔子果、杜仲、地黄、牛膝、白花蛇舌草、黄连解毒汤等。应用所述京尼平苷时，将京尼平苷与药学上接受的辅料混合得到混合物；所述药学上接受的辅料，包括溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏合剂、整合剂、渗透促进剂、pH 值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。或者，将京尼平苷或其组合物制成气雾剂或者敷料。或者，将京尼

平苷制备成适用于参加短距离剧烈运动的人的食品，所述食品包括运动饮料、蛋白粉。

本发明还提供了用于促进骨骼肌快肌生成的化合物或者组合物，所述化合物为京尼平苷，所述组合物为含有京尼平苷的组合物。所述骨骼肌快肌为骨骼肌肌纤维中的一类，即 II 型肌纤维，也叫白肌。骨骼肌快肌的糖代谢是以糖酵解为主。骨骼肌快肌在腓肠肌中含量较多，主要在短距离无氧运动中起作用。所述促进骨骼肌快肌生成是指在一定剂量和时间范围内，成肌细胞和骨骼肌组织中 I 型肌纤维（慢肌）减少、II 型肌纤维（快肌）增加，和/或肌纤维类型发生转化，和/或使肌肉质量增加、肌纤维面积增大。促进骨骼肌快肌生成有利于在短期运动中发挥主要作用。

所述京尼平苷的来源可以是：栀子粕、栀子果、杜仲、地黄、牛膝、白花蛇舌草、黄连解毒汤等。所述组合物，还包括药学上接受的辅料，包括溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏合剂、整合剂、渗透促进剂、pH 值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。

所述化合物或者组合物，还可以用于制备短距离运动所需运动食品，例如功能性饮料、功能性饼干。

本发明通过腹腔注射京尼平苷标品对小鼠进行给药处理，从切片染色和 qPCR 结果来看，给药组的快肌肌纤维数目明显多于对照组，I 型纤维相关基因表达明显减少，II 型纤维相关基因显著增加，改变了骨骼肌肌纤维分型。本发明继续在体外实验中进行验证，用京尼平苷标品刺激分化的 C2C12 成肌细胞，从免疫荧光结果来看，与空白对照组相比，京尼平苷的处理可以增加快肌肌纤维数目。因此，我们认为京尼平苷有促进骨骼肌快肌生成的作用，具有应用于短距离运动食品的潜在作用。

附图说明

图 1 京尼平苷的化学结构式。

图 2 对小鼠骨骼肌腓肠肌、比目鱼肌（GAS、SOL）进行苏木精与伊红（HE）染色（n=3）（显微镜 20 倍，20X），Con 为空白对照组；Geni 为京尼平苷（geniposide）处理组。

图 3 对小鼠骨骼肌的 GAS 部分进行琥珀酸脱氢酶（SDH）染色（n=3）（20X），Con 为空白对照组；Geni 为京尼平苷（geniposide）处理组。对于 SDH 染色 GAS 结果中 I 型肌纤维的比例进行统计，数据用平均值±标准误表示，每组三次平行。与对照相比，*， $P<0.05$ ；**， $P<0.01$ ；***， $P<0.001$ （T 检验）。

图 4 (A) 对小鼠骨骼肌 GAS 部分进行腺苷三磷酸酶 (ATPase) 染色 (PH=4.3) (n=3) (20X), 对于 ATPase 染色 GAS 结果中 I 型肌纤维的比例进行统计; (B) 对小鼠骨骼肌 SOL 部分进行 ATPase 染色 (PH=4.3) (n=3) (20X), 对于 ATPase 染色 SOL 结果中 I 型肌纤维的比例进行统计; (C) 对小鼠骨骼肌 GAS 部分进行 ATPase 染色 (PH=10.5) (n=3) (20X), 对于 ATPase 染色 GAS 结果中 I 型肌纤维的比例进行统计; (D) 对小鼠骨骼肌 SOL 部分进行 ATPase 染色 (PH=10.5) (n=3) (20X), 对于 ATPase 染色 SOL 结果中 I 型肌纤维的比例进行统计。Con 为空白对照组; Geni 为 geniposide 处理组, 与对照相比, *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$ (T 检验), 每组三次平行。

图 5 实时定量 PCR (RT-qPCR) 检测小鼠骨骼肌 GAS 中 MyHC 四种亚型 MyHC-I、MyHC-IIa、MyHC-IIx、MyHC-IIb、慢肌标志基因 MB 和 Tnni1 的 mRNA 表达水平, 数据用平均值 $\pm$ 标准误表示, 每组三次平行。与对照相比, *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$ (T 检验)。Con 为空白对照组; Geni 为 geniposide 处理组。

图 6 C2C12 细胞分化 2 天后, 用 0.2 mg/mL 的京尼平苷刺激细胞, 12 h 后, 固定细胞, 分别用 Anti-myosin-fast (A) 和 Anti-myosin-slow (B) 的抗体进行免疫荧光检测, 用荧光显微镜在 10X 镜下随机拍摄视野, 图中所选视野具有代表性。Con 为空白对照组; Geni 为 geniposide 处理组。

图 7 (A) 用不同浓度 (0, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 mg/mL) 的京尼平苷刺激 C2C12 肌管细胞 12h, 提取 RNA, 用 RT-qPCR 分析 MyHC-I、MyHC-IIa、MyHC-IIx、MyHC-IIb 的 mRNA 水平。(B) 用 0.4 mg/mL 的京尼平苷分别处理 C2C12 肌管细胞 0、1、2、4、8、12h, 提取 RNA, 用 RT-qPCR 分析 MyHC-I、MyHC-IIa、MyHC-IIx、MyHC-IIb 的 mRNA 水平。Con 为空白对照组; Geni 为 geniposide 处理组。数据用平均值 $\pm$ 标准误表示, 每组三次平行。与对照相比, *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$ (T 检验)。

具体实施方式

实施例 1 京尼平苷促进骨骼肌快肌生成作用的验证

1 实验方法

1.1 动物实验

实验中所用 6-8 周的雄鼠饲养在 SPF (无特定病原体) 级动物房中, 动物可以自由进食和饮水 (由上海斯莱克实验动物中心提供)。动物房保持恒温 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $35\pm 5\%$, 12 小时为周期昼夜循环。模式动物的使用和操作均严格按照江南大学食品科学与技术学院动物管理和使用委员会的规程进行。

待雄鼠适应了新环境之后，将其随机分为两组，空白组和处理组。空白组不做任何处理，处理组要根据体重每天注射京尼平苷标品（25mg/kg）（图 1），连续 21 天。21 天过后，处死所有小鼠，取左右后肢中的腓肠肌(GAS)、比目鱼肌(SOL)、胫骨前肌(TA)，将右腿 GAS、SOL 固定在黄蓍树胶中进行快速冷冻再进行冰冻切片用于组学分析，其余组织用液氮立即冷冻，再放入-80℃保存用于之后 RNA 的提取。

1.2 细胞培养、细胞处理、免疫荧光

C2C12 小鼠成肌细胞置于 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱中培养，生长在含有 10%胎牛血清（FBS）和 1%的双抗（P/S）的 DMEM 培养基中。C2C12 细胞诱导分化为肌纤维时，需要将细胞培养基中 FBS 的成分更换为 2%马血清（HS）即可。

待 C2C12 细胞分化第 4 天，成肌细胞大部分已经分化为肌管后，对 C2C12 细胞进行京尼平苷刺激处理。浓度梯度：用 0、0.0125、0.025、0.05、0.1、0.2mg/mL 的京尼平苷分别刺激细胞 12 h。时间梯度：用 0.4 mg/mL 的京尼平苷分别处理 C2C12 肌管细胞 0、1、2、4、8、12h。

免疫荧光染色：待 C2C12 细胞分化第 2 天，用 0.2 mg/mL 的京尼平苷刺激细胞 12 h 后，洗掉培液，加入甲醇固定，然后磷酸缓冲盐溶液（PBS）漂洗 3 次，每次 10 分钟。配制 3%牛血清蛋白（BSA）的 PBS 溶液，加入终浓度为 0.1%的聚乙二醇辛基苯基醚（Triton X-100）对细胞透化处理，室温封闭细胞 1 小时。PBS 洗涤 3 次。加入按照适当比例稀释的快肌一抗 Anti-myosin-fast 或慢肌一抗 Anti-myosin-slow，4℃结合过夜。一抗结合后，用 PBS 漂洗 3 次，加入二抗在室温下结合 1 小时，二抗结合过程中需要避光。再次漂洗，用 4',6-二脒基-2-苯基吡啶（DAPI）对细胞核进行染色，PBS 漂洗 3 次。在倒置荧光显微镜下观察样品，并拍摄照片。

1.3 RNA 提取和实时定量荧光 PCR

使用 Trizol 试剂从 C2C12 细胞和组织样品中提取总 RNA，并用 Nanodrop 对 RNA 浓度进行测定。使用 Prime Script RT 系统（Takara）合成第一链 cDNA。实时定量 PCR 在 ABI STEP-ONE7900 RT-PCR 系统上进行。每个样品做三次平行。

表 1 PT-PCR 引物序列

基因	正义序列 (5'→3')	反义序列(5'→3')
MyHC- I	CTGCCTCTGCACCCCATAATG	TTGCTGAGATGACAGAACGCT
MyHC- II a	CAGCTGCACCTTCTCGTTTG	CCCGAAAACGGCCATCT
MyHC- II b	CAATCAGGAACCTTCGGAACAC	GTCCTGGCCTCTGAGAGCAT
MyHC- II x	GGACCCACGGTCGAAGTTG	CCCGAAAACGGCCATCT
FoxO1	TCAAGGATAAGGGCGACAGC	TGTCCATGGACGCAGCTCTT
MB	CACCATGGGGCTCAGTGATG	CTCAGCCCTGGAAGCCTAGC
Tnni 1	CTGCAGGTTGTGCTAGATGGGATGG	GCCTGGGGTCTTTGGTAAGTAGG C
18s	ACCGCAGCTAGGAATAATGGA	CAAATGCTTTCGCTCTGGTC

1.4 组学分析

使用苏木精和伊红染色 (HE)、琥珀酸脱氢酶染色 (SDH) 和腺苷三磷酸酶染色 (ATPase) 观察 GAS 和 SOL 组织冰冻切片中空白对照组与京尼平苷处理组的情况。用倒置光学显微镜来观察切片。

2 实验结果

2.1 京尼平苷可以改变骨骼肌肌纤维分型

从图 2 中 HE 染色来看, 京尼平苷的处理没有破坏小鼠骨骼肌肌纤维形态。SDH 染色, I 型肌纤维 (慢肌) 呈深蓝色, II 型肌纤维 (快肌) 浅蓝色。由图 3 可知, GAS 中京尼平苷组 I 型肌纤维比例显著下降。接着我们用 ATPase 染色技术, 对不同的肌肉进行了分型鉴定, 并统计出其中的 I 型肌纤维的比例 (图 4)。在酸性的缓冲液条件下 (pH=4.3) I 型肌纤维将呈现黑色 (图 4A 和图 4B), 而在碱性的缓冲液条件下 (pH=10.5) II 型肌纤维将呈现黑色 (图 4C 和图 4D)。从结果可以直观发现, 不管是在 GAS 中还是在 SOL 中, 京尼平苷的处理可以显著降低骨骼肌肌纤维中慢肌肌纤维的数量。

我们进一步检测 GAS 中相关肌纤维的基因表达变化。图 5 的结果显示, 京尼平苷可以显著抑制慢肌相关基因 (MyHC- I、MB、Tnni1) 表达, 促进快肌相关基因 (MyHC- II a、MyHC- II b、MyHC- II x) 表达。因此我们认为, 京尼平苷在体内可以改变骨骼肌肌纤维分型, 导致肌纤维类型“慢→快”的转换, 有助于维持快肌肌纤维的生理特性。

2.2 京尼平苷对细胞系统中肌纤维类型的调控

为了进一步研究京尼平苷对肌纤维类型的改变, 我们应用免疫荧光方法来标记不同类型的肌管。图 6 中, 在分化 2 天的 C2C12 中进行京尼平苷的刺激能够显著增加快肌类型的肌管数目, 同时减少慢肌类型的肌管数目。而且我们在 C2C12 细胞中重复了定量 PCR 的实验, 用浓度梯度 (图 7A) 和时间梯度 (图 7B) 对细胞进行京尼平苷刺激, 结果与体内实验得出结论基本一致, 随着京尼平苷浓度上升 (0.2 mg/mL) 和刺激时间增长 (12h), 慢肌基因

MyHC- I 表达显著降低，快肌基因 MyHC- II b 表达显著增加。我们得出结论，京尼平苷在体外也可以引起肌纤维类型“慢→快”的转换。

权 利 要 求 书

1. 京尼平苷的应用，其特征在于，用于促进骨骼肌快肌生成，所述骨骼肌快肌为骨骼肌肌纤维中的Ⅱ型肌纤维；所述促进骨骼肌快肌生成是指在一定剂量和时间范围内，成肌细胞和骨骼肌组织中Ⅱ型肌纤维增加，包括其他肌纤维转变为Ⅱ型肌纤维、Ⅱ型肌纤维质量增加或Ⅱ型肌纤维面积增大的至少一种。

2. 根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述京尼平苷的来源包括：梔子粕、梔子果、杜仲，地黄、牛膝、白花蛇舌草、黄连解毒汤等。

3. 根据权利要求1或2所述的应用，其特征在于，应用所述京尼平苷时，将京尼平苷与药学上接受的辅料混合得到混合物；所述药学上接受的辅料，包括溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏合剂、整合剂、渗透促进剂、pH值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。

4. 根据权利要求3所述的应用，其特征在于，将混合物制成气雾剂或者敷料。

5. 根据权利要求1或2所述的应用，其特征在于，将京尼平苷制备成食品，所述食品适用于参加短距离剧烈运动的人。

6. 根据权利要求5所述的应用，其特征在于，所述食品包括运动饮料、蛋白粉。

7. 用于促进骨骼肌快肌生成的食品，其特征在于，将京尼平苷制备成食品。

8. 根据权利要求7所述的食品，其特征在于，将京尼平苷添加到运动饮料或蛋白粉中。

9. 用于促进骨骼肌快肌生成的化合物或者组合物，其特征在于，所述化合物为京尼平苷或者具有促进骨骼肌快肌生成作用的京尼平苷的衍生物，所述组合物为含有京尼平苷或者具有促进骨骼肌快肌生成作用的京尼平苷的衍生物的组合物。

10. 根据权利要求9所述的化合物或者组合物，其特征在于，所述京尼平苷的来源包括：梔子粕、梔子果、杜仲，地黄、牛膝、白花蛇舌草、黄连解毒汤等。

11. 根据权利要求9或10所述的化合物或者组合物，其特征在于，所述组合物包含药学上接受的辅料，所述药学上接受的辅料，包括溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏合剂、整合剂、渗透促进剂、pH值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。

12. 根据权利要求11所述的化合物或者组合物，其特征在于，是气雾剂或者敷料。

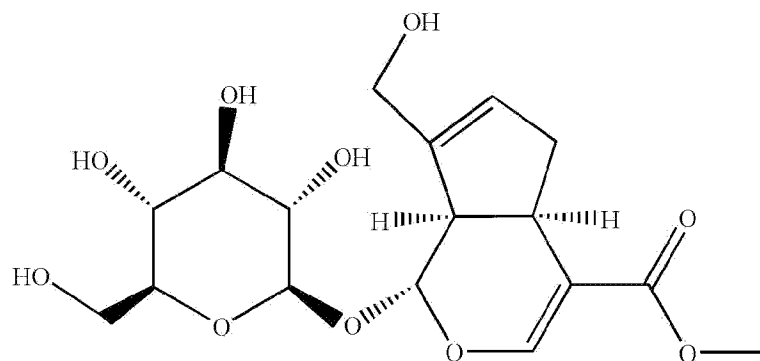


图 1

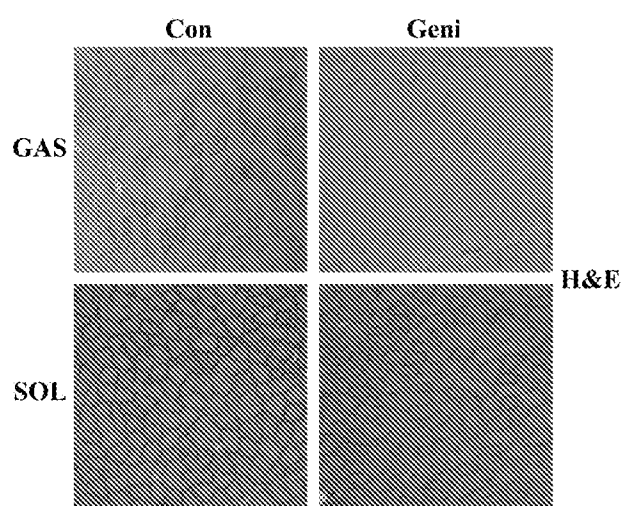


图 2

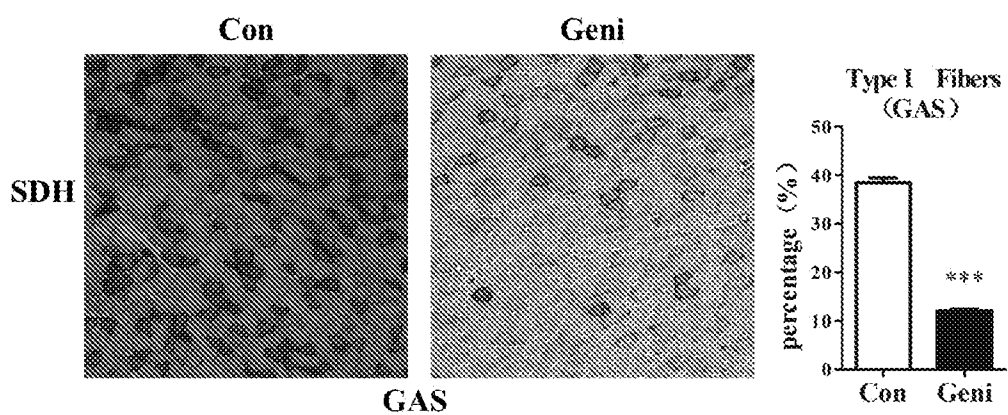


图 3

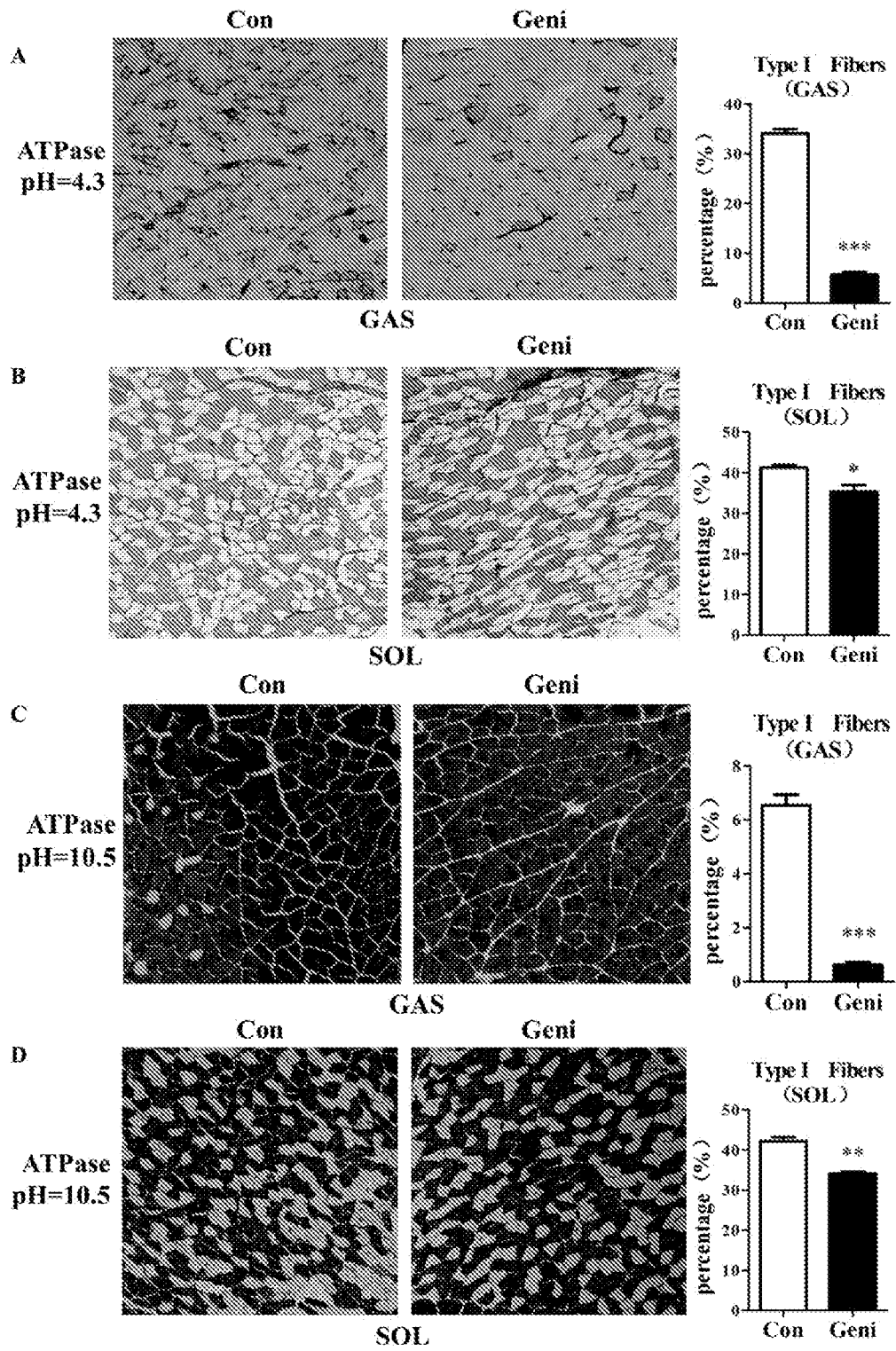


图 4

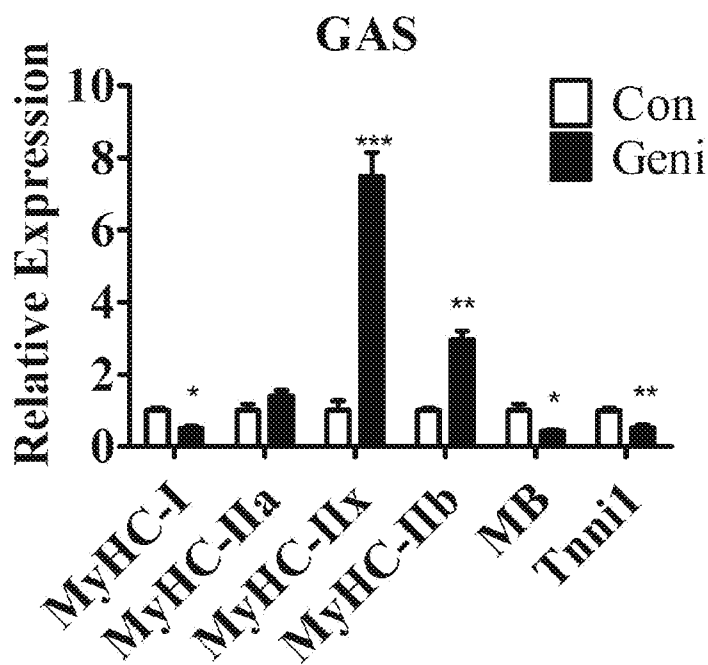


图 5

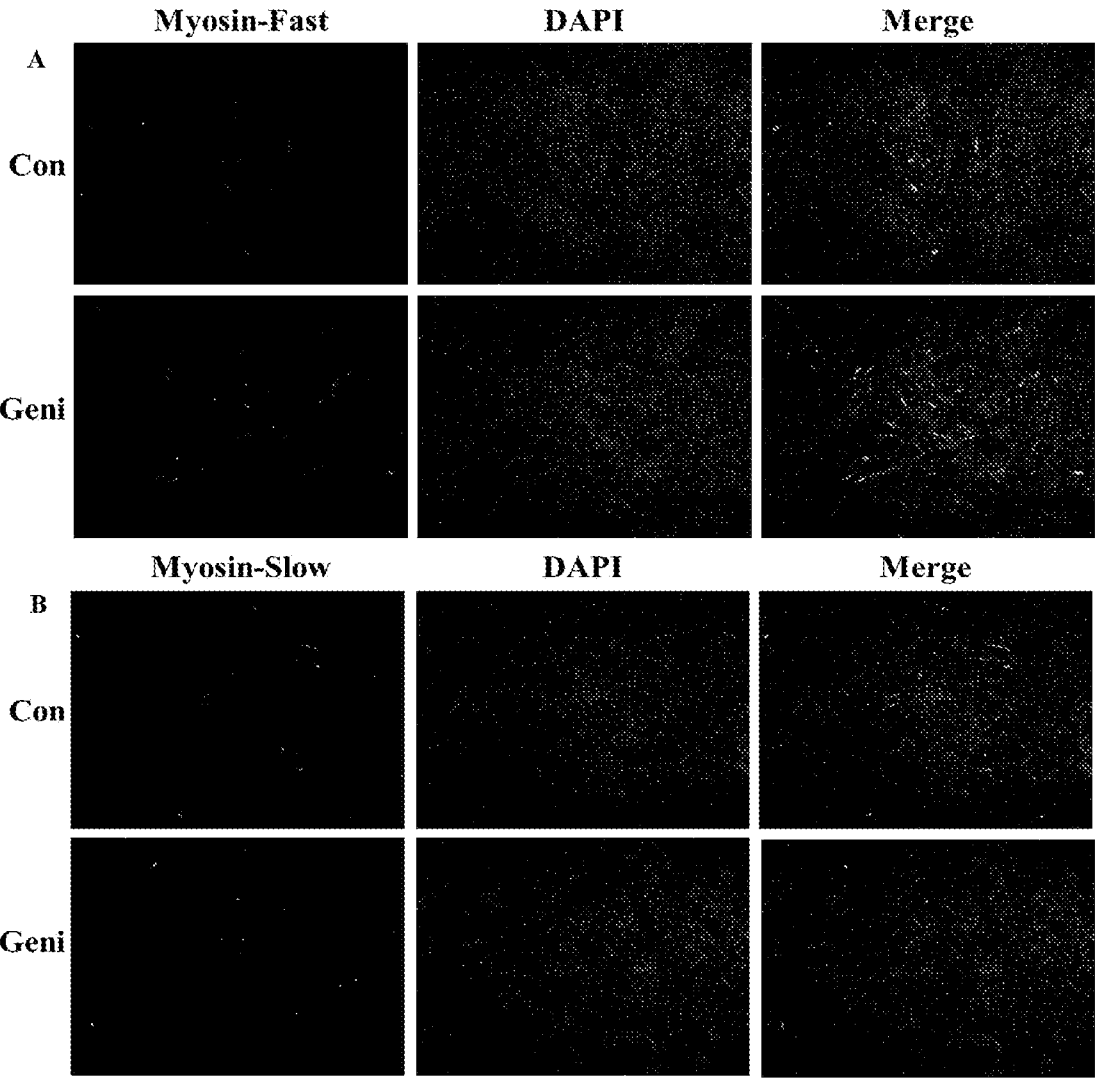
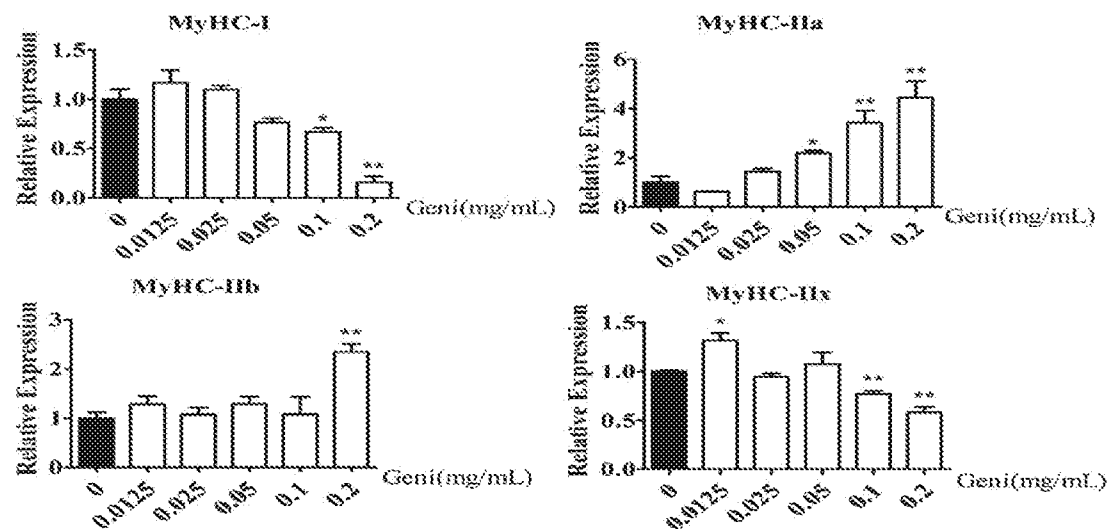


图 6

A



B

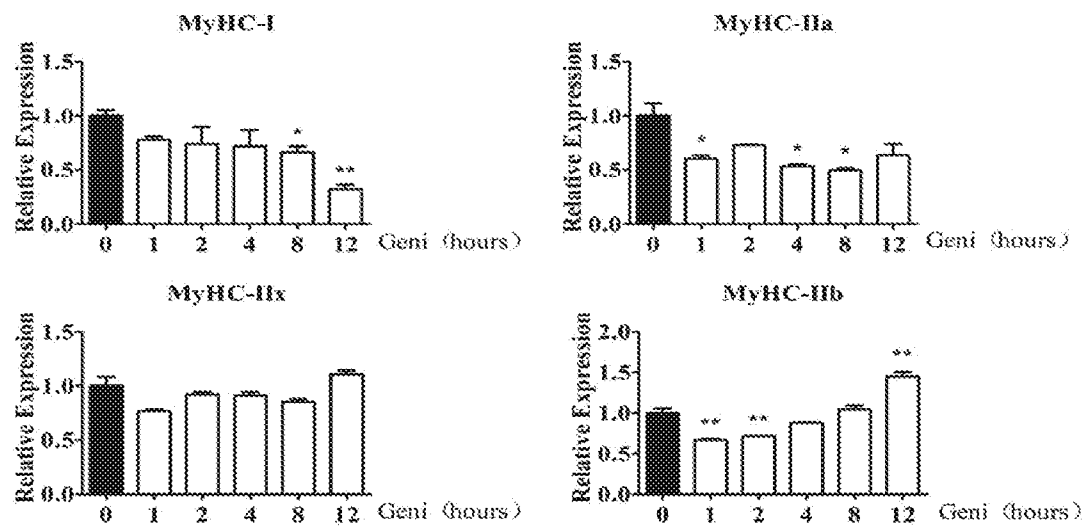


图 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/120798

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 21/00(2006.01)i; A23L 2/52(2006.01)i; A23L 33/125(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K,A61P,A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, VEN(DWPI+SIPOABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, 中国药物专利数据库, CTCMPD, CNKI, 百度学术搜索, Baidu Xueshu Search, ISI-WEB OF SCIENCE: 京尼平苷, 骨骼肌, 肌肉, 快肌, 肌细胞, 肌纤维, 梔子, 食品, 气雾剂, geniposide, skeletal muscle, muscle, fast muscle, myocyte, muscle fiber, gardenia, food, aerosol

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 108685934 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 23 October 2018 (2018-10-23) entire document	1-12
PX	CN 108464986 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 31 August 2018 (2018-08-31) claims 1-10	7-12
X	CN 102908356 A (INSTITUTE OF MODERN PHYSICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 06 February 2013 (2013-02-06) claim 5, and description, paragraph [0008]	9-12
X	CN 101548980 A (SHANDONG TARGET DRUG RESEARCH CO., LTD.) 07 October 2009 (2009-10-07) claims 1-6	9-12
X	CN 103284942 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 11 September 2013 (2013-09-11) claims 1-10	9-12
X	CN 103860575 A (CHONGQING UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 18 June 2014 (2014-06-18) claims 1-5	9-11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

02 April 2019

Date of mailing of the international search report

24 May 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/120798

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PAN, Haiou et al. "Effects of Geniposide from Gardenia Fruit Pomace on Skeletal-Muscle Fibrosis" <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> , Vol. 66, No. 23, 13 June 2018 (2018-06-13), pages 5802-5811, and the abstract	7-12
A	PAN, Haiou et al. "Effects of Geniposide from Gardenia Fruit Pomace on Skeletal-Muscle Fibrosis" <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> , Vol. 66, No. 23, 13 June 2018 (2018-06-13), pages 5802-5811	1-6
A	王立等 (WANG, Li et al.). "梔子果功能成分及开发应用研究进展 (Functional Components in the Fruit of Gardenia Jasminoides Ellis and Their Application)" <i>食品与机械 (Food and Machinery)</i> , Vol. 34, No. 7, 31 July 2018 (2018-07-31), entire document	1-12
A	齐雅静等 (QI, Yajing et al.). "梔子果功能性成分研究进展 (Research Progress in Functional Ingredients in the Fruit of Gardenia Jasminoides Ellis)" <i>食品工业科技 (Science and Technology of Food Industry)</i> , Vol. 34, No. 14, 31 December 2013 (2013-12-31), pp. 363-369	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/120798

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **1-6**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claims 1-6 set forth the use of geniposide, and the use is to promote fast muscle production in skeletal muscle. Claims 1-6 are methods of treatment of diseases.
 - [2] The search report is made on the basis of the modification, the modification is that claims 1-6 are modified as "the use of geniposide, which is characterized in that it is used for the preparation of a related product which promotes fast muscle production in skeletal muscle, ...".
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/120798

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	108685934	A	23 October 2018	None	
CN	108464986	A	31 August 2018	None	
CN	102908356	A	06 February 2013	CN	102908356
				B	03 December 2014
CN	101548980	A	07 October 2009	None	
CN	103284942	A	11 September 2013	None	
CN	103860575	A	18 June 2014	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/120798

A. 主题的分类

A61K 31/7048 (2006.01) i; A61P 21/00 (2006.01) i; A23L 2/52 (2006.01) i; A23L 33/125 (2016.01) i

按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号)

A61K, A61P, A23L

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))

CNABS, VEN (DWPI+SIPOABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, 中国药物专利数据库, CNKI, 百度学术搜索, ISI-WEB OF SCIENCE: 京尼平苷, 骨骼肌, 肌肉, 快肌, 肌细胞, 肌纤维, 栀子, 食品, 气雾剂, geniposide, skeletal muscle, muscle, fast muscle, myocyte, muscle fiber, gardenia, food, aerosol

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 108685934 A (江南大学) 2018年 10月 23日 (2018 - 10 - 23) 全文	1-12
PX	CN 108464986 A (江南大学) 2018年 8月 31日 (2018 - 08 - 31) 权利要求1-10	7-12
X	CN 102908356 A (中国科学院近代物理研究所) 2013年 2月 6日 (2013 - 02 - 06) 权利要求5, 说明书第0008 段	9-12
X	CN 101548980 A (山东靶点药物研究有限公司) 2009年 10月 7日 (2009 - 10 - 07) 权利要求1-6	9-12
X	CN 103284942 A (中国药科大学) 2013年 9月 11日 (2013 - 09 - 11) 权利要求1-10	9-12
X	CN 103860575 A (重庆理工大学) 2014年 6月 18日 (2014 - 06 - 18) 权利要求1-5	9-11

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2019年 4月 2日

国际检索报告邮寄日期

2019年 5月 24日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局 (ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10) 62019451

受权官员

尹婷

电话号码 86- (010) -62411039

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	PAN, Haiou et al. "Effects of Geniposide from Gardenia Fruit Pomace on Skeletal-Muscle Fibrosis" JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, 第66卷, 第23期, 2018年 6月 13日 (2018 - 06 - 13), pages 5802-5811, abstract	7-12
A	PAN, Haiou et al. "Effects of Geniposide from Gardenia Fruit Pomace on Skeletal-Muscle Fibrosis" JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, 第66卷, 第23期, 2018年 6月 13日 (2018 - 06 - 13), pages 5802-5811	1-6
A	王立等. "栀子果功能成分及开发应用研究进展" 食品与机械. 第34卷, 第7期, 2018年 7月 31日 (2018 - 07 - 31), 全文	1-12
A	齐雅静等. "栀子果功能性成分研究进展" 食品工业科技, 第34卷, 第14期, 2013年 12月 31日 (2013 - 12 - 31), 363-369页	1-12

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 1-6
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求1-6要求保护京尼平苷的应用，所述应用为促进骨骼肌快肌生成。权利要求1-6属于疾病的治疗方法。
[2] 本检索报告是基于将权利要求1-6的修改为“京尼平苷的应用，其特征在于，用于制备促进骨骼肌快肌生成相关产品，……”的基础上作出的。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/120798

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	108685934	A	2018年 10月 23日	无	
CN	108464986	A	2018年 8月 31日	无	
CN	102908356	A	2013年 2月 6日	CN 102908356	B 2014年 12月 3日
CN	101548980	A	2009年 10月 7日	无	
CN	103284942	A	2013年 9月 11日	无	
CN	103860575	A	2014年 6月 18日	无	