



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106413743 A

(43)申请公布日 2017.02.15

(21)申请号 201580026829.1

(74)专利代理机构 北京市路盛律师事务所
11326

(22)申请日 2015.05.21

代理人 冯云 李宓

(30)优先权数据

14305772.7 2014.05.23 EP

1414910.8 2014.08.21 GB

(51)Int.Cl.

A61K 38/39(2006.01)

A61P 19/02(2006.01)

A61P 39/06(2006.01)

A61K 36/82(2006.01)

A61K 31/737(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.11.23

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2015/061327 2015.05.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/177309 EN 2015.11.26

(71)申请人 马斯公司

地址 美国弗吉尼亚州

(72)发明人 S·塞里西耶

权利要求书1页 说明书8页 附图4页

(54)发明名称

用于关节炎、可动性和延缓衰老的组合物

(57)摘要

本发明涉及一种组合物,包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素。这种组合物可以用于治疗或预防关节炎、增长动物的预期寿命、预防衰老体征,在动物中保持可动性或预防可动性下降,并用于制备这种组合物的方法中。该组合物还可以用于治疗关节炎的方法、增长预期寿命的方法、保持可动性或预防可动性降低的方法或延缓衰老的方法中。

1. 一种组合物,所述组合物包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素,其用于预防或治疗动物特别是猫或犬中的关节炎。
2. 如权利要求1所述用途的组合物,其中关节炎为骨关节炎。
3. 一种组合物,所述组合物包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素,其用于增长动物特别是猫或犬的期望寿命。
4. 一种组合物,所述组合物包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素,其用于延缓动物特别是猫或犬的衰老。
5. 根据权利要求1至4所述用途的组合物,其中所述组合物包含以下列范围存在的一种或多种成分:绿茶提取物15mg至5g、水解胶原蛋白50mg至17g和软骨素10mg至4g。
6. 根据权利要求1至5所述用途的组合物,其中所述组合物是以食品的形式。
7. 一种治疗猫或犬的关节炎的方法,所述方法包括向动物特别是猫或犬施用包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素的组合物。
8. 如权利要求7所述的治疗关节炎的方法,其中关节炎是骨关节炎。
9. 一种增长动物特别是猫或犬的预期寿命的方法,所述方法包括向所述动物、向猫或犬施用包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素的组合物。
10. 一种延缓动物特别是猫或犬的衰老的方法,所述方法包括向所述动物施用包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素的组合物。

用于关节炎、可动性和延缓衰老的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种组合物,包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素。这种组合物可以用于治疗或预防关节炎、增长动物的预期寿命、在动物中保持可动性或预防可动性下降并用于制备这种组合物的方法中。该组合物还可以用于治疗关节炎的方法、增长预期寿命的方法、保持可动性或预防可动性降低的方法或延缓衰老的方法中。

背景技术

[0002] 动物健康的维持与改善是本领域中不断持续的目标。健康包括任何动物、哺乳动物,特别是猫、犬或人类的健康。

[0003] 现今兽医医学的进步为宠物主人提供了,无论宠物生病与否,延长宠物寿命以及改善生命质量的能力。宠物主人将会竭尽全力延长珍贵的宠物的生命。宠物主人常常对宠物有高度依恋或极度的奉献(commitment),或者依赖动物将其作为主要情感支柱。因此,对于用于宠物及甚至其它动物包括人类的延长寿命并确保高质量生活的产品有需求。

[0004] 关节炎是宠物动物和人类中的常见问题。对犬的骨关节炎的治疗可以是医学上的或外科的,在危重病例中,其可以包括髋关节置换。通常,犬的骨关节炎将随着时间恶化,但某些药物可以减慢进程。治疗可以包括抗炎药物的给药。这同样适用于人类。不幸的是,这些药物具有不良的副作用,并且外科手术是漫长且昂贵的。

[0005] 可以延长动物生命的食品是十分理想的。另外,对于可用于治疗动物的骨关节炎的新方法和组合物、特别是有效控制这些病症的食品组合物有持续的需求。

发明内容

[0006] 本发明涉及组合物及其用途。

[0007] 根据本发明的第一方面,提供了一种组合物,包含绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素。

[0008] 绿茶提取物是指来自绿茶叶片(茶树(*Camellia sinensis*))的草本衍生物。绿茶提取物可以通过软浸剂、软浸膏、干浸膏和部分纯化的浸膏技术产生。绿茶提取物可以包含绿茶儿茶酚(green tea catechins,GTC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin,EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate,ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate,EGCG)和类黄酮,诸如茨非醇、五羟黄酮、杨梅黄酮。

[0009] 胶原蛋白包括水解胶原蛋白、纤丝胶原蛋白(fibrillary collagen)和胶原蛋白I型至胶原蛋白XVIII型。水解胶原蛋白是特别优选的,尤其是与绿茶提取物和硫酸软骨素组合。

[0010] 软骨素是软骨胶衍生物。软骨素包括硫酸软骨素。

[0011] 任意一种或多种成分可以以下列范围存在:绿茶提取物15mg至5g、水解胶原蛋白50mg至17g以及软骨素10mg至4g。成分可以以下列范围存在:绿茶提取物15mg至1g、水解胶原蛋白50mg至1g以及软骨素10mg至1g。成分可以以下列范围存在:绿茶提取物15mg至

500mg、水解胶原蛋白50mg至500mg以及软骨素10mg至500mg。成分可以以下列范围存在：绿茶提取物1g至5g、水解胶原蛋白5g至17g以及软骨素1g至4g。成分可以以下列范围存在：绿茶提取物1g至3g、水解胶原蛋白8g至14g以及软骨素1g至3g。成分可以以下列范围存在：绿茶提取物200mg至2g、水解胶原蛋白500mg至5g以及软骨素200mg至2g。

[0012] 成分绿茶提取物、胶原蛋白和软骨素的这些量可以作为每日总量提供。该量将考虑动物的大小。30mg/kg/日的绿茶提取物的所需量将在用于小型犬(约0.5kg)的约15mg至用于大型犬(166kg)的约5g的范围内。对于胶原蛋白,所需量可以是100mg/kg/日,并且将在用于小型犬(约0.5kg)的约50mg至用于大型犬(166kg)的约17g的范围内。对于软骨素,所需量可以是20mg/kg/日,并且将在用于小型犬(约0.5kg)的约10mg至用于大型犬(166kg)的约3g的范围内。

[0013] 犬的重量的范围可以为1kg至120kg、5kg至100kg、10kg至90kg、15kg至60kg、20kg至40kg、25kg至35kg。

[0014] 适合的范围还包括20mg/kg/日绿茶提取物至40mg/kg/日。约0.2%、0.25%、0.3%、0.35%的饮食是适合的(尤其对于犬)。

[0015] 适合的范围还包括50mg/kg/日至150mg/kg/日的胶原蛋白。约0.5%、0.8%、0.9%、1.0%的饮食是适合的(尤其对于犬)。

[0016] 适合的范围还包括150mg/kg/日至250mg/kg/日的软骨素。约0.1%、0.15%、0.16%、0.7%、0.2%的饮食是适合的(尤其对于犬)。

[0017] 如本发明的第一方面中定义的组合物的性质为其在使用上是足够热稳定的,并因此在制造食品时是理想的。

[0018] 组合物可以是以食品的形式。食品可以是干产品、半微湿产品或微湿产品。湿产品包括以罐头或袋装出售的食品,并且具有70%至90%的含水量。干食品包括具有相似组分的食品,但具有5%至15%的水分,并以小饼干-如磨成粗粒的食物呈现。半微湿产品具有的水分范围为16%至69%。在任何产品中水分的量会影响可使用或所需的包装类型。

[0019] 食品可以通过将成分混合在一起并磨碎以制成可烹调的均匀的面团来制造。产生干宠物食品的工艺通常通过烘焙和/或挤压来完成。典型地将面团供应至称为膨胀器的机器中,该机器使用加压蒸汽或热水来对成分进行烹调。在膨胀器内部时,面团处于超高压和高温下。然后推动面团使其通过模具(特定尺寸的洞),然后使用刀切断。通过使膨化面团块通过干燥器以排出所有剩余水分而将其制成磨成粗粒的食物。然后可以对磨成粗粒的食物喷涂脂肪、油、矿物质和维生素,并可选地密封到包装中。

[0020] 为了制造罐头食品,首先对肉制品提取脂肪或加工,以将水、脂肪和蛋白质组分分开。然后将肉磨碎并烹调,然后与其它成分混合。将成品填充至罐头中,保质期为3至5年。对罐头进行真空包装。

[0021] 组合物可以是以食品补充剂的形式。组合物可以以粉末或碎屑呈现,包括白色粉末或固体形式。粉末用于喷洒在动物的主要食物上。其它形式包括固体小丸、颗粒、片剂或液体。

[0022] 优选地,对食品进行包装。以这种方式,消费者能够从包装确定食品中的成分,并确认其适合所讨论的特定宠物。包装可以是金属(通常以锡或挠性箔(flexifoil))、塑料、纸或卡。

[0023] 作为宠物食物产品形式的组合物可以包括宠物在其饮食中食用的任何产品。因此,本发明涵盖标准食物产品,以及宠物食品小吃(例如点心棒、饼干和甜味食品)。食物产品优选地是熟食。其可以包括肉或动物来源的材料(诸如牛肉、鸡肉、火鸡肉、羔羊肉、鱼、血浆、髓骨等,或它们的一种或多种)。可替换地,产品可以是不含肉的(优选地包括肉替代品,诸如大豆、玉米麸质或大豆产品),以提供蛋白源。产品可以含有附加的蛋白源,诸如大豆蛋白浓缩物、乳蛋白、麸质等。产品还可以含有淀粉源,诸如一种或多种谷物(例如,小麦、玉米、水稻、燕麦、大麦等),或可以不含淀粉。产品可以包括纤维,诸如菊苣、甜菜浆等,和/或组分诸如菊粉、低聚果糖、益生菌,最优选地,根据本发明的宠物食物产品的组合的成分提供用于所讨论的特定动物的所有建议的维生素和矿物质(全面且均衡的食物),例如在国家研究委员会,1985,犬的营养需求,国家科学院出版社,华盛顿DC(National Research Council,1985,Nutritional Requirements for dogs,National Academy Press, Washington DC)或美国饲料控制官员协会,官方出版物1996(Association of America Feed Control Officials,Official Publication 1996)中所述的。

[0024] 食物产品可以根据本领域中的已知的任何方法来制备,例如在帕加马牛津出版社出版的由ATB Edney编辑、A.Rainbird分章节的犬与猫的营养丛书中第57-74页中的标题为“均衡的膳食”(Waltham Book of Dog and Cat Nutrition,Ed.ATB Edney,Chapter by A.Rainbird,entitled“A Balanced Diet”on pages 57to 74,Pergamon Press Oxford)中的方法。

[0025] 本发明的第一方面的组合物特别用于预防或治疗动物特别是猫或犬的关节炎。关节炎包括骨关节炎、风湿性关节炎、银屑病性关节炎、脓毒性关节炎、强直性脊柱炎(AS)和系统性红斑狼疮。

[0026] 本发明的第一方面的组合物特别用于增长动物特别是猫或犬的预期寿命。增长预期寿命可以通过延长动物的寿命来测定。组合物的其它作用包括保持生命力、健康、身体活力、生命质量和延缓衰老的体征。身体活力包括具有能量且有活力的宠物。身体活力可以通过动物整体能量水平、可动性(mobility)、食欲和嬉闹测定。

[0027] 本发明的第一方面的组合物特别用于在动物特别是猫或犬中维持可动性或预防可动性降低。在动物如宠物中,可动性常常因为关节问题而降低。关节问题的一个原因是软骨磨损的比身体可更换的要快。当软骨磨损,关节变得肿胀且疼痛,因此产生可动性困难。在宠物中可动性降低的体征包括生活方式和行为的改变,诸如跳跃或跑步/步行的能力或意愿降低、睡眠减少和上下楼梯困难。

[0028] 本发明的第一方面的组合物特别用于延缓动物特别是猫或犬的衰老。衰老的体征可以包括能量普遍下降、移动更缓慢、听力下降、视力减弱等。

[0029] 根据本发明的第二方面,提供了一种治疗动物特别是猫或犬的关节炎的方法,包括向所述动物施用本发明第一方面中限定的组合物。关节炎包括骨关节炎、风湿性关节炎、银屑病性关节炎、脓毒性关节炎、强直性脊柱炎(AS)和系统性红斑狼疮。该方法可以是预防性的或治疗性的。

[0030] 根据本发明的第三方面,提供了一种增长动物特别是猫或犬的预期寿命的方法,包括向所述动物施用本发明第一方面中限定的组合物。增长预期寿命可以通过延长动物的寿命来测定。组合物的其它作用包括保持生命力、健康、身体活力、生命质量和延缓衰老

的体征。身体活力包括具有能量且有活力的宠物。身体活力可以通过动物整体能量水平、可动性、食欲和嬉闹测定。

[0031] 根据本发明的第四方面,提供了一种在动物特别是猫或犬中保持可动性或预防可动性降低的方法,包括向所述动物施用本发明第一方面中限定的组合物。在宠物中可动性降低的体征包括生活方式和行为的改变,诸如跳跃或跑步/步行的能力或意愿降低、睡眠减少和上下楼梯困难。

[0032] 根据本发明的第五方面,提供了一种延缓动物特别是猫或犬的衰老的方法,包括向所述动物施用本发明第一方面中限定的组合物。衰老的体征可以包括能量普遍下降、移动更缓慢、听力下降、视力减弱等。

[0033] 根据本发明的第六方面,提供了一种制备本发明第一方面中限定的组合物的方法,包括在例如托特平底玻璃杯(tote tumbler)中将成分混合在一起形成组合物,以产生粉末、小丸或糊剂,或如上所述的。产品可以以所有其它方式通过本领域已知的工艺生产。本发明第一方面中限定的组合物可以在对一种或多种其它成分加热或烹调之前或之后加入。

具体实施方式

[0034] 现在将参照以下非限定性实例描述本发明:

[0035] 非常感激来自骨关节和牙科组织工程实验室(Laboratory for OsteoArticular and Dental Tissue Engineering, LIOAD)的艾乐迪·乐·提利(Elodie le Tilly)、劳伦特·贝克(Laurent Beck)和杰罗姆·吉诗(Jerome Guicheux)对于进行以下实验提供的帮助。

[0036] 实施例1

[0037] 体内动物模型研究:

[0038] 进行临床前试验,以评价含有软骨素(chondroitin)、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物对于小鼠的骨关节炎的进展的效果。使十八月龄C57BL/6雄性小鼠可以自由接近食物和水,并进行12h/12h光/暗周期一周以适应。

[0039] 在这种动物模型中骨关节炎的患病率不是100%,因此测试了15只小鼠的组以获得统计显著性。研究了三个组:

[0040] -15只用对照饮食喂养的6月龄小鼠的健康对照组。

[0041] -15只用对照饮食喂养的18月龄小鼠的对照组。

[0042] -15只用含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的混合物的饮食喂养的18月龄小鼠的测试组。

[0043] 为小鼠每日提供6g食物,其每日仅食用3g食物。每日加入饮食中的活性化合物的剂量为:

[0044] -绿茶提取物:0.15% (146.5mg/kg体重/日)

[0045] -水解胶原蛋白:0.5% (488.5mg/kg体重/日)

[0046] -软骨素:0.1% (97.5mg/kg体重/日)

[0047] 选择小鼠作为模型是为了模拟犬的长生命周期;小鼠的2个月相当于犬的大约1年。为了将犬剂量转换为小鼠剂量,使用来自美国食品和药物管理局(FDA)的以下方程式:

[0048] 小鼠的剂量 (mg/Kg) = 犬的剂量 (mg/Kg) x (犬体重 (Kg) / 小鼠体重 (Kg))^{0.33}

[0049] 对于该项研究,认为犬体重为30Kg,小鼠体重为30g。

[0050] 评价:

[0051] 使用MX-20DC-12设备(飞科思创生物有限责任公司 (Faxitron Biotics LLC),图森,亚利桑那州,USA)拍摄后肢的放射图像(前后视图和侧视图),以评价小鼠关节中的结构性损伤。通过腹膜内注射75mg/Kg剂量的克他命 (Ketamine) (克他命1000™,维克 (Virbac),法国) 和5mg/Kg剂量的甲苯噻嗪 (隆朋™ (Romun™),拜耳,法国)的混合物。在研究开始时以及直到自然死亡的每五周拍摄图像。使用盲选程序,通过使用以下表1和表2列出的多项等级标准对每个图像中骨关节炎的严重程度进行评分。

[0052]

内侧和外侧半月板的周长	< 1200 像素	0
	1200 - 2000	1
	> 2000 像素	2
可见骨赘的数量	无	0
	1	1
	> 1	2
软骨下骨的结构变化 (硬化)	无	0
	低-中等	1
	中等-高	2
关节间隙的宽度	正常	0
	减小	1
肌腱钙化	无	0
	1 个位置	1
	>1 个位置	2
总关节得分	总计	9

[0053] 表1

[0054]

放射学得分	OA等级
0-1	0
2-3	1
4-5	2
6-7	3
8-9	4

[0055] 表2

[0056] 使用CatWalk™系统(诺达思 (Noldus) 信息技术公司,荷兰)测定小鼠的步态,该系

统利用光系统和高频摄像机记录了小鼠脚印。使用分析软件CatWalk XT™ 10,测定在骨关节炎中可能发生的小鼠步态的细微变化。步态分析在研究开始时进行,并且直到死亡的每五周进行测定。使每个小鼠从通道的一侧到另一侧自由地步行。在爪与玻璃板每次接触时,LE光通过玻璃地板向下反射,并通过照相机记录。通过在实际步态分析前每日训练小鼠穿过通道7天来获得可靠的记录。

[0057] 结果:

[0058] 图1示出在研究开始时(18月龄小鼠)以及经含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物处理或未经处理的小鼠3个月后的关节炎的放射学得分(Radiological scoring)。含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物能够预防关节炎的发展。

[0059] 图2示出使用CatWalk™系统测定经含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物处理或未经处理的6月龄、9月龄、18月龄和21月龄的小鼠的可动性。含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物能够预防可动性降低。

[0060] 图3和图4示出经含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物处理或未经处理的小鼠的死亡日期。含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物增加了小鼠的整体存活率。

[0061] 通常,随着年龄的增长,关节炎在关节中出现,这导致疼痛和可动性减少。含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物延缓关节炎的出现,预防可动性降低并还延缓小鼠的自然死亡。混合物(cocktail)作用机制尚不清楚。我们假设绿茶多酚防止氧化而水解胶原蛋白,以及硫酸软骨素防止软骨分解代谢和/或增加软骨合成。

[0062] 这是首次显示含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物预防关节炎并延缓自然死亡。另一优点是,组合物的成本相对低;实际上三种化合物比很多有效治疗关节炎的已知化合物如姜黄素更便宜。另外,与本领域中已知的许多其他治疗关节炎的化合物不同,这些化合物是热稳定的。本发明的预料不到的有益性是延长动物寿命的效果。

[0063] 实施例2

[0064] 体外研究:

[0065] 进行体外研究,以评价含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的组合物对于兔关节软骨细胞(RAC)的效果。在含有5%CO₂气氛的37℃保温箱中在补充有10%胎牛血清、谷氨酰胺和1%青霉素/链霉素(Gibco,生命科技公司,瑞士)的达尔伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium,DMEM)中培养RAC。

[0066] 将RAC在96孔板中铺板(10⁵个细胞/cm²)。用含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物的每一种化合物或所有三种化合物的混合物的新鲜培养基替换培养基,持续24小时,之后用IL-1β(10ng/ml)(默克密理博(Merck Millipore),USA)刺激。IL-1β是与关节炎的发病原相关的促炎细胞因子。然后将RAC温育24小时,之后测定作为关节炎标记物的一氧化氮(NO)和前列腺素E₂(PGE₂)的产生量。

[0067] 在6孔板中对RAC铺板(3x 10⁵个细胞/cm²)。用含有软骨素、水解胶原蛋白和绿茶提取物每一种化合物或所有三种化合物的混合物的新鲜培养基替换培养基,持续24小时,之后用IL-1β(10ng/ml)(默克密理博(Merck Millipore),USA)刺激。然后将RAC温育48小时,之后测定作为关节炎标记物的环氧化酶-2(cyclooxygenase-2,COX-2)、可诱导的同工型一氧化氮合成酶(inducible isoform Nitric oxide Synthase,iNoS)和基质金属蛋白酶-13

(Matrix Metalloproteinase-13, MMP13) 的RNA表达。

[0068] 评价:

[0069] 根据制造商说明书使用MTS试验(Cell Titer 96TM MTS, 普洛麦格, 法国) 测定细胞存活率。还通过使用马氏细胞(Malassez cell) 对细胞进行计数, 并使用台盼蓝排斥染色技术评价细胞存活率, 其将死细胞着色为蓝色。

[0070] 遵照制造商的方案使用开曼化学品(Cayman Chemicals) (贝尔坦医药公司(Bertin Pharma), 法国) 测定NO和PGE2的产生量。使用用亚硝酸钠制备的标准曲线通过格里斯反应测定培养上清液中亚硝酸盐的累积, 由此通过分光光度法估算NO的产生量。使用高灵敏度的特定酶免疫测定试剂盒来估算PGE2。

[0071] 根据制造商说明书, 通过使用NucleoSpinTM RNA II试剂盒(马克雷-纳格尔(Macherey-Nagel), 赫尔德(Hoerd), 法国) 提取RNA, 来进行RNA的提取。用Superscript III(生命技术公司) 对RNA反转录, 并用SYBR Select mix(生命技术公司) 进行实时聚合酶链反应(RT-PCR)。使用引物序列COX-2、iNos和MMP13对相对RNA表达定量。使用用于GAPDH的引物序列作为参照基因。表3列出了实施例2中使用的引物序列。

[0072]

扩增基因	参照基因文库	引物序列	大小 (bp)
COX2	NM_001082388.1	正向引物: GGAAGCGCTCTACGGCGACA 反向引物: CCCCAAAGATGGCATCCGGGC	3314
iNos	AF198443.1	正向引物: TGACGTCCAGCGCTACAATA 反向引物: TGCGTCTCCAGTCCCATC	247
MMP13	NM_001082037.1	正向引物: TTTTGAAGACACGGGCAAG 反向引物: TCATCATAGCTCCAGACTTGGTT	3124
GAPDH	NM_001082253	正向引物: AGAACGGGAAGCTGGTCAT 反向引物: TTGATGTTGGCGGGATCT	1282

[0073] 表3

[0074] 来自实施例2的实验结果示于下面的表4中。

[0075]

处理	处理	PGE2 产生量 (ng/ml)	NO 产生量 (μ M)	COX2 表达	iNoS 表达	MMP13 表达
未处理	未处理	8.4	14.0	1.0	1.0	1.0
未处理	IL-1 β (10 ng/ml)	91.1	24.9	9.9	6.2	378.9
绿茶提取物 (50 μ M)	IL-1 β (10 ng/ml)	10.3	19.4	4.3	6.7	79.3
胶原蛋白 (0.5 mg/ml)	IL-1 β (10 ng/ml)			7.1	3.9	240.1
软骨素 (200 μ g/ml)	IL-1 β (10 ng/ml)			10.7	5.3	451.0
绿茶提取物 (50 μ M) 和 胶原蛋白 (0.5 mg/ml) 和 软骨素 (200 μ g/ml)	IL-1 β (10 ng/ml)	6.2	21.8	5.5	6.2	66.3

[0076] 表4

[0077] 分别用不同化合物或混合在一起温育兔关节软骨细胞 (RAC), 以评价其细胞毒性。MTS测定和台盼蓝排斥测试二者在用贯穿大范围浓度(数据未示出)的绿茶提取物、软骨素或水解胶原蛋白进行24小时和48小时温育后都不显示任何细胞毒性。

[0078] 用绿茶提取物以及用绿茶提取物、软骨素和水解胶原蛋白的混合物预处理导致显著且剂量依赖性地抑制NO和PGE2的产生(表4) ($P < 0.05$)。水解胶原蛋白降低不同基因的表达, 而仅软骨素似乎没有作用。另一方面, 绿茶提取物以及绿茶提取物、软骨素和水解胶原蛋白的混合物抑制COX2和MMP13的表达, 但对iNos的表达没有作用(表4)。

[0079] 绿茶提取物、软骨素和水解胶原蛋白的混合物逆转IL-1 β 对炎性细胞因子和分解代谢酶诸如NO、PGE2和MMP13的作用, 由此示出其对疾病的体外模型的抗炎和抗分解代谢的性质。

X射线关节炎得分

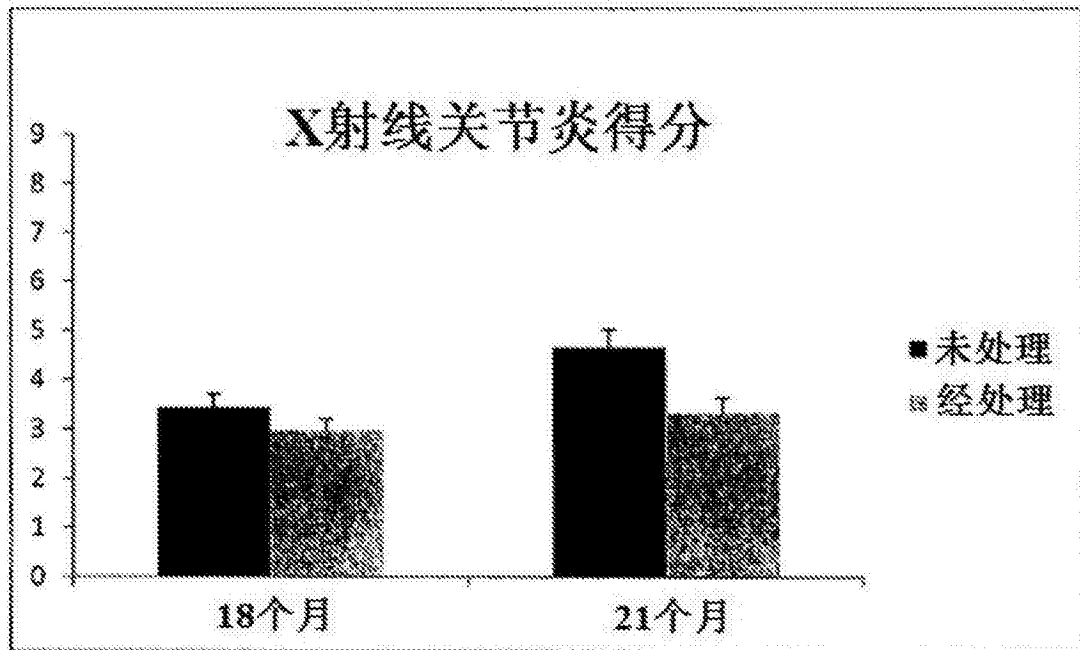


图1

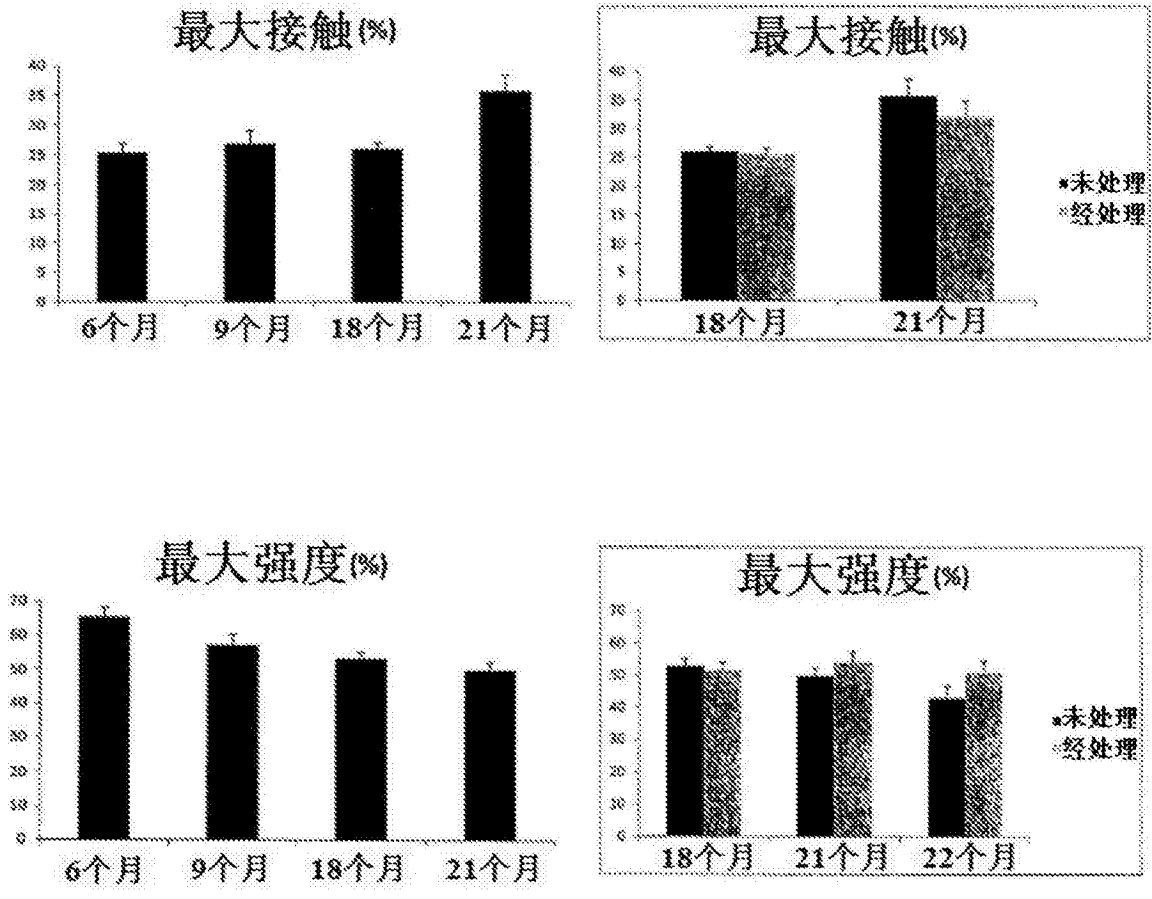


图2

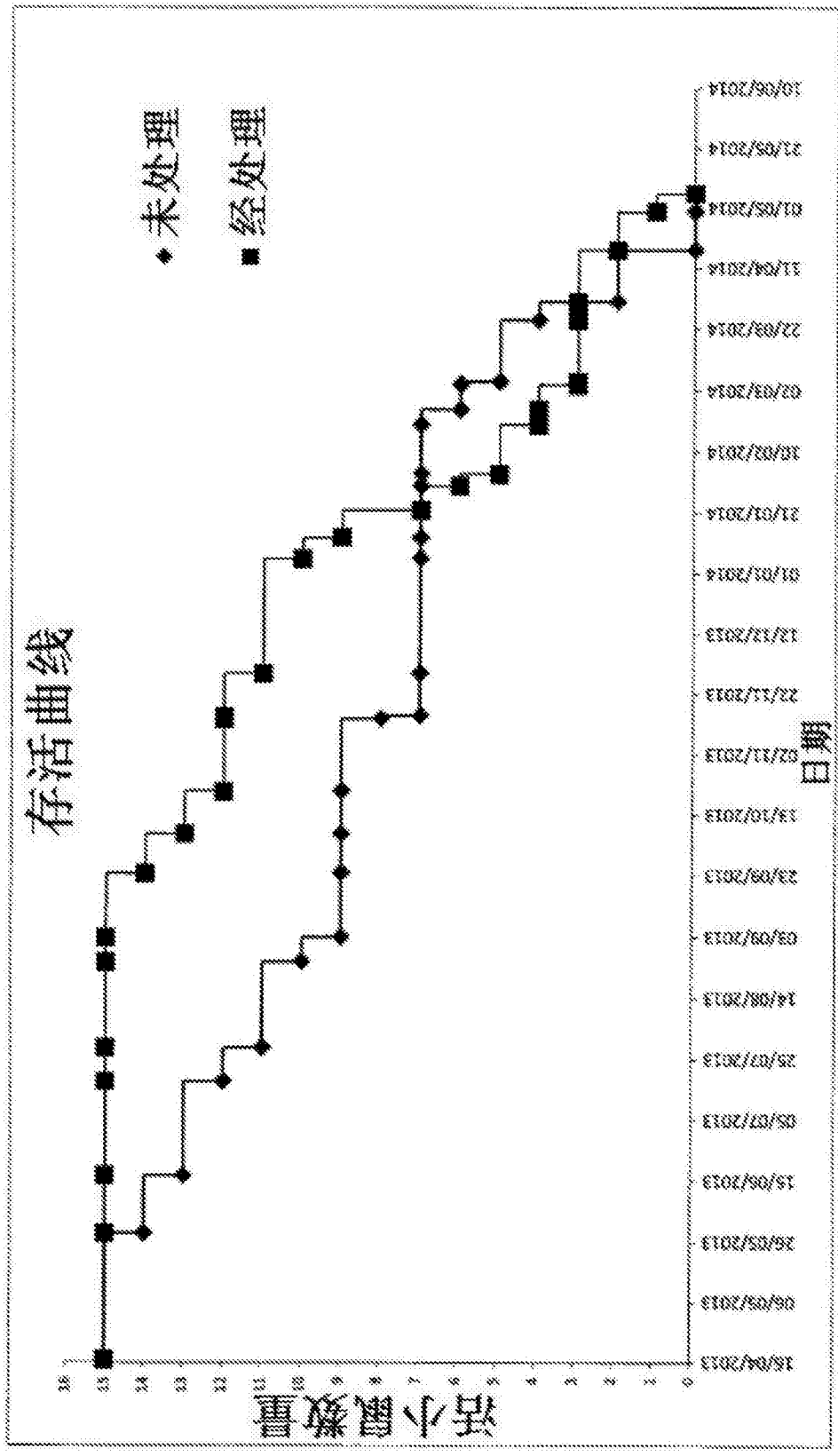


图3

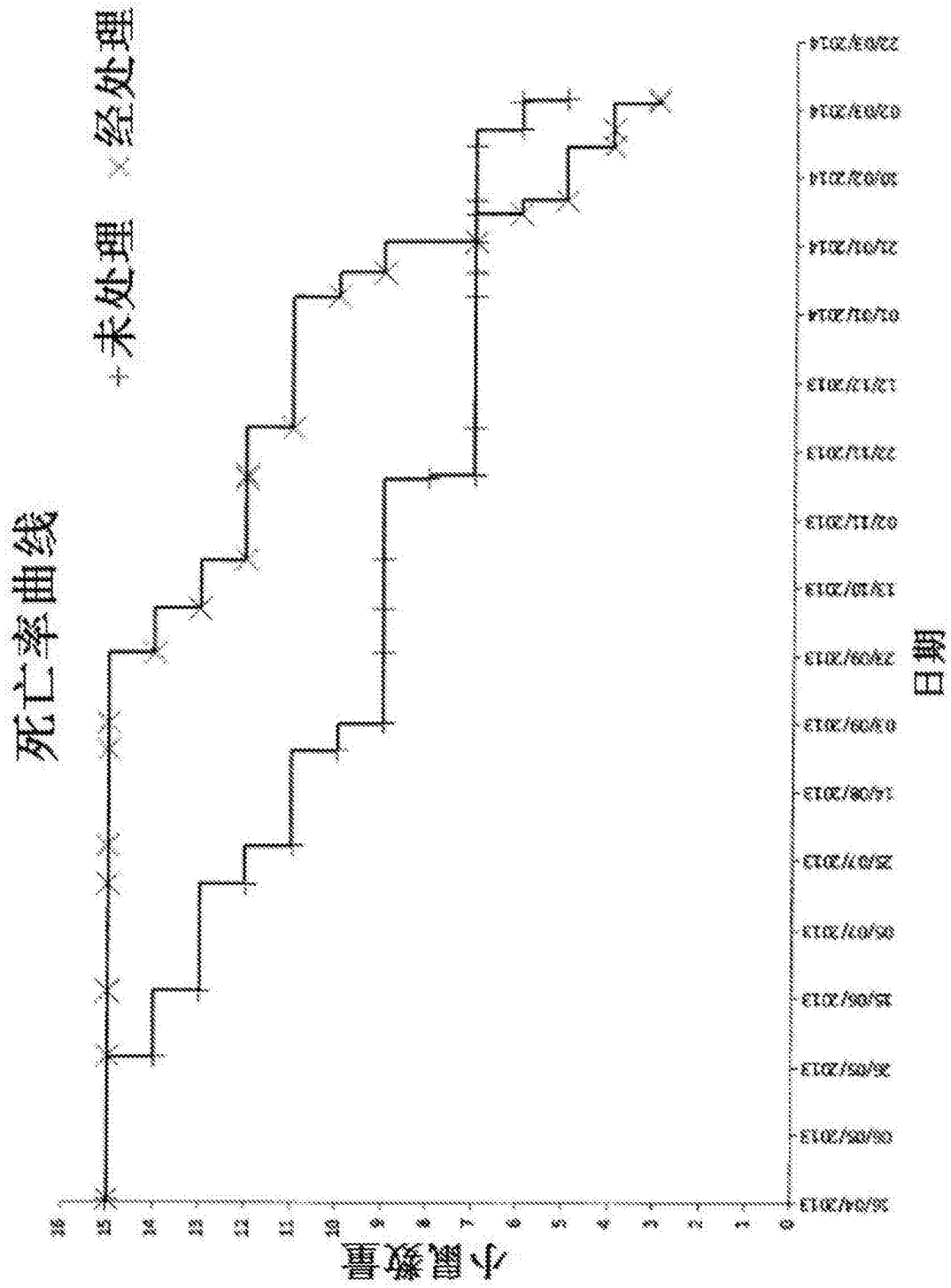


图4