(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 112739361 B
(45)授权公告日 2022.10.28

(21)申请号 201980061359.0
(22)申请日 2019.07.19
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112739361 A
(43)申请公布日 2021.04.30
(30)优先权数据
10-2018-0084054 2018.07.19 KR
10-2019-0086296 2019.07.17 KR
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.03.18
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2019/008942 2019.07.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/017921 KO 2020.01.23

(73)专利权人 高丽大学校产学协力团
地址 韩国首尔市
(72)发明人 金贤洙
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 牟科 邹宗亮

(51)Int.Cl.
A61K 36/21(2006.01)
A61K 31/716(2006.01)
A61K 31/737(2006.01)
A23L 33/105(2006.01)
A61P 21/00(2006.01)

审查员 冷新

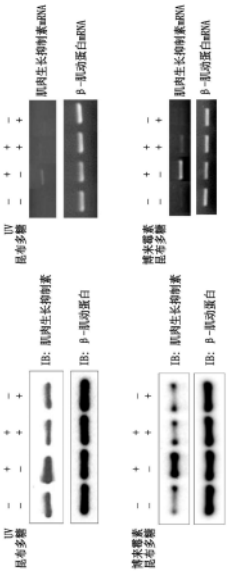
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

昆布多糖在制备用于预防或治疗肌肉减少症的药物中的用途

(57)摘要

根据本发明的一实施例,提供一种含有草绿盐角草提取物作为活性成分的用于预防或治疗肌肉减少症的药物组合物,以及含有草绿盐角草提取物作为活性成分的用于预防或改善肌肉减少症的食品组合物。



CN 112739361 B

1.昆布多糖在制备用于预防或治疗肌肉减少症的药物中的用途。

昆布多糖在制备用于预防或治疗肌肉减少症的药物中的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于预防或治疗肌肉减少症的药物组合物,其包含草绿盐角草提取物作为活性成分。

背景技术

[0002] 肌肉减少症的概念始于1989年Irwin Rosenberg提出的“肌肉衰减综合征(sarcopenia)”,其源于希腊语,是意味着肌肉的“sarco”和意味着减少的“penia”的组合。肌肉减少症与衰老有关,是指由于肌肉质量的减少而导致的肌肉力量的减少。在此,“肌肉(muscle)”是指骨骼肌(skeletal muscle),与平滑肌(smooth muscle)无关。即,肌肉减少症主要是指分布在四肢的骨骼肌团丢失(loss of skeletal muscle mass),其区别于由恶病质(cachexia)(恶性肿瘤晚期一种显著的肌肉丢失状态)、流感等急性疾病引起的肌肉萎缩(muscle wasting),或原发性肌肉疾病(primary muscle disease)。

[0003] 随着65岁以上的老年人年龄群的迅速增加,骨质疏松症和肌肉减少症的患病率也随之迅速增加。已知肌肉质量的逐渐减少发生在40岁年龄群,直至70岁年龄群每10年减少8%,此后,甚至可以出现更快的减少率,每10年最多减少15%。许多后续研究表明,老年人发生的生理变化是多种多样的,一般地,肌肉质量和骨密度会随着年龄的增长而减少。

[0004] 另外,肌肉减少症有三种主要的治疗方法。第一,运动。据报道,运动可以在短期内提高骨骼肌的蛋白质合成能力,增加老年人的肌肉力量或活动能力。但这不适合长期治疗。第二,作为一种药物治疗,可以使用睾酮(Testosterone)或合成代谢类固醇(anabolic steroid),但这会导致女性男性化,而男性则会出现前列腺症状(prostate symptoms)等副作用。其他经批准的处方方法包括脱氢表雄酮(DHEA,dehydroepiandrosterone)和生长激素,有研究表明,在包括选择性雄激素受体调节剂(SARMs,Selective Androgen Receptor Modulators)在内的领域,DHEA可用作治疗方法。此外,饮食也被认为是一种治疗方法,但营养评估表明,营养不良或现代饮食习惯不适合维持足够的总体重。

[0005] 肌肉生长抑制素(myostatin)是属于TGF-β超家族的多肽生长因子。TGF-β具有大量的同种型(isoform),其已知与细胞增殖(proliferation)、凋亡(apoptosis)、分化、骨形成及维持有关(Massague&Chen,2000)。其中,肌肉生长抑制素属于生长分化因子 (GDF,growth differentiation factor)8,其参与组织的生长发育,并通过激活Smad信号系统发挥作用。另外,据报道,p21基因抑制细胞周期和前体细胞的增殖,从而影响骨的形成和再生。肌肉生长抑制素主要产于骨骼肌细胞,以自分泌的方式引起肌肉损失和肌肉减少,其被认为通过抑制与肌肉肥大有关的IGF-1或卵泡抑素的表达来抑制成肌细胞中的蛋白质合成和细胞增殖。

[0006] 另外,草绿盐角草长到大约10至30cm高,树枝分开面对面。茎最初呈深绿色或黄色,然后在秋季变红,并且像小仙人掌一样厚而肉质。后来叶片退化得几乎看不见,并且有小的膜状鳞片。在八月至九月,三朵花盛开在分支的上节。花蕊肉质丰满,雄蕊1-2枚,花柱2枚。果实是石榴,其被包裹在果皮中,并有黑色种子。它是一种一年生草本植物,在海水流入

内陆盐池的潮滩附近成群生长。在韩医学领域，其被认为可消除体内积聚的毒素和便秘，并对各种不治之症有极好的治疗效果，如癌症、子宫肌瘤、鼻窦炎、高血压、低血压、背痛、糖尿病、支气管哮喘、甲状腺功能减退、甲状腺功能亢进症、皮肤病、关节炎等。

发明内容

[0007] 要解决的技术问题

[0008] 在此背景下，本发明者为发现一种能够通过抑制导致肌肉损失和肌肉减少的肌肉生长抑制素的表达来治疗肌肉减少症的物质而做出努力，并发现草绿盐角草成分可通过抑制肌肉生长抑制素蛋白的产生及mRNA表达的增加来用于预防或治疗肌肉减少症，由此完成了本发明。

[0009] 本发明的目的在于提供一种用于预防或治疗肌肉减少症的药物组合物，其包含草绿盐角草提取物作为活性成分。

[0010] 本发明的另一目的涉及一种用于预防或改善肌肉减少症的食品组合物，其包含草绿盐角草提取物作为活性成分。

[0011] 然而，本发明要解决的问题并非受限于上述言及的问题，未言及的其他问题能够通过以下记载由本领域普通技术人员所明确理解。

[0012] 解决问题的技术方法

[0013] 根据本发明的一实施例，提供一种用于预防或治疗肌肉减少症的药物组合物，其包括草绿盐角草提取物作为活性成分。

[0014] 根据一侧，所述草绿盐角草提取物包括昆布多糖(laminarin)或岩藻依聚糖(fucoidan)。

[0015] 根据一侧，所述药物组合物可以抑制肌肉生长抑制素(myostatin)mRNA或蛋白的表达。

[0016] 根据一侧，博来霉素(bleomycin)可以引起所述肌肉生长抑制素(myostatin)mRNA或蛋白的表达。

[0017] 根据一侧，UV可以引起所述肌肉生长抑制素(myostatin)mRNA或蛋白的表达。

[0018] 根据一侧，所述药物组合物可以抑制MURF1(Muscle RING-finger protein-1)mRNA或蛋白的表达。

[0019] 根据本发明的另一实施例，可以提供一种用于预防或改善肌肉减少症的食品组合物，其包括草绿盐角草提取物作为活性成分。

[0020] 发明的效果

[0021] 本发明的含有草绿盐角草提取物作为活性成分的用于预防或治疗肌肉减少症的药物组合物抑制直接影响肌肉损失及肌肉减少的肌肉生长抑制素蛋白的产生及mRNA表达的增加，可以对肌肉减少症起到更彻底的预防或治疗作用。

[0022] 然而，本发明的效果并不限于上述效果，并且应当理解为包括可以从本发明的详细描述或权利要求中描述的本发明的配置推导出的所有效果。

附图说明

[0023] 图1为确认在使用昆布多糖及岩藻依聚糖进行处理时，UV引起的肌肉生长抑制素

的表达被抑制的效果的附图。

[0024] 图2为确认在使用昆布多糖及岩藻依聚糖进行处理时，博来霉素引起的肌肉生长抑制素的表达被抑制的效果的附图。

[0025] 图3为确认在使用昆布多糖及岩藻依聚糖进行处理时，UV引起的MURF1(Muscle RING- finger protein-1)蛋白的表达被抑制的效果的附图。

具体实施方式

[0026] 以下，参照附图对本发明的实施例进行详细说明。可以对以下实施例进行多种变更，因此本申请的权利范围并非受到以下实施例的限制或限定。对所有实施例的全部更改、其等同物乃至其替代物均包括在权利要求范围。

[0027] 实施例中使用的术语仅用于说明特定实施例，并非用于限定实施例。在内容中没有特别说明的情况下，单数表达包括复数含义。在本说明书中，“包括”或者“具有”等术语用于表达存在说明书中所记载的特征、数字、步骤、操作、构成要素、配件或其组合，并不排除还具有一个或以上的其他特征、数字、步骤、操作、构成要素、配件或其组合，或者附加功能。

[0028] 在没有其他定义的情况下，包括技术或者科学术语在内的在此使用的全部术语，都具有本领域普通技术人员所理解的通常的含义。通常使用的与词典定义相同的术语，应理解为与相关技术的通常的内容相一致的含义，在本申请中没有明确言及的情况下，不能过度理想化或解释为形式上的含义。

[0029] 并且，在参照附图进行说明的过程中，与附图标记无关，相同的构成要素赋予相同的附图标记，并省略对此的重复的说明。在说明实施例的过程中，当判断对于相关公知技术的具体说明会不必要地混淆实施例时，省略对其详细说明。

[0030] 根据本发明的一实施例，提供一种用于预防或治疗肌肉减少症的药物组合物，其包含草绿盐角草提取物作为活性成分。

[0031] 在本发明中，术语“草绿盐角草提取物(Salicorniahebacea)”是一种韩医学的药名，其指属于石竹目藜属植物科的盐生植物(halophyte)。

[0032] 在本发明中，术语“提取物”包括通过提取植物而获得的提取物、所述提取物的稀释或浓缩溶液、通过干燥所述提取物而获得的干燥产物、所述提取物的制剂或纯化产物或其混合物、提取物本身及可使用提取物来形成的所有制剂的提取物。本发明的草绿盐角草提取物可以优选在提取后以干粉的形式制备和使用。另外，所述草绿盐角草提取物可以从绿茶的天然、杂种或变种植物中提取，并可以从植物组织培养物中提取，并且包括从叶、茎、根、花和果实等部分中提取的提取物。

[0033] 所述草绿盐角草提取物可以包括昆布多糖(laminarin)或岩藻依聚糖(fucoidan)。

[0034] 在本发明中，术语“昆布多糖(laminarin)”是指褐藻细胞壁中所含的碳水化合物，是对应于高等植物的淀粉的低渗多糖。

[0035] 在本发明中，术语“岩藻依聚糖(fucoidan)”是指褐藻中所含的粘性多糖，是一种结合被称为岩藻糖(Fucose)的碱性糖和硫酸基团的物质。

[0036] 在本发明中，术语“预防”是指通过施用组合物来抑制或延迟肌肉减少症发作的任何行为。

[0037] 在本发明中，术语“治疗”是指通过施用组合物来改善或有益地改变肌肉减少症症状的所有行为。

[0038] 本发明的被包括在药物组合物中的昆布多糖及岩藻依聚糖可以抑制肌肉生长抑制素 (myostatin)mRNA或蛋白表达和MURF1(Muscle RING-finger protein-1)蛋白表达，尤其可以减少由博来霉素的处理或UV刺激而引起的肌肉生长抑制素表达的增加(参见图1至图3)。所述博来霉素(bleomycin)是一种抗肿瘤抗生素，其用于鳞状细胞癌或恶性淋巴瘤等的有效抗癌剂，或被称为老化因子。

[0039] 本发明的药物组合物可以通过医药领域已知的方法制备以用作药剂，并与医药上可接受的载体、赋形剂、稀释剂、稳定剂、防腐剂等混合，以粉末、颗粒、片剂、胶囊或注射剂等剂型制备和使用。并且，所述组合物可以制备成缓释制剂，使得活性成分(包括除活性成分外用于缓释目的的基质)的释放缓慢发生。

[0040] 医药上可接受的载体可以进一步包括例如用于口服给药的载体或用于肠胃外给药的载体。用于口服的载体可以包括乳糖、淀粉、纤维素衍生物、硬脂酸镁、硬脂酸等。并且，其可以包括用于口服肽制剂的各种药物递送物质。此外，用于肠胃外给药的载体可以包括水、合适的油、盐水、含水葡萄糖及乙二醇等，并可以进一步包括稳定剂及防腐剂。合适的稳定剂包括抗氧化剂，如亚硫酸氢钠、亚硫酸钠或抗坏血酸等。合适的防腐剂可以是苯扎氯铵、对羟基苯甲酸甲酯或丙酯及氯丁醇。除上述成分外，本发明的药物组合物还可以包括润滑剂、润湿剂、甜味剂、调味剂、乳化剂、悬浮剂等。

[0041] 所述稀释剂可以是丙二醇、聚乙二醇、橄榄油、植物油、如花生油等植物油等非水溶剂或盐水(优选地，0.8％的盐水)，或含有缓冲介质的水(优选地，0.05M的磷酸盐缓冲液)等水溶剂，但并不限于此。

[0042] 所述赋形剂可以是淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、粉笔、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石粉、氯化钠、无水脱脂乳、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等，但并不限于此。

[0043] 所述稳定剂可以是山梨醇、甘露醇、淀粉、蔗糖、葡聚糖、谷氨酸、葡萄糖等碳水化合物或奶粉、血清白蛋白、酪蛋白等动物、植物或微生物蛋白质等的蛋白质，但并不限于此。

[0044] 所述防腐剂可以是硫柳汞、水杨乙汞(merthiolate)、庆大霉素、新霉素、制霉菌素、两性霉素B、四环素、青霉素、链霉素及多粘菌素B，但并不限于此。

[0045] 本发明的药物组合物可以通过任何方法给予包括人在内的哺乳动物，例如口服给药或肠胃外投药。肠胃外投药方法可以是静脉注射、肌肉注射、动脉内给药、髓内给药、鞘内给药、经皮给药、皮下给药、腹腔内给药、鼻内给药、肠道给药、局部给药、舌下给药或直肠给药，但并不限于此。

[0046] 根据如上所述的给药途径，本发明的药物组合物可以配制成用于口服给药或肠胃外投药的制剂。

[0047] 本发明的药物组合物的总有效量可以以单次剂量(single dose)施用于患者，并且可以通过多剂量(multiple dose)长期施用的分割治疗方案来施用。本发明的药物组合物可以根据疾病的严重程度改变活性成分的含量。这可以考虑各种因素来确定，例如制剂方法、给药途径和治疗次数，以及患者的年龄、体重、健康状况、疾病症状、给药时间和方法等。鉴于这些点，本领域技术人员将能够确定本发明组合物的适当有效剂量。根据本发明的

药物组合物只要表现出本发明的效果，则并不特别限制其剂型、给药途径和给药方法。

[0048] 根据本发明的另一实施例，提供一种用于预防或改善肌肉减少症的食品组合物，其包括草绿盐角草提取物作为活性成分。

[0049] 在本发明中，术语“改善”是指有关治疗情况的参数，例如，指至少降低症状的程度的所有行为。

[0050] 此外，当使用本发明的食品组合物作为食品添加剂时，可以原样添加所述组合物或可以与其他食品或食品成分一起使用所述组合物，并且可以根据常规方法适当地使用。一般地，当制备食品或饮料时，基于原料以15重量％以下，优选以10重量％以下的量添加本发明的组合物。然而，如果是为了健康及卫生或为了健康控制的目的而长期摄入，则可以低于上述范围，并且在安全性方面没有任何问题，因此活性成分的使用量可以高于上述范围。

[0051] 对所述食物的种类并没有特别的限制。可以添加所述物质的食品的示例包括肉、香肠、面包、巧克力、糖果类、零食类、饼干类、披萨、拉面、其他面条、口香糖类、包括冰淇淋在内的乳制品、各种汤、饮料、茶、饮品类、酒精饮料及维生素复合物等，并且包括通常意义上的所有保健食品。

[0052] 下面，将通过实施例更详细地描述本发明。以下实施例仅用于说明本发明，本发明的范围并不限于此。

[0053] 实施例1.针对由UV照射引起的肌肉减少症的抑制效果的验证

[0054] 将C2C12肌肉前体细胞(ATCC，US)在含10％FBS的DMEM中进行培养。此时，将$3x10^5$细胞接种在一个60饼形培养皿中。播种后第二天，分别处理昆布多糖及岩藻依聚糖，并放置1小时。1小时后，移除生长培养基(growth media)(10％FBS DMEM)并使用PBS进行洗涤。去除PBS后，从UV交联剂(cross-linker)(UVP CL-1000)上取下板盖后，进行 $3J/m^2$的UV照射(0天)。在CO2培养箱(Incubator)中培养24小时后，以相同的方式除去生长培养基，并洗涤PBS，然后进行$3J/m^2$的UV照射(1天)。

[0055] 第二天，在同一时间进行收获(2天)，并使用蛋白质印迹法来检测作为细胞裂解液中调节肌肉质量的目标蛋白的肌肉生长抑制素和MURF1蛋白的表达变化。使用了抗-GDF8(Genetex，GTX32624)作为肌肉生长抑制素、抗-MURF1抗体(Abcam，ab172479)作为 MURF1及β-肌动蛋白抗体(ENOGene E12-041-4)作为蛋白质加载对照，进行了比较分析。

[0056] 使用RNeasy-Mini试剂盒(Qiagen，US)来分离RNA，并使用AMV逆转录酶(Reverse Transcriptase)(Promega，US)合成cDNA后，使用PCR通过cDNA确认了肌肉生长抑制素 mRNA表达的程度。PCR条件按照以下顺序进行：在95℃下初始变性5分钟，i)在95℃下变性5秒，ii)在62.8℃下退火10秒，以及iii)在72℃下最终延伸10分钟。使用以下引物来检测mRNA的表达。

[0057] [表1]

[0058]

分类		测序（5’→3’）
肌肉生长抑制素 (Myostatin)	Forward	gcactggtatttggcagagt
	Reverse	ttcagcccatcttctcctgg
β-肌动蛋白 (Beta-actin)	Forward	gtcgtaccacaggcattgtg
	Reverse	ctctcagctgtggtggtgaa

[0059] 结果,如图1至图3所示,可以确认由UV照射而增加的肌肉生长抑制素及MURF1的表达随着昆布多糖及岩藻依聚糖的处理而被减少。

[0060] 实施例2.针对由博来霉素引起的肌肉减少症的抑制效果的验证

[0061] 将C2C12肌肉前体细胞(ATCC,US)在含10％FBS的DMEM中进行培养。此时,将$3x10^5$细胞接种在一个60饼形培养皿中,接种后,处理博来霉素(bleomycin)并放置1小时。

[0062] 接着,分别处理昆布多糖及岩藻依聚糖,并放置1小时后,移除生长培养基(growth media)(10％FBS DMEM)并使用PBS进行洗涤。洗涤后,使用蛋白质印迹法来检测作为细胞裂解液中调节肌肉质量的目标蛋白的肌肉生长抑制素和MURF1蛋白的表达变化。使用了抗-GDF8(Genetex,GTX32624)作为肌肉生长抑制素及β-肌动蛋白抗体(ENOGene E12-041-4)作为蛋白质加载对照,进行了比较分析。

[0063] 使用RNeasy-Mini试剂盒(Qiagen,US)来分离RNA,并使用AMV逆转录酶(Reverse Transcriptase)(Promega,US)合成cDNA后,使用PCR通过cDNA确认了肌肉生长抑制素 mRNA表达的程度。PCR条件按照以下顺序进行:在95℃下初始变性5分钟,i)在95℃下变性5秒,ii)在62.8℃下退火10秒,以及iii)在72℃下最终延伸10分钟。使用与实施例1所述的相同的引物来检测mRNA的表达。

[0064] 结果,如图1及图2所示,可以确认由博来霉素而增加的肌肉生长抑制素的表达随着昆布多糖及岩藻依聚糖的处理而被减少。

[0065] 通过所述实施例的结果可以看出,草绿盐角草提取物中的昆布多糖及岩藻依聚糖成分可以抑制与肌肉质量调节相关的指示蛋白肌肉生长抑制素及MURF1的表达,由此有效地预防或治疗肌肉减少症。

[0066] 综上,通过有限的实施例及附图对实施例进行了说明,本领域的普通技术人员能够对上述记载进行多种修改与变形。例如,所说明的技术以与所说明的方法不同的顺序执行,和/ 或所说明的构成要素以与所说明的方法不同的形态结合或组合,或者,由其他构成要素或等同物进行替换或置换也能够获得相同的效果。

[0067] 由此,其他体现、其他实施例及权利要求范围的均等物全部属于专利权利要求的范围。

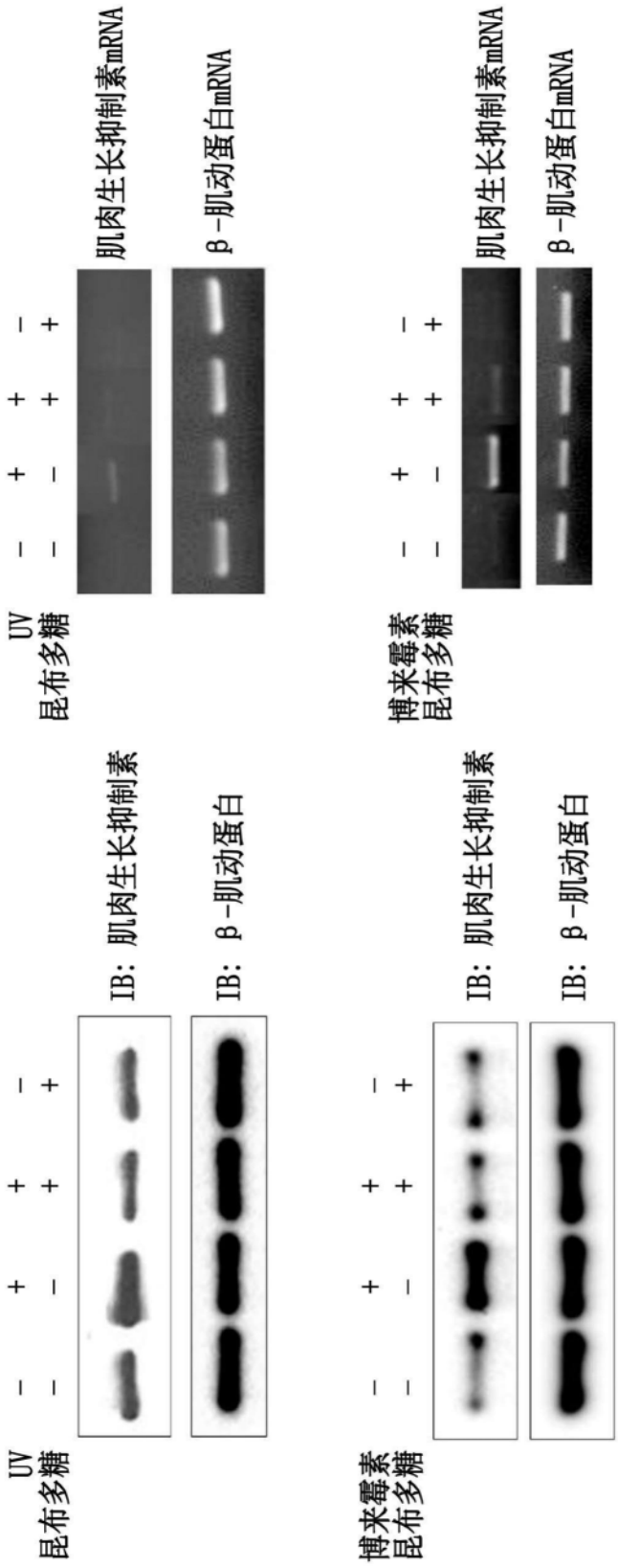

UV
昆布多糖
博来霉素
昆布多糖
肌肉生长抑制素mRNA
β-肌动蛋白mRNA
IB：肌肉生长抑制素
IB：β-肌动蛋白

图1

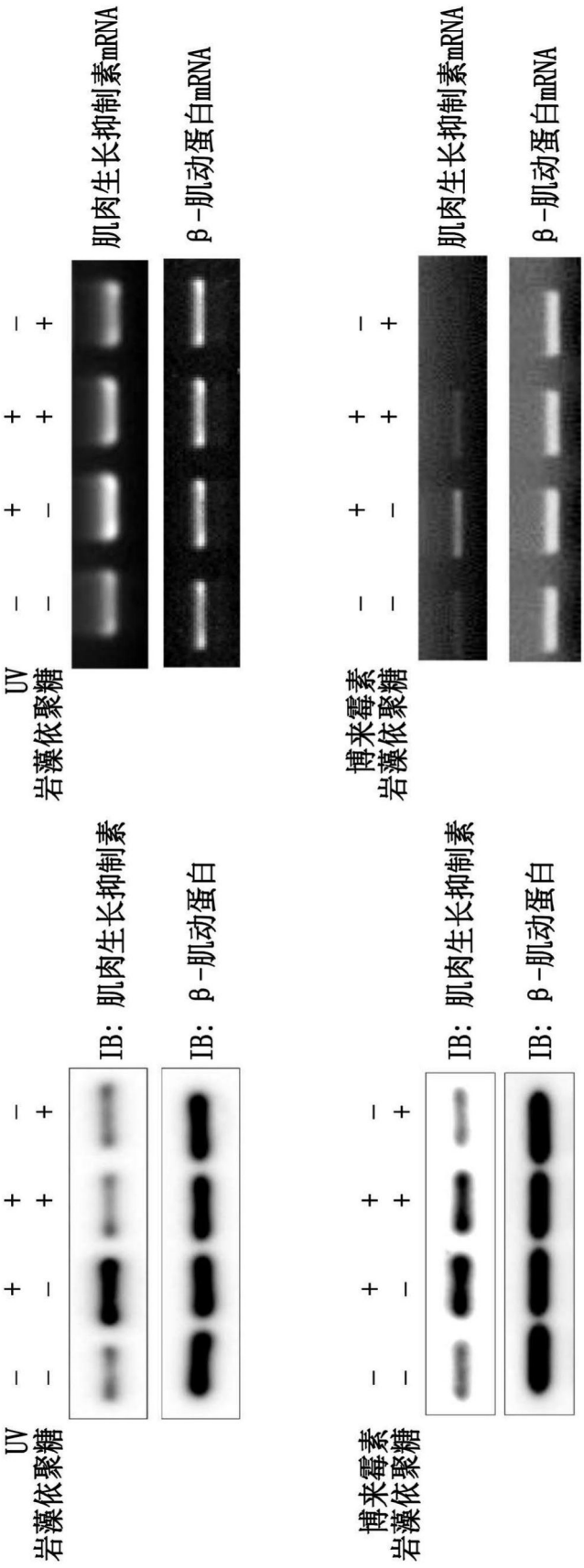

UV
岩藻依聚糖
博来霉素
岩藻依聚糖
肌肉生长抑制素mRNA
β-肌动蛋白mRNA
IB：肌肉生长抑制素
IB：β-肌动蛋白

图2

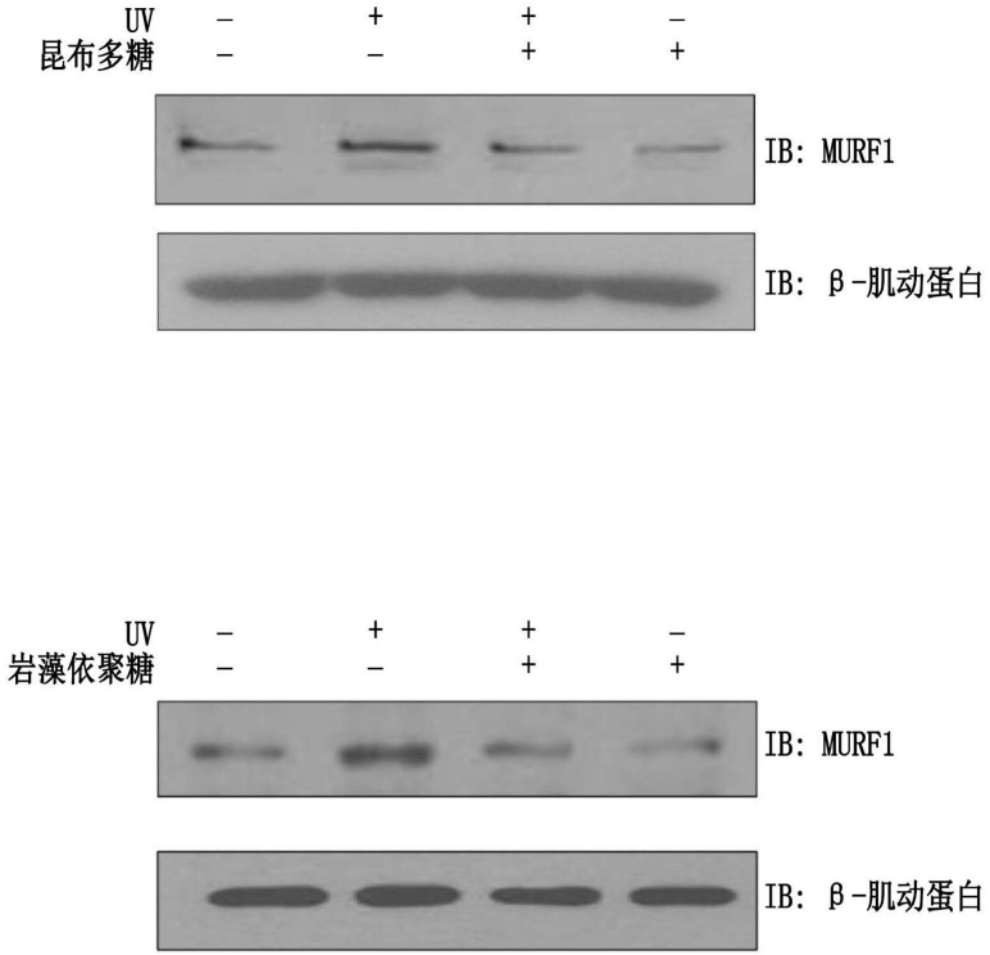


图3