



(21)申請案號：104113383

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 04 月 27 日

(51)Int. Cl. : A61K31/7048(2006.01)

A61P21/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/04/28 日本

2014-092855

(71)申請人：日商三得利控股股份有限公司(日本) SUNTORY HOLDINGS LIMITED (JP)
日本(72)發明人：大塚祐多 OTSUKA, YUTA (JP)；江川香 EGAWA, KAHORI (JP)；神崎範之
KANZAKI, NORIYUKI (JP)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

WO 2011108487A1

審查人員：官速貞

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：4 共 23 頁

(54)名稱

含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑

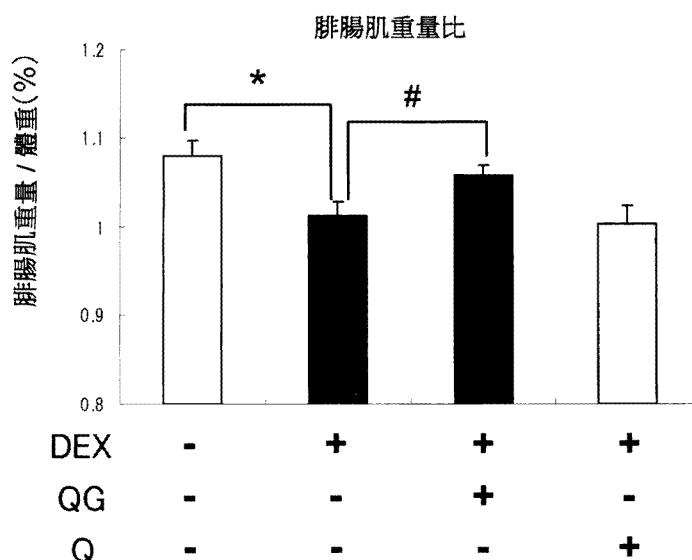
(57)摘要

本發明之目的係提供含有能夠安全地長期攝取的成分之新穎的筋萎縮抑制劑。

已發現屬於植物等中所包含之多酚的一種之槲皮素的配糖體係具有與筋萎縮相關之肌肉生長抑制素(myostatin)之表現抑制效果。本發明係提供體內吸收性優異，且安全性高的含有槲皮素配糖體之新穎的筋萎縮抑制劑。

指定代表圖：

圖 3



發明摘要

※申請案號：104113383

※申請日：104年04月27日

※IPC分類：

【發明名稱】(中文/英文)

含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑

【中文】

本發明之目的係提供含有能夠安全地長期攝取的成分之新穎的筋萎縮抑制劑。

已發現屬於植物等中所包含之多酚的一種之槲皮素的配糖體係具有與筋萎縮相關之肌肉生長抑制素(myostatin)之表現抑制效果。本發明係提供體內吸收性優異，且安全性高的含有槲皮素配糖體之新穎的筋萎縮抑制劑。

【英文】

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(3)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑

【技術領域】

本發明係關於含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑。

【先前技術】

日本正迎接超高齡社會，針對中高年者的社會參與或閒暇度過方式等已進行許多提案。另一方面，伴隨人口的高齡化而顯在化之運動器官障礙的問題，其對象數極多，此外，有重症例或合併複數疾患之例等，就迄今為止的思考方式之僅加以延長而言，係因應困難的新課題。特定而言，筋萎縮所引發之運動器官機能的降低係招致跌倒風險上升、骨折、長期臥床、進而筋萎縮及運動器官機能降低之惡性循環，成為運動器官不安定症或運動障礙症候群等主要的因素之一。再者，筋萎縮性運動器官機能障礙係提高代謝障礙或感染症之合併頻率等，不僅使生活品質(quality of life(QOL))，亦使原疾患之預後惡化，因而為在迎接超高齡化社會之際，所應解決之緊迫課題。目前，作為上述運動器官機能的降低之預防手段，除了復健等運動療法以外，已對營養學途徑進行研究，逐步發現可增強肌肉量之成分(參照專利文獻 1 及 2)。

已知筋萎縮係由各式各樣的要因所引起，特定而言，一般認為糖皮質激素水平的上升係與筋萎縮相關。屬於合成糖皮質激素的一種之地塞米松(dexamethasone)係在肌組織內中，使與肌肉分解相關之 Atrogin-1 及 MuRF-1 的表現上升，因而經糖皮質激素處理之培養肌小管細胞係泛用為筋萎縮模型。已知在肌組織中，地塞米松係在結合至糖皮質激素受體後，使具有糖皮質激素受體結合域之基因的表現亢進，再者，該基因表現係與肌蛋白的分解亢進或屬於肌前驅細胞之衛星細胞的分化抑制相關(參照非專利文獻 1)。此起因於地塞米松之代謝性變化係與在動物或人類之筋萎縮中所見到之變化類似，地塞米松誘發性筋萎縮模型係泛用於筋萎縮之機制分析。

此處，已知肌肉生長抑制素(以下，省略為 Mstn)係屬於形質轉換成長因子- β (TGF- β)家族，扮演負性控制肌肉的成長之角色(參照非專利文獻 2)。已有報告提出此 Mstn 係抑制衛星細胞的分化、經由 Akt 路徑及 Foxo1 的抑制而使肌肉分解亢進、進而經由 mTOR 路徑而抑制肌肉合成(參照非專利文獻 3)。此外，亦已知在 Mstn 缺損小鼠中，並未惹起地塞米松誘發性筋萎縮(參照非專利文獻 4)。已有報告提出 Mstn 係除了肌量增加以外，亦與脂肪組織的肥大化或心機能的惡化相關，在 Mstn 缺損小鼠中，相較於野生型小鼠而言，脂肪組織較小，此外，可減輕壓力負荷所引發之對心機能的負擔(參照非專利文獻 5)。截至目前為止，作為阻礙 Mstn 之組成物，已有報告提出紅茶萃

取物(參照專利文獻 3)。

屬於豐富地包含在植物中之多酚之一的槲皮素係以其原樣、或以配糖體(芸香苷、槲皮苷等)之形式，包含在柑橘類、洋蔥、蕎麥、槐樹等各種植物中。已知槲皮素或其配糖體係擁有血小板的凝集抑制及黏結抑制作用、血管擴張作用、抗癌作用等多樣的生理機能。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[專利文獻 1] 日本專利特開 2009-62346

[專利文獻 2] WO2011/108487A1

[專利文獻 3] 日本專利特開 2013-91608

[非專利文獻]

[非專利文獻 1] Yanjun, et al, PLoS One, 2013, 8(13), e58554

[非專利文獻 2] David, et al, Med Sci Sports Exerc, 2011, 43(10), 1828-1835

[非專利文獻 3] Elkina, et al, J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2011, 2, 143-151

[非專利文獻 4] H. Gilson, et al, Endocrinology, 2007, 148(1), 452-460

[非專利文獻 5] Mellisa, et al, Journal of Endocrinology, 2012, 213, 263-275

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

就筋萎縮抑制劑的開發而言，必須找出對於與肌肉分解促進及肌肉合成抑制相關之 Mstn 之阻礙成分。然而，目前，僅在紅茶萃提取物中報告提出 Mstn 阻礙作用(參照專利文獻 3)，而尚未有在源自天然物之單一成分中發現 Mstn 阻礙作用之例。本發明之目的係提供含有能夠安全地長期攝取的成分之新穎的筋萎縮抑制劑。

[解決課題之手段]

本發明者等人為了達成上述目的，係使用屬於合成糖皮質激素之地塞米松誘發性筋萎縮模型進行深入檢討，而發現屬於植物等中所包含之多酚的一種之槲皮素配糖體具有筋萎縮抑制效果。基因表現評估之結果，發現槲皮素配糖體係抑制與肌肉分解促進及肌肉合成抑制相關之 Mstn 的表現。再者，亦發現槲皮素配糖體係以 Mstn 之表現抑制為起點，而對肌肉分解路徑及肌肉合成路徑等之各因子進行作用，藉此便可抑制筋萎縮，遂完成本發明。

即，本發明係關於以下者。

- 1). 一種筋萎縮抑制劑，其係含有槲皮素配糖體。
- 2). 如 1)所記載之劑，其中，萎縮抑制係起因於 Mstn 之表現抑制。
- 3). 如 1)或 2)中任一項所記載之劑，其中，筋萎縮抑制係起因於選自 Atrogin-1、MuRF-1、Foxo1 及 Redd1 所組成群組之一種以上的基因之表現抑制。

4). 如 1)~3)中任一項所記載之劑，其係具有肌肉分解抑制作用。

5). 如 4)所記載之劑，其中，肌肉分解抑制作用係起因於選自 Atrogin-1、MuRF-1 及 Foxo1 所組成群組之一種以上的基因之表現抑制。

6). 如 1)~3)中任一項所記載之劑，其係具有肌肉合成促進作用。

7). 如 6)所記載之劑，其中，肌肉合成促進作用係起因於 Redd1 之表現抑制。

8). 如 1)~7)中任一項所記載之劑，其係使用於運動器官機能降低或運動器官障礙之預防或處置。

9). 如 1)~7)中任一項所記載之劑，其係使用於藥劑誘發性筋萎縮之預防或處置。

10). 一種組成物，其係包含 1)~9)中任一項所記載之劑。

[發明效果]

藉由本發明，便能夠將槲皮素配糖體利用於以筋萎縮抑制為目的之劑。利用本發明之筋萎縮抑制之達成係涉及提供有助於患病者或高齡者的 QOL 改善之新穎的手段。

此外，槲皮素配糖體係多酚化合物的一種，其具有血流改善作用或抗癌作用等各式各樣的生理活性。除此以外，由於係源自植物，故安全性極高。從而，本發明可提供亦可期待槲皮素配糖體之筋萎縮抑制作用以外之有用的

生理作用，且安全而能夠持續攝取之劑。

【圖式簡單說明】

圖 1 係顯示槲皮素配糖體(QG)所引發之地塞米松(DEX)誘發性筋萎縮之抑制效果。

圖 2 係顯示槲皮素配糖體(QG)所引發之 Mstn 及其下游基因表現之抑制效果。

圖 3 係顯示槲皮素配糖體(QG)及槲皮素(Q)之地塞米松(DEX)誘發性筋萎縮抑制效果之比較。

圖 4 係顯示槲皮素配糖體(QG)及槲皮素(Q)之 Mstn 的下游基因表現之抑制效果之比較。

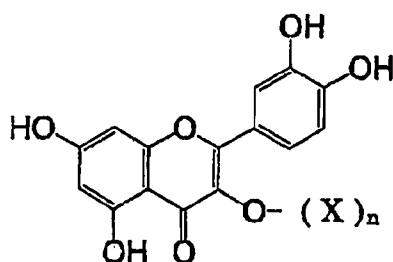
【實施方式】

本發明係關於含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑。

本發明之含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑係以槲皮素配糖體作為有效成分。

在本發明中，「槲皮素配糖體」係意味屬於多酚的一種之槲皮素的配糖體，其係以下式表示。

【化1】



(式中， $(X)_n$ 表示糖鏈， n 為 1 以上的整數)。

此處，構成糖苷鍵結至槲皮素之 X 所示之糖鏈之糖係例如為葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖醛酸等，較佳為葡萄糖、鼠李糖。此外，只要 n 為 1 以上，則無特別限制，較佳為 1~16，更佳為 1~8。 n 為 2 以上時， X 部分可由 1 種糖鏈所構成，亦可由複數糖鏈所構成。

本發明之槲皮素配糖體亦包含將既存的槲皮素配糖體以酵素等進行處理而使其進行糖轉移而成者。本發明中所謂的槲皮素配糖體，具體而言，係包含芸香苷、酵素處理芸香苷、槲皮苷、異槲皮苷。

在本發明中，可單獨使用包含在槲皮素配糖體中之一化合物，亦可混合使用複數化合物。本發明中所使用之槲皮素配糖體，針對其來源、製法，並無特別限制。舉例而言，作為多量包含槲皮素或槲皮素配糖體之植物，已知有蕎麥、槐樹、刺山柑、蘋果、茶、洋蔥、葡萄、青花菜、長蒴黃麻、樹莓、越橘、蔓越莓、仙人掌、葉菜類、柑橘類等，可由此等植物獲得槲皮素配糖體。用於本發明之槲皮素配糖體可使用將源自天然物之萃取物藉由濃縮、精製等操作而提高槲皮素配糖體者，例如，含有槲皮素配糖體之萃取物的濃縮物或精製物。濃縮方法或精製方法可使用既存者。

在本發明之特佳態樣中，作為槲皮素配糖體，係使用芸香苷之酵素處理物。酵素處理芸香苷之特佳例為將槲皮素配糖體進行酵素處理而去除鼠李糖糖鏈部分而成之異槲

皮苷、將異槲皮苷以糖轉移酵素進行處理而鍵結 1~7 個葡萄糖所構成之糖鏈而成者、及以其混合物作為主成分者。

槲皮素配糖體係糖鏈糖苷鍵結至槲皮素而成之化合物，具體而言，係 1 個以上的糖鏈糖苷鍵結至 3 位的羥基而成之一連串化合物的總稱。在槲皮素及槲皮素配糖體中，無論在化學構造上或在化學特性上皆大不相同。

在本說明書中，「糖皮質激素」係肌肉分解中之重要的因子，係指在骨骼肌中誘發泛素-蛋白酶體路徑依存性蛋白分解之腎上腺皮質激素之一。已清楚明白屬於合成糖皮質激素的一種之地塞米松係使在骨骼肌中與肌肉分解相關之 Atrogin-1 及 MuRF1 之表現上升(參照非專利文獻 1)。由地塞米松所造成之代謝性變化係與在動物或患者之筋萎縮中所見到之變化類似，地塞米松誘發性筋萎縮模型係泛用於筋萎縮之機制分析。

以下，針對本說明書中所記載之基因／蛋白質進行說明。

在本說明書中，「Akt 路徑」係指經由屬於與各式各樣的細胞機能的控制有關連之激酶之 Akt 之訊息路徑的總稱。Akt 活性係起因於營養或成長因子、運動等各式各樣的刺激而受到調節。經活化之 Akt 係經由 mTOR(哺乳動物的雷帕黴素之標的(mammalian target of rapamycin))，而活化與肌肉合成相關之 S6K(核糖體蛋白 S6 激酶(ribosomal protein S6 kinase))。此外，已知經活化之 Akt

係藉由阻礙促進肌肉分解之 Foxo1，而間接地抑制肌肉分解。

在本說明書中，「Mstn(肌肉生長抑制素(Myostatin))」係指屬於 TGF- β 超家族之蛋白質，其係作為肌抑制因子而在骨骼肌或心肌、脂肪組織中特異性地表現。Mstn 係在細胞內轉換成活化體，經由 Smad(小母親抗十五褶small mothers against decapentaplegic)之磷酸化／活化而抑制 Akt，藉此促進肌肉分解，且抑制肌肉合成。已有報告提出 Mstn 係抑制衛星細胞的分化、經由 Akt 路徑的抑制而促進肌肉分解、以及經由 mTOR 路徑而抑制肌肉合成(參照非專利文獻 3)。此外，已知在 Mstn 缺損小鼠中，並未惹起地塞米松誘發性筋萎縮(參照非專利文獻 4)。

在本說明書中，「Atrogin-1」及「MuRF1(肌肉環狀指蛋白-1(muscle RING-finger protein-1))」係皆指與屬於肌肉分解路徑之一的泛素-蛋白酶體系相關之泛素連接酶，已知係在骨骼肌或心肌中表現。

在本說明書中，「Foxo1」係指叉頭型轉錄因子(叉頭框蛋白 O1(Forkhead box protein O1))。Foxo1 係通常以經磷酸化之狀態局部存在於細胞質中，但隨著去磷酸化而移行至核內，並作為轉錄因子而發揮機能。一般認為 Foxo1 之表現增加係與筋萎縮共通，已知其與泛素-蛋白酶體系所引發之蛋白分解、自噬作用的亢進、進而蛋白合成的抑制等各式各樣的機序相關。

在本說明書中，「Redd1」係指發育及 DNA 損傷反應調節 1 (regulated in development and DNA damage response 1)。已知 Redd1 係在低氧條件下等誘導表現，抑制 mTOR 路徑，藉此抑制肌肉合成。

在本說明書中，「筋萎縮」係指因肌肉合成及肌肉分解的代謝更新傾向於分解，肌細胞係減少或縮小，肌量係降低。筋萎縮係大致區分成長期的安靜臥床或因骨折等所致之石膏固定、疾病、年齡增長等所引發者。從而，「筋萎縮抑制」係指抑制上述原因所引發之運動器官的機能降低或肌量的降低。

在本說明書中，「肌肉分解」係指藉由誘導與 Akt 路徑、組織蛋白酶系或泛素-蛋白酶體系、自噬作用系等有關連之基因的表現，而使肌纖維蛋白質的分解／異化亢進。更具體而言，係指與 Mstn 基因或屬於肌蛋白分解路徑之一的泛素-蛋白酶體系有關連之基因 (Atrogin-1、MuRF1 及 Foxo1 等) 之表現誘導所引發之肌纖維蛋白質分解的亢進。

在本說明書中，「肌肉合成」係指使肌纖維蛋白質的合成／同化亢進。更具體而言，係指藉由 Mstn 基因或 Redd1 基因之表現抑制，誘導屬於骨骼肌中之轉譯控制因子之激酶複合體 mTOR 的活化，而促進肌蛋白質合成。

本發明之槲皮素配糖體係抑制與肌肉合成以及肌肉分解等肌肉代謝有關連之因子 (Mstn、Atrogin-1、MuRF-1、Foxo1 及 Redd1) 的表現。具體而言，如後述之實施例 2 所

示，本發明之槲皮素配糖體係顯示出屬於骨骼肌形成抑制因子之 Mstn 之表現抑制作用(實施例 2)。此外，本發明之槲皮素配糖體係經由 Mstn 表現抑制所伴隨之 Akt 路徑的抑制，而抑制與肌肉分解有關之因子 Atrogin-1、MuRF-1 及 Foxo1 的表現，並抑制肌肉分解(實施例 2)。再者，隨著本發明之槲皮素配糖體所引發之 Mstn 表現抑制，抑制與肌肉合成相關之 mTOR 路徑之 Redd1 的表現會受到抑制，肌肉合成受到促進(實施例 1 及 2)。即，本發明係藉由抑制作為與所謂的肌肉合成及肌肉分解之肌肉代謝的一連串過程相關之訊息路徑的起點之 Mstn 的表現，而促進肌肉的肥大／再生，並能夠達成肌力的提升、肌量的調節／增加、筋萎縮的預防或抑制等。

此外，在筋萎縮模型中，利用槲皮素配糖體可認出之筋萎縮抑制效果及筋萎縮關連基因之表現抑制效果，利用槲皮素則無法認出(實施例 3)。從而，利用槲皮素配糖體，可獲得利用槲皮素所無法達成之優異效果。

本發明之筋萎縮抑制劑係使用於運動器官機能降低或運動器官障礙之預防或處置。舉例而言，係包含起因於長期的安靜臥床或因骨折等所致之石膏固定、疾病、年齡增長等之運動器官障礙或運動障礙症候群等之預防或處置，但不限定於此。該使用係人類或非人類動物中之使用，此外，可為治療性使用，亦可為非治療性使用。此處，「非治療性」係指不包含醫療行為，即經由治療之對人體的處理行為之概念。

本發明之筋萎縮抑制劑係使用於藥劑誘發性筋萎縮之預防或處置。舉例而言，係包含類固醇激素的長期攝取所引發之筋萎縮之預防或處置，但不限定於此。該使用係人類或非人類動物中之使用，此外，可為治療性使用，亦可為非治療性使用。

作為一例，本發明可以醫藥品等劑之形態進行提供，但不限定於本形態。

本發明之含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑亦可以包含該劑之組成物之形式進行提供。作為一例，可以醫藥組成物等之形態進行提供，但不限定於本形態。

此外，本發明亦可為作為寵物的餌進行加工而成之寵物食品或動物飼料等、以及動物用醫藥。

本發明之筋萎縮抑制劑(醫藥組成物等)中，雖取決於劑的總重量，但以槲皮素換算值計，可調配槲皮素配糖體 0.1 mg~8000 mg，較佳為 0.3 mg~4000 mg 左右的量。劑中之槲皮素配糖體的總調配比例可為相對於劑總重量而言，較佳為 0.001~95 重量%，更佳為 0.01~80 重量%左右。

在以動物為對象進行投予之情況(相對於小鼠每 1 個體約 20 g)，作為槲皮素配糖體的總調配量，可設成以槲皮素換算值計可攝取 0.1 mg~16 mg，較佳為 0.3 mg~4 mg 左右的量。特定而言，在以人類(成人)為對象進行投予之情況，作為槲皮素配糖體的總調配量，可設成以槲皮素換算值計可攝取 0.1 mg~8000 mg，較佳為 0.3 mg~

4000 mg 左右的量。

槲皮素配糖體對本發明之組成物之調配量可以酵素處理芸香苷的攝取量成為每一個體 1 日 0.1~20 g，較佳為 0.3~10 g 作為目標而加以決定。此外，每 1 kg 體重的攝取量可設為例如 0.002~400 mg/kg，更佳為 0.006~200 mg/kg。或者，可設為相對於組成物整體而言為 0.001~95 重量%，較佳為 0.01~80 重量%。

在將本發明之筋萎縮抑制劑用作醫藥等之情況，其投予形態可為經口投予，亦可為以注射劑等之形態進行投予，作為適於各投予之製劑，只要適宜使用公知者即可。舉例而言，適於經口投予之製劑中，係包含錠劑、膠囊劑、散劑、顆粒劑、溶液劑、懸浮液劑、糖漿劑等，但不限定於此。

本發明之劑係配合其形態，除了槲皮素配糖體以外，尚可含有任意的添加劑、通常用於劑中之任意的成分。作為此等添加劑及／或成分之例，可列舉維生素 E、維生素 C 等維生素類、礦物質類、營養成分、香料等生理活性成分，除此以外，在製劑化中所調配之賦形劑、黏合劑、乳化劑、張力劑(等張化劑)、緩衝劑、溶解輔助劑、防腐劑、安定化劑、抗氧化劑、著色劑、凝固劑、被覆劑等。

[實施例]

以下，藉由實施例進一步詳細說明本發明，但本發明之範圍不受此所限定。熟習該項技術者能夠對本發明之方

法進行各種變更、修飾而使用，此等亦包含在本發明之範圍中。

[實施例 1：槲皮素配糖體所引發之地塞米松誘發性筋萎縮之抑制效果]

由清水實驗材料股份有限公司購入 BALB/c 系雄性小鼠(7 週齡)，在試驗環境下使其馴化 1 週後，於馴化期間終止日測定體重，在試驗中提供此期間屆滿並顯示順利發育之動物。飼料係使用日本 Clare 公司製之 CE-2(固形)，整個試驗期間使其自由攝餌。飲用水在馴化期間中係使其自由攝取自來水。另外，小鼠係設為每 1 籠 4~5 隻，籠係 1 週更換 2 次。

馴化期間終止後歷經 7 日，經 4.5 g/L 槲皮素配糖體以及自來水(對照組)之飲水投予後，施行 7 日之地塞米松及槲皮素配糖體併用飲水投予試驗。地塞米松係以 10 mg/L 溶解於自來水中，另一方面，槲皮素配糖體係以 1.5 g/L 及 4.5 g/L 之不同的濃度溶解於自來水中。試驗係分成對照(自來水投予)組、地塞米松投予組、地塞米松及 1.5 g/L 槲皮素配糖體併用投予組、以及地塞米松及 4.5 g/L 槲皮素配糖體併用投予組之 4 個組而施行。投予試驗終止後，使小鼠藉由頸椎脫臼而安樂死後，摘下腓腸肌的組織並測定重量，使用腓腸肌重量除以體重所得之值施行筋萎縮之評估。另外，所獲得之數值係以平均值±標準誤差表示。腓腸肌重量比之對照組與地塞米松投予組的平均值之

差係使用 Student 之 t-檢定 (Student's t-test) 進行檢定，地塞米松投予組、與地塞米松及 1.5 g/L 槲皮素配糖體併用投予組以及 4.5 g/L 槲皮素配糖體併用投予組的平均值之差係使用利用 Dunnett 法之多重比較檢定 (Dunnett's test) 進行檢定。

將結果示於圖 1。在本試驗中，相較於對照組而言，腓腸肌重量比係藉由地塞米松飲水投予而顯著地降低 (圖 1)。另一方面，相對於地塞米松飲水投予組而言，藉由併用飲水投予地塞米松及槲皮素配糖體，腓腸肌重量比係以槲皮素配糖體濃度依存性的方式顯著地增加 (圖 1)。本結果係顯示槲皮素配糖體係對地塞米松誘發性筋萎縮發揮筋萎縮抑制效果。

[實施例 2：槲皮素配糖體所引發之 Mstn 及其下游基因表現之抑制效果]

使 7 週齡的 BALB/c 系雄性小鼠馴化 1 週後，使其自由攝取飲用 4.5 g/L 槲皮素配糖體以及自來水 (對照組) 1 週。1 週後，將 10 mg/L 的地塞米松與 4.5 g/L 的槲皮素配糖體進行混合而使其自由攝取飲用，在攝取飲用後 1、3、7 日後進行解剖，採取左右的腓腸肌。腓腸肌係在以液態氮予以瞬間冷卻後，保存於 -80 度的冷凍庫中，直至分析時為止。

然後，為了分析詳細的分子機制，係施行在腓腹肌組織內與筋萎縮有關之基因表現的分析。由經凍結保存之腓

腸肌，使用 ISOGEN(Nippon Gene 股份有限公司)以及 RNeasy Mini Kit(QIAGEN)萃取 RNA。使用 High-Capacity cDNA Reverse Transcriptional Kits(Applied biosystems)施行 cDNA 合成。由所作成之 cDNA 利用使用 TaqMan Fast Universal PCR master mix(Applied biosystems)之定量反轉錄 PCR 法，測定與筋萎縮有關之基因(Atrogin-1、MuRF-1、Foxo1、Redd1、Mstn)及修正基因(18SrRNA)之訊息 RNA(mRNA)量。另外，所獲得之數值係以平均值±標準誤差表示。基因表現量之地塞米松投予組與地塞米松及槲皮素配糖體併用投予組的平均值之差係使用 Student 之 t-檢定進行檢定，將 5%以下定為顯著。

將結果示於圖 2。基因表現評估之結果，在將地塞米松及槲皮素配糖體之併用飲水投予期間設定為 1 日之試驗中，相較於地塞米松飲水投予組而言，在地塞米松及槲皮素配糖體併用飲水投予組中，可認出 Foxo1 之 mRNA 量的減少傾向、以及 Atrogin-1、MuRF-1 及 Redd1 之 mRNA 量的顯著減少(圖 2)。再者，Mstn 之 mRNA 量係藉由地塞米松及槲皮素配糖體之併用飲水投予而完全降低至對照組水平(圖 2)。

在本試驗中，係顯示槲皮素配糖體係抑制 Mstn 基因的表現，進而作用於其下游所存在之與肌肉的分化、合成、分解相關之因子，其結果，筋萎縮係受到抑制。

[實施例 3：槲皮素配糖體與槲皮素之地塞米松誘發性筋萎

縮抑制效果之比較]

使 7 週齡的 BALB/c 系雄性小鼠馴化 1 週後，使其自由攝取飲用 10 mg/L 的地塞米松而進行飲水投予。另一方面，將 200 mg/kg 的槲皮素配糖體以及與經芸香苷換算之槲皮素配糖體等量的槲皮素懸浮於包含 0.5% 的羧甲基纖維素鈉鹽 (carboxymethyl cellulose sodium salt) 之 milliQ 水中，強制經口投予直至 5 日 (星期一至星期五)。此外，自星期五開始進行 10 mg/L 的地塞米松之飲水投予。自其下一週再度將槲皮素配糖體以及槲皮素之強制經口投予 (星期一至星期四) 與地塞米松之飲水投予並行施行，在星期五進行解剖。投予試驗終止後之試料回收、利用腓腸肌重量比之筋萎縮之評估以及在腓腹肌組織之基因表現量的測定係以實施例 1 及 2 為基準而施行。基因表現量之地塞米松投予組與地塞米松及槲皮素配糖體併用投予組以及槲皮素併用投予組的平均值之差係使用 Dunnett's test 進行檢定，將 5% 以下定為顯著。

將結果示於圖 3 及圖 4。強制經口投予試驗之結果，藉由地塞米松投予而相較於對照組而言顯著地降低之腓腸肌重量比，係藉由槲皮素配糖體之強制經口投予而顯著地增加 (圖 3)。另一方面，在槲皮素之強制經口投予中，則無法認出藉由地塞米松投予而降低之腓腸肌重量比的改善效果 (圖 3)。基因表現評估之結果，藉由地塞米松飲水投予而增大之筋萎縮關連基因 MuRF-1、Foxo1 及 Redd1，係藉由槲皮素配糖體之強制經口投予而顯著地降低 (圖

4)。另一方面，在槲皮素之強制經口投予中，則無法認出藉由地塞米松投予而增大之筋萎縮關連基因之表現抑制效果(圖 4)。本結果係顯示利用槲皮素配糖體，可獲得在槲皮素中無法認出之筋萎縮抑制效果。

[產業上之可利用性]

本發明之筋萎縮抑制劑係藉由含有體內吸收性優異的槲皮素配糖體，而可以低服用量／低攝取量發揮所期待之生理活性。此外，由於槲皮素配糖體係源自植物之成分，故安全性極高，服用／攝取所伴隨之無法預期的有害現象的表現可能性較低。從而，本發明之含有槲皮素配糖體之筋萎縮抑制劑可以低用量且安全地達成優異的筋萎縮抑制效果，故而作為用於起因於筋萎縮等之運動器官障礙之預防及處置之新穎的手段，產業上之可利用性高。

申請專利範圍

1.一種酵素處理芸香苷之用途，該酵素處理芸香苷係將異槲皮苷以糖轉移酵素進行處理而鍵結 1~7 個葡萄糖所構成之糖鏈而成，其係使用於製造起因於抑制 Mstn 之表現的筋萎縮抑制之醫藥。

2.一種酵素處理芸香苷之用途，該酵素處理芸香苷係將異槲皮苷以糖轉移酵素進行處理而鍵結 1~7 個葡萄糖所構成之糖鏈而成，其係使用於製造起因於抑制選自 Atrogin-1、Foxo1 及 Redd1 所組成群組之一種以上的基因之表現的筋萎縮抑制之醫藥。

3.如請求項 2 之用途，其係使用於製造起因於抑制選自 Atrogin-1 及 Foxo1 所組成群組之一種以上的基因之表現的筋萎縮抑制之醫藥。

4.如請求項 1 之用途，其中該筋萎縮抑制之醫藥係使用於運動器官機能降低或運動器官障礙之預防或處置。

5.如請求項 1 之用途，其中該筋萎縮抑制之醫藥係使用於藥劑誘發性肌肉萎縮之預防或處置。

6.如請求項 1 之用途，其中該筋萎縮抑制之醫藥係作為飲食品來提供。

7.如請求項 2 之用途，其中該筋萎縮抑制之醫藥係作為飲食品來提供。

圖式

圖 1

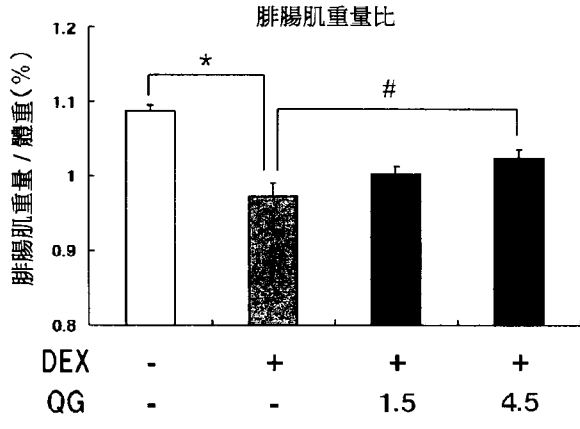


圖 2

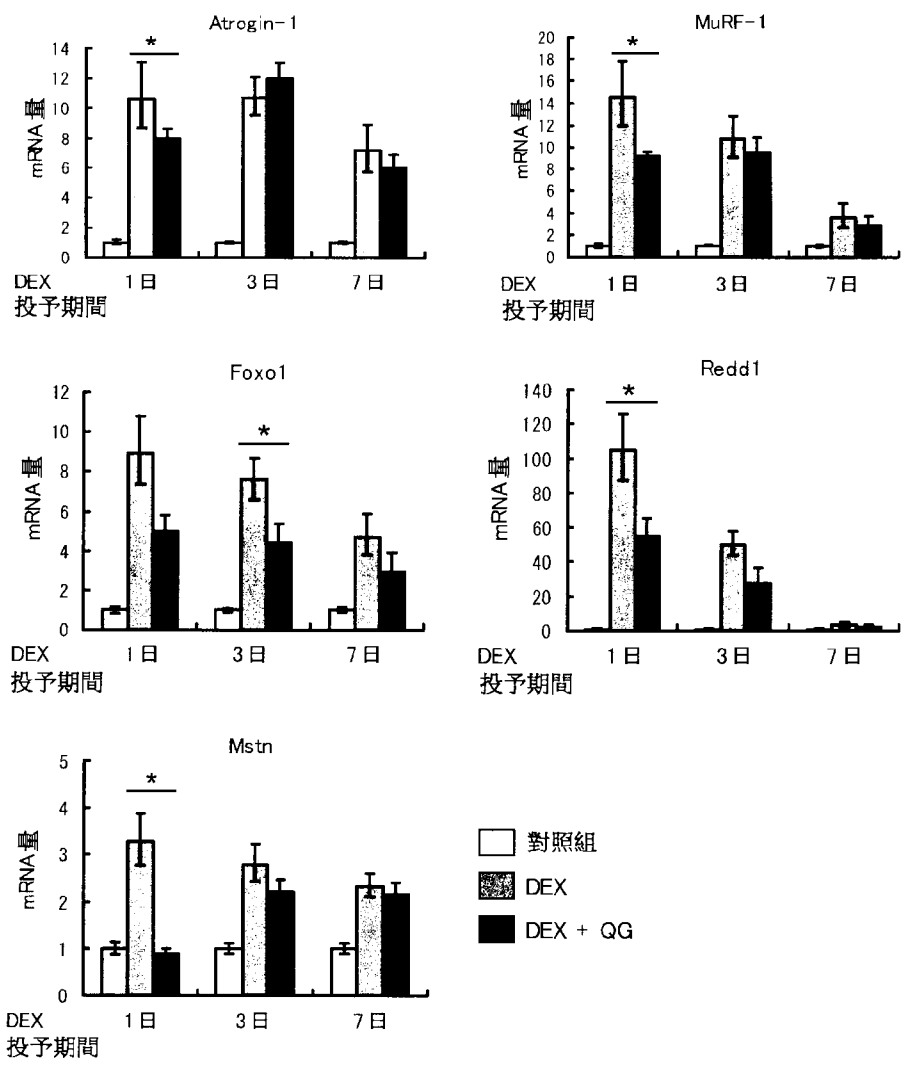


圖 3

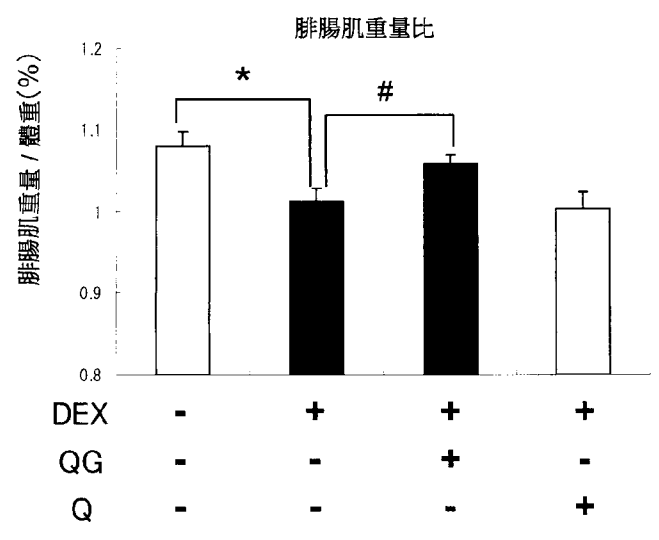


圖 4

