(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119095594 A
(43)申请公布日 2024.12.06

(21)申请号 202380035793.8
(22)申请日 2023.05.16
(30)优先权数据
22173753.9 2022.05.17 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.10.23
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2023/063138 2023.05.16
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/222703 EN 2023.11.23
(71)申请人 雀巢产品有限公司
地址 瑞士
(72)发明人 U·德马奇 J·菲格
M·N·奥卡亚达
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 张建 黄革生
(51)Int.Cl.
A61K 31/366(2006.01)
A61P 3/14(2006.01)
A61P 21/04(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61K 31/7004(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 19/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书12页 附图4页

(54)发明名称

用于软骨退化的使用漆黄素和槲皮素的组合的组合物和方法

(57)摘要

本发明涉及包含有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合的组合物用于维持个体的关节健康或预防或治疗个体的关节障碍的用途。具体地讲,本发明涉及包含有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合的组合物,该组合物用于预防或治疗个体的软骨退化。

CN 119095594 A

1.组合物,所述组合物包含有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合,所述组合物用于预防或治疗个体的软骨退化。

2.根据权利要求1用于所述用途的组合物,其中所述漆黄素的衍生物选自其葡糖醛酸化形式、其硫酸化形式、其衍生物及其混合物,优选gerardol。

3.根据权利要求1或2用于所述用途的组合物,其中所述槲皮素的衍生物选自槲皮素3-O-半乳糖苷、槲皮素3-O-葡糖苷(izoquercetin)、槲皮素3-O-木糖苷、槲皮素3-O-鼠李糖苷(栎素)、槲皮素3-O-葡糖苷酸、槲皮素7-O-葡糖苷、槲皮素3-O-二葡糖苷、槲皮素3,4′-二葡糖苷、槲皮素3-O-鼠李糖苷-7O-葡糖苷、槲皮素3-O-芸香糖苷(芸香苷)、槲皮素3-O-6”-乙酰基葡糖苷、槲皮素3-甲醚、槲皮素3,3′-二甲醚、异鼠李素及其混合物。

4.根据权利要求1至3中任一项用于所述用途的组合物,所述组合物还包含钙。

5.根据权利要求1至4中任一项用于所述用途的组合物,其中所述组合物还包含至少一种选自以下的化合物:抗氧化剂、抗炎化合物、糖胺聚糖、益生元、纤维、益生菌、脂肪酸、酶、矿物质、微量元素和/或维生素。

6.根据权利要求1至5中任一项用于所述用途的组合物,其中所述组合物选自食物组合物、膳食补充剂、营养组合物、口服营养补充剂、医疗食品、营养品、饮料、在食用前在水或乳中重构的粉末状营养产品、食品添加剂、特殊医疗用途食品(FSMP)、药物、饮品、宠物食品及其组合。

7.根据权利要求1至6中任一项用于所述用途的组合物,其中所述组合物呈固体粉末、粉末状棒、胶囊或溶液的形式。

8.根据权利要求1至7中任一项用于所述用途的组合物,其中所述用途用于i)维持或改善衰老期间的关节功能,包括软骨功能,ii)减轻关节疼痛,包括炎性疼痛和/或伤害感受性疼痛。

9.根据权利要求1至8中任一项用于所述用途的组合物,其中所述用途是改善所述个体的活动性和/或运动性。

10.根据前述权利要求中任一项用于所述用途的组合物,其中所述用途是抑制或减少骨关节炎中的软骨退化。

11.根据前述权利要求中任一项用于所述用途的组合物,其中所述个体为中老年、老年人。

12.制造根据前述权利要求中任一项用于所述用途的营养组合物的方法,所述方法包括以下步骤:提供用于营养组合物的一种或多种成分,漆黄素或其衍生物和槲皮素和/或衍生物以及任选的另外的钙,以及混合。

13.药盒,所述药盒包含漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合在一个或多个容器中的组合。

14.根据权利要求13所述的药盒,其中所述一个或多个容器包含至少一个第一容器,所述至少一个第一容器储存与所述槲皮素和/或衍生物分开的所述漆黄素和/或衍生物,所述槲皮素和/或衍生物储存在至少一个第二容器中,并且所述药盒还包含用于将所述漆黄素与所述槲皮素混合成单位剂型的说明书。

15.根据权利要求13或14所述的药盒,其中所述一个或多个容器各自包含所述漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合的单位剂型。

用于软骨退化的使用漆黄素和槲皮素的组合的组合物和方法

技术领域

[0001] 本发明涉及关节健康,并且具体地涉及包含漆黄素(fisetin)和/或其衍生物与槲皮素和/或其代谢物的组合的组合物用于预防或治疗关节障碍或维持关节健康的用途。

背景技术

[0002] 骨关节炎(OA)是一种具有重要社会经济影响的高流行性疾病。其是关节的关节软骨的退化性疾病,并且是关节炎的最常见形式,影响10%的成人群体。OA是全世界老年人残疾和卫生保健花费的主要原因。关节软骨的渐进退化和损失是主要的病状特征,伴随着其它关节结构的改变,诸如滑膜增生、软骨下骨的硬化和增厚、关节边缘的骨赘形成、韧带松弛和肌肉萎缩,所有这些都导致了OA的临床症状。这些症状包括剧烈的疼痛、僵硬、关节运动损失和残疾。因为关节软骨仅依赖于其固有细胞(软骨细胞)来维持细胞外基质,所以软骨细胞功能和生存受到损害将导致关节软骨的衰竭。

[0003] 最近的离体研究已经报道了人OA软骨细胞中的线粒体功能障碍,并且这些细胞中线粒体电子传输链活性的分析示出与正常软骨细胞相比,复合物I、II和III的活性降低,并且ATP产生降低。这种线粒体功能障碍可影响与软骨退化有关的几种途径,包括氧化应激、软骨细胞生物合成和生长反应缺陷、细胞因子诱导的软骨细胞炎症和基质分解代谢增加、软骨基质钙化和软骨细胞凋亡增加(Blanco等人,“The role of mitochondria in osteoarthritis”Nat.Rev.Rheumatol.7,161-169(2011)。

[0004] 线粒体是哺乳动物细胞中有氧能量产生的主要来源,并且还在它们的内膜上维持大Ca2+梯度,从而为该分子提供信号电势。此外,线粒体Ca2+在线粒体中起到ATP生成的调节方面的作用,并且潜在地有助于细胞代谢稳态的协调。(Glancy,B.和R.S.Balaban(2012年),“Role ofmitochondrial Ca2+in the regulation of cellular energetics”,Biochemistry,51(14):2959-2973)。

[0005] 尽管患有OA的个体增加,但是仍然没有治愈方法,并且目前的医学疗法仍然仅仅是保守疗法,关注于缓解症状。例如,使用止痛药(诸如对乙酰氨基酚)和非甾体抗炎药物(NSAID)治疗疼痛和炎症。此外,这些药物的使用通常与副作用诸如胃肠或心血管风险相关联。因为目前对OA的治疗不能预防或治愈OA,所以软骨细胞凋亡将是调节软骨退化的有效靶点。

发明内容

[0006] 本发明人已经令人惊讶地展示出,漆黄素和槲皮素的组合经由线粒体钙升高在细胞水平上协同地激活线粒体功能。

[0007] 因此,本发明的一个目的涉及提供用于改善关节健康的组合物。具体地讲,本发明的一个目的是提供通过预防或治疗软骨退化来改善关节健康的组合物,并解决现有技术中关于副作用(诸如胃肠和/或心血管风险)的上述问题。

[0008] 因此,本发明的一个方面涉及包含有效量的漆黄素和/或其代谢物与槲皮素和/或

其衍生物的组合的组合物,该组合物用于预防或治疗个体的软骨退化。

[0009] 本发明的另一个方面涉及一种制造根据本发明的用途的组合物的方法。

[0010] 在最后一个方面,本发明涉及一种药盒,该药盒包含在一个或多个容器中的有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或其衍生物的组合。

[0011] 另外的特征和优点在本文中有所描述,并且将从以下附图和具体实施方式中显而易见。

附图说明

[0012] 图1表示漆黄素(A)和槲皮素(B)的化学结构

[0013] 图2是示出在海拉细胞中在通过线粒体Ca2+升高的线粒体活化方面,漆黄素与槲皮素的组合的效应大于漆黄素或槲皮素单独的效应的图。柱状图示出了漆黄素(3μM,黑色)、槲皮素(3μM,灰色)和3μM漆黄素+3μM槲皮素的组合对由100μM组胺诱发的整合线粒体钙升高的效应。结果表示为来自n=6个实验的平均值+/-SEM。*指示线粒体钙中的测量值相对于理论差异的统计学显著差异,P<0.05(单因素方差分析检验)。

[0014] 图3是示出在海拉细胞中漆黄素与槲皮素协同作用以通过线粒体Ca2+升高激活线粒体的图。为了定量槲皮素和漆黄素的组合对线粒体活化的协同效应,将预期的理论效应(漆黄素效应和槲皮素效应的总和,从图2的数据中提取)与该组合(漆黄素+槲皮素,从图2的数据中提取)的实际测量效应进行比较。结果表示为来自n=6个实验的平均值+/-SEM。*指示线粒体钙中的测得值相对于理论差异的统计意义上的显著差异,P<0.05(学生t检验)。

[0015] 图4是示出在模拟骨关节炎的软骨细胞(SW1 353细胞,用白细胞介素-1β处理)的模型中,槲皮素与漆黄素协同作用以通过线粒体Ca2+升高激活线粒体的图。插图示出了槲皮素(1μM,灰色)、漆黄素(10μM,黑色)和1mM槲皮素+10μM漆黄素的组合对由5mM咖啡因诱发的整合线粒体钙升高的效应。插图中的数据是来自3次独立实验的n==9个细胞平行测定的平均值+/-SEM。在插图中,*表示在P<0.05(单因素ANOVA检验)下,槲皮素+漆黄素的组合与任何其它指示条件的统计学显著差异。插图中的数据用于在主图中确定组合(槲皮素+漆黄素)的预期的理论效应(槲皮素效应和漆黄素效应的总和)和实际测量效应。AUC,曲线下面积。结果表示为对于每个条件,来自3次独立实验的n=9个细胞平行测定的平均值+/-SEM。*指示线粒体钙中的测得值相对于理论差异的统计意义上的显著差异,P<0.05(学生t检验)。

[0016] 图5示出在模拟骨关节炎的软骨细胞模型中槲皮素与漆黄素的几种组合通过线粒体Ca^{2+}升高协同激活线粒体的图,如图4所述(SW1353细胞,用白细胞介素-1β处理)。槲皮素和漆黄素的相应量显示在每个图(A、B、C)的上部中。A)3μM槲皮素+3μM漆黄素;B)3μM槲皮素+10mM漆黄素;C)10μM槲皮素+3μM漆黄素。如图1所述,测量该组合(槲皮素+漆黄素)的预期理论效应(槲皮素效应和漆黄素效应的总和)和实际测量效应,并且在此将它们进行比较以推断协同作用。AUC,曲线下面积。结果表示为对于每个条件,来自3次独立实验的n==9个细胞平行测定的平均值+/-SEM。*指示线粒体钙中的测得值相对于理论差异的统计意义上的显著差异,P<0.05(学生t检验)。

具体实施方式

[0017] 定义

[0018] 在进一步详细讨论本发明之前,首先定义下列术语和惯例。

[0019] 在本发明的上下文中,提及的百分比为重量/重量百分比,除非另行指出。

[0020] 在“X和/或Y”上下文中使用的术语“和/或”应解释为“X”或“Y”,或者“X和Y”。

[0021] 本文所用的数值范围旨在包括该范围内包含的每个数值和数值子集,无论是否具体公开。另外,这些数值范围应理解为对涉及该范围内任何数值或数值子集的权利要求提供支持。例如,1至10的公开应理解为支持1至8、3至7、4至9、3.6至4.6、3.5至9.9等的范围。

[0022] 术语“预防”是指将本文所公开的组合物施用于没有显示该病症的任何症状的受试者以降低或预防与该病症相关的至少一种症状的发展。此外,“预防”包括减少病症或障碍的风险、发生率和/或严重程度。

[0023] 如本文所用,“有效量”是在个体中治疗或预防缺陷、治疗或预防疾病或医学病症的量,或更一般地说,是减少症状、管理疾病进展或向个体提供营养、生理或医学益处的量。

[0024] “动物”包括但不限于哺乳动物,其包括但不限于啮齿动物;水生哺乳动物;家畜,诸如狗、猫和其它宠物;农场动物,诸如绵羊、猪、牛和马;和人。在使用“动物”、“哺乳动物”或其复数形式时,这些术语还适用于能够具有通过段落上下文表现出的或意欲表现出的效应的任何动物,例如受益于改善的线粒体钙输入的动物。虽然本文中常用术语“个体”或“受试者”来指人,但本公开并非限制于此。因此,术语“个体”或“受试者”是指可受益于本文所公开的方法和组合物的任何动物、哺乳动物或人类。

[0025] 术语“宠物”意指可得益于或享用本公开所提供组合物的任何动物。例如,宠物可以是鸟类动物、牛科动物、犬科动物、马类动物、猫科动物、山羊类动物、狼类动物、鼠科动物、绵羊类动物或猪类动物,但宠物也可以是任何合适的动物。术语“伴侣动物”意指狗或猫。

[0026] “受试者”或“个体”是哺乳动物,优选人。在人类的情况下,术语“老年”是指自出生起的年龄为至少60岁,优选63岁以上,更优选65岁以上,并且最优选70岁以上。在人的上下文中,术语“中老年”是指自出生起年龄为至少45岁,优选50岁以上,更优选55岁以上,并且包括老年个体。在人的上下文中,术语“中老年”是指自出生起年龄为至少45岁,优选50岁以上,更优选55岁以上,并且包括老年个体。

[0027] “口服营养补充剂”或“ONS”是包含至少一种宏量营养素和/或至少一种微量营养素的组合物,例如无菌液体、半固体或粉末的形式,并且旨在补充其它营养摄入量,诸如来自食物的营养摄入量。可商购获得的ONS产品的非限制性示例包括MERITENE®、BOOST®、NUTREN®和SUSTAGEN®。在一些实施方案中,ONS可以是可在不进一步添加液体的情况下食用的液体形式的饮料,例如为一份组合物的一定量液体。

[0028] “药盒”是指该药盒的多个组件在一个或多个容器中物理上相关联,或与一个或多个容器物理上相关联,而且被视作制造、分装、销售或使用的单元。容器包括但不限于袋、盒、纸盒、瓶、外包装、收缩包装、附连部件(例如,装订部件、粘附部件等),任何类型、任何设计或任何材料的包装或其组合。

[0029] 本发明提及的所有单数特征或限定应该包括对应的复数特征或限定,反之亦然,

除非提及这些内容的语境中另外指明或明确暗示与此相反。

[0030] 除非另有定义,本文所用的所有技术和科学术语的含义与本领域的技术人员通常所理解的含义相同。

[0031] 使用的组合物

[0032] 关节疾病可伴有或大或小程度的炎症。在一些疾病中,炎症是最重要的组成,诸如在类风湿性关节炎(RA)中。在其它疾病中,诸如例如OA,炎症看起来不那么显著。然而,这两种疾病都具有分解代谢组分,其中关节软骨被分解。

[0033] 本发明人已示出,提供漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合协同地改善了例如在骨关节炎中改变的线粒体功能。

[0034] 因此,本发明在第一方面涉及包含有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或其衍生物的组合的组合物,该组合物用于改善关节健康,例如预防或治疗个体的软骨退化。

[0035] 在另一种方式中,本发明的这一方面可以描述为有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或其衍生物的组合在制造用于预防或治疗个体的软骨退化的药物中的用途。

[0036] 用于预防或治疗软骨退化的用途与用于抑制或减少软骨退化的用途同义。

[0037] 因此,本发明的实施方案包括一种组合物,该组合物包含有效量的漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或其衍生物的组合,该组合物用于预防或治疗软骨退化。

[0038] 本发明的另外的实施方案包括根据本发明的用途的组合物,其中该组合物还包含钙。

[0039] 成分-主要生物活性化合物

[0040] 漆黄素和槲皮素是根据本发明的主要生物活性分子。

[0041] 漆黄素(7,3′,4′-黄酮-3-醇)(见图1)是在许多植物中发现的多元酚,其中它用作黄色/赭石着色剂。它也存在于许多水果和蔬菜中,诸如草莓、苹果、柿、葡萄、洋葱和黄瓜。

[0042] 在一个实施方案中,漆黄素的至少一部分是通过已知手段获得的,例如通过从漆黄素的植物/蔬菜/水果来源提取。附加地或另选地,漆黄素和/或其衍生物的至少一部分可通过化学合成获得。

[0043] 漆黄素的合适衍生物的非限制性示例包括其葡糖醛酸化形式、其硫酸化形式、其衍生物及其混合物。在一个优选的实施方案中,衍生物是gerardol。

[0044] 槲皮素是在柑橘类水果、荞麦和洋葱中发现的一定数量的其它类黄酮糖苷的苷元形式,诸如芸香苷(rutin)和栎素(quercitrin)。槲皮素分别来自糖苷栎素和芸香苷连同鼠李糖和芸香糖。

[0045] 类似地,番石榴甙是3-O-阿拉伯糖苷,金丝桃苷是3-O-半乳糖苷,异槲皮素是3-O-葡糖苷,并且绣线菊甙是4'-O-葡糖苷。Miquelianin是槲皮素3-O-β-D-葡醛内酯吡喃糖苷(quercetin 3-O-β-D-glucuronopyranoside)。

[0046] 在一个优选的实施方案中,槲皮素的衍生物可选自槲皮素3-O-半乳糖苷、槲皮素3-O-葡糖苷(izoquercetin)、槲皮素3-O-木糖苷、槲皮素3-O-鼠李糖苷(栎素)、槲皮素3-O-葡糖苷酸、槲皮素7-O-葡糖苷、槲皮素3-O-二葡糖苷、槲皮素3,4′-二葡糖苷、槲皮素3-O-鼠李糖苷-70-葡糖苷、槲皮素3-O-芸香糖苷(芸香苷)、槲皮素3-O-6″-乙酰基葡糖苷、槲皮素3-甲醚、槲皮素3,3′-二甲醚、异鼠李素及其混合物。

[0047] 槲皮素可来自任何合适的来源,并且可分离和/或化学合成。

[0048] 在一个优选的实施方案中,漆黄素和槲皮素和衍生物从植物来源中获得。例如,漆黄素可以从草莓、苹果、柿、葡萄、洋葱、黄瓜等中获得。例如,槲皮素可以从洋葱、绿茶、苹果、浆果、银杏叶提取物、圣约翰草、美洲接骨木、荞麦茶等中获得。

[0049] 漆黄素和/或其衍生物和槲皮素和/或其衍生物中的每一者的有效量随特定组合物、接受者的年龄和病症以及受治的特定障碍或疾病而变化。然而,在一般实施方案中,可以每天向个体施用0.001mg至1.0g,优选每天0.01mg至0.9g,更优选每天0.1mg至750mg,更优选每天0.5mg至500mg,并且最优选每天1.0mg至200mg。此外,本发明人发现组合中漆黄素或衍生物的活性剂量可以降低以获得相等的功效。

[0050] 在一些实施方案中,漆黄素或衍生物与槲皮素或衍生物的组合以还包含钙的组合物形式施用。钙的至少一部分可为一种或多种钙盐,诸如乙酸钙、碳酸钙、氯化钙、柠檬酸钙、葡乳醛酸钙、葡萄糖酸钙、乳酸钙或其混合物。在一般实施方案中,每天向个体施用0.1g至1.0g的钙,优选每天125mg至950g的钙,更优选每天150mg至900mg的钙,更优选每天175mg至850mg的钙,并且最优选每天200mg至800mg的钙。

[0051] 在另选的实施方案中,漆黄素和槲皮素的组合可与钙在单独的组合物中依次施用。术语“依次”是指漆黄素或其衍生物中的至少一者和钙以相继的方式施用,使得漆黄素或其衍生物中的至少一者在第一时间施用而不含钙,并且在第二时间(在第一时间之前或之后)施用钙而不含漆黄素和槲皮素的组合。在顺序施用之间的时间可以是例如在同一天中的一秒或几秒、一分钟或几分钟或一小时或几小时;同一个月中的一天或几天或一周或几周;或同一年中的一个或几个月。

[0052] 漆黄素或衍生物和槲皮素或衍生物可以以特定比例配制。在一些实施方案中,制剂可包含以下示例性比例的这些组分:1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:20,并且这些比例中的每一个在一些实施方案中可以是漆黄素:槲皮素,并且在其它实施方案中可以是槲皮素:漆黄素。优选地,该比例为1:1至1:10。

[0053] 在一些实施方案中,漆黄素或其衍生物和槲皮素或其衍生物是施用给个体的组合物中的唯一多酚和/或施用给个体的唯一多酚。

[0054] 该组合物可包含有效量的漆黄素或其衍生物中的至少一者。例如,组合物的单份或剂量可包含有效量,而包装可含有一份或多份,或一个或多个剂量。任选地,组合物还可包含钙。

[0055] 成分-另外的生物活性化合物

[0056] 根据本发明的用途的组合物还可包含至少一种选自抗氧化剂、抗炎化合物、糖胺聚糖、益生元、纤维、益生菌、脂肪酸、酶、矿物质、微量元素和/或维生素的另外的生物活性化合物。

[0057] 在本申请的上下文中,术语“生物活性”意指除了满足基本营养需要之外,该化合物有助于个体的健康,或对人体有作用。

[0058] 至少一种另外的生物活性化合物可来自于天然来源。因此,该化合物可来自于植物、动物、鱼类、真菌、藻类、微生物发酵的提取物。矿物质被认为来自天然来源,也在该定义内。

[0059] 在一个优选的实施方案中,酶可以是蛋白酶诸如胰蛋白酶,或酶提取物诸如例如菠萝蛋白酶。

[0060] 营养组合物

[0061] 根据本发明的用途的组合物可以为营养组合物或药物组合物,并且可以用于人类或兽医用途。

[0062] 因此,在优选的实施方案中,根据本发明的用途的组合物是营养组合物。

[0063] 在本申请的上下文中,所谓"营养组合物"意指作为个体营养来源的组合物。

[0064] 本发明的营养产品或组合物可以是完全营养来源,或可以是不完全营养来源。

[0065] 如本文所用,"完全营养"包括含有对于被施用给动物而言足以作为唯一营养源的种类全面、含量充足的大量营养素(蛋白质、脂肪和碳水化合物)和微量营养素的营养产品和组合物。患者能够从这类完全营养组合物中得到他们100%的营养需求。

[0066] 如本文所用,"不完全营养"包括未含有对于被施用给动物而言足以作为唯一营养源的含量充足的大量营养素(蛋白质、脂肪和碳水化合物)或微量营养素的营养产品和组合物。部分或不完全营养组合物可用作营养补充剂。

[0067] 漆黄素和槲皮素的组合可以以适用于人类和/或动物食用的任何组合物形式施用。在一个优选的实施方案中,其以口服方式或肠内(例如管饲)施用。例如,其可以饮料、食物产品、胶囊、片剂、粉末或混悬剂形式施用于个体。

[0068] 合适的组合物的非限制性示例包括食物组合物、膳食补充剂、膳食补充剂(例如,液体ONS)、完全营养组合物、饮料、药品、口服营养补充剂、医疗食物、营养品、特殊医学用途食品(FSMP)、在食用前用水或乳重构的粉末状营养产品、食品添加剂、药物、饮品、宠物食品及其组合。

[0069] 营养组合物成分

[0070] 蛋白质源

[0071] 在一个实施方案中,根据本发明的用途的组合物包括蛋白质来源。蛋白质源可以是膳食蛋白质,包括但不限于动物蛋白质(诸如,乳蛋白、肉蛋白或卵蛋白)、植物蛋白质(诸如,大豆蛋白、小麦蛋白、大米蛋白和豌豆蛋白)或其组合。在一个实施方案中,该蛋白质选自乳清、鸡肉、玉米、酪蛋白酸盐、小麦、亚麻、大豆、角豆、豌豆或其组合。

[0072] 碳水化合物源

[0073] 在一个实施方案中,组合物包含碳水化合物来源。任何合适的碳水化合物都可用于本发明组合物中,包括但不限于淀粉、蔗糖、乳糖、葡萄糖、果糖、玉米糖浆固形物、麦芽糖糊精、改性淀粉、直链淀粉、木薯淀粉、玉米淀粉、木糖醇、山梨糖醇或其组合。

[0074] 脂肪源

[0075] 在一个实施方案中,组合物包含脂肪来源。脂肪来源可包括任何合适的脂肪或脂肪混合物。例如,脂肪源可包括但不限于植物脂肪(诸如,橄榄油、玉米油、葵花油、高油酸葵花油、油菜籽油、低芥酸菜籽油、榛子油、大豆油、棕榈油、椰子油、黑加仑籽油、琉璃苣油、卵磷脂等)、动物脂肪(诸如,乳脂肪)或其组合。脂肪来源也可以是以上所列的脂肪的较少精炼形式(例如,含有多酚的橄榄油)。

[0076] 调味剂等

[0077] 此外,根据本发明的用途的组合物还可包含天然或人工调味剂,例如水果调味剂如香蕉、橙、桃、菠萝或树莓或其它植物调味剂如香草、可可、咖啡等。

[0078] 营养组合物形式

[0079] 除主要的生物活性组分和任何另外的生物活性组分以及任选地蛋白质、碳水化合物和脂肪源中的一种或多种之外，该营养组合物还可包含任何数量的任选的附加食品成分，包括常规(合成的或天然的)食品添加剂，例如一种或多种酸化剂、附加的增稠剂、缓冲剂或用于pH调节的试剂、螯合剂、着色剂、乳化剂、赋形剂、调味剂、矿物质、渗透剂、药学上可接受的载体、防腐剂、稳定剂、糖、甜味剂、质构剂和/或维生素。可以按任何合适的量添加任选的成分。

[0080] 该营养组合物可以任何合适的形式提供。

[0081] 可提供根据本发明的用途的组合物的营养组合物形式的示例包括溶液、即用型组合物(例如，即饮型组合物或速溶饮料)、液体食品、软饮品、果汁、运动饮品、乳饮品、奶昔、酸奶饮料、汤等。

[0082] 在其它实施方案中，该营养组合物可以浓缩物、粉末或颗粒(例如，泡腾颗粒)的形式提供，这些形式用水或其它液体(诸如，乳或果汁)稀释以产生即用型的组合物。

[0083] 其它的营养组合物形式包括烘焙产品、乳制品、甜品、糖果产品、谷物棒和早餐谷物。乳制品的示例包括乳和乳饮品、酸奶和其它酸乳产品、冰淇淋和奶酪。烘焙产品的示例包括面包、饼干和蛋糕。

[0084] 在一个实施方案中，根据本发明的用途的组合物还可以被设计成动物食品(具体地讲用于狗或猫的动物食品)的多种形式，无论是湿形式、半湿形式还是干燥形式获得，具体地讲以饼干形式获得。

[0085] 施用途径

[0086] 本公开的营养组合物可以通过适用于人类施用的任何方式施用，并且具体地讲在胃肠道的任何部分中施用。肠内施用、口服施用以及通过管或导管施用均被本发明涵盖。该营养组合物还可通过选自口服、直肠、舌下、唇下、口腔内、局部等的方式施用。

[0087] 该营养组合物可以任何已知的形式施用，包括例如方便剂型的片剂、胶囊剂、液体剂、咀嚼片、软凝胶、药囊、散剂、糖浆剂、液体悬浮剂、乳剂和溶液剂。在软胶囊剂中，活性成分优选地溶解或悬浮在合适的液体中，诸如脂肪油、石蜡油或液体聚乙二醇。可任选地添加稳定剂。

[0088] 如果该营养组合物通过管饲施用，则该营养组合物可用于短期或长期的管饲。

[0089] 抑制或减少软骨退化

[0090] 软骨退化可能是病状(慢性或急性)、创伤或其组合的结果。

[0091] 软骨退化既在以炎症为主的病状(诸如类风湿性关节炎)中发生，也在炎症不那么显著的病状(例如骨关节炎)中发生。

[0092] 创伤还可导致软骨退化过程被引发。例如，撕裂膝盖中的韧带导致膝关节的不稳定，并且将引发退化过程。

[0093] 在本申请的上下文中，创伤是指由外部源引起的生理损伤，诸如例如由跌倒或被汽车等撞击引起。创伤还可以是小损伤随时间推移的累积，所谓的“磨损”。

[0094] 尽管通常优选用外科手术治疗创伤，但在一个实施方案中，本发明涉及一种治疗方法，其中创伤通过外科手术并且还通过施用本发明的组合物来治疗。

[0095] 因此，根据本发明的用途的实施方案包括用于抑制或减少软骨退化的用途，其中该软骨退化是病状或创伤的结果。

[0096] 涉及软骨退化并且本发明的组合物因此可能有用的病状的示例包括:骨性关节炎、类风湿关节炎、痛风和伪痛风、脓毒性关节炎、强直性脊椎炎、青少年特发性关节炎、斯蒂尔病、牛皮癣(牛皮癣关节炎)、反应性关节炎、Ehlers-Danlos综合征、血色素沉着病、肝炎、莱姆病、炎性肠病(包括克罗恩氏病和溃疡性结肠炎)、过敏性紫癜(Henoch-Schönlein purpura)、高免疫球蛋白血症D伴反复发热、结节病、TNF受体相关周期性综合征、韦格纳肉芽肿病(和许多其它血管炎综合征)、家族性地中海热、系统性红斑狼疮。

[0097] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于抑制或减少RA和/或OA中的软骨退化。

[0098] 在另一个优选的实施方案中,本发明的组合物用于抑制或减少OA中的软骨退化。

[0099] 另外,不希望受理论的束缚,已经观察到虽然炎症通常导致关节中的软骨退化,但是软骨退化也发生在炎症成分较不明显,并且可能甚至可忽略的情况中。

[0100] 例如,关节创伤可能容易地引发软骨退化,但不具有例如在RA中存在的显著炎性成分。创伤可例如涉及撕裂韧带,或对关节例如膝盖、手指的冲击创伤。

[0101] 在另一个示例中,OA主要是关节退化性疾病,具有较少的炎性成分。

[0102] 因此,在一个实施方案中,本发明涉及根据本发明的用途用于抑制或减少软骨退化的组合物,并且其中软骨退化在具有很少或没有炎性成分的病状(诸如创伤或例如OA)环境中发生。

[0103] 抵消早期退化事件的用途

[0104] 肥大表明不是正常表型的软骨细胞的分解代谢活动。

[0105] 因此,在一个实施方案中,本发明涉及根据本发明的包含漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合的组合物,该组合物用于抑制或减少软骨细胞肥大,该软骨细胞肥大是指示软骨退化的一个早期事件。

[0106] 治疗或预防随年龄降低的运动性

[0107] 根据本发明的用途的组合物已经示出抑制或降低蛋白水解活性。

[0108] 衰老导致软骨退化。

[0109] 因此,本发明涉及本发明的组合物,用于抑制或减少与衰老相关的软骨退化。

[0110] 在另一个实施方案中,本发明涉及本发明的组合物,用于抑制或减少与衰老相关的软骨退化中的胶原退化,例如用于抑制或预防与衰老相关的软骨中的胶原II退化。

[0111] 软骨退化可导致关节僵硬和关节疼痛,从而导致患者的运动性降低。

[0112] 在其它实施方案中,根据本发明的用途的组合物可用于i)维持或改善衰老期间的关节功能,包括软骨功能,ii)减少关节疼痛,包括炎性疼痛和/或伤害感受性疼痛。

[0113] 在另一个实施方案中,本发明涉及根据本发明的用途的组合物,用于改善受试者(例如成年或老年哺乳动物中)的运动性。

[0114] 因此,在一个优选的实施方案中,根据本发明的组合物可用于改善个体的活动性和/或运动性,例如通过预防或治疗骨关节炎,和/或通过抑制或减少软骨退化。

[0115] 其它优选的实施方案涉及根据本发明的用途的组合物,其中该用途是预防软骨退化并因此维持健康关节,或维持或改善活动性、预防或减少关节疼痛(炎性和/或伤害感受性疼痛)。在另一个实施方案中,本发明的组合物可用于维持软骨的状态。

[0116] 目标群体

[0117] 根据本发明的用途的组合物的目标群体可以是显示出软骨退化的任何哺乳动物,

例如因为它们患有一种或多种涉及本文提及的软骨退化的病状。软骨退化可通过视觉方式检测,诸如通过射线照相术。另选地,对软骨退化产物的检测可在体液中检测到。例如,诸如一种或多种胶原II表位(Col12-1、Col12-1NO2、CTX-II)可在例如样品(诸如血浆或尿液样品)中检测到。

[0118] 另一个目标群体可以是尚未表现出软骨退化、但处于软骨退化风险中(例如处于OA、RA或本文提及的涉及软骨退化的病状中任一种的风险中)的任何哺乳动物。在一个优选的实施方案中,本发明涉及将根据本发明的组合物施用于该目标群体,该组合物包含漆黄素或其衍生物与槲皮素或衍生物的组合,该组合物用于抑制或减少软骨的早期退化。

[0119] 本发明的一个具体实施方案涉及用于改善个体的活动性和/或运动性的组合物,例如通过预防或治疗骨关节炎,和/或通过抑制或减少老年或老龄化个体的软骨退化。

[0120] 在另外的实施方案中,根据本发明的用途的组合物可以用于哺乳动物,例如人类或宠物。宠物的示例包括猫、狗和马。

[0121] 虽然本发明可用于许多不同的年龄组,但在一个优选的实施方案中,根据本发明用于增加运动性的组合物针对老龄化群体,具体地讲健康的老龄化和/或老年哺乳动物。

[0122] 制造本发明的营养组合物的方法

[0123] 在另一个方面,本发明涉及用于制造根据本发明的用途的营养组合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0124] -提供用于营养组合物的成分,该成分包含漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或其衍生物的组合;以及混合,使得该营养组合物包含该漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或其衍生物的组合。

[0125] 供使用的药物组合物。

[0126] 在另一个实施方案中,本发明涉及根据本发明用于抑制或预防软骨退化的组合物,其中该组合物是药物组合物。

[0127] 所谓药物组合物意指不是营养组合物的组合物,其中物质用于身体上或体内以在医学上预防、诊断、缓解、治疗或治愈人类或动物的疾病。根据本发明,该药物可用于抑制或减少软骨退化。

[0128] 该药物可供人使用。另选地,其可以是兽医用组合物,例如适用于狗、猫或马,具体地讲纯种马。

[0129] 在一个优选的实施方案中,本发明的药物组合物包含漆黄素或其衍生物与槲皮素或衍生物的组合。

[0130] 在另一个优选的实施方案中,本发明的药物组合物包含漆黄素或其衍生物和槲皮素或其衍生物和姜黄素。

[0131] 本发明还涉及根据本发明的药物的用途,如本文所述的本发明组合物的用途。

[0132] 根据本发明用于所述用途的药物组合物包含漆黄素或其衍生物与槲皮素或衍生物和/或姜黄素与至少一种赋形剂结合的组合,该至少一种赋形剂选自由药学上可接受的赋形剂构成的组。用于制备根据本发明的药物组合物的程序可以容易地由本领域技术人员例如在《雷明顿制药科学手册》,美国宾夕法尼亚州伊斯顿市,麦克米兰出版公司(the handbook Remington'sPharmaceutical Sciences,Mid.Publishing Co,Easton,Pa.,USA)中找到。生理学上可接受的赋形剂、媒介物和佐剂也描述于名称为"药用赋形剂手册

(Handbook of Pharmaceutical Excipients)”(第二版,美国制药协会,1994年)的手册中。为了配制根据本发明的药物组合物,本领域技术人员将有利地能够参考欧洲药典或美国药典(USP)的最新版。具体地讲,本领域技术人员能够有利地参考欧洲药典的第四版“2002”或还参考美国药典的USP 25-NF 20版。

[0133] 有利地,如上定义的药物组合物适用于口服、肠外或静脉内施用。当根据本发明的用途的药物组合物包含至少一种药学上或生理学上可接受的赋形剂时,其具体地讲是适用于通过口服途径施用该组合物的赋形剂或适用于通过肠外途径施用该组合物的赋形剂。

[0134] 根据本发明的用途的药物组合物可以无区别地以固体或液体形式获得。对于口服施用,将优选呈片剂、胶囊剂或明胶胶囊形式的固体药物组合物。

[0135] 在液体形式中,将优选呈水性或非水性的悬浮剂形式,或者还优选呈油包水或水包油的乳剂形式的药物组合物。

[0136] 固体药物剂型可包含作为媒介物、佐剂或赋形剂的至少一种稀释剂、一种调味剂、一种增溶剂、一种润滑剂、一种悬浮剂、一种粘合剂、一种崩解剂和一种包封剂。此类化合物例如为碳酸镁、硬脂酸镁、滑石粉、乳糖、果胶、糊精、淀粉、明胶、纤维素材料、可可油等。液体形式的组合物还可以包含水,可能作为与丙二醇或聚乙二醇的混合物,并且还可能包含着色剂、调味剂、稳定剂和增稠剂。

[0137] 与已知治疗的组合

[0138] 在缺乏改善骨关节炎疾病的药物(disease-modifying OA drugs,DMOAD)的情况下,可用营养物质替代药物来治疗和预防骨关节炎。

[0139] 从组织学数据可以看出,与主要影响退化的化合物相比,橄榄苦苷对OA评分具有更大的影响。因此,橄榄苦苷的功效可能是由于对炎性和退化的组合效应。因此,在优选的实施方案中,已经示出抑制或减少退化的本发明组合物可与用于抑制或减少炎症的治疗组合。

[0140] 治疗方法

[0141] 本发明还涉及预防或治疗软骨退化的方法,例如发生软骨退化的病状或与软骨退化相关的创伤,所述方法包括向有需要的个体施用有效量的根据本发明的组合物。例如,该方法包括施用有效量的包含漆黄素或其衍生物与槲皮素或衍生物的组合的组合物。

[0142] 如本文所用,“有效量”是在个体中预防缺陷、治疗疾病或医学病症的量,或更一般地说,是减少症状、控制疾病进展或向个体提供营养、生理或医学益处的量。

[0143] 实现治疗效果所需的根据本发明的组合物的有效量当然将随着特定组合物、施用途径、接受者的年龄和病症以及受治的特定障碍或疾病而变化。

[0144] 本发明还提供了下列方法:预防或治疗涉及软骨退化的病状,诸如例如OA或RA;抑制或减少软骨退化;抑制或减少软骨中的胶原退化;抑制或减少软骨中的胶原II退化;该方法包括向个体施用有效量的根据本发明的用途的组合物。

[0145] 在一个实施方案中,根据本发明的治疗方法涉及预防或治疗骨关节炎。

[0146] 根据本发明的治疗方法可以在哺乳动物(诸如人或宠物(例如狗、猫和/或马))中进行。

[0147] 在某些实施方案中,待在治疗方法中施用的本发明的组合物可以是一种或多种本发明的营养组合物和/或本发明的药物组合物。

[0148] 药盒

[0149] 本公开还提供了药盒,该药盒包含漆黄素和/或其衍生物与槲皮素和/或衍生物的组合在一个或多个容器中的组合。在药盒的一个实施方案中,一个或多个容器包含至少一个第一容器,该至少一个第一容器储存与槲皮素和/或衍生物分开的漆黄素和/或衍生物,该槲皮素和/或衍生物储存在至少一个第二容器中,并且该药盒还包含用于将漆黄素与槲皮素混合成单位剂型的说明书。

[0150] 在药盒的一个实施方案中,组合可以以一种或多种预包装的单位剂型一起提供,例如在各自含有干燥粉末的单独容器中提供,使得每个容器含有一种预包装的单位剂型。

[0151] 在另一个实施方案中,药盒可包含多种用于混合在一起以形成一种或多种本文所公开的组合物的组合物。例如,药盒可在相对于彼此的单独容器中含有两种或更多种干燥粉末,单独的粉末各自包含最终单位剂型的一部分。作为此类实施方案的非限制性示例,药盒可含有容纳漆黄素的一个或多个第一容器,并且还可含有容纳槲皮素的一个或多个第二容器。可将第一容器中的一个第一容器的内容物与第二容器中的一个第二容器的内容物混合以形成组合物的单位剂型的至少一部分。

[0152] 上述施用示例不需要无中断的连续每日施用。相反,在施用中可以存在一些短暂的中断,例如在施用期间中断两至四天。施用组合物的理想持续时间可以由本领域的技术人员确定。

[0153] 公开内容的结合

[0154] 应当注意,在本发明的其中一个方面的上下文中描述的实施方案和特征也适用于本发明的其它方面。

[0155] 根据本发明用于所述用途的组合物在本文中以不同参数描述,诸如成分、营养组合物形式、用途、目标群体等。应当注意,除非另外明确说明,否则在根据本发明用于所述用途的组合物的参数之一的上下文中描述的实施方案和特征也可以与在另一参数的上下文中描述的其它实施方案和特征组合。

[0156] 本申请所引用的所有专利和非专利参考文献均据此全文以引用方式并入。

[0157] 现将在下面的非限制性实施例中进一步详细描述本发明。

[0158] 实施例

[0159] 以下非限制性实施例提供了支持本文所公开的组合物和方法的实验数据。

[0160] 实施例1

[0161] 为了测试漆黄素、槲皮素以及它们的组合在活细胞中的效应,本发明人测量了海拉细胞中线粒体钙的升高。海拉细胞购自ATCC。将海拉细胞以50000个细胞/孔的密度接种于96孔板的基本必需培养基(DMEM,Gibco)(高葡萄糖+10％胎牛血清)中。线粒体钙测量使用感染有表达线粒体靶向钙传感器线粒体突变的水母发光蛋白的腺病毒(来自Sirion biotech)的海拉细胞进行(Montero等人,2004)。对于水母发光蛋白重构,在感染后24小时,将细胞在室温(22±℃)下在具有1μM野生型腔肠素的标准培养基(145mM NaCl、5mM KCl、1mM $MgCl_2$、1mM $MgCl_2$、10mM葡萄糖和10mM Hepes,pH7.4)中温育2小时。对于处理而言,在测量前2小时将化合物直接添加到细胞培养物或肌管培养物中。在FLIPR Tetra Aequorin (Molecular Devices)上测量发光。通过用100μM组氨刺激细胞获得线粒体钙升高。使用如前所述的算法将发光数据校准为钙浓度(Alvarez&Montero,2002)。基于Excel(Microsoft)

和GhaphPad Prism 7.02(GraphPad)软件的定制模块分析用于定量。

[0162] 如图2所示,在海拉细胞中,通过线粒体Ca2+升高,漆黄素与槲皮素的组合对线粒体活化的效应大于漆黄素或槲皮素单独对线粒体活化的效应。如图3所示,在海拉细胞中,漆黄素与槲皮素协同作用以通过线粒体Ca2+升高来激活线粒体。

[0163] 实施例2

[0164] 为了验证槲皮素与漆黄素的组合对骨关节炎软骨细胞(软骨细胞)的细胞模型的协同效应,本发明人测量了用促炎细胞因子白介素-1β处理的SW1 353细胞中的线粒体钙。SW1 353细胞购自ATCC。将SW1 353细胞以10000细胞/孔的密度接种于96孔板中,在100mm盘中。细胞在具有10％胎牛血清和1％青霉素-链霉素的高葡萄糖基本必需培养基(DMEM,Gibco)中培养。SW1 353细胞用10ng/ml的促炎细胞因子白介素-1β处理作为骨关节炎模拟物持续48小时。

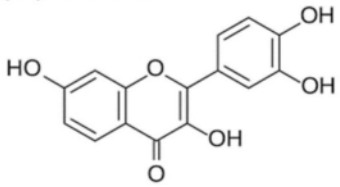
[0165] 利用与用于海拉细胞相同的程序,测量SW1 353细胞中的线粒体钙。槲皮素和漆黄素在骨关节炎软骨细胞模型中的协同效应如对海拉细胞所述的进行定量。

[0166] 结果

[0167] 如图4所示,在所述骨关节炎软骨细胞(用IL-1β处理的SW1353细胞)的细胞模型中,槲皮素与漆黄素协同作用以经由线粒体Ca^{2+}升高来激活线粒体。如图5所示,在所述骨关节炎软骨细胞的细胞模型中,槲皮素与漆黄素的几种组合协同作用以经由线粒体Ca2+升高来激活线粒体。

漆黄素(A)和槲皮素(b)的化学结构

(A)漆黄素



(B)槲皮素

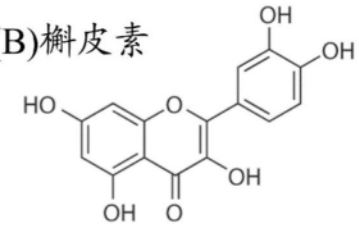


图1

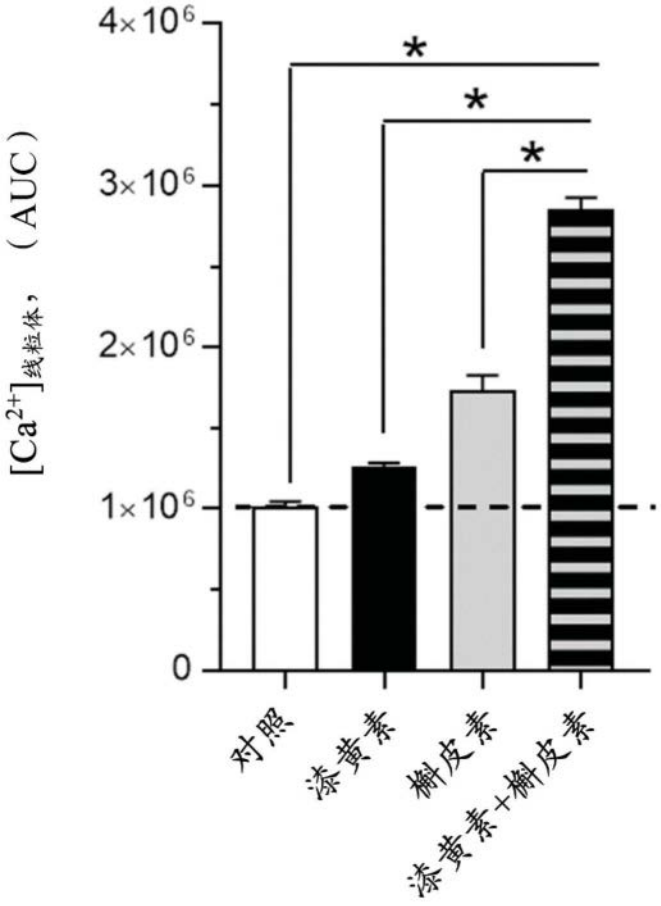


图2

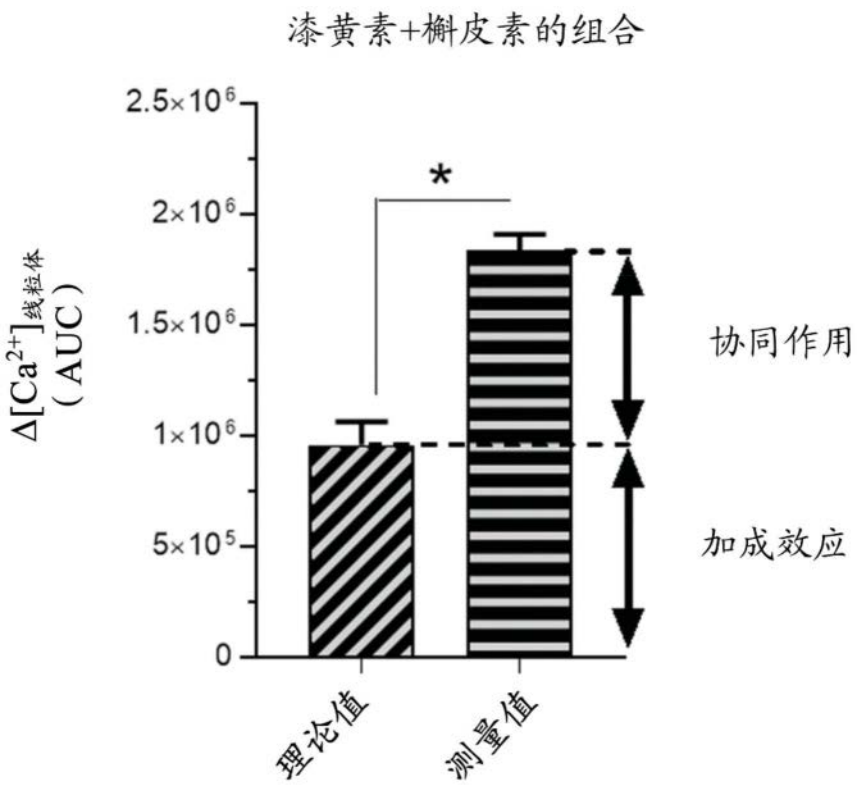

漆黄素+槲皮素的组合
2.5×10⁶
2×10⁶
1.5×10⁶
1×10⁶
5×10⁵
0
Δ[Ca²⁺]线粒体 (AUC)
*
协同作用
加成效应
理论值
测量值

图3

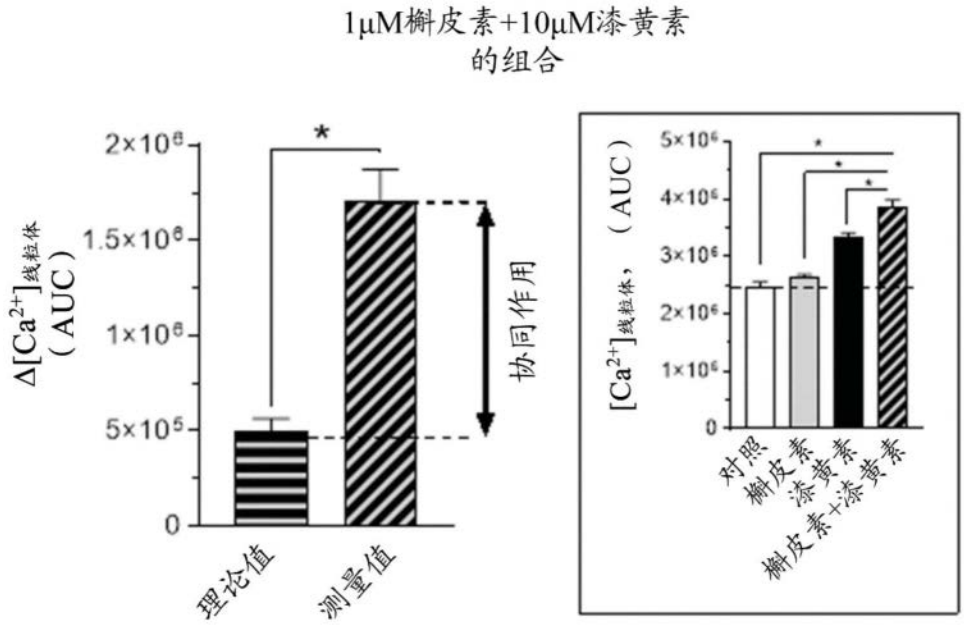

1μM槲皮素+10μM漆黄素
的组合
2×10⁶
1.5×10⁶
1×10⁶
5×10⁵
0
Δ[Ca²⁺]线粒体 (AUC)
*
协同作用
理论值
测量值
5×10⁶
4×10⁶
3×10⁶
2×10⁶
1×10⁶
0
[Ca²⁺]线粒体, (AUC)
对照
槲皮素
漆黄素
槲皮素+漆黄素

图4

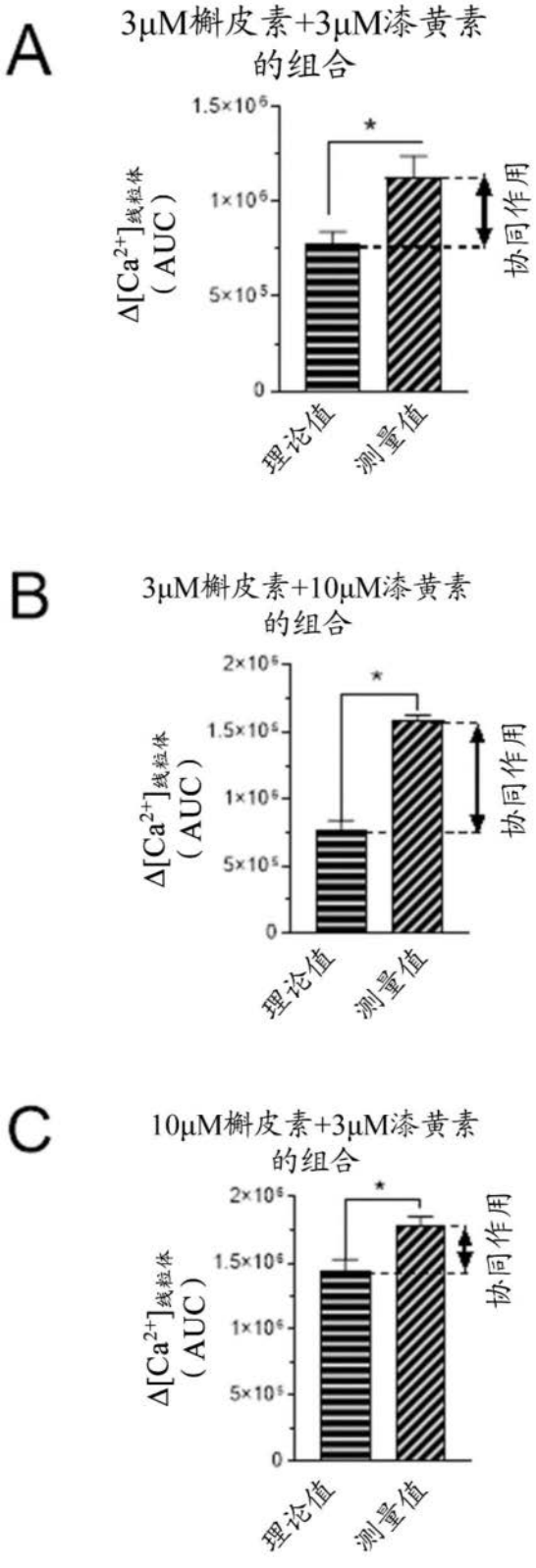

A
3μM槲皮素+3μM漆黄素
的组合
1.5×10⁶
1×10⁶
5×10⁵
0
*
Δ[Ca²⁺]线粒体
(AUC)
协同作用
理论值
测量值
B
3μM槲皮素+10μM漆黄素
的组合
2×10⁶
1.5×10⁶
1×10⁶
5×10⁵
0
*
Δ[Ca²⁺]线粒体
(AUC)
协同作用
理论值
测量值
C
10μM槲皮素+3μM漆黄素
的组合
2×10⁶
1.5×10⁶
1×10⁶
5×10⁵
0
*
Δ[Ca²⁺]线粒体
(AUC)
协同作用
理论值
测量值

图5