



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110141594 B

(45) 授权公告日 2021.10.12

(21) 申请号 201910613202.6

CN 108272791 A, 2018.07.13

(22) 申请日 2019.07.09

黄秀娴. 淫羊藿苷配伍姜黄素和胡椒碱干预早期 AD 病理进程的机制研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》.2015, (第12期), 第11页第3段、第67页最后一段, 第65页第3段倒数第1-3行、第4段, 第11页第3-5行.

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110141594 A

(43) 申请公布日 2019.08.20

张潇丹. 人参皂苷Rg1对阿尔兹海默病模型大鼠认知功能障碍的作用及机制研究.《中国博士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》.2013, (第10期), 第63页第9-12行、第66页最后1段.

(73) 专利权人 深圳大学
地址 518060 广东省深圳市南山区南海大道3688号

(72) 发明人 都秀波 李雪霞 倪嘉纘

(74) 专利代理机构 北京东和长优知识产权代理事务所(普通合伙) 11564

代理人 周捷

金春慧,等. 漆黄素改善阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆障碍的细胞内信号通路.《漆黄素改善阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆障碍的细胞内信号通路》.2012, 第21卷(第10期), 第866页左栏第1-12行.

(51) Int. Cl.

- A61K 31/12 (2006.01)
- A61K 36/258 (2006.01)
- A61P 25/28 (2006.01)
- A61K 31/4525 (2006.01)
- A61K 31/7048 (2006.01)

Ling Li,等. Ginsenoside Rd attenuates beta-amyloid-induced tau phosphorylation by altering the functional balance of glycogen synthase kinase 3beta and protein phosphatase 2A.《Neurobiology of Disease》.2013, (第54期), 第320-328页.

(56) 对比文件

- CN 102271657 A, 2011.12.07
- US 8021701 B1, 2011.09.20
- JP 6004419 B2, 2016.10.05

审查员 夏伯姗

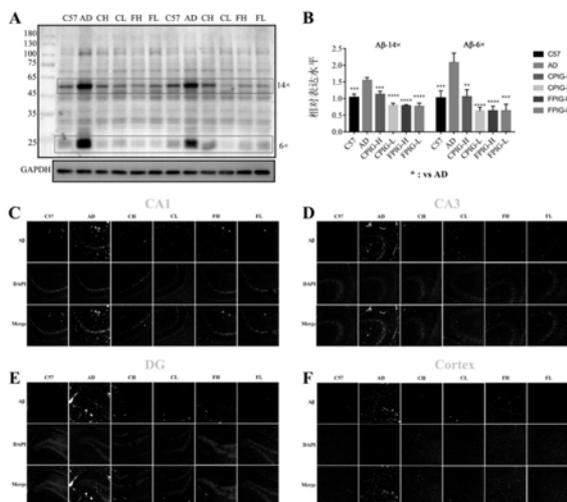
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

(54) 发明名称

治疗阿尔茨海默症的药物

(57) 摘要

一种治疗阿尔茨海默症的药物,由下述重量配比的成分制成的药物:姜黄素68-138、胡椒碱0.4-0.8、淫羊藿苷45-90、人参总皂苷26-52;或漆黄素180-360、胡椒碱0.4-0.8、淫羊藿苷45-90、人参总皂苷26-52。本发明利用中药以其多靶点调控的特点,应用在AD防治方面具有很大的潜力。



1. 一种治疗阿尔茨海默症的药物,由下述重量配比的成分制成的药物:
姜黄素68-138、胡椒碱0.4-0.8、淫羊藿苷45-90、人参总皂苷26-52。
2. 根据权利要求1所述的药物,其中,各成分的重量配比是:
姜黄素80-100、胡椒碱0.5-0.6、淫羊藿苷55-75、人参总皂苷35-45。
3. 一种治疗阿尔茨海默症的药物,由下述重量配比的成分制成的药物:
漆黄素180-360、胡椒碱0.4-0.8、淫羊藿苷45-90、人参总皂苷26-52。
4. 根据权利要求3所述的药物,其中,各成分的重量配比是:
漆黄素260-310、胡椒碱0.5-0.6、淫羊藿苷55-75、人参总皂苷35-45。

治疗阿尔茨海默症的药物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种治疗阿尔茨海默症的药物。

背景技术

[0002] 阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)由Alois Alzheimer于1906年首次发现并命名,是一种与年龄相关的神经退行性疾病,在临床上表现为记忆力衰退、认知能力下降等。作为老年人痴呆的主要类型,AD在老年人中具有极高的发病率和致死率,且发病率随年龄增加而增高。研究表明:目前全球有5000万痴呆患者;据预测,到2030年,患者数将增至8200万,至2050年,患者人数将达到1.52亿。

[0003] 随着经济的发展,我国已经逐步进入老龄化社会,老年人数量的增加必将导致AD患者进一步增多,带来严重的医疗经济负担和社会压力。但是AD病因复杂,AB蛋白聚集形成的老年斑、tau蛋白过度磷酸化聚集形成神经纤维缠结、突触数目减少、神经元缺失,氧化应激,线粒体损伤,自噬障碍等等,并且病程漫长,目前国内外尚无能根本治疗AD的药物,因此寻找AD的特效药迫在眉睫。

[0004] AD的发病机制非常复杂,且各种机制之间相互影响,因而从单一靶点进行干预的效果往往不佳。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种治疗阿尔茨海默症的药物。

[0006] 为实现上述目的,本发明提供的治疗阿尔茨海默症的药物,由下述重量配比的成分制成的药物:

[0007] 姜黄素68-138、胡椒碱0.4-0.8、淫羊藿苷45-90、人参总皂苷26-52。

[0008] 所述的药物中,各成分的重量配比是:

[0009] 姜黄素80-100、胡椒碱0.5-0.6、淫羊藿苷55-75、人参总皂苷35-45。

[0010] 本发明的治疗阿尔茨海默症的药物,还可以是由下述重量配比的成分制成的药物:

[0011] 漆黄素180-360、胡椒碱0.4-0.8、淫羊藿苷45-90、人参总皂苷26-52。

[0012] 所述的药物中,各成分的重量配比是:

[0013] 漆黄素260-310、胡椒碱0.5-0.6、淫羊藿苷55-75、人参总皂苷35-45。

[0014] 本发明利用中药以其多靶点调控的特点,应用在AD防治方面具有很大的潜力。

附图说明

[0015] 图1是本发明旷场实验检测C57、AD及AD+两组复方小鼠的自发活动与探索能力;其中:

[0016] A:小鼠探索穿过的格子数;

[0017] B:小鼠站立次数(n=10,*p<0.05,**p<0.001)。

- [0018] 图2是本发明血生化检测C57、AD及AD+两组复方小鼠的血清中甘油三酯(TG)的水平; (n=10,*p<0.05,**P<0.01,***p<0.001)。
- [0019] 图3是本发明小鼠脑组织A β 病理相关蛋白检测;其中:
- [0020] A:Western Blot检测小鼠海马区A β 寡聚体蛋白表达水平;
- [0021] B:小鼠海马区A β 寡聚体蛋白的灰度值分析 (n=4,**P<0.01,***P<0.001,****P<0.0001);
- [0022] C:免疫荧光检测各组小鼠海马CA1区A β 的表达水平 (bar:100 μ m);
- [0023] D:免疫荧光检测各组小鼠海马CA3区A β 的表达水平 (bar:100 μ m);
- [0024] E:免疫荧光检测各组小鼠海马DG区A β 的表达水平 (bar:100 μ m);
- [0025] F:免疫荧光检测各组小鼠皮层区A β 的表达水平 (bar:100 μ m)。
- [0026] 图4是本发明两组复方对小鼠脑组织Tau病理相关蛋白及NFT含量的影响;其中:
- [0027] A:Western Blot检测小鼠海马区总tau蛋白tau-5及Tau蛋白磷酸化位点pS404-tau蛋白表达水平;
- [0028] B:小鼠海马区总tau蛋白tau-5及Tau蛋白磷酸化位点pS404-tau蛋白灰度值分析 (n=4,*p<0.05,**p<0.01);
- [0029] C:甘氨酸银浸镀神经染色试剂盒检测各组小鼠海马和皮层区NFT的含量 (bar:50 μ m)。
- [0030] 图5是本发明小鼠脑组织突触蛋白水平及尼氏小体检测;其中:
- [0031] A:Western Blot检测小鼠海马区突触相关蛋白PSD95、Syna和SynI的表达水平;
- [0032] B:小鼠海马区PSD95、Syna和SynI的蛋白的灰度值分析 (n=4,*p<0.05,**P<0.01,***P<0.001);
- [0033] C:尼氏染色检测小鼠脑组织的尼氏小体 (bar:100 μ m)。

具体实施方式

[0034] 本发明经过大量研究工作显示,姜黄素 (Curcumin)、淫羊藿苷 (Icariin) 及人参总皂苷等对AD的发生发展具有明显的干预效果,且作用机制不同,因此本发明设计了两种中药复方,并设计不同的剂量,来研究两组中药复方对AD的治疗效果并探索其作用的分子机制。

[0035] 本发明的成分可以采用该些药物的提取物,也可以采用公知的中药煎煮方法从含有该些成分的原料中提取。体重60kg成人的服用量为:姜黄素450mg/d;漆黄素1200mg/d;胡椒碱2.5mg/d;淫羊藿苷300mg/d;人参总皂苷175.5mg/d。

[0036] 以下说明的内容是本发明以APP/PS1双转基因小鼠为AD模型,以C57小鼠为正常对照小鼠,对两组复方(每组复方有高低两种剂量)的抗AD作用进行的药效学研究。

[0037] 复方一(CPIG):姜黄素 (Curcumin)、胡椒碱 (Piperine)、淫羊藿苷 (Icariin)、人参总皂苷 (Ginsenosides)。

[0038] 复方二(FPIG):漆黄素 (Fisetin)、胡椒碱、淫羊藿苷、人参总皂苷。

[0039] 上述两组复方的小鼠的用药量如表1所示,高剂量为低剂量的2倍用量。小鼠组别设置如表2所示

[0040] 将两组复方分别混入小鼠饲料中,采用自由取食的方式处理小鼠。各组小鼠正常

饮食喂养至四月龄后,采用相应的含复方的饲料继续喂养四个月至八月龄。之后,再进行以下指标的检测:

[0041] 1、小鼠行为学:旷场实验的站立次数、跨越格子数等。

[0042] 2、小鼠脑内A β 病理指标:A β 寡聚体和纤维聚集体的水平。

[0043] 3、小鼠脑内Tau病理指标:总tau、p-tau及神经纤维缠结的水平。

[0044] 4、神经元活性及突触功能:尼氏小体形态和密度、突触蛋白(Syn1、Synaptophysin、PSD95等)的表达水平。

[0045] 5、技术效果

[0046] 1) 小鼠行为学:采用旷场实验检测小鼠的自发活动与探索能力。与WT组小鼠相比,AD组小鼠在180s内穿过格子数显著减少,说明AD组小鼠的自发活动能力较WT组小鼠弱;小鼠的站立次数减少,说明AD组小鼠对外界事物的探索欲降低。两组复方增加了AD小鼠在一定时间内穿过格子数和站立次数。

[0047] 2) 生化指标检测:两组复方有降低AD小鼠血脂的效果。

[0048] 3) 小鼠脑内A β 病理指标:A β 的大量产生并聚集形成淀粉样斑块是AD的主要病理特征之一,在A β 的各种聚集形式中,可溶性的寡聚体被认为是毒性最强的聚集形式。通过Western Blot检测发现,两组复方降低了AD小鼠海马组织中的A β 寡聚体的含量。

[0049] 4) 小鼠脑内Tau病理指标:神经纤维缠结(NFT)是AD的另一个重要病理指标。采用银染试剂盒检测2xTg-AD小鼠脑内NFT的含量,发现AD小鼠脑内产生了大量的NFT,两组复方降低了AD小鼠中神经纤维缠结的含量。

[0050] 5) 神经元活性及突触功能:尼氏小体的功能主要是合成蛋白质,在正常情况下,尼氏小体大而数量多,反应神经细胞合成蛋白质的功能较强,而在神经元受损时尼氏小体数量减少或缺失。因此,尼氏小体的多少可作为神经元机能状态的标志。通过尼式染色检测尼氏小体,发现在2xTg-AD小鼠中,受损的神经元在两组复方处理4个月后,尼氏小体有所增多,形态有所增大。

[0051] 在以下实施例中将进一步举例说明本发明,仅用于说明本发明而对本发明没有限制。

[0052] (1) 小鼠旷场实验::旷场实验又称敞箱实验,被广泛用于评价实验动物在新异环境中自主行为、探究行为与紧张度。以实验动物在新奇环境之中某些行为的发生频率和持续时间等,反映实验动物在陌生环境中的自主行为与探究行为,以排便次数反映其紧张度。实验应在隔音,光强度和温、湿度适宜且保持一致的行为实验室内进行。将动物放入箱内底面中心,同时进行摄像和计时。观察一定时间后停止摄像,观察时间设定为3min。观察指标:单位时间内动物越过的格子数(Crossing),后肢站立次数(Rearings)。实验结果表明,与C57组小鼠相比,AD组小鼠在180s内穿过格子数显著减少(如图1A),说明AD组小鼠的自发活动能力较C57组小鼠弱;小鼠的站立次数减少(如图1B),说明AD组小鼠对外界事物的探索欲降低。两组复方增加了AD小鼠在一定时间内穿过格子数和站立次数。

[0053] (2) 生化指标的检测:小鼠眼球取血,3000r,15min离心取上清,用Imagic-M7生化分析仪进行检测。实验结果表明,与C57小鼠相比,AD小鼠的血脂水平显著增高,而两组复方可明显降低AD小鼠的血脂(如图2)。

[0054] (3) 两组复方降低了小鼠脑组织的A β 寡聚体的水平

[0055] Aβ的大量产生和聚集形成淀粉样斑块是AD的主要病理特征之一,在Aβ的各种聚集形式当中,可溶性的寡聚体被认为是毒性最强的形式。利用Aβ特异性抗体6E10,通过Western-blot检测小鼠脑内海马组织的Aβ寡聚体的水平发现,AD组的海马组织中Aβ的含量明显高于C57组,两组复方组的Aβ寡聚体水平较AD组显著降低(如图3A&B)。进一步地,采用免疫荧光检测发现,AD组的海马CA1区、CA3区、DG区,以及皮层区的Aβ的含量明显高于C57组,两组复方加药处理后,Aβ的含量下降(如图3C-F)。

[0056] (4) 两组复方抑制了小鼠脑组织的tau病理

[0057] Tau蛋白质的过度磷酸化和神经纤维缠结(NFT)的形成是AD的另一重要病理特征。Western-blot检测小鼠海马组织中总tau及其磷酸化pS404-tau蛋白的表达水平发现:与AD组相比,两组复方能够降低AD小鼠海马组织中总tau及pS404-tau蛋白的表达水平(如图4A&B)。通过甘氨酸银浸镀神经染色试剂盒,我们检测了小鼠海马组织的NFT的含量,发现AD组的海马的CA1区、CA3区、DG区,以及皮层区的NFT的含量明显高于C57组,两组复方加药处理后,NFT的含量下降(如图4C)。

[0058] (5) 两组复方提高了小鼠脑组织的突触蛋白表达和神经元的活性

[0059] 进一步地,本发明研究了两组复方对小鼠海马组织的突触蛋白和神经元活性的保护作用。Western-blot检测发现,相较于AD组,两组复方组的突触后致密蛋白PSD95、突触蛋白Syn1以及突触素蛋白Syna的表达量均有显著性地增加(如图5A&B)。神经元中尼氏小体的数量与神经元的状态及活力呈正相关。通过尼氏染色检测小鼠海马和皮层组织中尼氏小体发现:两组复方提高了AD小鼠海马和皮层组织中神经元胞内的尼氏小体水平。(如图5C)。

[0060] 表1复方组成及配伍

组成及剂量 (mg/kg/d)	姜黄素 (Curcumin)	漆黄素 (Fisetin)	胡椒碱 (Piperine)	淫羊藿苷 (Icariin)	人参总皂苷 (Ginsenosides)
[0061] CPIG-H ^a	136	\	0.8	90	52
CPIG-L ^b	68	\	0.4	45	26
FPIG-H	\	360	0.8	90	52
FPIG-L	\	180	0.4	45	26

[0062] 表2小鼠组别设置

	WT 鼠数量	AD 鼠数量	性别 (M/F)
WT	10	0	M
AD	0	10	M
[0063] AD+CPIG-H	0	10	M
AD + CPIG-L	0	10	M
AD + FPIG-H	0	10	M
AD + FPIG-L	0	10	M
合计:	10	50	M

[0064] ^aL代表低剂量。

[0065] ^bH为高剂量,为低剂量的2倍用量。

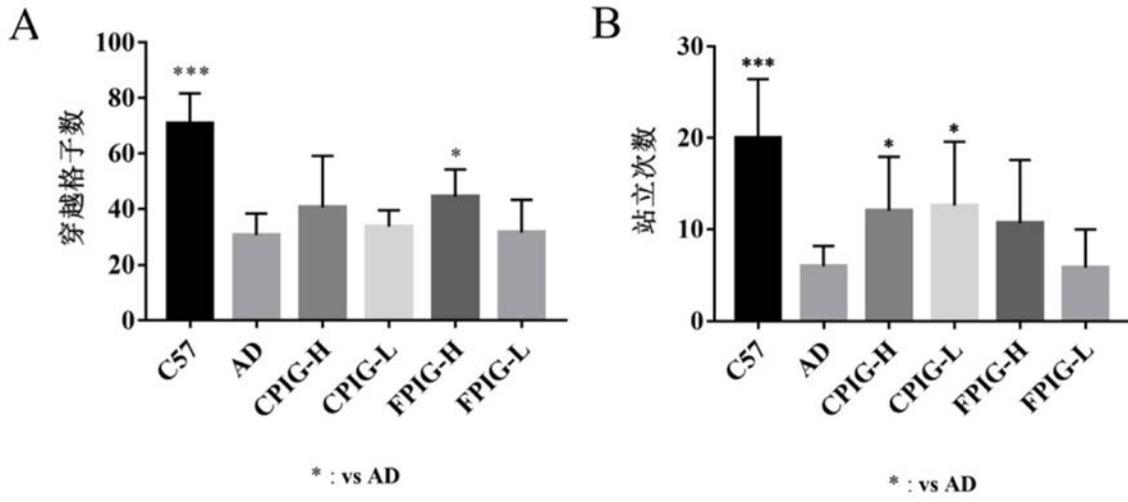


图1

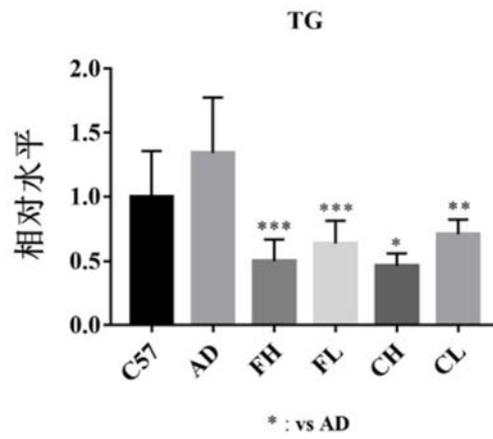


图2

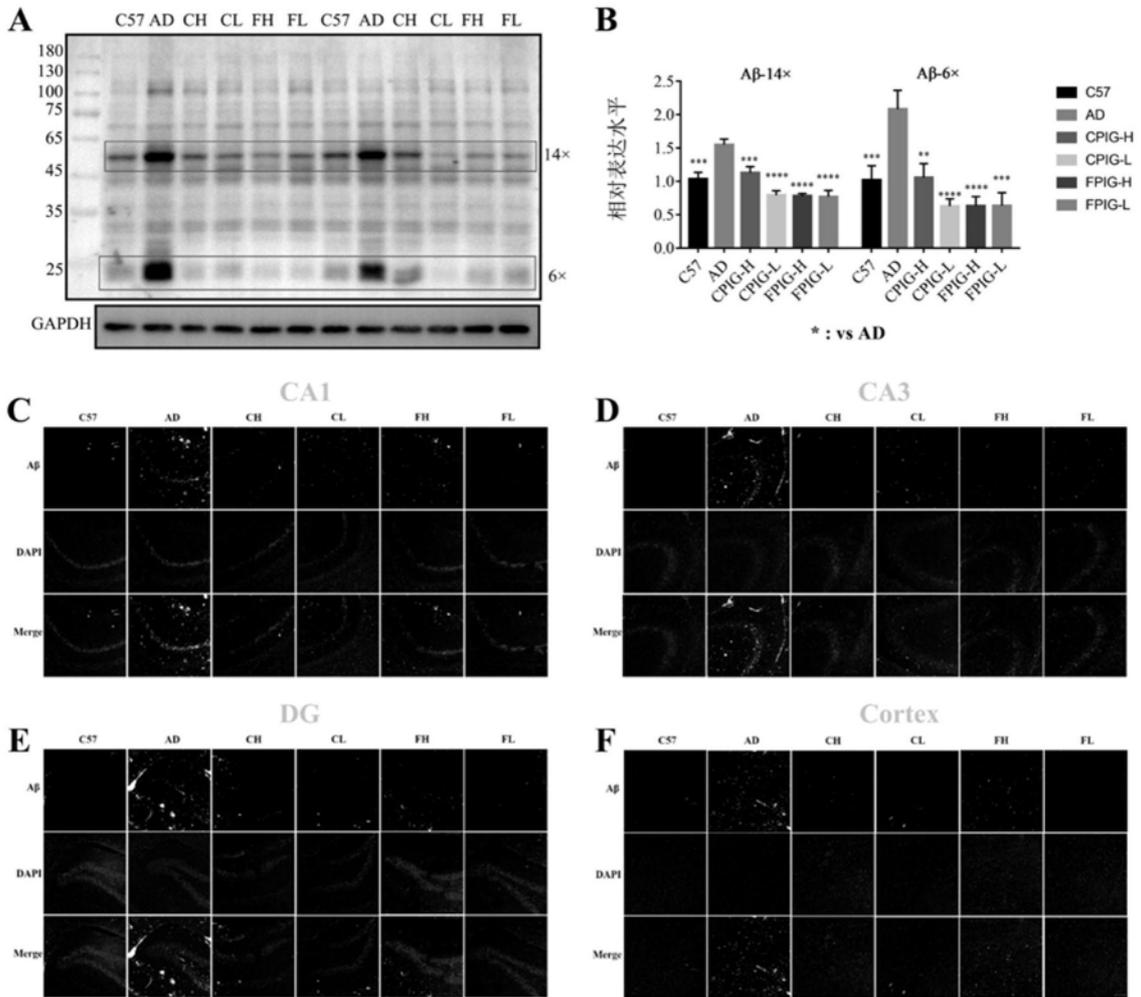


图3

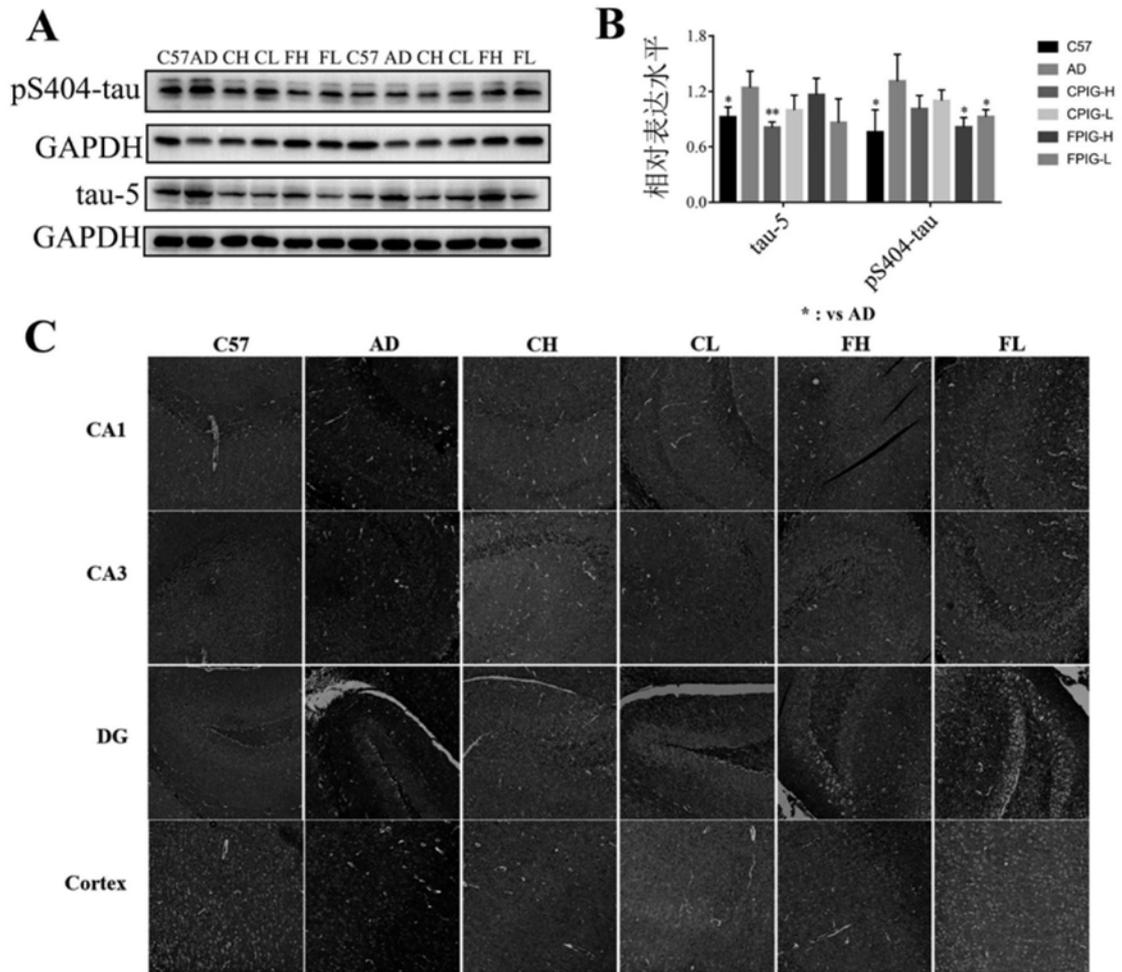


图4

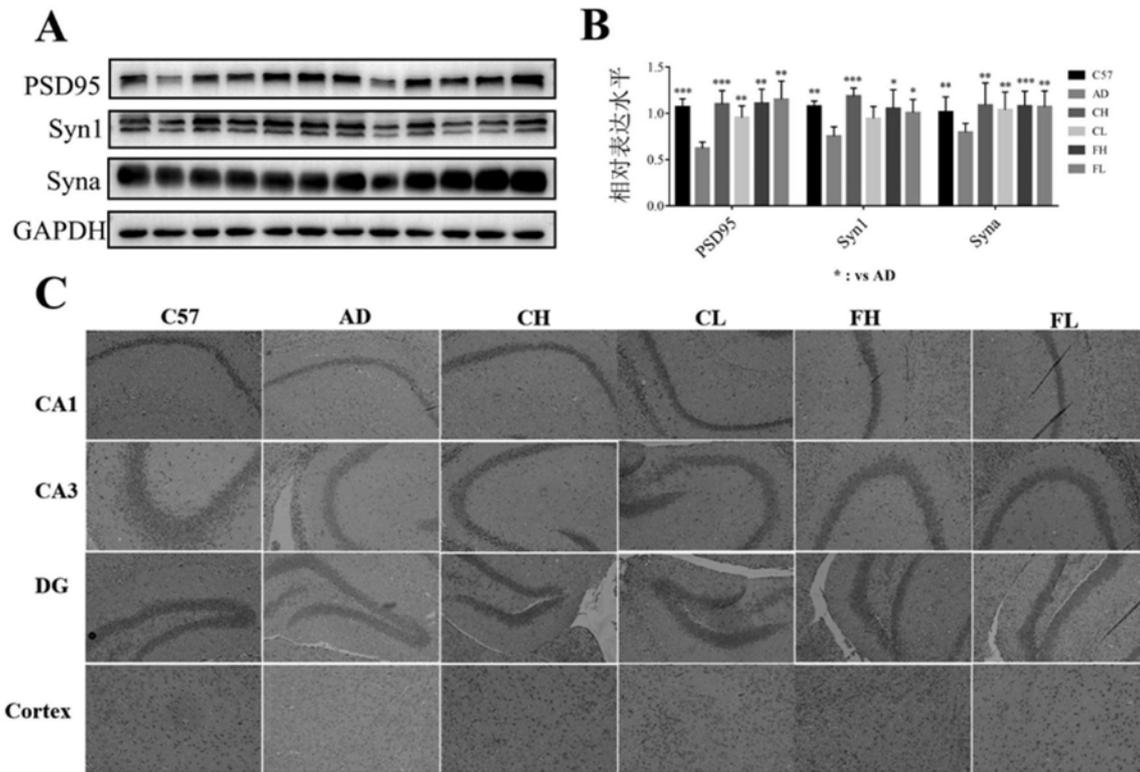


图5