



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110898045 A

(43)申请公布日 2020.03.24

(21)申请号 201911137791.1

(22)申请日 2019.11.11

(71)申请人 暨南大学

地址 510000 广东省广州市黄埔大道西601号

(72)发明人 陈利国 刘天浩 陶文聪 陈伟豪 陈旭东 梁秋儿 肖雅

(51)Int.Cl.

A61K 31/122(2006.01)

A61P 9/12(2006.01)

A61K 49/00(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

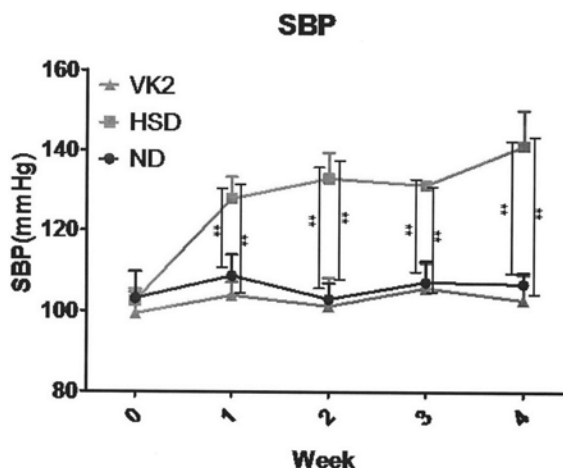
权利要求书1页 说明书3页 附图4页

(54)发明名称

维生素k2的降压作用

(57)摘要

本发明公开了一种维生素k2的降压作用,涉及降血压药品领域,肠道菌群代谢产物维生素K2,主要由肠道内细菌合成,与肠道菌群平衡密切相关。维生素族K包括天然的VK1、VK2和人工合成的VK3、VK4,维生素家族成员均具有将蛋白中γ-谷氨酸残基羧化为γ-羧基谷氨酸残基的作用。研究认为,VK2具有抗炎、抗血管平滑肌细胞凋亡以及阻断血管钙化等作用,与多种心血管疾病有关。该维生素k2的降压作用有力地证明了维生素K2具有防治高血压病的功能。



1. 一种维生素k2的降压作用,其特征在于:所述维生素k2的降压作用包括选取实验动物:SPF级C57BL/6J小鼠,雄性,体质量 $23 \pm 2g$,购买自广州中医药大学实验动物中心(实验单位许可证号:SYXK(粤)2017-0174), (小鼠许可证号:SCXK(粤)2018-0034),予以自由饮食和饮水10天后,开始实验,该维生素k2的降压证明方法包括如下步骤:

(1) 动物分组:将野生型C57BL/6小鼠按照随机数表分组法分为正常组,高盐组,高盐+VK2组,每组8只;

(2) 模型构建:野生型C57BL/6小鼠,8%高盐诱导4周复制高盐诱导的高血压小鼠模型;

(3) 尾动脉测压法,观察小鼠血压变化:每周下午同一时间通过Blood Pressure 2000对所有小鼠的血压进行测量,取平均10次测量均值;

(4) 酶联免疫吸附实验法(ELISA)检测相关细胞因子NO、VEGF、Ang I、ET-1的表达:实验开始4周后,杀鼠,取血清,检测。操作步骤方法按照试剂盒说明书进行1.标准品的加样:设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品 $50\mu L$;2.加样:分别设空白孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂,其余各步操作相同)、待测样品孔,在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液 $40\mu l$,然后再加待测样品 $10\mu l$ (样品最终稀释度为5倍),加样将样品加于酶标板孔底部,尽量不触及孔壁,轻轻晃动混匀;3.加酶:每孔加入酶标试剂 $100\mu l$,空白孔除外;4.温育:用封板膜封板后置 $37^{\circ}C$ 温育60分钟;5.配液:将20倍浓缩洗涤液用蒸馏水20倍稀释后备用;6.洗涤:小心揭掉封板膜,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液,静置30秒后弃去,如此重复5次,拍干;7.显色:每孔先加入显色剂A $50\mu l$,再加入显色剂B $50\mu l$,轻轻震荡混匀, $37^{\circ}C$ 避光显色15分钟;8.终止:每孔加终止液 $50\mu l$,终止反应(此时蓝色立转黄色);9.测定:以空白孔调零,450nm波长依序测量各孔的吸光度(OD值),测定应在加终止液后15分钟以内进行;

(5) 统计分析:所有数据使用($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS19.0统计分析,组间使用t检验,各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义;

(6) 得出结论:高盐可是小鼠血压升高,Vk2表达下降,并且Vk2阻滞高盐诱导的小鼠血压升高及且具有保护内皮细胞因子的作用,VK2防治高血压病的功能。

2. 根据权利要求1所述的维生素k2的降压作用,其特征在于:所述小鼠的饲养饲料为:1、8%高盐饲料:代码(LAD0011HF8)购买自南通特洛菲饲料科技有限公司(生产许可证号:苏饲证(2014)06092),经南通市迈克尔辐照有限公司(辐照安全许可证:国环辐证[00048])辐照灭菌(灭菌批号:19072705);2、8%高盐饲料+0.036%维生素k2饲料:购买自南通特洛菲饲料科技有限公司(生产许可证号:苏饲证(2014)06092),经南通市迈克尔辐照有限公司(辐照安全许可证:国环辐证[00048])辐照灭菌(灭菌批号:19072705);维生素k2购买自卫材(中国)药业有限公司(进口药品注册证号:H20100462)。

维生素k2的降压作用

技术领域

[0001] 本发明涉及降血压药品领域,特别涉及一种维生素k2的降压作用。

背景技术

[0002] 高血压病是一种以动脉压升高为特征伴有心、脑、肾和血管等靶器官损害为主要特征的全身性疾病。研究发现,高血压已成为我国中风、脑血栓、冠心病等心脑血管疾病发病和死亡的主要危险因素。因此,控制高血压病的发生发展及有效防治高血压病已成为亟待解决的重要课题。血管内皮细胞损伤在高血压病的发生发展中具有重要的作用。血管内皮细胞损伤常可引起平滑肌细胞增殖、血管重构和炎症等病理过程,进而形成内皮细胞功能障碍。例如:高血压诱导的血管内皮细胞功能失调,破坏其一氧化氮(NO)、内皮素(ET)等相关细胞因子的分泌稳态,诱导血管收缩加强,从而增加了循环阻力,促进高血压的发展。

[0003] 肠道菌群代谢产物维生素K2,主要由肠道内细菌合成,与肠道菌群平衡密切相关。维生素族K包括天然的VK1、VK2和人工合成的VK3、VK4,维生素家族成员均具有将蛋白中 γ -谷氨酸残基羧化为 γ -羧基谷氨酸残基的作用。研究认为,VK2具有抗炎、抗血管平滑肌细胞凋亡以及阻断血管钙化等作用,与多种心血管疾病有关。此前,维生素K2与高血压病的关系并未有人研究和报道过。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是提供一种维生素k2的降压作用,旨在保护VK2防治高血压病的功能。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供以下的技术方案:

[0006] 该维生素k2的降压作用包括选取实验动物:SPF级C57BL/6J小鼠,雄性,体质量 $23 \pm 2g$,购买自广州中医药大学实验动物中心(实验单位许可证号:SYXK(粤)2017-0174), (小鼠许可证号:SCXK(粤)2018-0034),予以自由饮食和饮水10天后,开始实验。

[0007] 该维生素k2的降压证明方法包括如下步骤:

[0008] (1) 动物分组:将野生型C57BL/6小鼠按照随机数表分组法分为正常组,高盐组,高盐+VK2组,每组8只;

[0009] (2) 模型构建:野生型C57BL/6小鼠,8%高盐诱导4周复制高盐诱导的高血压小鼠模型;

[0010] (3) 尾动脉测压法,观察小鼠血压变化:每周下午同一时间通过Blood Pressure 2000对所有小鼠的血压进行测量,取平均10次测量均值;

[0011] (4) 酶联免疫吸附实验法(ELISA)检测相关细胞因子NO、VEGF、Ang I、ET-1的表达:实验开始4周后,杀鼠,取血清,检测。操作步骤方法按照试剂盒说明书进行1. 标准品的加样:设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品 $50\mu L$;2. 加样:分别设空白孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂,其余各步操作相同)、待测样品孔,在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液 $40\mu l$,然后再加待测样品 $10\mu l$ (样品最终稀释度为5倍),加样将样

品加于酶标板孔底部,尽量不触及孔壁,轻轻晃动混匀;3.加酶:每孔加入酶标试剂100 μ l,空白孔除外;4.温育:用封板膜封板后置37 $^{\circ}$ C温育60分钟;5.配液:将20倍浓缩洗涤液用蒸馏水20倍稀释后备用;6.洗涤:小心揭掉封板膜,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液,静置30秒后弃去,如此重复5次,拍干;7.显色:每孔先加入显色剂A50 μ l,再加入显色剂B50 μ l,轻轻震荡混匀,37 $^{\circ}$ C避光显色15分钟;8.终止:每孔加终止液50 μ l,终止反应(此时蓝色立转黄色);9.测定:以空白孔调零,450nm波长依序测量各孔的吸光度(OD值),测定应在加终止液后15分钟以内进行;

[0012] (5) 统计分析:所有数据使用($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS19.0统计分析,组间使用t检验,各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义;

[0013] (6) 得出结论:高盐可是小鼠血压升高,Vk2表达下降,并且Vk2阻滞高盐诱导的小鼠血压升高及且具有保护内皮细胞因子的作用,Vk2防治高血压病的功能。

[0014] 优选的,所述小鼠的饲养饲料为:1、8%高盐饲料:代码(LAD0011HF8)购买自南通特洛菲饲料科技有限公司(生产许可证号:苏饲证(2014)06092),经南通市迈克尔辐照有限公司(辐照安全许可证:国环辐证[00048])辐照灭菌(灭菌批号:19072705);2、8%高盐饲料+0.036%维生素k2饲料:购买自南通特洛菲饲料科技有限公司(生产许可证号:苏饲证(2014)06092),经南通市迈克尔辐照有限公司(辐照安全许可证:国环辐证[00048])辐照灭菌(灭菌批号:19072705);维生素k2购买自卫材(中国)药业有限公司(进口药品注册证号:H20100462)。

[0015] 采用以上技术方案的有益效果是:此前,维生素K2与高血压病的关系并未有人报道过,肠道菌群代谢产物维生素K2,主要由肠道内细菌合成,与肠道菌群平衡密切相关。维生素族K包括天然的VK1、VK2和人工合成的VK3、VK4,维生素家族成员均具有将蛋白中 γ -谷氨酸残基羧化为 γ -羧基谷氨酸残基的作用。研究认为,VK2具有抗炎、抗血管平滑肌细胞凋亡以及阻断血管钙化等作用,与多种心血管疾病有关。该维生素k2的降压作用有力地证明了维生素K2具有防治高血压病的功能。

附图说明

[0016] 下面结合附图对本发明的具体实施方式作进一步详细的描述。

[0017] 图1是收缩血压值的变化图(* $P < 0.05$,** $P < 0.01$);

[0018] 图2是NO的变化图(* $P < 0.05$,** $P < 0.01$);

[0019] 图3是ANGI的变化图(* $P < 0.05$,** $P < 0.01$);

[0020] 图4是VEGF的变化图(* $P < 0.05$,** $P < 0.01$);

[0021] 图5是ET-1的变化图(* $P < 0.05$,** $P < 0.01$);

[0022] 图6是VK2的变化图(* $P < 0.05$,** $P < 0.01$)。

具体实施方式

[0023] 下面结合附图说明本发明维生素k2的降压作用的优选实施方式。

[0024] 图1至图6出示本发明维生素k2的降压作用的具体实施方式:

[0025] 该维生素k2的降压作用包括选取实验动物:SPF级C57BL/6J小鼠,雄性,体质量23 \pm 2g,购买自广州中医药大学实验动物中心(实验单位许可证号:SYXK(粤)2017-0174), (小

鼠许可证号:SCXK(粤)2018-0034),予以自由饮食和饮水10天后,开始实验。

[0026] 小鼠的饲养饲料为:1、8%高盐饲料:代码(LAD0011HF8)购买自南通特洛菲饲料科技有限公司(生产许可证号:苏饲证(2014)06092),经南通市迈克尔辐照有限公司(辐照安全许可证:国环辐证[00048])辐照灭菌(灭菌批号:19072705);2、8%高盐饲料+0.036%维生素k2饲料:购买自南通特洛菲饲料科技有限公司(生产许可证号:苏饲证(2014)06092),经南通市迈克尔辐照有限公司(辐照安全许可证:国环辐证[00048])辐照灭菌(灭菌批号:19072705);维生素k2购买自卫材(中国)药业有限公司(进口药品注册证号:H20100462)。

[0027] 该维生素k2的降压证明方法包括如下步骤:

[0028] (1) 动物分组:将野生型C57BL/6小鼠按照随机数表分组法分为正常组,高盐组,高盐+VK2组,每组8只;

[0029] (2) 模型构建:野生型C57BL/6小鼠,8%高盐诱导4周复制高盐诱导的高血压小鼠模型;

[0030] (3) 尾动脉测压法,观察小鼠血压变化:每周下午同一时间通过Blood Pressure 2000对所有小鼠的血压进行测量,取平均10次测量均值;

[0031] (4) 酶联免疫吸附实验法(ELISA)检测相关细胞因子NO、VEGF、Ang I、ET-1的表达:实验开始4周后,杀鼠,取血清,检测。操作步骤方法按照试剂盒说明书进行1.标准品的加样:设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品50 μ L;2.加样:分别设空白孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂,其余各步操作相同)、待测样品孔,在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液40 μ L,然后再加待测样品10 μ L(样品最终稀释度为5倍),加样将样品加于酶标板孔底部,尽量不触及孔壁,轻轻晃动混匀;3.加酶:每孔加入酶标试剂100 μ L,空白孔除外;4.温育:用封板膜封板后置37 $^{\circ}$ C温育60分钟;5.配液:将20倍浓缩洗涤液用蒸馏水20倍稀释后备用;6.洗涤:小心揭掉封板膜,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液,静置30秒后弃去,如此重复5次,拍干;7.显色:每孔先加入显色剂A50 μ L,再加入显色剂B50 μ L,轻轻震荡混匀,37 $^{\circ}$ C避光显色15分钟;8.终止:每孔加终止液50 μ L,终止反应(此时蓝色立转黄色);9.测定:以空白孔调零,450nm波长依序测量各孔的吸光度(OD值),测定应在加终止液后15分钟以内进行;

[0032] (5) 统计分析:所有数据使用($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS19.0统计分析,组间使用t检验,各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义,实验结果如图1至图6所示;

[0033] (6) 得出结论:高盐可是小鼠血压升高,Vk2表达下降,并且Vk2阻滞高盐诱导的小鼠血压升高及且具有保护内皮细胞因子的作用,Vk2防治高血压病的功能。

[0034] 以上的仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明创造构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。

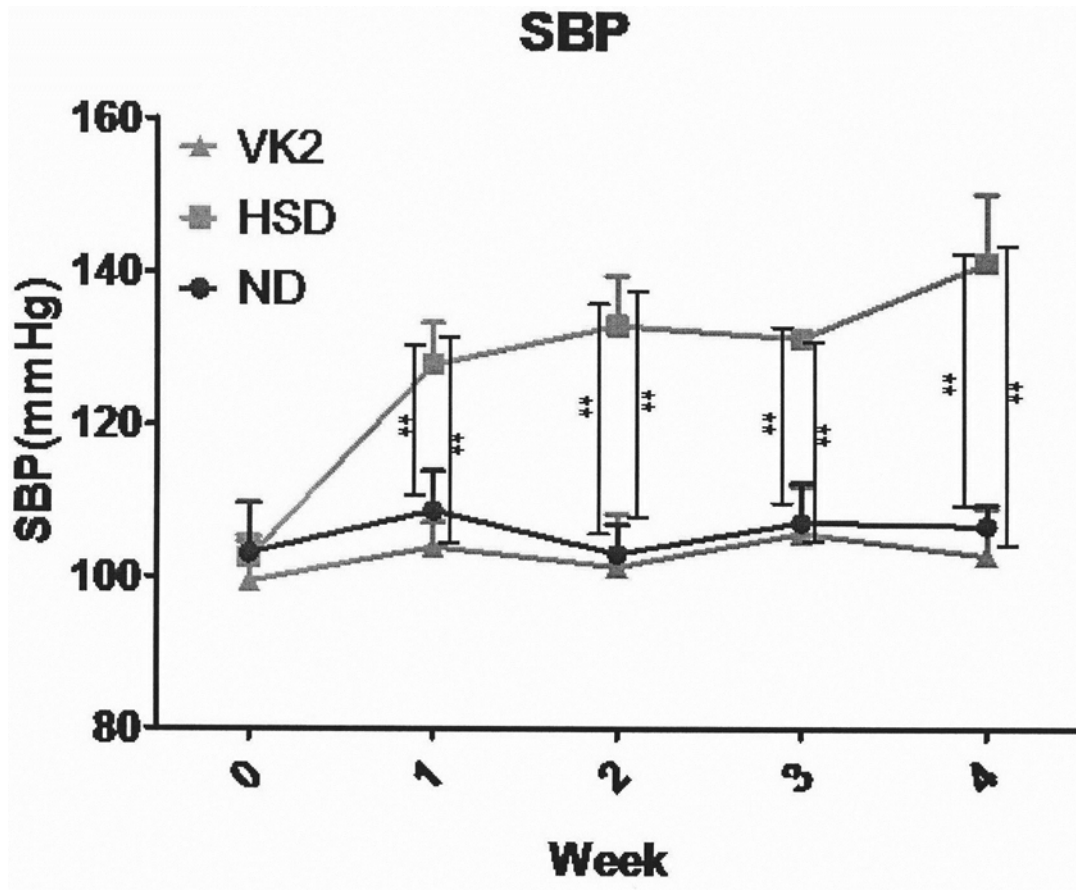


图1

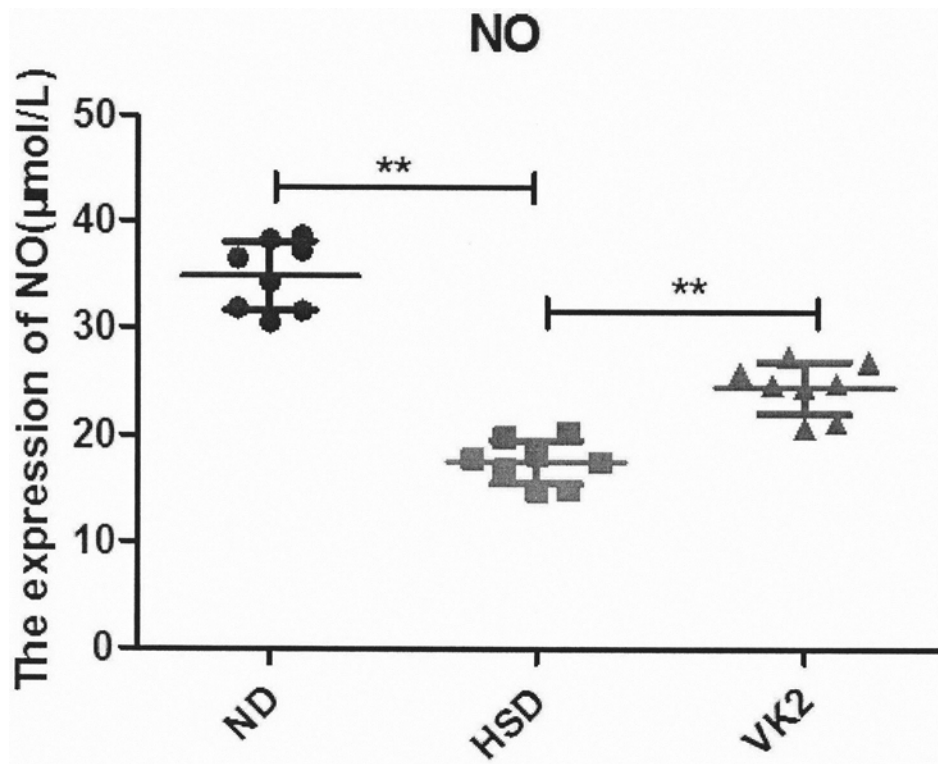


图2

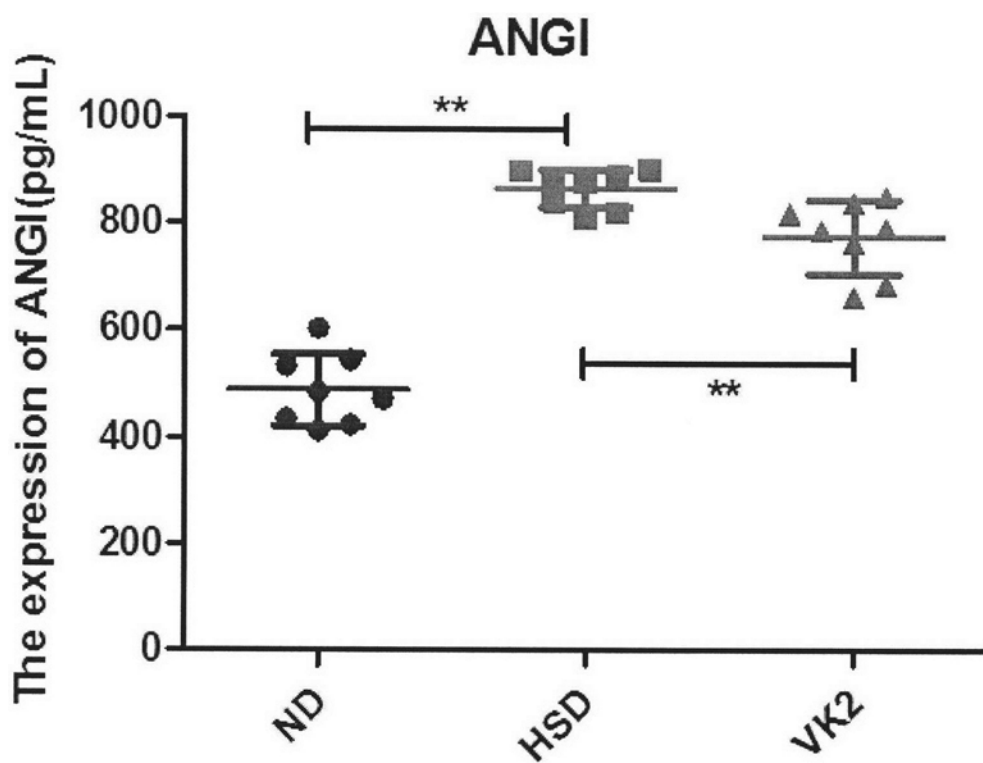


图3

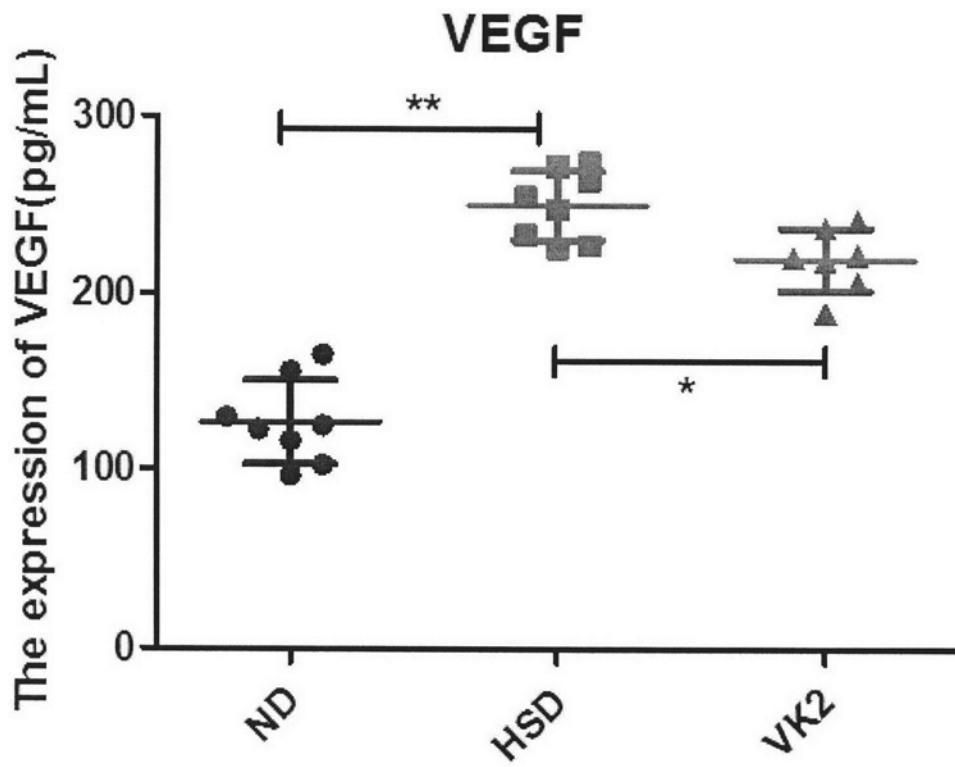


图4

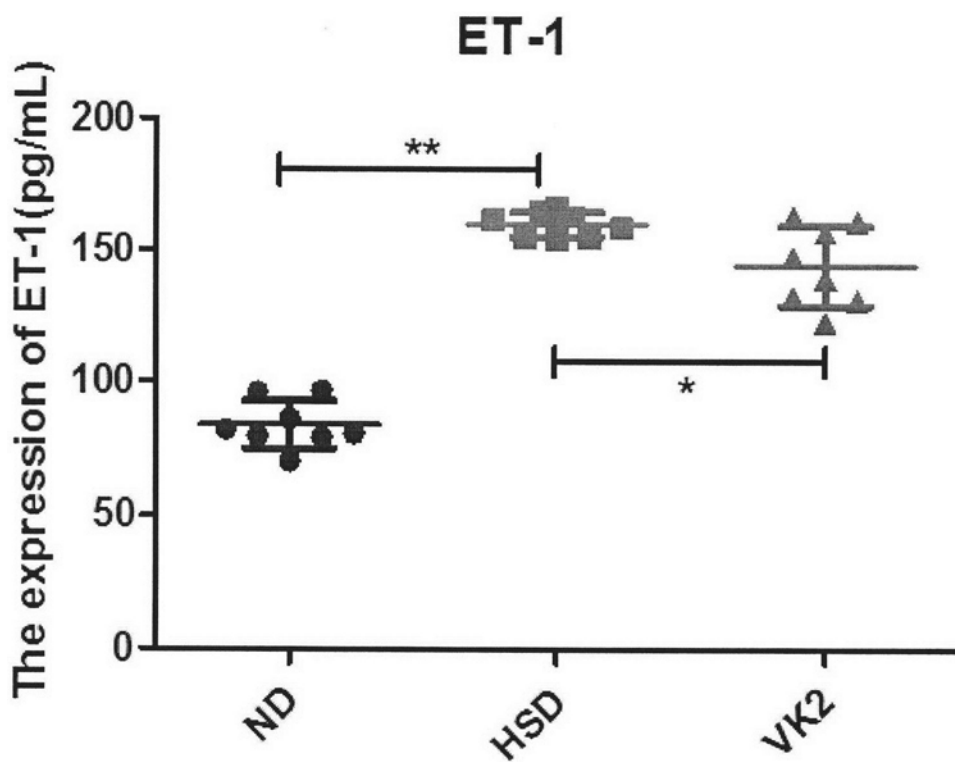


图5

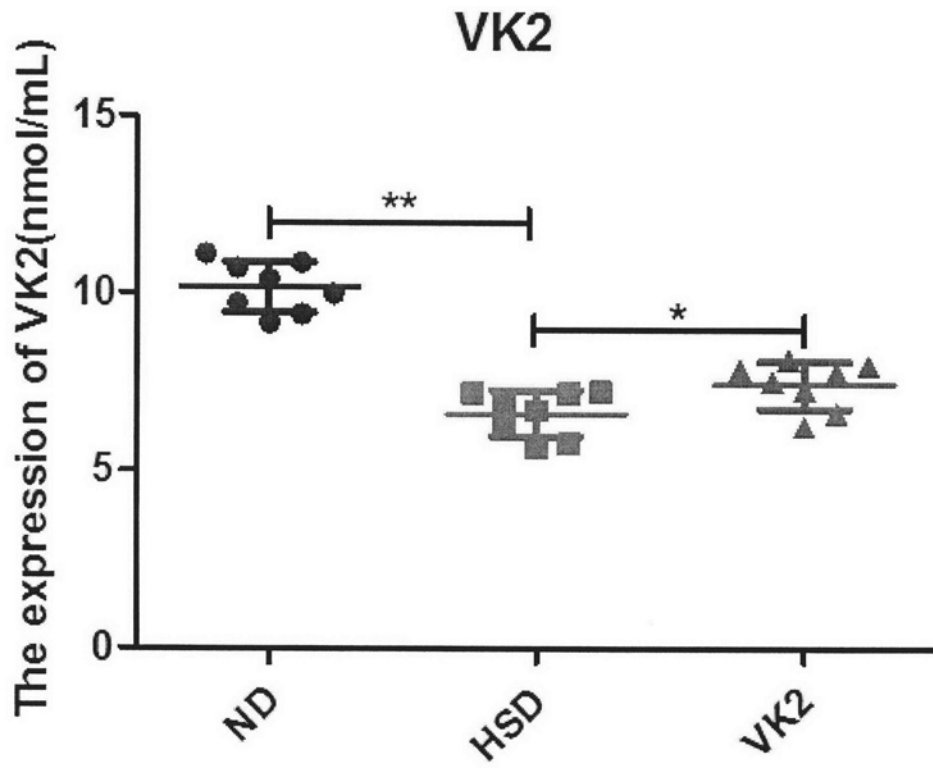


图6

专利名称(译)	维生素k2的降压作用		
公开(公告)号	CN110898045A	公开(公告)日	2020-03-24
申请号	CN201911137791.1	申请日	2019-11-11
[标]申请(专利权)人(译)	暨南大学		
申请(专利权)人(译)	暨南大学		
当前申请(专利权)人(译)	暨南大学		
[标]发明人	陈利国 刘天浩 陈伟豪 陈旭东 肖雅		
发明人	陈利国 刘天浩 陶文聪 陈伟豪 陈旭东 梁秋儿 肖雅		
IPC分类号	A61K31/122 A61P9/12 A61K49/00 G01N33/68 G01N33/535		
CPC分类号	A61K31/122 A61K49/0008 A61P9/12 G01N33/535 G01N33/6863 G01N2500/00		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种维生素k2的降压作用，涉及降血压药品领域，肠道菌群代谢产物维生素K2，主要由肠道内细菌合成，与肠道菌群平衡密切相关。维生素族K包括天然的VK1、VK2和人工合成的VK3、VK4，维生素家族成员均具有将蛋白中γ-谷氨酸残基羧化为γ-羧基谷氨酸残基的作用。研究认为，VK2具有抗炎、抗血管平滑肌细胞凋亡以及阻断血管钙化等作用，与多种心血管疾病有关。该维生素k2的降压作用有力地证明了维生素K2具有防治高血压病的功能。

