



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102225095 A

(43) 申请公布日 2011.10.26

(21) 申请号 201110172515.6

(22) 申请日 2011.06.23

(71) 申请人 上海中医药大学

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技园
区蔡伦路 1200 号

(72) 发明人 王峥涛 杨莉 祁萌 季光

(74) 专利代理机构 上海海颂知识产权代理事务
所(普通合伙) 31258

代理人 何葆芳

(51) Int. Cl.

A61K 36/68(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 9/12(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 3 页

(54) 发明名称

一种车前子有效部位及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种车前子有效部位及其制备方法和应用。所述的车前子有效部位是由车前子乙醇提取物经过大孔树脂分离纯化得到,含有车前素 A 和麦角甾苷,且车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 1 ~ 1 : 5,两者重量之和占有效部位总重量的 40 ~ 80%。本发明得到的车前子有效部位可以促进胰岛素分泌,降低空腹血糖,同时可有效降低动物血压值,降低血清中血管紧张素 II 的含量,显示出良好的治疗糖尿病和高血压的药用价值,可单一或与药学上可接受的药物载体组成的组合物应用于制备治疗糖尿病和 / 或高血压药物制剂中。

1. 一种车前子有效部位,其特征在于:由车前子乙醇提取物经过大孔树脂分离纯化得到,含有车前素 A 和麦角甾苷,且车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 1 ~ 1 : 5,两者重量之和占有有效部位总重量的 40 ~ 80%。

2. 根据权利要求 1 所述的车前子有效部位,其特征在于:所述的车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 2 ~ 1 : 4,两者重量之和占有有效部位总重量的 50 ~ 70%。

3. 根据权利要求 1 所述的车前子有效部位,其特征在于:所述的车前子乙醇提取物为车前子经过 2 ~ 6 倍体积的体积分数为 60 ~ 90% 的乙醇水溶液回流提取 2 ~ 6 次得到的提取物。

4. 根据权利要求 3 所述的车前子有效部位,其特征在于:所述的车前子乙醇提取物为车前子经过 3 ~ 5 倍体积的体积分数为 70 ~ 80% 的乙醇水溶液回流提取 3 ~ 5 次得到的提取物。

5. 一种权利要求 1 所述的车前子有效部位的制备方法,其特征在于,包括如下具体步骤:

a) 将车前子用 2 ~ 6 倍体积的体积分数为 60 ~ 90% 的乙醇水溶液回流提取 2 ~ 6 次,收集提取液,过滤、浓缩干溶剂;

b) 将步骤 a) 制备的浓缩提取液用 5 : 1 ~ 1 : 5 的重量 / 体积比的水稀释得到的混悬水溶液加入 HPD-100 大孔树脂柱,再用体积分数为 20 ~ 60% 的乙醇水溶液进行洗脱,收集洗脱液,浓缩干溶剂。

6. 根据权利要求 5 所述的车前子有效部位的制备方法,其特征在于,包括如下具体步骤:

a) 将车前子用 3 ~ 5 倍体积的体积分数为 70 ~ 80% 的乙醇水溶液回流提取 3 ~ 5 次,收集提取液,过滤、浓缩干溶剂;

b) 将步骤 a) 制备的浓缩提取液用 3 : 1 ~ 1 : 3 的重量 / 体积比的水稀释得到的混悬水溶液加入 HPD-100 大孔树脂柱,再用体积分数为 30 ~ 50% 的乙醇水溶液进行洗脱,收集洗脱液,浓缩干溶剂。

7. 根据权利要求 5 所述的车前子有效部位的制备方法,其特征在于:所述的车前子为车前科植物车前和 / 或平车前的干燥成熟种子。

8. 根据权利要求 5 所述的车前子有效部位的制备方法,其特征在于:所述的车前子粉碎成直径小于或等于 6mm 的颗粒。

9. 权利要求 1 至 8 中任一项所述的车前子有效部位在制备治疗糖尿病和 / 或高血压药物制剂中的应用。

10. 权利要求 1 至 8 中任一项所述的车前子有效部位与药学上可接受的药物载体组成的组合物在制备治疗糖尿病和 / 或高血压药物制剂中的应用。

一种车前子有效部位及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种车前子有效部位及其制备方法和应用,具体说,是涉及一种用于治疗糖尿病和高血压的车前子有效部位及其制备方法和在制备糖尿病和高血压药物中的应用,属于中药技术领域。

背景技术

[0002] 当前,糖尿病和高血压已成为严重危害现代人类健康的慢性疾病,其发病原因和机理目前并不是十分清楚,但有一点是比较公认的,即高血压和糖尿病均是多原因的慢性终身性疾病,是体内几个系统代谢发生紊乱的结果。目前用于治疗糖尿病和高血压的药物主要是化学合成药物,这些药物对糖尿病和高血压具有一定的治疗作用,但同时也伴随着许多副作用,如消化道的不良反应、血脂和血糖水平的异常、心率过缓以及咳嗽哮喘、一定的器官毒性等。同时,由于糖尿病和高血压的发生往往是相关的,需要长期跟踪治疗,这样就给予政府和患者以巨大的精神和物质压力。因此,从中药中寻找治疗糖尿病和高血压的新办法,将会产生良好的社会效益和经济效益。

[0003] 车前子为常用中药,《中国药典》(2010 版)以车前科车前属植物车前 *Plantago asiatica* L. 或平车前 *Plantago depressa* Willd. 的干燥成熟种子作为车前子的基源,具有清热利尿,渗湿通淋,明目祛痰等功效,传统上用于治疗急性肾小球肾炎、哮喘和黄疸性肝炎等。车前子也可配伍其他中药使用,例如复方龙胆泻肝汤中配伍车前子起到清热利湿的作用。但目前还没有关于车前子提取物用于治疗糖尿病和高血压的有效部位及其制备方法的相关报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种用于治疗糖尿病和高血压的车前子有效部位及其制备方法和其在制备糖尿病和高血压药物中的应用。

[0005] 本发明所述的车前子有效部位,是车前子乙醇提取物经过大孔树脂分离纯化得到,含有车前素 A 和麦角甾苷,且车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 1 ~ 1 : 5,两者重量之和占有有效部位总重量的 40 ~ 80%。

[0006] 进一步,所述的车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 2 ~ 1 : 4,两者重量之和占有有效部位总重量的 50 ~ 70%。

[0007] 所述的车前子乙醇提取物推荐为车前子经过 2 ~ 6 倍体积的体积分数为 60 ~ 90% 的乙醇水溶液回流提取 2 ~ 6 次得到的提取物;优选为车前子经过 3 ~ 5 倍体积的体积分数为 70 ~ 80% 的乙醇水溶液回流提取 3 ~ 5 次得到的提取物。

[0008] 所述的车前子有效部位的制备方法,包括如下具体步骤:

[0009] a) 将车前子用 2 ~ 6 倍(优选 3 ~ 5 倍)体积的体积分数为 60 ~ 90% (优选 70 ~ 80%) 的乙醇水溶液回流提取 2 ~ 6 次(优选 3 ~ 5 次),收集提取液,过滤、浓缩干溶剂;

[0010] b) 将步骤 a) 制备的浓缩提取液用 5 : 1 ~ 1 : 5 (优选为 3 : 1 ~ 1 : 3) 的重量 / 体积比的水稀释得到的混悬水溶液加入 HPD-100 大孔树脂柱, 再用体积分数为 20 ~ 60% (优选 30 ~ 50%) 的乙醇水溶液进行洗脱, 收集洗脱液, 浓缩干溶剂。

[0011] 所述的车前子推荐为车前科植物车前 (*Plantago asiatica* L.) 和 / 或平车前 (*Plantago depressa* Willd.) 的干燥成熟种子。

[0012] 所述的车前子推荐粉碎成直径小于或等于 6mm 的颗粒。

[0013] 所述的车前子有效部位在制备治疗糖尿病和 / 或高血压药物制剂中的应用。

[0014] 所述的车前子有效部位与药学上可接受的药物载体组成的组合物在制备治疗糖尿病和 / 或高血压药物制剂中的应用。

[0015] 所述的药物制剂形式可以是任何可药用的剂型, 这些剂型包括: 片剂、糖衣片剂、薄膜衣片剂、肠溶衣片剂、胶囊剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、口服液、口含剂、颗粒剂、冲剂、丸剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、粉剂、溶液剂、注射剂、栓剂、软膏剂、硬膏剂、霜剂、喷雾剂、滴剂、贴剂; 优选口服剂型, 如: 胶囊剂、片剂、口服液、颗粒剂、丸剂、散剂、丹剂、膏剂等。所述的口服剂型可含有常用的赋形剂, 诸如粘合剂、填充剂、稀释剂、压片剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、调味剂和湿润剂, 必要时可对片剂进行包衣。适宜的填充剂包括纤维素、甘露糖醇、乳糖和其它类似的填充剂; 适宜的崩解剂包括淀粉、聚乙烯吡咯烷酮和淀粉衍生物, 例如羟基乙酸淀粉钠; 适宜的润滑剂包括, 例如硬脂酸镁。适宜的药物可接受的湿润剂包括十二烷基硫酸钠。

[0016] 本发明得到的车前子有效部位可以促进胰岛素分泌, 降低空腹血糖, 同时可有效降低动物血压值, 降低血清中血管紧张素 II 的含量, 显示出良好的治疗糖尿病和高血压的药用价值。

附图说明

[0017] 图 1 为本发明得到的车前子有效部位在正离子模式下得到的指纹图谱。

[0018] 图 2 为本发明得到的车前子有效部位在正离子模式下得到的质谱图。

[0019] 图 3 为车前素 A 的化学结构式图。

[0020] 图 4 为本发明得到的车前子有效部位在负离子模式下得到的指纹图谱。

[0021] 图 5 为本发明得到的车前子有效部位在负离子模式下得到的质谱图。

[0022] 图 6 为麦角甾苷的化学结构式图。

具体实施方式

[0023] 下面结合实施例对本发明做进一步详细、完整的说明。

[0024] 实施例 1

[0025] 将车前子粉碎成平均直径为 4mm 的颗粒, 过筛, 用 4 倍体积的体积分数为 75% 的乙醇水溶液回流提取 4 次, 收集提取液, 过滤、浓缩干溶剂;

[0026] 用 1 : 1 重量 / 体积比的水稀释上述浓缩提取液, 得到混悬水溶液;

[0027] 将得到的混悬水溶液加入 HPD-100 大孔树脂柱, 用体积分数为 40% 的乙醇水溶液进行洗脱, 收集洗脱液, 浓缩干溶剂, 即得车前子有效部位。

[0028] 称取制得的车前子有效部位样品适量, 用 0.1% (V : V) 甲酸的水溶液与甲醇按

体积比为 90 : 10 混合的溶液溶解在容量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1mL 溶液含 1g 样品, 并利用超高效液相色谱 - 质谱联用仪 (UPLC-MS) 进行指纹图谱分析, 分析条件如下:

[0029] 色谱条件: Waters, Acquity UPLC BEH C₁₈ (50×2.1mm) 色谱柱; 流动相 A 相为含 0.1% (V : V) 甲酸的水溶液; 流动相 B 相为甲醇; 流速为 0.3min; 柱温为 40℃; 进样量为 2 μL; 检测模式为正负离子全扫描监测。

[0030] 质谱条件: 采用电喷雾离子源, 正离子全扫描检测模式进行数据采集时, 离子源温度为 120℃; 去溶剂温度为 300℃; 氮气为去溶剂和锥孔气, 流速分别为 500L/h 和 50L/h; 毛细管电压为 2.2 千伏; 锥孔电压为 23 伏。负离子全扫描检测模式进行数据采集时, 离子源温度为 120℃; 去溶剂温度为 300℃; 氮气为去溶剂和锥孔气, 流速分别为 500L/h 和 50L/h; 毛细管电压为 2.5 千伏; 锥孔电压为 32 伏。

[0031] 图 1 为得到的车前子有效部位在正离子模式下得到的指纹图谱, 图 2 为得到的车前子有效部位在正离子模式下得到的质谱图; 结合图 1 和图 2 可见: 得到的车前子有效部位中含有车前素 A (其化学结构式图见图 3 所示)。

[0032] 图 4 为得到的车前子有效部位在负离子模式下得到的指纹图谱, 图 5 为得到的车前子有效部位在负离子模式下得到的质谱图; 结合图 4 和图 5 可见: 得到的车前子有效部位中含有麦角甾苷 (其化学结构式图见图 6 所示)。

[0033] 另外, 分析测得本实施例制备的车前子有效部位中含有的车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 3, 两者重量之和占有效部位总重量的 60%。

[0034] 实施例 2

[0035] 将车前子粉碎成平均直径为 1mm 的颗粒, 过筛, 用 3 倍体积的体积分数为 60% 的乙醇水溶液回流提取 5 次, 收集提取液, 过滤、浓缩干溶剂;

[0036] 用 1 : 3 重量 / 体积比的水稀释上述浓缩提取液, 得到混悬水溶液;

[0037] 将得到的混悬水溶液加入 HPD-100 大孔树脂柱, 用体积分数为 50% 的乙醇水溶液进行洗脱, 收集洗脱液, 浓缩干溶剂, 即得车前子有效部位。

[0038] 经分析得知: 本实施例所制备的车前子有效部位中含有的车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 2, 两者重量之和占有效部位总重量的 50%。

[0039] 实施例 3

[0040] 将车前子粉碎成平均直径为 6mm 的颗粒, 过筛, 用 5 倍体积的体积分数为 80% 的乙醇水溶液回流提取 3 次, 收集提取液, 过滤、浓缩干溶剂;

[0041] 用 1 : 2 重量 / 体积比的水稀释上述浓缩提取液, 得到混悬水溶液;

[0042] 将得到的混悬水溶液加入 HPD-100 大孔树脂柱, 用体积分数为 30% 的乙醇水溶液进行洗脱, 收集洗脱液, 浓缩干溶剂, 即得车前子有效部位。

[0043] 经分析得知: 本实施例所制备的车前子有效部位中含有的车前素 A 与麦角甾苷的重量之比为 1 : 4, 两者重量之和占有效部位总重量的 70%。

[0044] 实施例 4

[0045] 选用健康雄性小鼠, (22±2)g, 随机分为正常组和造模组, 造模组腹腔注射链脲佐菌素 150mg/kg, 48h 后剪尾测随机血糖, 筛选血糖值超过 10.1mmol/l 的小鼠进入实验, 并分为模型组和给药组。给药组每日给药车前子有效部位 90mg/kg。连续口服灌胃给药 4 周, 给药结束后, 测定小鼠血清胰岛素和空腹血糖值。实验数据进行方差分析, 结果以 $x \pm s$ 表示。

[0046] 表 1 车前子有效部位对 I 型糖尿病小鼠的降糖作用

[0047]

	剂量 (mg/kg)	血清胰岛素含量 (IU/mL)	空腹血糖值 (mmol/L)
正常组		24.56 ± 4.21	5.31 ± 0.27
模型组		13.50 ± 2.22 ^{###}	29.94 ± 5.18 ^{###}
给药组	90, po	17.38 ± 2.68 ^{**}	22.02 ± 8.51 [*]

[0048] 注：^{###}P < 0.001, 与正常组相比；*P < 0.05, **P < 0.01, 与模型组相比。

[0049] 由表 1 可见：与正常组相比，模型组小鼠空腹血糖值显著升高，说明 I 型糖尿病模型造模成功。与模型组相比，车前子有效部位具有显著的升高血清中胰岛素含量和降低空腹血糖的作用，显示出了良好的治疗糖尿病的作用。

[0050] 实施例 5

[0051] 选用原发性高血压大鼠 (SHR), (200 ± 20)g, 随机分为模型组和给药组。给药组每日给药车前子有效部位 45mg/kg。连续口服灌胃给药 2 周，给药结束后，测定 SHR 大鼠血压值和血管紧张素 II 水平。实验数据进行方差分析，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

[0052] 表 2 车前子有效部位对原发性高血压大鼠的降压作用

[0053]

	剂量 (mg/kg)	血压值 (mmHg)	血管紧张素 II 含量 (pg/mL)
模型组		231.13 ± 4.89	2811.43 ± 3309.49
给药组	45, po	213.68 ± 5.19 ^{***}	1041.95 ± 227.36 [*]

[0054] 注：^{*}P < 0.05, ^{***}P < 0.001, 与模型组相比。

[0055] 由表 2 可见：与模型组相比，车前子有效部位具有显著的降低血压值和血清中血管紧张素 II 含量的作用，显示出了良好的治疗高血压的作用。

[0056] 实施例 6

[0057] 选用健康雄性 wistar 大鼠, (200 ± 20)g, 随机分为正常组和高脂组 (88% 普通饲料 + 10% 猪油 + 2% 胆固醇), 高脂组腹腔注射链脲佐菌素 35mg/kg, 五天后剪尾测随机血糖, 筛选血糖值超过 16.7mmol/l 的大鼠进入实验, 并分为模型组、给药组 1 (车前子粗产物组) 和给药组 2 (车前子有效部位组)。给药组 1 每日给药车前子粗产物 150mg/kg, 给药组 2 每日给药车前子有效部位 45mg/kg。连续口服灌胃给药 4 周, 给药结束后, 测定大鼠血糖值、血清胰岛素水平、血压值和血管紧张素 II 水平。实验数据进行方差分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

[0058] 表 3 车前子有效部位对 II 型糖尿病结合高血压大鼠的降糖和降压作用

[0059]

	剂 量 (mg/kg)	血清胰岛素含 量(IU/mL)	空腹血糖值 (mmol/L)	血压值 (mmHg)	血管紧张素 II 含量 (pg/mL)
正常组		44.48±12.51	10.12±0.67	191.00±15.35	995.90±205.17
模型组		17.85±3.78 ^{###}	26.21±1.61 ^{###}	213.37±15.77 ^{##}	1008.94±294.98
给药组 1	150, <i>po</i>	25.31±5.52 ^{**}	25.17±5.55	193.44±13.06 [*]	719.71±331.60
给药组 2	45, <i>po</i>	25.45±5.03 ^{**}	24.93±2.04	182.89±23.08 ^{**}	631.63±75.68 ^{**}

[0060] 注：^{##}P < 0.01, ^{###}P < 0.001, 与正常组相比；^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01, 与模型组相比。其中给药组 1 为车前子粗产物组, 给药组 2 为车前子有效部位组。

[0061] 由表 3 可见：与正常组相比, 模型组大鼠空腹血糖值和血压值均显著升高, 说明 II 型糖尿病结合高血压模型造模成功。同时, 与模型组相比, 车前子有效部位具有显著的升高血清中胰岛素含量、降低大鼠血糖值, 以及降低血压值和血清中血管紧张素 II 含量的作用, 显示出了良好的治疗糖尿病和高血压的作用, 且药效比车前子粗产物更好。

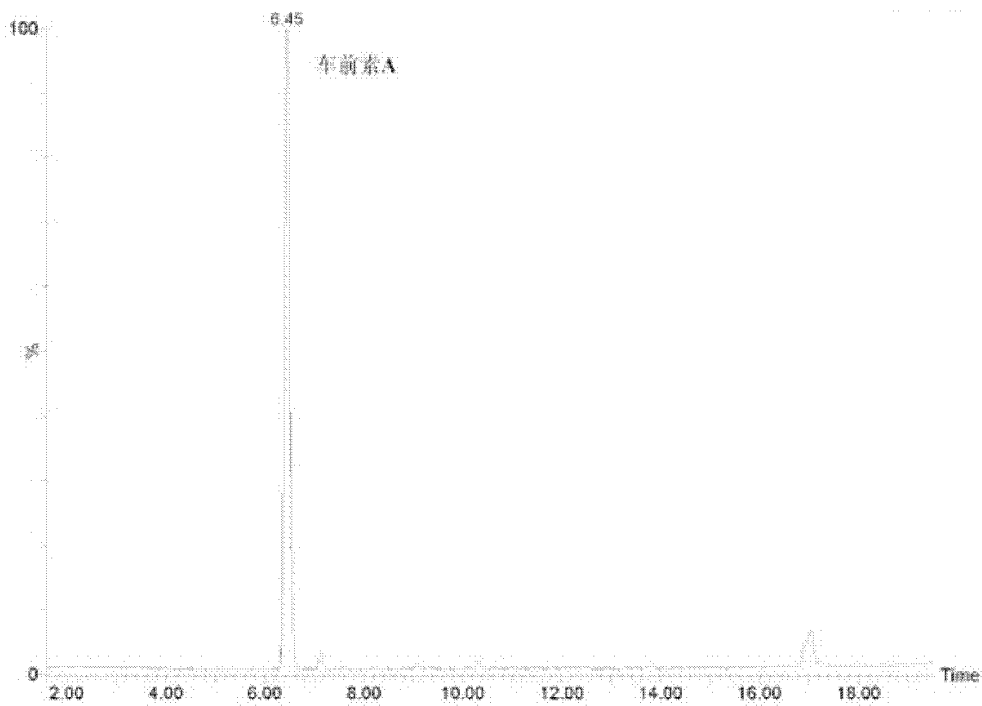


图 1

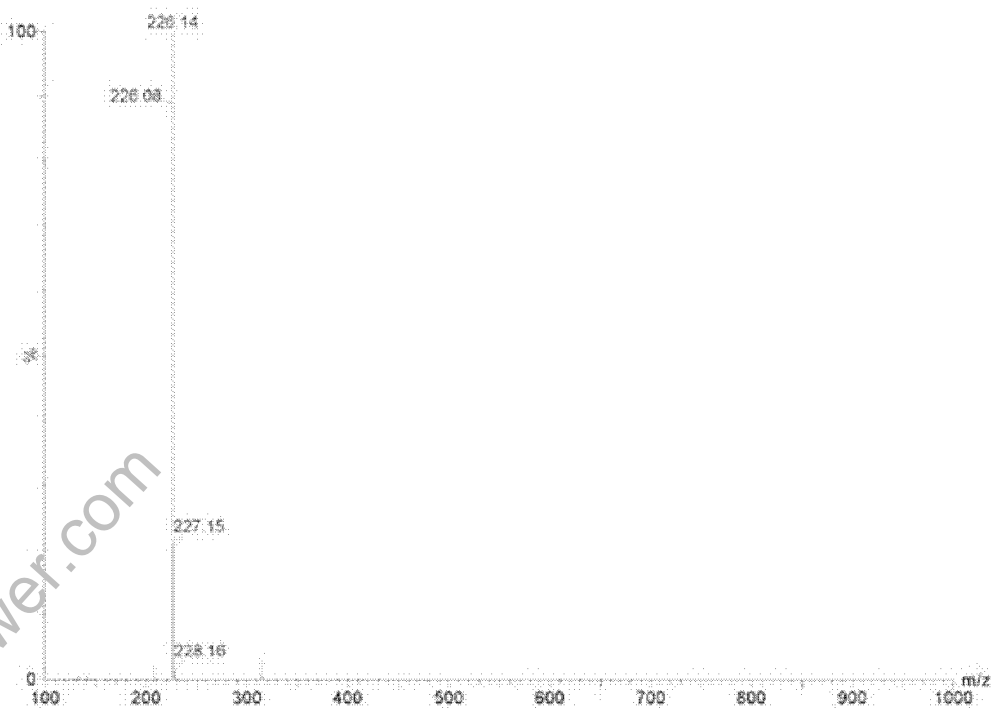


图 2

www.patviewer.com

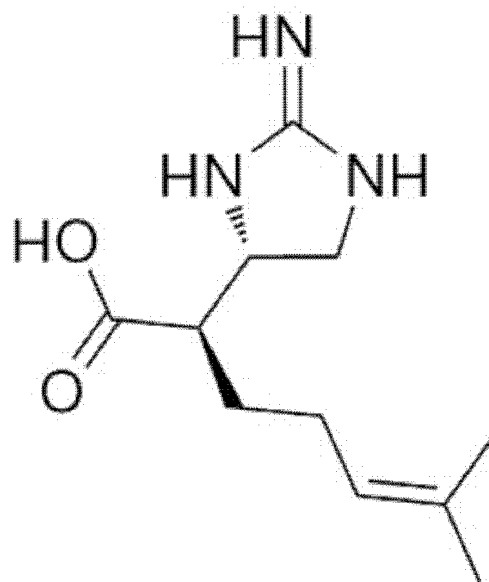


图 3

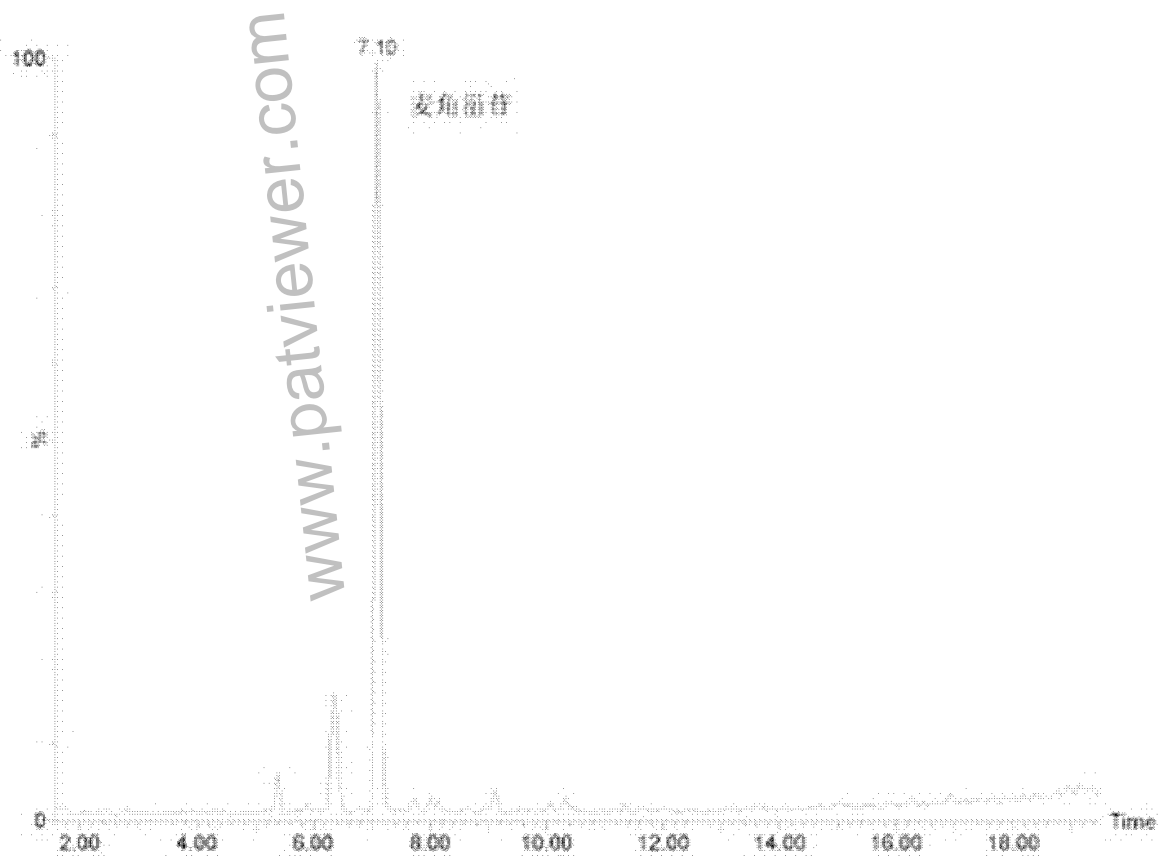


图 4

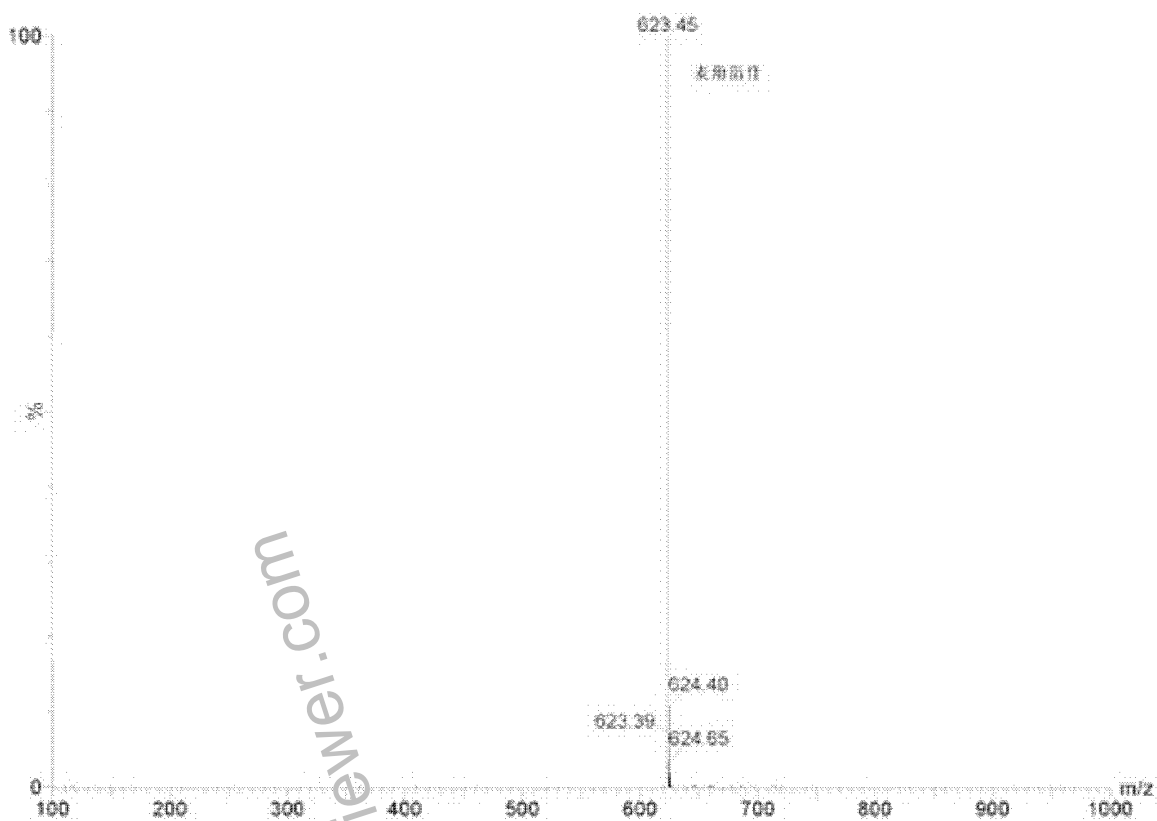


图 5

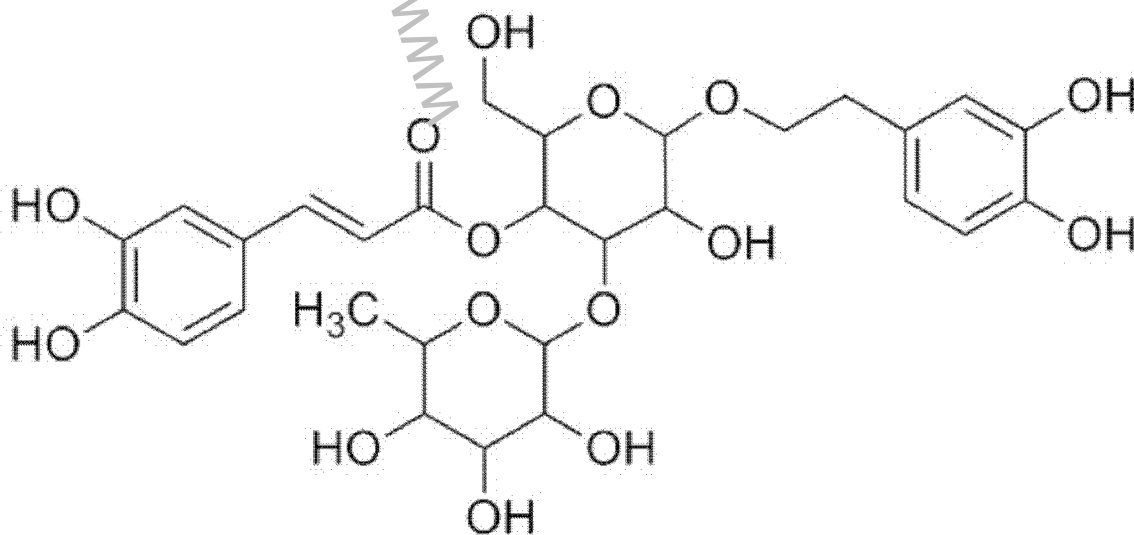


图 6