

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03136427.6

[51] Int. Cl.

A61K 31/365 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009年7月15日

[11] 授权公告号 CN 100512812C

[22] 申请日 2003.5.19 [21] 申请号 03136427.6

[30] 优先权

[32] 2003.3.14 [33] KR [31] 2003-16220

[73] 专利权人 佰内恩株式会社

地址 韩国釜山市

共同专利权人 李白天 姜在璿

[72] 发明人 姜在璿 金益焕 丁世荣 孙哲勋

金源硕 朴裕寿

[56] 参考文献

KR20020030416A 2002.4.25

重齿毛当归化学成分的研究. 柳江华, 陈玉萍, 徐绥绪, 姚新生, 谭严. 中草药, 第6期. 1996

审查员 孟晋东

[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

代理人 王学强

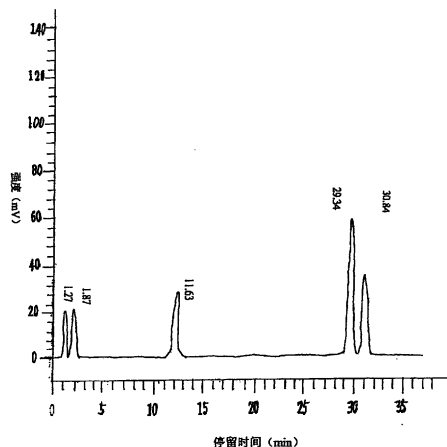
权利要求书2页 说明书15页 附图7页

[54] 发明名称

从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法

[57] 摘要

本发明涉及一种从韩国当归提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法, 前述的提取方法以原产地为韩国的韩国当归(Angelicagigas, Nakai)作为原料, 从中提取可以减轻肾脏毒性、抑制属于糖尿合并症的肾衰竭症、以及对糖尿性高血压发挥疗效的韩国当归提取物, 然后制造出含有前述韩国当归提取物的食品及药剂学组合物。为了实现前述目的, 本发明把作为原料的韩国当归粉碎成细小块, 在粉碎后的韩国当归里添加乙醇, 然后通过温差、溶解度差异、超声波器或冷浸法等方式从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯。



1. 一种从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，包括下列步骤：

把韩国当归粉碎成 40 网目以下的细块，使其干燥到水分含量不到 5%的状态，在粉碎后的韩国当归上添加相当于韩国当归的 2~4 倍量的乙醇，振荡提取 12 小时后过滤并定量的步骤；把前述过滤·定量后的乙醇分离物在零下 20℃的环境下放置 20 小时，利用温差使难溶于乙醇的物质沉淀并过滤后提取乙醇分离物的步骤；在 80℃的环境下使前述乙醇分离物的乙醇蒸发并回收其余固体成分的步骤。

2. 一种从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，包括下列步骤：

把韩国当归粉碎成 40 网目以下的细块，使其干燥到水分含量不到 5%的状态，在粉碎后的韩国当归上添加相当于韩国当归的 2~4 倍量的乙醇，振荡提取 12 小时后过滤并定量的步骤；在 80℃的环境下使前述过滤·定量后的乙醇分离物的乙醇蒸发并回收其余固体成分的步骤；在回收的固体成分添加 2 倍量的乙醇并加以溶解，然后通过超声波处理进一步溶解的步骤；过滤前述溶解物并收取乙醇层，然后添加含有 tween 80 0.05%的水溶液且前述水溶液的量相当于乙醇量的 20 倍，收取沉淀物质后使其干燥并除去水分的步骤。

3. 一种从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，包括下列步骤：

把韩国当归粉碎成 40 网目以下的细块，使其干燥到水分含量不到 5%的状态，在粉碎后的韩国当归上添加相当于韩国当归的 2~4 倍量的乙醇，振荡提取 12 小时，在提取过程中使用超声波器进行两次 10 分钟超声波处理的步骤；在 80℃的环境下使通过前述超声波处理提取、过滤·定量后的乙醇分离物的乙醇蒸发并回收其余固体成分的步骤。

4. 一种从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，包括下列步骤：

把韩国当归粉碎成 40 网目以下的细块，使其干燥到水分含量不到 5%的状态，在粉碎后的韩国当归上添加相当于韩国当归的 2~4 倍量的乙醇，振荡冷浸并在四天时间内加以提取的步骤；过滤前述提取物并收取乙醇层，然后在 80℃的环境下使乙醇蒸发并回收半固相残留物质的步骤。

从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法

技术领域

本发明涉及一种从韩国当归提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，前述的提取方法以原产地为韩国的韩国当归 (*Angelica gigas*, Nakai) 作为原料，从中提取可以减轻肾脏毒性、抑制属于糖尿合并症的肾衰竭症、以及对糖尿性高血压发挥疗效的韩国当归提取物，然后制造出含有前述韩国当归提取物的食品及药剂学组合物。

背景技术

一般，蛋白激酶 C(PKC) 是为了开发包括最近抗癌物 (carcinostatic substance) 的几种生理活性物质而成为主要目标的酶。PKC 是在动物里有 10 几种的 isoenzymes，参与把荷尔蒙或生长因子等的第一次外部信号传达到细胞内的一系列信号传递过程里担当制造并调整细胞内第二次信号的重要任务。同时 PKC 非正常地活性化在许多癌细胞里，披露强烈的致癌物质佛波醇化合物在细胞内的收容体为 PKC 的事实后，活跃了通过调整 PKC 的抗癌物开发。

美国的 BMS 公司在开发的 bryostatin 是被公开为活性化 PKC 的物质，这些物质极少量地含有在叫苔藓虫的原生动物里，并存在从海

洋采取等的缺点，至今为止还没有化学合成而产业活用困难的状态。本研究者等在 G7 课题的第二阶段研究期间通过 3 年的研究发现了具有跟 bryostatin 类似活性的物质紫花前胡素以及紫花前胡素肉桂酯，曾经阐明过这些的性质与 bryostatin 类似（科学技术部课题编号 M1-98-08-00-0021 有用 PKC 激动剂(紫花前胡素类)）。这些物质与 bryostatin 比较有从植物体抽提的优点，植物体内的含量为 3-7%而相当高的优点，分子量小且可化学合成的优点，而且相对地毒性小的优点等由此判断为比 bryostatin 优秀。为了这些物质的早期产业化应尽快地进行为大量生产工程的开发和产业化的基础技术开发。

本研究者等披露的与 bryostatin 类似性质的紫花前胡素类是虽然性质上与 bryostatin 类似，但具有毒性很少、分子量小而可化学合成、从植物抽提的情况下也充分地能生产等的好多优点。而且根据研究结果紫花前胡素类是作为白血病治疗剂以及肾毒性减轻剂的效能非常优秀，特别是对因糖尿病的肾损伤和重金属或药物的滥用的肾毒性的减轻效果优秀。这些肾保护效果是在先进国家也还没有报告出来的新的结果，而目前为止还没有形成世界性的市场，但作为今后的世界性的肾保护剂其市场性非常大。

如果作为紫花前胡素类的白血病治疗剂以及肾毒性减轻剂的效能成为产业化时白血病的治疗效果是会给癌患者带来新的希望，考虑患肾衰竭症的许多患者一生因肾透析而受苦以及因透析而所需的许多社会、个人的费用时紫花前胡素的肾保护效果是增进糖尿病患者的健康，预防因重金属污染以及药物滥用的肾损伤，并通过这些可大大

地贡献于福利社会。

本发明涉及一种从韩国当归提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，前述的提取方法以原产地为韩国的韩国当归 (*Angelica gigas*, Nakai) 作为原料，从中提取可以减轻肾脏毒性、抑制属于糖尿合并症的肾衰竭症、以及对糖尿性高血压发挥疗效的韩国当归提取物，然后制造出含有前述韩国当归提取物的食品及药剂学组合物。

当归的原产地是韩国，其使用范围是补血剂而以韩方药剂来利用，最近报告为韩国产特有物质的紫花前胡素和主要成分 Decursinol 具有改善血流作用和 *Helicobacter* 作用。本发明者等阐明的纯粹精制的紫花前胡素具有肾毒性抑制和对糖尿并发症的肾衰竭症的预防效果通过动物实验证明了 (PCT/KR99/00632)。而且比现有的方法简单并可大量确保抽提量的浓缩方法来制造，制造成液体后给实验动物以口服服用时能确认在肠内容易地吸收。目前为止紫花前胡素以及紫花前胡素肉桂酯是结构异构体来被广知，本研究者等一直研究了其作用并确立了其分析法。紫花前胡素是在室温里以固体状态存在而紫花前胡素肉桂酯是在零下 20 度也以液体状态存在，本研究者等的分析结果是确认了在当归里紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的比率为约 3:2。

而且，口服服用后经过吸收代谢成紫花前胡素在血液内存在，所以用口服服用的结果是这些成分容易吸收在活体内。用现有的酒精抽提方法或 70%酒精抽提方法抽提的当归紫花前胡素是占浓缩液的 35%左右其量不超过 50%，但本研究者的结果是当使用 99%以上的乙

醇以及药典酒精时其浓缩的含有量高而达到最大含有 75%以上的结果,特别是开发其含有量中把紫花前胡素肉桂酯和紫花前胡素分离确定的方法而就知道准确的含量。

发明内容

本发明的目的是,鉴于当归提取浓缩物中含有的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯可以通过口服方式轻易地被人体吸收的事实,为了制造含有可减轻肾脏毒性、抑制属于糖尿合并症的肾衰竭症、以及对糖尿性高血压发挥疗效的口服性韩国当归提取物的食品及药剂学组合物,提供一种比现有提取方法更有效地从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的新提取方法。

为了实现前述目的,本发明把作为原料的韩国当归粉碎成细小块,在粉碎后的韩国当归里添加乙醇,然后通过温差、溶解度差异、超声波器或冷浸法等方式从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯。

此外,抽提浓缩当归里含有的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯,使对糖尿性高血压以及肾毒性减轻上有效能而成人一日服用量为包含 100mg 至 500mg 紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯为特点。

附图说明

图1是从当归抽提物里分析的紫花前胡素以及紫花前胡素肉桂酯的结果用色谱图表示的示意图。RT=29.34 是指紫花前胡素,RT=30.84 是指紫花前胡素肉桂酯,其比例为 3:2。

图 2 是紫花前胡素的含量检测实验结果, Decursin : RT = 7.84。

图 3 是紫花前胡素的含量检测实验结果, Decursinol : RT = 1.87。

图 4 是标准 Decursinol 的 HPLC 图。

图 5 是对照组在 0 hr 的 HPLC 图。

图 6 是服用 1 小时后的 HPLC 图。

图 7 是服用 2 小时后的 HPLC 图。

图 8 是服用 4 小时后的 HPLC 图。

图 9 是服用 8 小时后的 HPLC 图。

图 10 显示了紫花前胡素对 LLC-PK1 细胞的 cisplatin 毒性的抑制效果。

图 11 显示了不同 PKC 激活剂对 cisplatin 引起的肾损伤的效果。

图 12 显示了紫花前胡素对 cisplatin 引起的 LLC-PK1 细胞凋零的抑制效果, A) 是对照组, B) 是 Cisplatin (CDDP)处理组, C) 是紫花前胡素处理组 D) 是把 Cisplatin 和紫花前胡素同时处理的组。

具体实施方式

下面, 根据附图详细地说明本发明的内容。

在以下的实验例子里, 例证了从当归抽提紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法和分析结果。另外例证了以口服服用为目的制药抽提浓缩物并吸收后分析血液的结果。还例证了有关抽提浓缩物的效能。

实施例 1 高含量的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯浓缩物的制造方法

1)、利用温度差的抽提方法

从当归分离浓缩紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，且利用韩国产以及北朝鲜产的当归实施实验。为制备食品用料，使用了药典酒精以及酒精乙醇并使用精制水。把当归原料以 40 目以下细地粉碎并干燥成水分含量为 5%以下后，用药典酒精或酒精乙醇（以下为乙醇）浸泡，添加当归的 2 倍到 4 倍后在摇动的状态下常温里抽提 12 小时并过滤。这种情况的浓缩物里含有的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的含量为 37.7%。而且紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯作为当归原料显示了 3.92%。把这些乙醇分离物在-20℃放置 20 小时以上，并利用温度差对乙醇溶解性低的物质沉淀过滤。把这些分离物紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯浓缩到 38.1%。浓缩这些分离物并在温度为 80℃以上蒸发乙醇回收剩下的固体物。分析这些回收物的结果是，紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯为 64.24%，而具备了相当高的高含量。

2)、例证利用溶解度差的抽提方法

从当归分离浓缩紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，且利用韩国产以及北朝鲜产的当归实施实验。为食品用而使用了药典酒精以及酒精乙醇并使用水时使用了精制水。把当归原料以 40mesh 以下细地粉碎并干燥成水分含量为 5%以下后用药典酒精或酒精乙醇（以下为乙醇）浸泡，并添加当归的 2 倍到 4 倍在摇动的状态下而且常温抽提 12 小时并过滤。把过滤的乙醇在温度为 80 度以上蒸发并回收剩下的固体物。向回收物放入 2 倍左右的乙醇后，溶解并超声波处理来补充溶解。把这些过滤后取得乙醇层添加大量（约乙醇的 20 倍）的水溶液（0.05% tween 80）而收取沉淀的物质。这是利用了目的主成分

紫花前胡素或紫花前胡素肉桂酯对乙醇溶解而对水不溶解的性质。把这些收取物干燥并消除水分后分析含量的结果是，含有了 76.71%的紫花前胡素或紫花前胡素肉桂酯。这是与一般的抽提里含有 30%左右的紫花前胡素或紫花前胡素肉桂酯比较时判断为相当的浓缩物。

3)、例证利用超声波的方法

从当归分离浓缩紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，且利用韩国产以及北朝鲜产的当归实施实验。为使用为食品用而使用了药典酒精以及酒精乙醇。把当归原料以 40mesh 以下细地粉碎并干燥成水分含量为 5%以下后，把乙醇添加到当归的 2 倍到 4 倍并摇动的状态下在常温里抽提 12 小时，在这操作过程中利用超声波以 10 分钟 2 次以上进行超声波处理。把这些过滤后过滤的乙醇层在温度为 80 度以上蒸发并回收剩下的固体物。把这收取物的含量分析的结果是，从当归里可抽提 9%以上的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯。这是比现有的当归里不处理超声波的抽提方法抽提 2 倍左右多的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的结果而浓缩物里显示了 88%。

4)、例证利用冷浸的抽提方法

从当归分离浓缩紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的方法，且利用韩国产以及北朝鲜产的当归实施实验。为使用为食品用而使用了药典酒精以及酒精乙醇。把当归原料以 40mesh 以下细地粉碎并干燥成水分含量为 5%以下后把乙醇添加到当归的 2 倍到 4 倍并摇动的状态下四天冷浸后抽提。此外为利用为比较数据实施了用加热抽提的方法。把这抽提物过滤后收取乙醇层并把这乙醇层在 80 度的温度里挥发乙

醇且收取剩下的半固体状态的残留物，分析的结果是经过加热抽提的情况是紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的含量为 38%而四天冷浸的情况是收取了 59.39%。

实施例 2 以液体剂制药后在溶液里的稳定性实验和口服服用后的分析血液实验

1)、溶解（乳化液形态）

紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的抽提物是不溶解在水里并在 60%乙醇里的溶解度为 6.6mg/ml 左右，所以引进了高容量来液体化时析出并使溶解的制药技术而均匀化。为了均匀的含量（含量的均匀性）用乙醇一次性地完全溶解后用液体剂来溶解。把 100mg 紫花前胡素在 1ml 的酒精里溶解后制药的水溶液里使乳化，这制药的水溶液的组成与如下的例示一样。把这些以口服服用的目的稀释水溶液（3.3gram tween80, 120gram HPMC, D-sorbitol 1.2kg, 柠檬酸 30gram, Sucrarose 2.4gram, 木糖醇 2.4kg）制成液体剂。其中柠檬酸是为维持酸性条件，也可使用其它的酸性物质。本研究者等曾经研究过紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯在碱性里分解的性质和酸性条件里稳定的性质，而最终把酸度维持到 pH3.5 左右。

2)、稳定性实验

实验的条件是在 40℃, 70% 相对湿度里按时间检查了含量实验，用分析法使用了高速液体色谱法（HPLC）。分析结果是在加速条件里可维持稳定性。

紫花前胡素 : RT = 7.84, 如图 2 所示。

Decursinol : RT = 1.87, 如图 3 所示。

结果如表 1 所示。

表 1 稳定性实验结果

| 时 间 | 0hr | 1hr | 2hr | 4hr | 8hr | 24hr | 48hr | 7day | 30day |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 含量(%) | 99.66 | 99.60 | 99.42 | 98.91 | 99.17 | 98.52 | 98.55 | 98.12 | 97.17 |

3) 动物实验

(1) 紫花前胡素服用量 (口服服用) : 50mg/kg 鼠

(2) 用组数以及采取时间如表 2 所示。

表 2 用组数以及采取时间

| Time | 0(对照组) | 1hr | 2hr | 4hr | 8hr |
|------|--------|-----|-----|-----|-----|
| 组数 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

*非服用对照组 : 5 条

服用试验组 : 20 条

(3) 紫花前胡素溶液: 紫花前胡素 100mg/ml(乙醇)

(4) 服用: 把 100mg/ml(乙醇)制药化的水溶液里稀释 10 倍使悬浮, 每 200g 鼠服用 1ml。

(5) 分析: 采取血液分离血浆后用 HPLC 分析。

利用实验用鼠按时间采取并确认口服服用的状态。

这是为开发成可口服服用的液体形态, 口服服用溶解的紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯后进行实验, 实验的执行是在 KYUNGSUNG 大学药学院的药理实验室里执行。实验结果的分析是在 BINEX

研究室里进行。一次性地口服服用紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯后，确认是否吸收为分析易于分析的 Decursinol 分离血清后处理 M 乙醇 1ml 取得溶解的上等液并确认实验。

服用量以及服用数如表 3 所示。

表 3 服用量以及服用数

| Time | 0(对照组) | 1hr | 2hr | 4hr | 8hr |
|------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 3 条 | 4 条 | 5 条 | 5 条 | 5 条 |
| 服用量 | 50mg/kg | 50mg/kg | 50mg/kg | 50mg/kg | 50mg/kg |

结果分析：

标准液的制造是把 Decursinol 50mg 溶解在甲醇里并制造 50ml。

HPLC 分析条件是使用 Hitachi HPLC，圆柱是使用 COSMOSIL C18，移动相是使用 MeOH : H₂O = 60 : 40，流速为 1.0ml/min，检出器波长为 280nm。注射体积为 20ul。

标准 Decursinol 如图 4 所示。

对照组在 0 hr 的结果如图 5 所示。

服用 1 小时后的结果如图 6 所示。

服用 2 小时后的结果如图 7 所示。

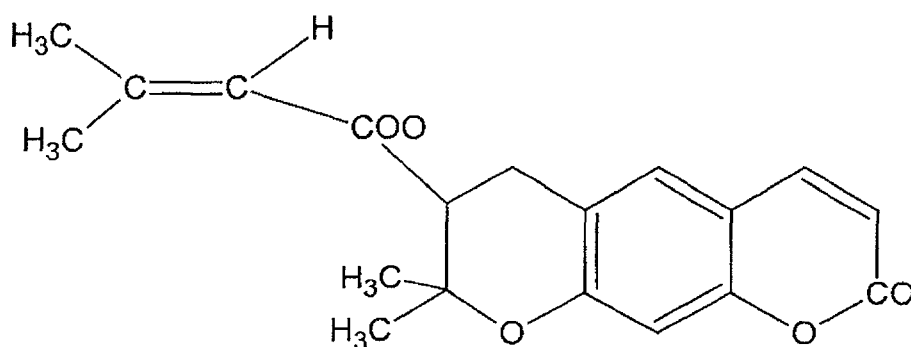
服用 4 小时后的结果如图 8 所示。

服用 8 小时后的结果如图 9 所示。

结果是在 RT 3.24 里分离 Decursinol。吸收紫花前胡素以后在活体内里分解而确认 Decursinol 的分解，Decursinol 自己也几乎无毒性的

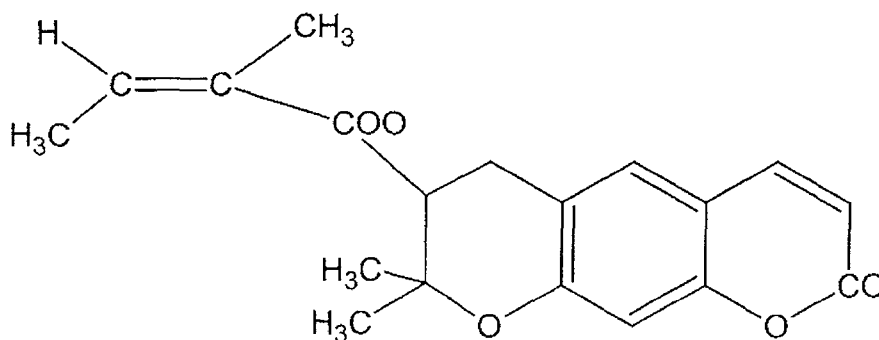
物质可认为不存在因代谢产物的毒性问题。由此确认口服服用后的吸收。

紫花前胡素的结构如式 I 所示。



式 I

紫花前胡素肉桂酯的结构如式 II 所示。



式 II

实施例 3 紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的对糖尿病性疾病的效能实验

糖尿的血管疾病的病因非常复杂，糖尿病的许多代谢变化里高血糖成了引起血管疾病的最重要的因素。高血糖导致的血管平滑肌细胞

(VSMC) 成长的增加引发动脉硬化或高血压。但是与高血糖和血管疾病有联系的信号传达机理还不清楚。高血糖增加甘油二酯(DAG), DAG 的增加而活性化蛋白激酶 C(PKC)途径, 报告为高血糖发生血管疾病。由此认为寻找抑制 PKC 信号途径的物质是治疗或预防糖尿并发症的好方法中的之一。所以在这期间用 PKC 抑制剂研究了许多, 但是 PKC 抑制剂其自己的毒性和无特异性成了问题。

紫花前胡素是作为当归抽提物的 PKC 激动剂, 阻止癌细胞的增殖, 与强力的 PKC 激动剂的佛波酯不同地报告为把活性化的 PKC 更快地下控。所以本实验里对是否被紫花前胡素阻止与其导致体内高葡萄糖导致的 VSMC 的增殖以及其阻止机理进行了研究。

确认根据葡萄糖浓度是否增加血管平滑肌细胞中的 A10 细胞的生长, 为了最佳化高血糖的状态在不同的葡萄糖浓度里培养 A10 细胞。用 1×10^3 细胞/ml 接种到 96 孔平板里, 16 小时后用 5、10、20、30、40、50 mM D-葡萄糖浓度的培养基, 更换 72 小时后用 MTT assay 测定存活细胞数。72 小时后 A10 细胞的增殖是根据葡萄糖浓度的增加而明显地增加。在 50mM D-葡萄糖里的细胞增殖比 5.5 mM D-葡萄糖约增加为 15%。

一般普通葡萄糖是 5.5 mM D-葡萄糖而高葡萄糖是使用了 25 mM D-葡萄糖为较多, 可是为了加大普通葡萄糖与高葡萄糖的差异在本实验里高葡萄糖使用 30 mM D-葡萄糖。用 3×10^3 把 A10 细胞接种到 6 孔平板里, 16 小时以后用 5.5 mM D-葡萄糖和 30 mM D-葡萄糖更换培养基。细胞培养五天, 每天用台盼蓝 (trypan blue) 染色计算存活

细胞数。在高葡萄糖里培养的细胞比在普通葡萄糖里培养的细胞更长时间地显示，结果是在高葡萄糖里的细胞比在普通葡萄糖里的细胞更长为约 20%左右。

为调查在被高葡萄糖导致的 A10 细胞增殖里的紫花前胡素的效果，A10 细胞里处理不同浓度的紫花前胡素（1、5、10、25 mM），三天后计算。把紫花前胡素 25 mM 在普通葡萄糖与高葡萄糖里处理的情况是都比没有处理紫花前胡素的对照组约 20%左右阻止细胞的增殖。可是高葡萄糖里处理 5、25 mM 紫花前胡素的时候无细胞毒性的控制水平来阻止增殖。为了确认紫花前胡素是否有细胞毒性还是阻止细胞的增殖，分别测定活细胞和死细胞的数量。其结果是处理紫花前胡素时候活细胞为 98%以上。总的来说，在普通葡萄糖里处理紫花前胡素时候不影响细胞的生长，而在高葡萄糖里处理的时候无细胞毒性地根据浓度阻止细胞增殖。显示紫花前胡素肉桂酯和 Decursinol tiglate 比紫花前胡素的效果更好。为了再一次确认其效果，在 A10 细胞里处理 1、5、10、25 mM 的紫花前胡素肉桂酯和 Decursinol tiglate 后，经三天以后用台盼蓝计算。紫花前胡素肉桂酯和 Decursinol tiglate 在普通葡萄糖里不影响细胞的生长，而在高葡萄糖里根据浓度阻止细胞增殖。紫花前胡素肉桂酯 25 mM 是在普通葡萄糖，高葡萄糖里都阻止约 20%左右的细胞增殖，但 5 和 10 mM 是在高葡萄糖里无细胞毒性地阻止细胞增殖。Decursinol tiglate 是在普通葡萄糖里物细胞毒性地根据浓度阻止被高葡萄糖导致的细胞增殖。

实施例 4 紫花前胡素的 cisplatin 的肾毒性减轻效果

为了调查根据紫花前胡素的 cisplatin 的肾毒性减轻效果,和 50 μ M 的 cisplatin 一起处理不同浓度的紫花前胡素。24 小时以后调查 LDH 的放出量和确认流动细胞的数量而调查细胞的死亡。如图 10 所示,根据紫花前胡素浓度的增加而增加生存细胞数量。这是通过放出的 LDH 量减少和流动细胞的数量减少来可确认。

为确认这些紫花前胡素的保护效果是否为 PKC 激动剂的效果,使用不同的 PKC 激动剂来确认 cisplatin 的毒性减轻效果。与以肿瘤启动子来认知的 PMA 合成的 DAG,还使用以独特的 PKC 激动剂来认知的 bryostatin 来实验的结果没有观察到 cisplatin(CDDP)的毒性减轻效果。从这些结果可知根据紫花前胡素的 cisplatin 毒性减轻效果是具有与 PKC 激动剂无关的。PKC 是细胞生长上起重要作用的蛋白质而这些结果是提示 cisplatin 的细胞毒性与一般细胞的信号传达过程不同,如图 11 所示。

为确认紫花前胡素的肾细胞保护效果与 FACS 实施电泳现象。利用 DNA 上奇特地结合的 propidium 碘化物实施 FACS 的结果是,得到了抑制被 cisplatin 发生的细胞死亡的结果,电泳细胞内的 DNA 的结果是减小作为凋零标记的 DNA 梯度,如图 12 所示,由此看到紫花前胡素防止 Apoptosis 的结果。

通过如上述的实验结果确认紫花前胡素具有抑制 cisplatin 引起的细胞毒性的效果。而且这些紫花前胡素的活性是跟以 PKC 激动剂来认知的紫花前胡素有所不同的作用引起的。

实施例 5

利用当归浓缩抽提物制药成液体剂而每人一天把 300mg 的紫花前胡素以及紫花前胡素肉桂酯一日一回或者一日三回分量服用的结果是得到患者状态的变化里小便的颜色变为清晰而且小便的臭味消失的结果。还有一日 300mg 服用为一日两回或者三回的结果是导致下泻的现象而得到服用量较多的推测结果。由此判断为一日 300mg 一回或者一日两回 150mg 为好。

以现有的一般提取方法提取时，最终提取物中的紫花前胡素及紫花前胡素肉桂酯含量为 35%左右其量不超过 50%。使用本发明的提取方法在韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯时，最终提取物中的紫花前胡素及紫花前胡素肉桂酯含量为：基于温差的提取方法可以得到 64.24%的含量，基于溶解度差异的提取方法可以得到 76.71%的含量，基于超声波处理的提取方法可以得到 88%的含量，基于冷浸方法的提取方法可以得到 59.39%的含量。由此可见，以韩国当归为主要原料，制造出含有可发挥卓越效果的定量紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯的食品及药剂学组合物时，本发明的提取方法可以非常有效地从韩国当归中提取紫花前胡素和紫花前胡素肉桂酯。

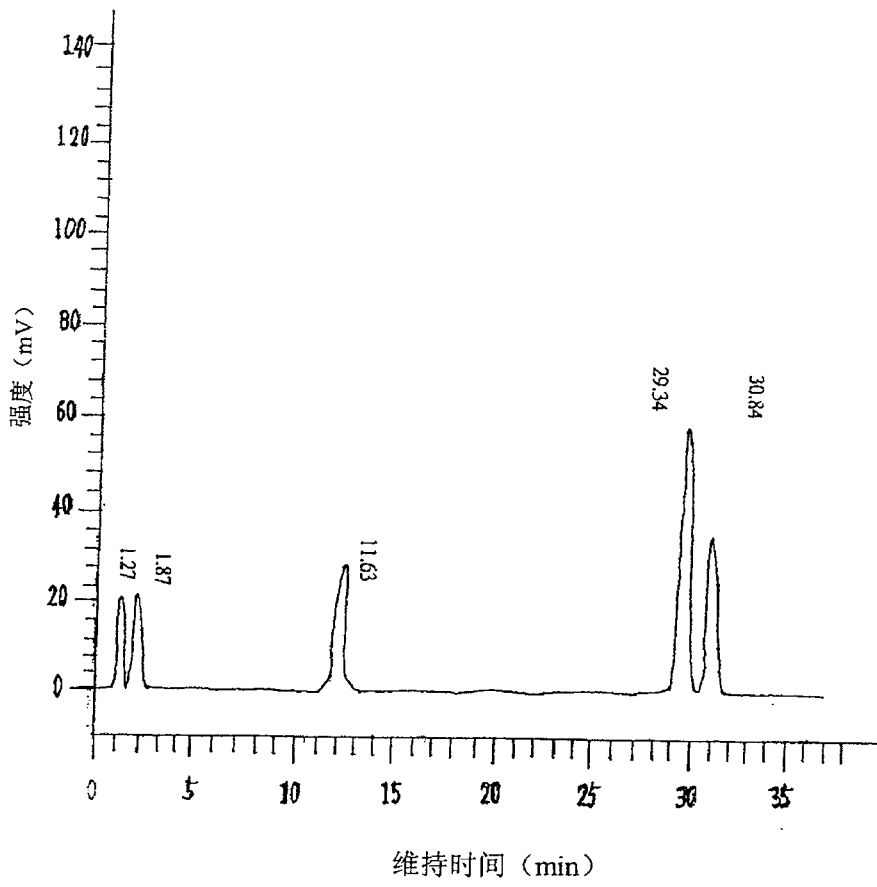


图 1

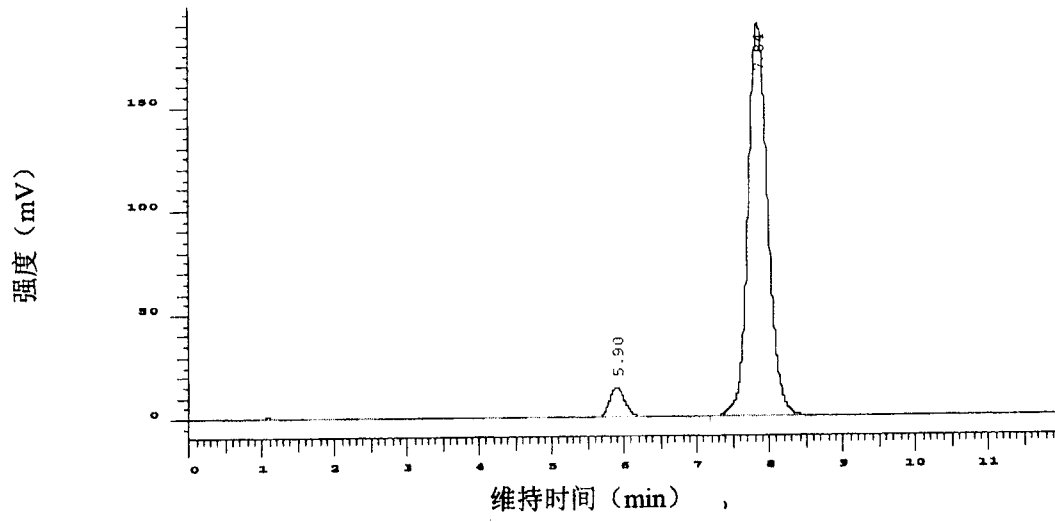


图 2

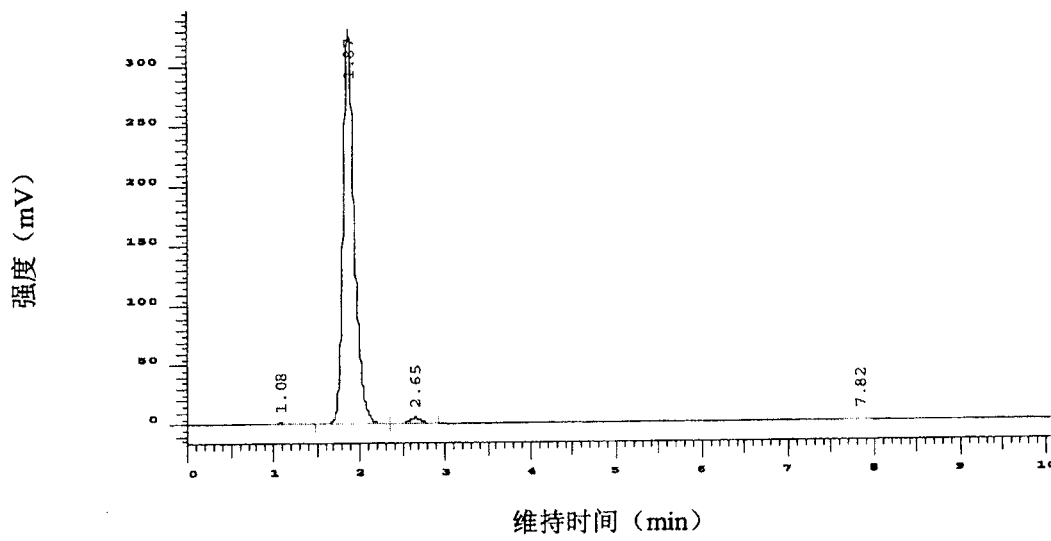


图 3

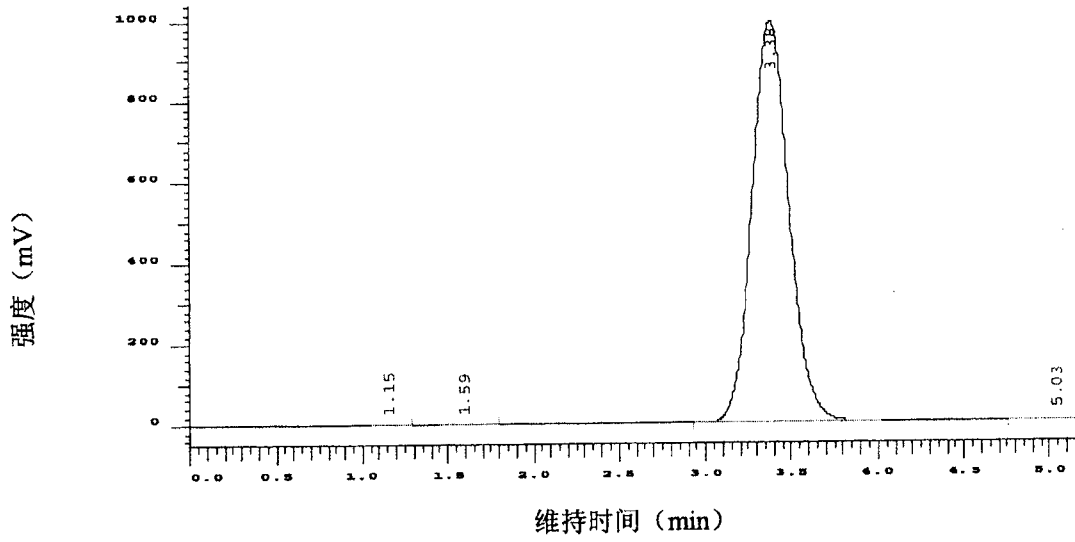


图 4

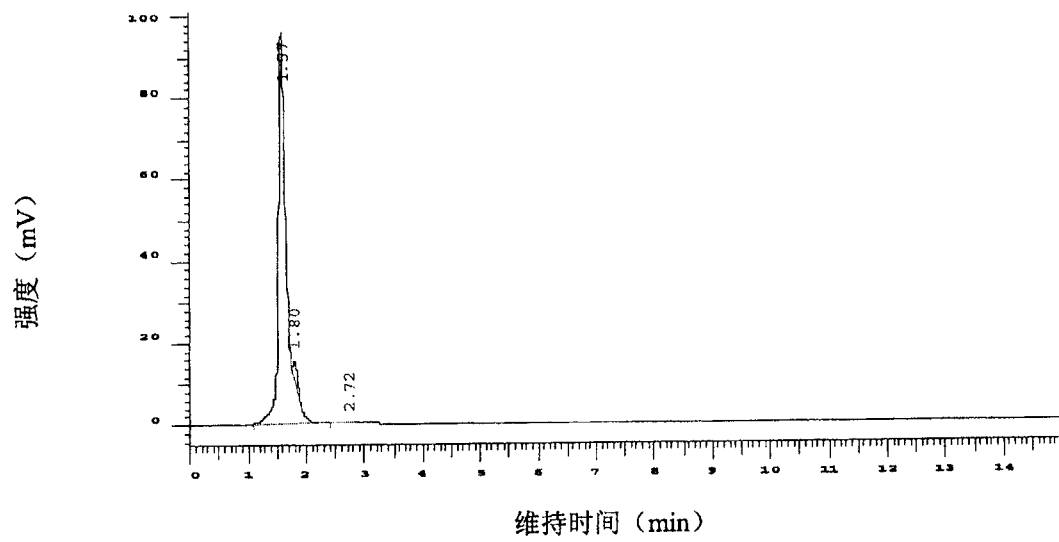


图 5

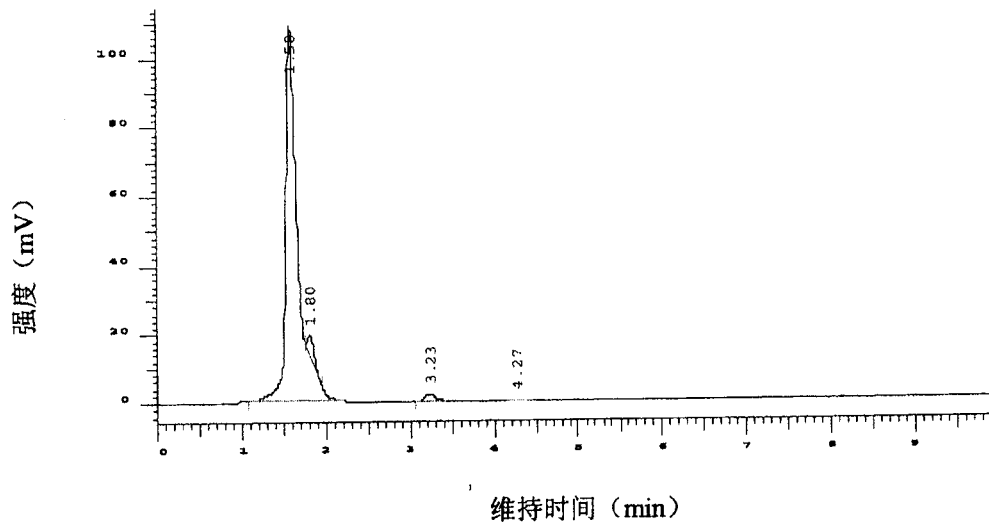


图 6

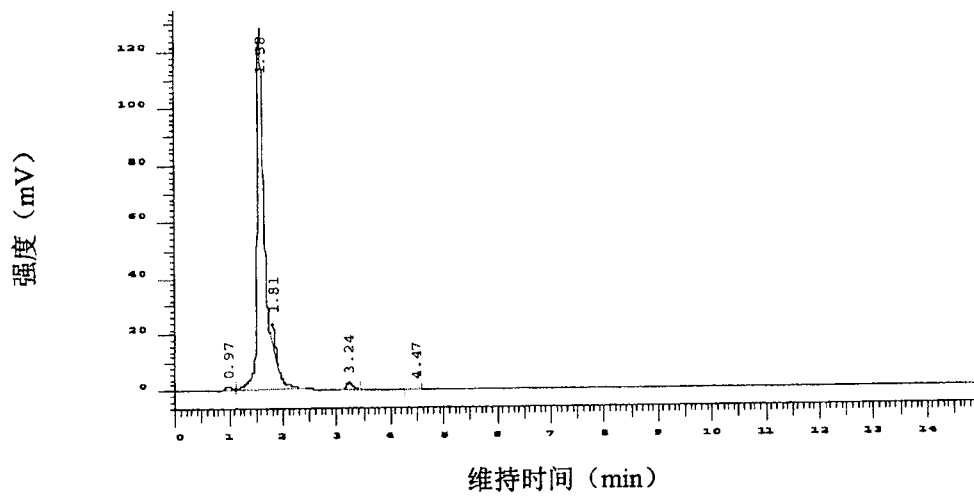


图 7

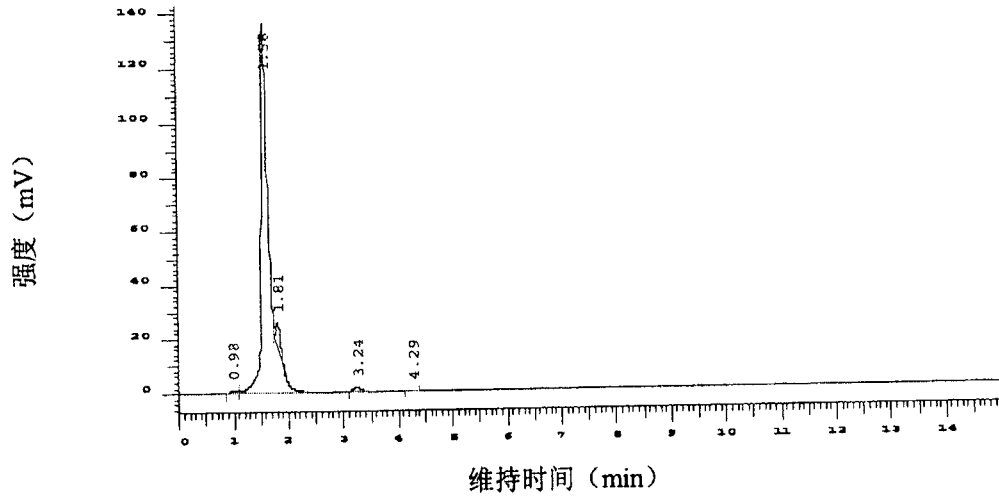


图 8

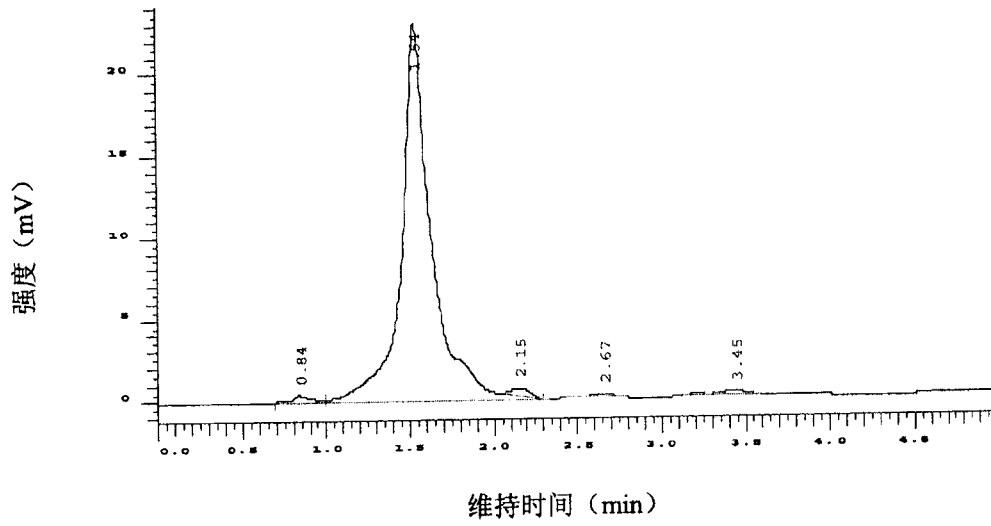


图 9

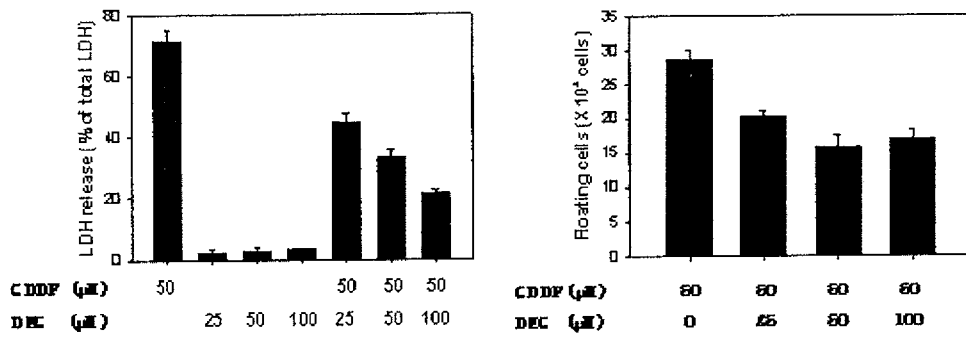


图 10

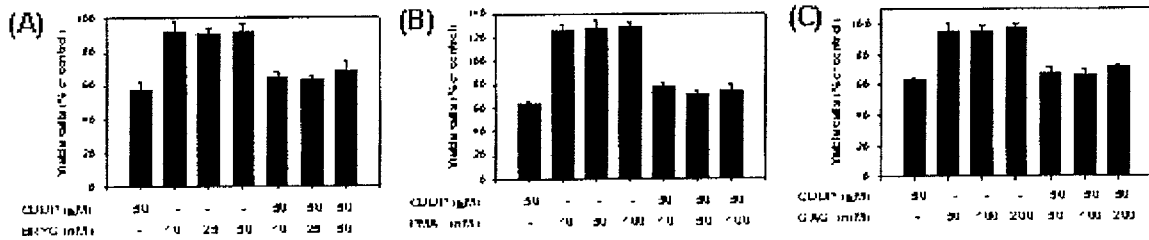


图 11

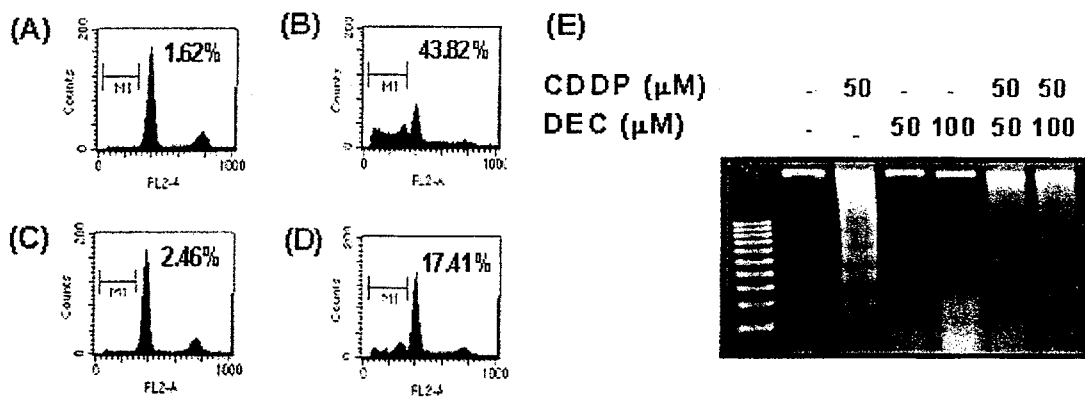


图 12