



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101780147 A

(43) 申请公布日 2010.07.21

(21) 申请号 201010122597.9

(22) 申请日 2010.03.12

(71) 申请人 广西药用植物园制药厂

地址 530023 广西壮族自治区南宁市长堽路
189号

(72) 发明人 蓝鸣生 陈路

(51) Int. Cl.

A61K 36/605(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

A61K 127/00(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

一种桑叶抗炎、降血糖提取物及其制剂的制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种桑叶提取物及其制剂的制备方法,该提取物含有较高浓度的桑叶生物碱、黄酮和多糖类成分,对实验动物有明显的抗炎和降低非正常高血糖作用,可作为药品或健康相关产品推广使用。

1. 一种具有抗炎、降血糖作用的桑叶提取物,其特征在于该桑叶提取物含有桑叶生物碱、黄酮、多糖等有效成分。

2. 权力要求 1 的桑叶提取物的制备方法,其特征在于经过以下步骤:

2.1 将桑叶药材粉碎成粗粉,用 10%到 95%的含水甲醇或乙醇提取;

2.2 提取液过滤、浓缩、加水,加酸放置后过滤;

2.3 过滤收集的不溶物低温烘干、粉碎备用,滤液先过聚酰胺树脂充分吸附后,过阳离子交换树脂充分吸附,

2.4 吸附滤液的聚酰胺树脂水洗净、氨水闷制 4 小时后用 10%到 95%的含水甲醇或乙醇提取,提取液用醋酸调节 pH 近中性,回收醇溶剂,减压浓缩成浸膏后干燥粉碎备用;

2.5 吸附滤液的离子交换树脂水洗净、氨水闷制 4 小时后用 10%到 95%的含水甲醇或乙醇提取,提取液回收醇溶剂,减压浓缩成浸膏后干燥粉碎备用;

2.6 醇提取后的桑叶粗粉除去残余的醇溶液,用水提取,提取液过滤合并,减压蒸发浓缩到相对密度大于 1.20/80℃,加入含醇量大于 85%的乙醇溶液调节溶液含醇量在 50%~70%搅拌均匀,放置 24~72 小时后过滤收集沉淀物,低温烘干粉碎备用;

2.7 将 2.3、2.4、2.5 和 2.6 的物料粉末充分混合均匀即得。

3. 权力要求 2 所述具有抗炎、降血糖作用的桑叶提取物的制备方法,其特征是:最佳生产工艺如下:

以 70%的乙醇回流提取 2 次,首次 15 倍,2 次 8 倍;乙醇提取液过滤合并,减压回收乙醇后,浓缩到相对密度等于 1.15/80℃,加入 4 倍量水、煮沸 30 分钟后放冷,加盐酸调节 pH = 3~2,放 24 到 72 小时后抽滤分别收集不溶物和滤液。不溶物 80℃减压烘干、粉碎备用。

滤液先用处理好的聚酰胺树脂充分吸附,聚酰胺处理后的溶液用阳离子交换树脂充分吸附。吸附滤液的聚酰胺树脂水洗净、氨水闷制 4 小时后用 80%乙醇回流提取 3 次(首次加醇为树脂湿重点 8 倍,2 次和 3 次均为 5 倍),醇提取液过滤合并,冰醋酸调节 pH = 6.5~7,减压回收乙醇,减压蒸发浓缩成相对密度大于 1.30/80℃的浸膏,80℃减压烘干、粉碎备用。

吸附溶液的阳离子交换树脂充分吸附,水洗净、氨水闷制 4 小时后用 80%乙醇回流提取 2 次(首次加醇为树脂湿重点 8 倍,2 次为 5 倍),醇提取液过滤合并,减压回收乙醇,减压蒸发浓缩成相对密度大于 1.30/80℃的浸膏,80℃减压烘干、粉碎备用。

醇提取后的桑叶粗粉 80℃烘除残余的醇溶液,用水煮沸提取 2 次,首次加水为药材重量的 15 倍,2 次为 10 倍,提取液过滤合并,减压蒸发浓缩到相对密度大于 1.20/80℃,加入含醇量大于 85%的乙醇溶液,调节溶液含醇量在 70%,搅拌均匀,放置 72 小时后过滤收集沉淀物,80℃减压烘干、粉碎备用。

将前述提取制得的各物料粉按比例等量递增混合均匀即得。

4. 权力要求 2 所述具有抗炎、降血糖作用的桑叶提取物的制备方法,其特征是:药材的提取可采用动态的回流提取、煮沸提取、渗漉提取,静态的浸泡、微波提取等。提取浸膏干燥方式可采用常温烘干、减压烘干、喷雾干燥等方式。

5. 权力要求 2 所述具有抗炎、降血糖作用的桑叶提取物,其特征是:可添加适当辅料制成任何剂型,如(不仅仅包括):糖衣片剂、薄膜衣片剂、肠溶衣片剂、含服片剂、泡腾片剂,硬胶囊剂、软胶囊剂、丸剂、滴丸剂、颗粒剂、茶剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、溶液剂、注射

剂、栓剂、硬膏剂、软膏剂、霜剂、喷雾剂、滴剂、贴剂等,作为药品、健康相关产品运用。本发明优先选择的剂型为口服制剂,如片剂、胶囊剂、颗粒剂、合剂等。

6. 权力要求 2 所述具有抗炎、降血糖作用的桑叶提取物及其制剂,其特征是:制备制剂的辅料是国家和行业标准及法规允许加入的辅料,比如(不仅仅包括):淀粉、蔗糖、糊精、甘露醇、甘油、硅衍生物、硬脂酸镁、滑石粉等。

7. 权力要求 2 所述具有抗炎、降血糖作用的桑叶提取物,其特征是:可用于非致病病原体感染性疾病引起的炎症、糖尿病等疾病的预防、治疗和康复;也可与抗病原微生物药物联合应用,治疗致病病原体感染性疾病引起的炎症。

一种桑叶抗炎、降血糖提取物及其制剂的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种桑叶抗炎、降血糖提取物的制备方法及其制剂,该提取物含有较高浓度的桑叶黄酮、生物碱和多糖成分,该提取物及其制剂明显的抗炎和降低血糖作用。

背景技术

[0002] 桑叶为桑科植物桑 (*Morus alba* L.) 的叶,其药用价值最早见于《神农本草经》,桑叶性寒,味苦,归肺、肝经,具有祛风清热、凉血明目等功效《本草经疏》记载:桑叶性味苦、甘、寒,甘所以益血,寒所以凉血,甘寒相合,故下气而益阴,又能明目而止咳,有补益之功。现代化学研究表明桑叶含有黄酮及黄酮苷、生物碱、多糖、甾醇、挥发油、氨基酸、维生素、微量元素等多种对人体健康有利的化学物质。药理研究表明,桑叶对人体及为安全,且具有降血糖、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗炎、抗衰老、抗肿瘤、抗病毒等多种治疗功能。

[0003] 桑叶有效成分提取物的研究报道及专利申请已非常多,如洪春力申报的发明专利‘一种桑叶总碱浸膏的制剂及其制备方法’(公开号:CN1430964A),介绍了一种治疗糖尿病桑叶总生物碱浸膏的提取方法;李淑芬,等申报的发明专利‘从桑叶中连续提取生物碱、黄酮和多糖活性成分的方法’(公开号:CN101209284),介绍了从桑叶中连续提取纯化生物碱、黄酮、多糖类成分的方法。但通过文献查询,目前尚未发现对桑叶抗炎、降血糖有效成分同时提取的研究报道和专利的申报记录。

[0004] 本发明的目的在于研制一种桑叶抗炎、降血糖提取物及其制剂,扩大桑叶的应用范围。

发明内容

[0005] 本发明公开了一种桑叶抗炎、降血糖提取物的制备方法及其制剂。该制备方法简单易行,制剂稳定安全,非常有利于工业化生产,通过动物药效学实验,证明该制备方法生产的提取物有显著的抗炎和降血糖作用。

[0006] 桑叶抗炎、降血糖有效成分同时提取的研究未见报道,本发明在采用传统提取分离方法的基础上,应用了一些专门技术以提高桑叶提取物的抗炎、降血糖作用。具体步骤如下:桑叶药材适当粉碎后,用 10%到 95%含水甲醇或乙醇,在静态或动态下,室温或加热(包括回流、微波等)提取,提取溶剂用量为药材的 5~15 倍,提取次数为 1~3 次,提取液过滤合并、减压或常压蒸馏回收醇溶剂到收集液醇含量低于 20%后,继续蒸发浓缩到无醇味(相对密度 1.05~1.25/80℃)、加水 2~6 倍量,加酸调节 pH=3~2 后,放 24 到 72 小时,过滤。过滤收集的不溶物低温烘干、粉碎备用。滤液先过聚酰胺树脂充分吸附后,过阳离子交换树脂充分吸附。吸附滤液的聚酰胺树脂水洗净、氨水闷制 4 小时后用 10%到 95%的含水甲醇或乙醇提取,提取液用醋酸调节 pH 近中性,回收醇溶剂,减压浓缩成浸膏后干燥粉碎备用。吸附滤液的离子交换树脂水洗净、氨水闷制 4 小时后用 10%到 95%的含水甲醇或乙醇提取,提取液回收醇溶剂,减压浓缩成浸膏后干燥粉碎备用。

[0007] 醇提取后的桑叶粗粉除去残余的醇溶液,用水提取,提取液过滤合并,减压蒸发浓

缩到相对密度大于 1.20/80°C,加入含醇量大于 85%的乙醇溶液调节溶液含醇量在 50%~70%搅拌均匀,放置 24~72 小时后过滤收集沉淀物,低温烘干粉碎备用。

[0008] 将前述制得的物料粉末充分混合均匀即得。

[0009] 本发明制成的提取物在生产药品、健康相关产品制剂时,可加入国家和行业标准及法规允许加入的辅料,比如:淀粉、蔗糖、糊精、甘露醇、甘油、硅衍生物、硬脂酸镁、滑石粉等。

[0010] 本发明制成的提取物可通过适当方法制成药品、健康相关产品的任何剂型,这些剂型包括:片剂、糖衣片剂、薄膜衣片剂、肠溶衣片剂、含服片剂、泡腾片剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、丸剂、滴丸剂、颗粒剂、茶剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、溶液剂、注射剂、栓剂、硬膏剂、软膏剂、霜剂、喷雾剂、滴剂、贴剂等。本发明优先选择的剂型为口服制剂,如片剂、胶囊剂、颗粒剂、合剂等。

[0011] 本发明制成的提取物通过以下药效学实验证明其有益效果:

[0012] 一、抗炎作用

[0013] 1. 实验材料

[0014] 1.1 药物:桑叶提取物,用实例 1 方法制备,实验前用水配成所需浓度;阳性对照药地塞米松(浙江仙琚制药股份有限公司,批号 071010)。角叉菜胶(中国药品生物制品检定所提供)。1.2 动物:KM 小鼠,18~22g,♂;SD 大鼠,体重 110~140g,♂。

[0015] 1.3 仪器与试剂:EL204 万分之一克电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。Lambda35UV Perkin Elmer(美国珀金埃尔默公司),LG16-W 型高速离心机(北京医用离心机厂)。PV-200 足趾容积测量仪(成都泰盟科技有限公司)。

[0016] 2. 统计学处理应用统计软件 SPSS11.0 对所得实验数据进行 t 检验。

[0017] 3. 实验方法

[0018] 3.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀度的影响:取小鼠 75 只,随机分为 5 组,分别为空白对照组(生理盐水)、阳性对照组(地塞米松,6mg/kg)、桑叶提取物高(10g 生药/kg)、中(5g 生药/kg)、低(2g 生药/kg)三个剂量组。灌胃给药,1 次/d,给药容量为 20mL/kg,连续 7d。末次药后 60min,各鼠以 0.02ml 二甲苯滴于右耳致炎,15min 后处死,沿耳廓基线剪下二耳。用 6mm 直径打孔器分别在左、右耳同一部位打下圆耳片,称重,以左右耳重量差作为肿胀度。

[0019] 3.2 对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响:取小鼠 60 只,随机分为 5 组,分别为空白对照组(生理盐水)、阳性对照组(地塞米松,6mg/kg)、桑叶提取物高(10g 生药/kg)、中(5g 生药/kg)、低(2g 生药/kg)三个剂量组。灌胃给药,1 次/d,给药容量为 20mL/kg,连续 7d。末次药后 60min,各鼠尾静脉注射 0.25%伊文斯兰 0.1ml/10g,同时腹腔注射 0.6%醋酸溶液 0.1ml/10g。15min 后处死,立即注入 6ml 生理盐水冲洗腹腔,剪开腹腔,滤出腹腔洗出液,2000rpm 离心 10min,取上清液于 590nm 处测定 OD 值。

[0020] 3.3 对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀的影响:取大鼠 60 只,随机分为空白对照组(生理盐水),阳性对照组(地塞米松,4.5mg/kg),桑叶提取物高剂量(9g 生药/kg)、中剂量(4g 生药/kg)、低剂量(2g 生药/kg)三个剂量组。灌胃给药,1 次/d,给药容量为 20ml/kg,连续 7d。末次给药 1h 后,将 0.08mL1%角叉菜胶注入大鼠右后足趾皮下,用足趾容积测量仪分别测量注射前、注射后 1、2、3、4、5h 大鼠足趾至踝关节容积,并用公式计算其肿胀度(肿

胀度 $E(\%) = (V_t - V_n) / V_n \times 100\%$, 其中 V_n 和 V_t 分别代表用致炎剂前后足趾容积值)。

[0021] 4. 实验结果与分析

[0022] 抗炎实验结果见下表 1 和表 2:

[0023] 表 1 桑叶醇提物对耳廓肿胀度 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$) 和腹腔毛细血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

[0024]

组别	动物数	剂量 (g/kg)	耳廓肿胀度 (g)	腹腔液 OD 值
空白对照组	15;12	—	0.0070±0.0037	0.2124±0.0580
阳性对照组	15;12	0.006	0.0025±0.0015**	0.1419±0.0354**
高剂量组	15;12	10	0.0028±0.0022**	0.1429±0.0205**
中剂量组	15;12	5	0.0041±0.0029**	0.1315±0.0460**
低剂量组	15;12	2	0.0060±0.0030	0.1650±0.0338*

[0025] *P < 0.05 **P < 0.01

[0026] 表 2 桑叶提取物对角叉菜胶所致大鼠足趾肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

[0027]

组别	剂量 g/kg	致炎后肿胀度 (%)				
		1h	2h	3h	4h	5h
空白对照组	—	35.46±0.08	49.80±0.09	57.41±0.14	54.99±0.13	49.14±0.13
阳性对照组	0.0045	10.74±0.07**	18.92±0.10**	21.04±0.09**	20.94±0.08**	17.10±0.09**
高剂量组	7	17.05±0.09**	34.27±0.07**	46.76±0.07*	41.03±0.08**	37.90±0.11*
中剂量组	4	24.24±0.07**	39.50±0.08**	48.13±0.05*	45.94±0.06*	40.04±0.07*
低剂量组	2	20.83±0.05**	39.58±0.09**	47.20±0.06*	40.65±0.09**	32.82±0.11**

[0028] *P < 0.05 **P < 0.01

[0029] 实验结果分析:

[0030] 1) 桑叶提取物高、中剂量组分别使小鼠的耳廓肿胀的程度由空白组的 0.0070 ± 0.0037 , 降低到 0.0041 ± 0.0029 , 和 0.0028 ± 0.0022 , 高剂量组几乎接近阳性试药地塞米松的水平。均可显著减轻二甲苯诱导小鼠耳廓肿胀的程度能对抗炎症急性期的渗出 ($P < 0.01$) (表 1)。表 1 结果还显示, 桑叶提取物的高、中、低剂量组使醋酸致腹腔毛细血管通透性增加的作用由空白组的 0.2124 ± 0.0580 。分别降低为: 0.1429 ± 0.0205 、 0.1315 ± 0.0460 和 0.1650 ± 0.0338 。均有明显抑制醋酸致腹腔毛细血管通透性增加的作用 ($P < 0.05 \sim 0.01$), 提示均能对抗炎症急性期的渗出。

[0031] 2) 桑叶提取物高、中、低剂量组于末次给药后 1h、2h、3h、4、5h 均有不同程度地明显抑制角叉菜胶所致大鼠足趾肿胀的程度 ($P < 0.05 \sim 0.01$), 提示均能对抗炎症急性期的渗出。

[0032] 结论: 以上实验结果说明, 本桑叶提取物对实验性动物炎症有较好的抑制作用。

[0033] 二、降低实验性血糖升高作用

[0034] 1. 实验材料

[0035] 2.1 药物: 桑叶提取物, 用实例 1 方法制备, 实验前用水配成所需浓度。阳性对照药盐酸二甲双胍肠溶片 (贵州圣济堂制药有限公司, 批号: 20070501)。

[0036] 1.2 动物:KM 小鼠,18 ~ 22g, ♂。

[0037] 1.3 仪器与试剂:EL204 万分之一克电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司), Lambda35UV Perkin Elmer(美国珀金埃尔默公司), LG16-W 型高速离心机(北京医用离心机厂);血糖 GOD-PAP 法检测试剂盒(四川省迈克科技有限责任公司,批号:0308091)。

[0038] 2. 统计学处理应用统计软件 SPSS11.0 对所得实验数据进行 t 检验。

[0039] 3. 实验方法及实验结果分析

[0040] 取禁食不禁水 24h 后的小鼠,随机分为正常对照组(空白对照组)和造模对照组。正常对照组腹腔注射生理盐水,造模对照组按 65mg/kg 体重腹腔注射四氧嘧啶,72h 后(禁食不禁水 12h)各鼠眼眶静脉丛取血测血糖值,选择血糖值在 10 ~ 33mmol/L 的小鼠为造模成功小鼠(称为模型对照组),按血糖水平随机分为四氧嘧啶模型对照组,二甲双胍阳性对照组(0.75g/kg)、桑叶提取物高(7g 生药/kg)、中(4g 生药/kg)、低(2g 生药/kg)三个剂量组。灌胃给药,1 次/d,给药容量为 20ml/kg,连续 7d,正常对照组和模型对照组给同容量生理盐水。末次给药后(禁食不禁水 12h)60min,于眼眶静脉丛取血,按血糖测定试剂盒操作测定血糖值,结果见下表 3:

[0041] 表 3 桑叶提取物对四氧嘧啶性高血糖小鼠血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

	组别	动物数	剂量 (g/kg)	药前血糖值(mmol/L)	药后血糖值(mol/L)
[0042]	空白对照组	12	—	3.37±1.65**	3.01±2.26**
	模型对照组	12	—	23.40±6.75	13.97±7.71
	阳性对照组	12	0.75	23.65±5.62	0.91±1.09**
	高剂量组	12	10	24.91±6.87	3.72±4.09**
	中剂量组	12	5	22.08±7.29	6.34±5.63*
	低剂量组	12	2	22.20±6.92	7.73±5.50*

[0043] 实验结论:本桑叶提取物对四氧嘧啶性高血糖小鼠的血糖有明显降低作用。

具体实施方式

[0044] 以下通过实施实例进一步说明本发明的具体实施过程

[0045] 实施实例 1

[0046] 桑叶药材粉碎成粗粉 10kg,以 70% 的乙醇回流提取 2 次,首次 150kg,2 次 80kg;乙醇提取液过滤合并,60℃减压回收乙醇、浓缩到相对密度等于 1.15/80℃(已无醇味),称量得 1.93kg,加水 8kg,煮沸 30 分钟后放冷,加盐酸调节 pH = 3 ~ 2,放 24 到 72 小时后抽滤分别收集不溶物和滤液。不溶物 80℃减压烘干称重得 682g,粉碎备用。

[0047] 滤液先用处理好的聚酰胺树脂柱(树脂重 5kg)充分吸附,聚酰胺处理后的溶液用阳离子交换树脂柱(树脂重 10kg)充分吸附。吸附滤液的聚酰胺树脂水洗净、氨水闷制 4 小时后用 80%乙醇回流提取 3 次(首次加醇为 40kg,2 次和 3 次均为 25kg),醇提取液过滤合并,冰醋酸调节 pH = 6.5 ~ 7,减压回收乙醇,减压蒸发浓缩成相对密度大于 1.30/80℃的浸膏,80℃减压烘干称重得 218g,粉碎备用。

[0048] 吸附溶液的阳离子交换树脂充分吸附,水洗净、氨水闷制 4 小时后用 80%乙醇回流提取 2 次(首次加醇为 80kg,2 次 50kg),醇提取液过滤合并,减压回收乙醇,减压蒸发浓

缩成相对密度大于 1.30/80℃的浸膏,80℃减压烘干称重得 413g,粉碎备用。

[0049] 醇提取后的桑叶粗粉 80℃烘除残余的醇溶液,用水煮沸提取 2 次,首次加水为药材重量的 150kg,2 次为 100kg,提取液过滤合并,减压蒸发浓缩到相对密度大于 1.20/80℃,加入含醇量大于 85%的乙醇溶液,调节溶液含醇量在 70%,搅拌均匀,放置 72 小时后过滤收集沉淀物,80℃减压烘干称重得 351g、粉碎备用。

[0050] 将前述提取制得各物料粉按比例等量递增混合均匀即得。

[0051] 实施实例 2

[0052] 胶囊剂

[0053] [处方] 桑叶干膏 200g 药用淀粉 98g 硬脂酸镁 2g

[0054] 共制成硬胶囊 1000 粒。

[0055] [制法] 将桑叶浸膏制成细粉,按等量递增方法与药用淀粉、硬脂酸镁充分混合均匀装入硬胶囊壳中即可。

[0056] 实施实例 3

[0057] 片剂

[0058] [处方] 桑叶干膏 200g 药用淀粉 100g 硬脂酸镁 2g

[0059] 共制成 1000 片糖衣片。

[0060] [制法] 将桑叶浸膏制成细粉,按等量递增方法与药用淀粉充分混合均匀,以 60%乙醇制压片颗粒,干燥、整粒,加入硬脂酸镁充分混合均匀,压片、包糖衣即可。

[0061] 实施实例 4

[0062] 颗粒剂

[0063] [处方] 桑叶干膏 1000g 糊精 980g 甜味剂及其它辅料 20g

[0064] 共制成 100 袋。

[0065] [制法] 将桑叶浸膏制成细粉,按等量递增方法与糊精、甜味剂等充分混合均匀,以 60%乙醇制颗粒,干燥、整粒,分装于适当容器中即可。