

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680008672.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/7032 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 36/899 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

[43] 公开日 2008年6月18日

[11] 公开号 CN 101203228A

[22] 申请日 2006.3.17

[21] 申请号 200680008672.0

[30] 优先权

[32] 2005.3.18 [33] KR [31] 10-2005-0022772

[86] 国际申请 PCT/KR2006/000984 2006.3.17

[87] 国际公布 WO2006/098603 英 2006.9.21

[85] 进入国家阶段日期 2007.9.18

[71] 申请人 株式会社优力竟

地址 韩国忠清南道

[72] 发明人 禹盛植 金东善 都善吉 李映澈

吴美善 车智敏 赵台衡

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所

代理人 唐晓峰

权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 2 页

[54] 发明名称

用于抗组胺的含异荳草素的组合物

[57] 摘要

本发明涉及一种用于预防或治疗由组胺过度介导的疾病的药物组合物，该组合物含有天然衍生的异荳草素，本发明还涉及异荳草素用于制备预防或治疗由组胺过度介导的疾病药物的应用，本发明还涉及一种预防或治疗由组胺过度介导的疾病的方法，包括给予患者治疗有效量的异荳草素。本发明的组合物、应用及方法显示出良好的组胺抑制作用，可以用于预防或治疗各种过敏性疾病、特应性疾病、炎性疾病、皮肤病、胃酸过多症和神经系统障碍。

1、一种用于预防或治疗由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的药物组合物，含有天然衍生的异荳蔻素作为活性成分。

5 2、如权利要求1所述的组合物，其中由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病是过敏性疾病、特应性疾病、皮肤病、感冒、胃酸过多症或神经系统障碍。

3、如权利要求1所述的组合物，其中含有天然衍生的异荳蔻素的组合物是芦荟、竹类或稻类植物的提取物。

10 4、如权利要求3所述的组合物，其中含有异荳蔻素的芦荟提取物通过用30-80%的甲醇或乙醇提取芦荟获得。

5、如权利要求3所述的组合物，其中含有异荳蔻素的竹类提取物通过用水提取竹类植物得到脱水提取物，再用甲醇或乙醇提取该脱水提取物获得。

15 6、如权利要求3或4所述的组合物，其中含有异荳蔻素的芦荟提取物从芦荟表皮获得。

7、天然衍生的异荳蔻素用于制备预防或治疗由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的药物的应用。

20 8、如权利要求7所述的应用，其中由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病是过敏性疾病、特应性疾病、皮肤病、感冒、胃酸过多症或神经系统障碍。

9、如权利要求7所述的应用，其中天然衍生的异荳蔻素是芦荟、竹类或稻类植物的提取物。

10、如权利要求9所述的应用，其中含有异荳蔻素的芦荟提取物通过用30-80%的甲醇或乙醇提取芦荟获得。

25 11、如权利要求9所述的应用，其中含有异荳蔻素的竹类提取物通过用水提取竹类植物得到脱水提取物，再用甲醇或乙醇提取该脱水提取物获得。

12、如权利要求9或10所述的应用，其中含有异荳蔻素的芦荟提取物从芦荟表皮获得。

30 13、一种预防或治疗患者由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的方法，包括给予患者治疗有效量的天然衍生的异荳蔻素。

14、如权利要求 13 所述的方法，其中由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病是过敏性疾病、特应性疾病、皮肤病、感冒、胃酸过多症或神经系统障碍。

5 15、如权利要求 13 所述的方法，其中天然衍生的异荳蔻素是芦荟、竹类或稻类植物的提取物。

16、如权利要求 15 所述的方法，其中含有异荳蔻素的芦荟提取物通过用 30-80%的甲醇或乙醇提取芦荟获得。

17、如权利要求 15 所述的方法，其中含有异荳蔻素的竹类提取物通过用水提取竹类植物得到脱水提取物，再用甲醇或乙醇提取该脱水提取物获得。

10 18、如权利要求 15 或 16 所述的方法，其中含有异荳蔻素的芦荟提取物从芦荟表皮获得。

用于抗组胺的含异苾草素的组合物

5 技术领域

本发明涉及一种用于预防或治疗由组胺过度介导的疾病的药物组合物，该组合物含有天然衍生的异苾草素作为活性成分，本发明还涉及异苾草素用于制备预防或治疗由组胺过度介导的疾病的药物的应用，本发明还涉及一种预防或治疗患者的由组胺过度介导的疾病的方法，包括给予患者治疗有效量的异苾草素。

10 背景技术

组胺是一种存在于血液和各种组织当中的生理活性物质。从结构上说，组胺还可归类于氨基咪唑类，其中咪唑环和胺基基团通过两个亚甲基基团相连。在几乎所有的动物的组织中都能够找到组胺，它甚至存在于各种毒素、细菌或植物当中。皮肤、支气管、肠粘膜等处含有丰富的组胺。在血液中，嗜碱性白细胞当中含有大量组胺。这些含有组胺的细胞可以通过L-组氨酸脱羧酶的作用从组氨酸合成组胺。表皮、胃粘膜、中枢神经系统中的神经细胞等中的非肥大细胞也能够合成组胺。

在人体中，组胺的代谢有两条途径。

20 在主要的代谢途径中，咪唑环通过N-甲基转移酶的作用转变成N-甲基组胺，而后N-甲基组胺再通过monoamine氧化酶的作用转变成N-甲基咪唑乙酸。

在另一条途径中，组胺通过非特异的二氨氧化酶进行氧化脱氨。组胺的代谢产物几乎是无活性的，通过尿排出体外。

已知组胺能够诱发过敏、胃酸分泌以及作为中枢神经系统神经递质的功能
25 [Corrado ME et al., Arzneimittelforschung, 54 (10) 660-5, 2004, Salmun LM., Expert Opin Investig Drugs, 11 (2) 259-73, 2002, Scannell RT et al., Mini Rev Med Chem, 4 (9) 923-33, 2004, Kapp A et al., J Drugs Dermatol., 3 (6) 632-9, 2004. Orzechowski RF 等人的 Eur J Pharmacol., 506 (3) 257-64, 2005]。

首先，研究组胺在过敏反应中的作用，接触到抗原时，产生抗体 (IgE)，
30 附着在肥大细胞和嗜碱性白细胞表面，通过膜磷酸化作用引起组胺释放。组胺

是储存在肥大细胞中的最终形式。因此，当抗原与 IgE 抗体在肥大细胞表面相互作用时，组胺得以释放。磷脂酶 A₂ 同时被激活，生成血小板活化因子 (PAF)，或花生四烯酸的代谢产物如前列腺素、白三烯 D₄ 等，并和组胺一同释放。

其次，迷走神经或胃泌素会加速胃酸的分泌，但是组胺是调节胃酸分泌的最重要的物质。当使用 H₂ 受体阻断剂时，通过乙酰胆碱或胃泌素的酸分泌以及通过组胺的酸分泌都被阻断。因此，认为组胺是生理酸分泌机制的最终调节者。

最后，研究中枢神经系统中的组胺的作用，组胺的功能相当于神经递质。已知 H₁ 受体广泛分布在丘脑、下丘脑、小脑和前脑中。这些神经细胞调节体温、ADH 分泌、血压、饮水等，所有这些都受 H₁ 和 H₂ 受体介导。

具有以上所述功能的组胺还通过各种药物以及炎症或过敏反应从肥大细胞中释放出来。在治疗药物中，各种生物碱如吗啡、可待因阿托品等；抗生素；筒箭毒碱；琥珀胆碱；辐射对比介质；和血浆扩容药如右旋糖酐、聚维酮等能引起组胺的释放。

组胺释放可以被 cAMP 增强药物如肾上腺素能激动药，各种酯酶抑制剂，能量产生酶抑制作用的物质 (fluorine)，糜蛋白酶抑制物等所抑制。色甘酸钠能使肥大细胞细胞膜稳定，可抑制组胺和白三烯 D₄ 在支气管粘膜中的释放，可用于预防支气管哮喘的发作。

因此，组胺在过敏反应中是主要的调节介质，单独或与其它因素共同起作用于哮喘、鼻炎和皮肤病例如荨麻疹和特应性皮炎 [Scannell RT et al., Mini Rev Med Chem., 4(9) 923-33, 2004, Imaizumi A et al., J Dermatol Sci., 33(1) 23-9, 2003, Kapp A et al., J Drugs Dermatol., 3(6) 632-9, 2004]。而且，组胺会引起感冒、恶心和呕吐、胃酸过多症、食管反流、十二指肠溃疡、炎症，和低体温症以及与过敏反应有关的低血压 [Latsen JS., Pharmacotherapy, 21:28S-33S, 2001., Leurs R., Clin Exp Allergy 32(4) 489-98, 2002., Makabe-Kobayashi Y et al., J Allergy Clin Immunol., 110(2) 298-303, 2002.]。为预防或治疗这些疾病，已开发了许多药物，包括苯海拉明、曲吡那敏、氯苯那敏、氯苯甲嗪、异丙嗪、阿司咪唑等，最近报导这些药物可用于神经保护 (痴呆) 和认知功能增强 [Bachurin S et al., Ann NY Acad Sci., 939: 424-35., 2001., Nakazato E et al., Life Sci., 67(10) 1139-47, 2000.]。

本发明的发明者继续研究天然的产品以发现具有抗组胺活性的物质。结果

发现，芦荟、竹类植物、稻类植物等具有抗组胺活性，并且鉴定出从这些天然物质中分离出的活性成分是异荳草素，得以完成本发明。

发明概述

本发明的一个目的是提供一种预防或治疗由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的药物组合物，该组合物含有天然衍生的异荳草素。

本发明的另一个目的是提供一种天然衍生的异荳草素用于制备预防或治疗由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的药物的应用。

本发明还一个目的是提供一种预防或治疗患者由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的方法，包括给予患者治疗有效量的天然衍生的异荳草素。

附图说明

图 1. 是异荳草素的 $^1\text{H-NMR}$ 图谱

图 2. 是异荳草素的 $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱

图 3. 是异荳草素的阴性 HPLC ESI-MS 图谱

发明详述

为达到上述的目的，本发明提供了一种预防或治疗由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的药物组合物，该组合物含有天然衍生的异荳草素作为活性成分。

本发明还提供了一种天然衍生的异荳草素用于制备预防或治疗由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的药物的应用。

本发明还提供了一种预防或治疗患者由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病的方法，包括给予患者治疗有效量的天然衍生的异荳草素。

在本发明中，“由组胺过度引起的生理改变或功能障碍介导的疾病”指的是过敏性疾病、哮喘、鼻炎、特应性疾病、皮肤病、感冒、胃酸过多症、食管反流、十二指肠溃疡、炎症，和神经系统障碍，包括特应性皮炎、荨麻疹、哮喘、痴呆等。

在本发明中，“过敏性疾病”指的是荨麻疹、恶心、呕吐、特应性皮炎、过敏反应、哮喘、鼻炎等，“神经系统障碍”指的是痴呆、认知功能下降等。

在本发明中，优选含有异荳草素的组合物特别是芦荟、竹类植物或稻类植物的提取物。

优选的是，所述含有异荳蔻素的芦荟、竹类植物或稻类植物的提取物是，但不限于，水提取物，或 C_{1-4} 的醇如甲醇、乙醇、丙醇、丁醇等的提取物，或这些的混和溶剂提取物。特别是，含有异荳蔻素的芦荟提取物优选通过 30-80% 的甲醇或乙醇对芦荟进行提取获得。含有异荳蔻素的竹类植物优选通过用水提取竹类植物得到脱水提取物后，再用甲醇或乙醇提取脱水提取物获得的。提取物包括全部提取物和它的级分。另外，含有异荳蔻素的芦荟提取物优选但不限于由芦荟表皮提取得到。

本发明的组合物可以通过常规的制药学领域的方法制备成常规的药物制剂，例如，溶液剂如饮剂、糖浆剂、胶囊剂、颗粒剂、片剂、散剂、丸剂、软膏剂、乳剂、凝胶剂、皮肤外用剂如乳油等，制备中可任选与药学可接受的载体、赋形剂等混合；制剂可以口服或非胃肠道给药。优选的是，本发明的组合物以胶囊、片剂和饮剂形式在饭前或饭后口服给药，以达到快速起效的效果。

含有本发明组合物的胶囊、片剂、散剂、颗粒剂、溶液剂、丸剂、凝胶剂等优选用作药品或保健产品。在本发明中，“保健产品”指的是应用对人体有益的原料或成分制成片剂、胶囊、散剂、颗粒剂、溶液剂、丸剂、凝胶剂等的食物产品。

本发明的组合物的适当给药依赖于活性成分在体内的吸收程度、患者的排泄速率、年龄、体重、性别和健康状况，疾病的严重程度等。然而，一般地，本发明的组合物优选的给药是成年人每天 0.01-500 mg/kg，优选是每天 0.1-200 mg/kg，每天 1-3 次。

在下文中，本发明将以参照下面的实施例和实验例的方式对发明进行详细描述，但是本发明的范围并不以任何方式受到限制。

实施例 1: 异荳蔻素的提取和鉴定

1. 抗组胺活性成分的分离

本发明试图选择天然产物的提取物中产率和活性最佳的级分，并从级分中分离出抗组胺活性成分。天然产物的提取物减压蒸馏，用少量水溶解。然后，提取物用等量的 CH_2Cl_2 分馏，去除非极性物质，再用等量的 BuOH 分馏。异荳蔻素在 BuOH 层，BuOH 层减压蒸馏，走二氧化硅柱。流动相为 $CHCl_3$ 、MeOH 和水的混和溶剂，初始比率 $CHCl_3$: MeOH: 水为 7: 3: 1，直到 6: 4: 1。

二氧化硅柱中的级分中，含有异荳蔻素的级分减压蒸馏，再走 Sephadex

LH20 柱。用 100% 的 MeOH 为洗脱液。在 Sephadex LH20 柱级分中，用 TLC 和 HPLC 检验，得到异荭草素。

2. 活性成分的鉴定

$C_{21}H_{22}O_{11}$ 的黄色粉末； 1H -NMR (300MHz, d_6 -DMSO) 及 ^{13}C -NMR (75MHz, d_6 -DMSO) 的数据与对照进行比较。参见 Biosci. Biotechnol. Biochem., 67 (2), 410-414, 2003。

经体外检验分析，通过活性追踪，具有抗组胺活性的化合物从芦荟、稻类植物及竹类植物级分中分离出来。使用 NMR 分光仪鉴定所分离的化合物的结构。在 1H -NMR 谱 (图 1 和表 1) 中，一个质子的单峰在 δ 13.64 ppm，在这一区域的多数峰都由于氢键而向低磁场区位移。在 δ 7.47 ppm，与邻位 δ 6.97 ppm 邻位偶合而形成二重峰 ($J=8.3$ Hz)，与 δ 7.45 ppm 间位偶合而形成二重峰 ($J=2.2$ Hz)。另外，一个质子的单峰分别在 δ 6.72 ppm 和 δ 6.53 ppm。在 δ 4.65 ppm，典型的端基质子作为二重峰具有偶联常数 $J=9.8$ Hz，因此确定结合有葡萄糖。

在 ^{13}C -NMR 谱 (图 2) 中，共有 21 个碳原子，特别是在 δ 182.1 ppm 的羰基碳，和 δ 73.5 ppm 的端基碳。在阴性 HPLC ESI-MS 谱 (图 3) 中，母离子峰在 m/z 487 处，预期的分子量为 m/z 488。

表 1

异荭草素的 1H 和 ^{13}C NMR 中的化学位移

Positio n	HT ppm ^a		Reference ppm ^b	
	1H ppm)	^{13}C ppm)	1H ppm)	^{13}C ppm)
4		182.0		182.3
2		183.9		184.2
7		183.9		184.1
6	13.64 (1H s 5-OH)	181.1	13.53 (1H s 5-OH)	181
8 _a		156.7		156.8
4'		150.7		150.3
3'		148.4		148.2
1'		121.4		121.8
0'	7.47 (1H dd, J 8.3 2.2Hz)	119.3	7.42 (1H d J 7.9Hz)	119.5
5'	6.97 (1H d J 8.9Hz)	116.5	6.99 (1H d J 7.9Hz)	116.6
2'	7.45 (1H d J 2.2Hz)	113.4	7.41 (1H s)	113.8
8		109.4		109.2
4 _a		103.2		103.7
3	6.72 (1H s)	102.9	6.67 (1H s)	103.2
8	6.53 (1H s)	94.3	6.53 (1H s)	94.2
5'		81.9		81.8
3'		79.4		79.3
1'	4.65 (1H d J 9.8Hz)	73.6	4.62 (1H d J 9.8Hz)	73.5
2'		71.0		70.9
4'		70.6		70.7
6'		61.8		61.9

根据上述的仪器分析结果和相关的参考资料[Abdul Mun' IM, Osamu Negishi, and Testuo Ozawa. (2003), Antioxidative Compounds from *Crotalaria sessiliflora.*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 67(2), 410-414], 从提取物中分离的具有抗组胺活性的化合物鉴定为异荳蔻素。

5 实施例 2: 含有异荳蔻素的植物的寻找, 以及含量分析

在上述的实施例 1 中, 可以确定异荳蔻素具有抗组胺活性。因此, 在本实施例中, 对申请人拥有的一些植物提取物进行分析。下表 2 显示植物提取物和其中异荳蔻素的含量。

10 为分析这些提取物, 使用 HITACHI 系统 (泵: L-7100, 检测器: L-7455, 接口: D-7000, 色谱分析柱加热器: L-7300, 自动采样器: L-7200) 作 HPLC, 分析条件为固定相为 Phenomenex C18 4. 6X250 mm; 流动相为梯度洗脱 (溶剂 A: 乙腈, 溶剂 B: 0.1% H₃PO₄ 的水溶液); 洗脱速度为 1.5 mL/min; 总分析时间为 85 分钟; 柱温为 35°C; 样本浓度为 50, 000 ppm; 进样量为 10 μl; UV 检测器使用 330 nm。

15 表 2

植物中的异荳蔻素含量分析 (成分含量%/产率%)

植物名称	异荳蔻素含量%/产率%
<i>Phyllostachys nigra var. henonis</i>	0.31/9.9
<i>Phyllostachys pubscense</i>	0.25/10.97
<i>Phyllostachys bambusoides</i>	0.4/11.69
<i>Sasa coreana</i>	0.08/8.82
<i>Sasa borealis</i>	0.52/14.2
<i>Oryza alta</i>	0.49/13.8
<i>Phyllostachys heterocycla var. pubescens</i>	0.8/11.3
<i>Phyllostachy nigra</i>	0.46/10.9
<i>Phyllostachys nigra var. henonis Stapf</i>	0.62/10.4
<i>Phyllostachys bambusoides var. Castillonis-inversa Houzeau de Lehaie</i>	0.39/10.7
<i>Arundinaria graminea Makino</i>	1.05/11.9

<i>Phyllostachys aurea</i> Carriere ex A. <i>Riviere et C. Riviera</i>	0.26/10.3
<i>Phyllostachys bambusoides</i> var. <i>tanakae</i> <i>Makino</i>	0.18/8.7
<i>Pseudosasa japonica</i>	0.19/7.38
<i>Sasa borealis</i> var. <i>gracilis</i>	0.23/6.36
<i>Lophatherum gracile</i>	0.24/10
<i>aloe vera</i>	0.18/25

实施例 3: 芦荟中含高含量异苊草素的级分的制备

1 kg 芦荟真皮用 15 L 95%、80%、70%、60%、50%、40%或 30%的乙醇提取, 减压蒸馏得到水合提取物。所得提取物中的异苊草素含量用同上述的实施例 2 相同的方式用 HPLC 分析。结果显示, 在 50%乙醇提取物中异苊草素含量最高。

5 表 3

芦荟不同部位在提取溶剂的不同乙醇量下提取的异苊草素含量和产率

部位	提取溶剂	异苊草素产量%/产率%
表皮	95%乙醇	0.15/2.9
	80%乙醇	0.38/3.4
	70%乙醇	0.53/4.1
	60%乙醇	0.82/4.8
	50%乙醇	1.2/5.4
	40%乙醇	0.73/6.4
	30%乙醇	0.27/7.8
胶	95%乙醇	0.03/9.9
	80%乙醇	0.08/10.97
	70%乙醇	0.13/11.69
	60%乙醇	0.15/15.2
	50%乙醇	0.05/36.7
	40%乙醇	0.01/41.4
	30%乙醇	0.01/62.3

实施例 4: 竹类植物中含高含量异荛草素级分的制备

10 kg 竹叶用 150 L 水在 80℃ 下提取 8 小时, 减压蒸馏得到 680 g 提取物。500 g 含水提取物用 4 L 乙醇在 70℃ 下提取 2 小时, 冷却至室温, 过滤。滤液减压蒸馏得到 127 g 浓缩的提取物。100 g 浓缩提取物中加入 800 ml 水, 在 80

5 ℃ 下提取 2 小时, 后过滤。滤液冻干, 得到 61 g 含水提取物。

用实施例 2 相同的分析方法进行 HPLC 分析, 显示异荛草素含量为 3.2%。

实验例 1: 异荛草素的组胺释放抑制活性的测定

1. 豚鼠肺肥大细胞的纯化

从 8 只豚鼠 (雌性, 200 g) 分离出肺组织 (3 g/只), 去除脂肪组织、支

10 气管和血液, 通过含有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 0.1% 的明胶的 Tyrode 缓冲液 (TGCM 缓冲液) 用酶 (5 mg/ml 胶原酶, 1.8 单位/27 μl 弹性蛋白酶) 处理三遍, 分别用时 15 分钟, 15 分钟和 25 分钟。每次酶处理过程中, 肺组织用尼龙过滤网和金属过滤网 (100 μm) 过滤, 并离心分离 (称为单分散肥大细胞)。丸状沉淀物悬浮在 16 ml 含有 Ca^{2+} 、0.1% 的明胶, 不含 Mg^{2+} 的缓冲液 (TG 缓冲液) 中, 装载成粗硅石

15 胶态悬浮液 (Percoll) (1.041 mg/ml 密度), 并在 1400 rpm 转速下离心 25 分钟, 得到丸状沉淀物。细胞再在 8 ml 的 TG 缓冲液中悬浮, 装载成间断型硅石胶态悬浮液 (Percoll) (1.06-1.10 mg/ml 密度), 并在 1400 rpm 转速下再次离心 25 分钟, 得到各种细胞层。在它们当中, 肥大细胞主要存在于第三和第四层, 得自这些层中的细胞用 TGCM 缓冲液洗涤两次。总细胞和肥大细胞分别用台盼蓝

20 和阿辛蓝染色, 通过显微镜测量细胞数以确定肥大细胞的纯度, 纯度确定大约为 80-90%。

2. 用抗原/抗体反应分析肥大细胞中组胺的释放

肥大细胞 (4×10^5 个细胞) 用豚鼠 IgG1 抗体 (抗-OVA 1 ml/ 10^6 个细胞) 处理, 在 37℃ 下反应 45 分钟, 然后用 TGCM 缓冲液洗涤, 去除掉没有结合到肥

25 大细胞膜上的抗-OVA 抗体。细胞在 1 ml TGCM 缓冲液中悬浮, 对每个浓度用药物 (试验物质) 处理 5 分钟。悬浮液用 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的卵清蛋白 (OVA) 致敏, 反应 10 分钟, 用冰冷却, 离心分离。离心后, 检测上清液的组胺。

每个样品中释放的组胺的量可使用自动恒流提取和荧光分析仪 (Astoria 分析仪 300 型, Astoria-pacific international, Oregon, USA) 检测, 并由

30 Siraganian 的方法 (1) 进行修正。准备好 1N 盐酸, 0.73M 磷酸, 5N 氢氧化钠,

1N 氢氧化钠, 盐稀释剂和进样器洗剂, 以及 o-苯二醛溶液, 连接好与分析仪相连接的管, 稀释组胺储备液到 20 ng、10 ng、5 ng、3 ng、1 ng, 得到浓度依赖性结果的标准曲线。每个样品用 2% 的高氯酸稀释以检测组胺含量。每个样品中的组胺含量用如下公式计算, 为相对于在总细胞中的组胺含量的百分数。

$$5 \quad * \text{组胺含量} = (\text{样品中组胺释放量} - \text{自身释放量}) / (\text{总组胺释放量} - \text{自身释放量}) \times 100$$

上述的检测结果见表 4。研究从天然产品中分离的异荳草素的抗组胺活性, 可以确定异荳草素通过浓度依赖方式抑制肥大细胞中的组胺释放, IC_{50} 值为 30 μg 。

10 表 4

异荳草素对由 $1.0 \mu\text{g}/4 \times 10^5$ 细胞^a活化而被动致敏 (抗 OVA 抗体) 的肺肥大细胞中组胺释放的影响。

样品名称	组胺 (%)
OVA	32.5 ± 0.86
异荳草素 (1.25 μg)	27.9 ± 2.62 (14) **
异荳草素 (2.5 μg)	25.6 ± 1.49 (21.3) **
异荳草素 (5 μg)	21.9 ± 2.01 (32.6) *
异荳草素 (10 μg)	17.2 ± 1.07 (47.2) **
实施例 3 的 95% 乙醇的表皮提取物 (50 μg)	24.7 ± 1.75 (24.0) **
实施例 3 的 70% 乙醇的表皮提取物 (50 μg)	15.2 ± 0.93 (53.2) ***
实施例 3 的 50% 乙醇的表皮提取物 (50 μg)	5.2 ± 0.43 (84.0) **
实施例 3 的 30% 乙醇的表皮提取物 (50 μg)	20.4 ± 1.75 (37.2) **
实施例 4 的竹类植物提取物 (50 μg)	19.2 ± 0.82 (40.9) **
实施例 4 的竹类植物提取物 (100 μg)	3.2 ± 0.52 (90.15) **

^a豚鼠肥大细胞通过酶消化作用, 走粗硅石胶态悬浮液和间断型硅石胶态悬浮液的密度梯度方法分离, 纯化。肥大细胞 (4×10^5 细胞) 由抗 OVA 抗体被动致敏, 并由 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的 OVA 攻击。异荳草素在抗原攻击前 5 分钟加入。上清液中的组胺通过荧光分析仪测定。

^b组胺释放的量用占总组胺量的百分数表示。圆括号表示用 UG4-92 预处理

后的减少的百分数。

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, 与单独使用 OVA 相比。

(): 抑制%

制剂实施例 1: 溶液剂的制备

5	异荛草素	1g
	糖	10 g
	异构化的糖	10 g
	柠檬调味剂	适量
	加入纯净水后的总量	100 ml

10 上述成分用常规制备溶液剂的方法混合, 灭菌后得到溶液。

制剂实施例 2: 胶囊的制备

	异荛草素	500 mg
	乳糖	50 mg
15	淀粉	50 mg
	滑石粉	2 mg
	硬脂酸镁	适量

上述成分用常规制备胶囊的方法混合, 填充至明胶胶囊中, 得到胶囊。

20 工业实用性

本发明的含有异荛草素的组合物, 异荛草素的用途, 应用异荛草素预防或治疗的方法显示良好的组胺抑制效果, 可以用于预防或治疗各种过敏性疾病、特异性疾病、皮肤病、感冒、胃酸过多症和神经系统障碍。

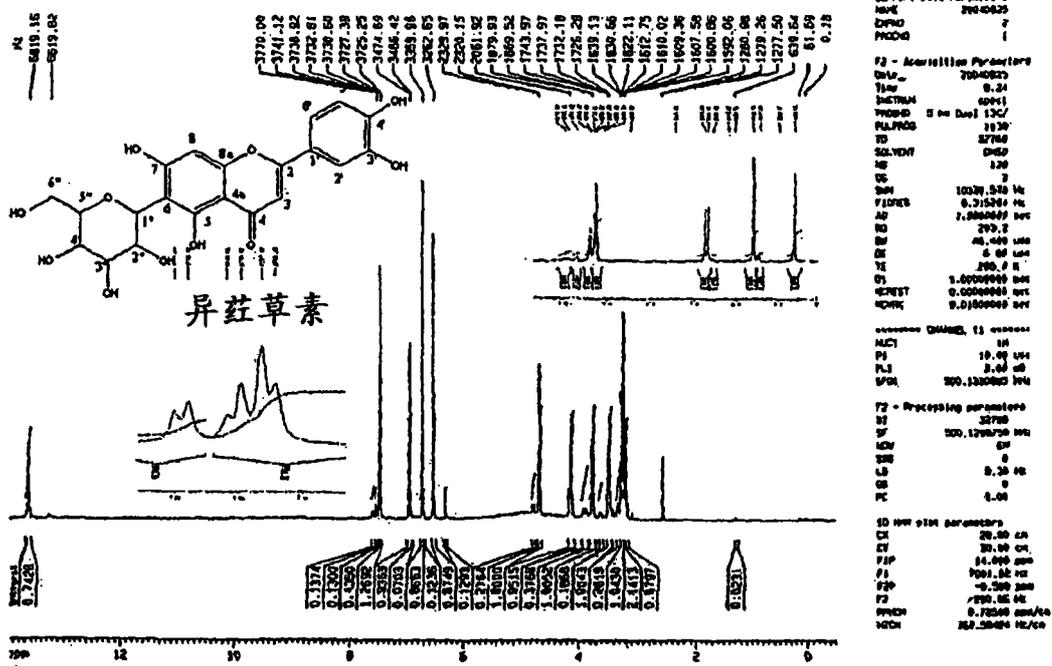


图1

