



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102525945 B

(45) 授权公告日 2013.05.08

(21) 申请号 201210007402.5

(22) 申请日 2012.01.11

(73) 专利权人 南京林业大学

地址 210037 江苏省南京市玄武区龙蟠路  
159号

(72) 发明人 李婷婷 吴彩娥 方升佐 范龚建  
杨万霞 尚旭岚

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限  
公司 32200

代理人 楼高潮

(56) 对比文件

CN 1389146 A, 2003.01.08, 说明书第 4-6  
页.

CN 101244119 A, 2008.08.20, 说明书第 1-2  
页.

谢建华等. 青钱柳多糖提取工艺的研究.《食  
品科学》. 2007, 第 28 卷 (第 10 期), 第 188-191  
页.

审查员 陈卫星

(51) Int. Cl.

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

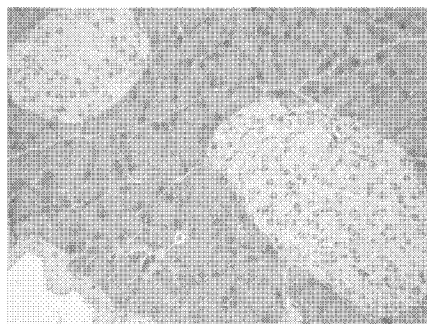
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

青钱柳降血糖冲剂的制备方法

(57) 摘要

青钱柳降血糖冲剂的制备方法,步骤为:青  
钱柳叶烘干粉碎,过 20~40 目筛,以料水质量比  
1:8~1:20,在 60~90℃下进行超声微波协同提取  
1~2h,提取液经 8000rad/min-10000rad/min 高速  
离心,上清液经减压浓缩,浓缩液加入 3 倍~4 倍  
体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次  
加入 3 倍~4 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉  
淀物即为青钱柳多糖;再配以不同种类适宜的辅  
料,经制粒干燥整粒,得青钱柳降血糖无糖甜型冲  
剂或原味冲剂。通过青钱柳的提取试验,采用超声  
微波协同提取的多糖得率可提高 2.35 倍,经动物  
实验验证,本发明所研制的青钱柳冲剂可以显著  
的降低受试糖尿病小鼠的血糖。



1. 青钱柳降血糖冲剂的制备方法,其特征在于步骤为:制备青钱柳多糖,青钱柳叶烘干粉碎,过20~40目筛,以料水质量比1:8~1:20,在60~90℃下进行超声微波协同提取1~2h,提取液经8000rad/min-10000rad/min高速离心,上清液减压浓缩至室温下相对密度为1.1~1.2,浓缩液加入3倍~4倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入3倍~4倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖;再将青钱柳多糖、麦芽糊精、木糖醇、甜蜜素和柠檬酸,按照质量份青钱柳多糖占20-90份,麦芽糊精占5-50份,木糖醇占5-25份,柠檬酸0.01-1份,甜蜜素0.05-0.5g/kg的配比混合,经制粒干燥整粒,得青钱柳降血糖无糖甜型冲剂;提取时超声功率为100-1000w,频率25KHz,微波功率为100-1000w,频率为2450MHz。

2. 根据权利要求1所述的青钱柳降血糖冲剂的制备方法,其特征在于所述的干燥方式为真空干燥或流化床干燥。

3. 根据权利要求1所述的青钱柳降血糖冲剂的制备方法,其特征在于所述的制粒方式为湿法制粒或真空干燥物料后粉碎制粒。

4. 青钱柳降血糖冲剂的制备方法,其特征在于步骤为:制备青钱柳多糖,青钱柳叶烘干粉碎,过20~40目筛,以料水质量比1:8~1:20,在60~90℃下进行超声微波协同提取1~2h,提取液经8000rad/min-10000rad/min高速离心,上清液经减压浓缩至室温下相对密度为1.1~1.2,浓缩液加入3倍~4倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入3倍~4倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖;再将青钱柳多糖、麦芽糊精和β-环糊精,按照质量份青钱柳多糖占20-90份,麦芽糊精占5-40份,β-环糊精占5-40份的比例混合,经制粒干燥整粒,得青钱柳降血糖原味冲剂;提取时超声功率为100-1000w,频率25KHz,微波功率为100-1000w,频率为2450MHz。

5. 根据权利要求4所述的青钱柳降血糖冲剂的制备方法,其特征在于所述的干燥方式为真空干燥或流化床干燥。

6. 根据权利要求4所述的青钱柳降血糖冲剂的制备方法,其特征在于所述的制粒方式为湿法制粒或真空干燥物料后粉碎制粒。

## 青钱柳降血糖冲剂的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及青钱柳深加工技术领域,具体涉及一种具有降血糖作用的青钱柳冲剂制备方法,尤其涉及以青钱柳叶中的活性多糖为原料制成的青钱柳降血糖冲剂制备方法。

### 背景技术

[0002] 青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja] 又名青钱李、山麻柳、甜茶树、一串钱。系双子叶植物纲胡桃科青钱柳属,是我国独有的单种属植物。因其树形似柳,果实圆形似铜钱,色青而下垂,故名“青钱柳”。它广泛分布于江西、浙江、江苏、安徽、福建、台湾、湖北、四川、贵州、云南等地。众多文献报道表明青钱柳具有丰富的生物活性成分和较高的医疗价值,引起国内外学者的关注,极具应用价值。

[0003] 青钱柳叶甘甜滋润,具生津止渴、清热解暑功能,民间以其叶作甜茶饮。《中国中药资源志要》记载,其树叶、树皮、树根可入药,性温,味辛微苦,具有清热消肿、解毒、止痛功能,可用于治疗顽癣。现代药理学表明,青钱柳提取物具有降血糖、降血压、降血脂等生理活性,同时还有增强肌体免疫力、抗氧化、防止衰老等生理功能,能防治糖尿病、冠心病、神经衰弱等疾病。由此可见,在健康为社会主流的背景下,青钱柳作为我国特有的保健食品资源,具有很高的应用开发价值。

[0004] 然而到目前为止,由于我国青钱柳的开发时间尚短,且由于青钱柳本身的一些特性,其进一步深度开发和综合利用方面存在一定的难度,现有报道的青钱柳开发利用多集中在对其活性物质进行提取上,而对其进行深入加工利用则较少。目前有文献报道的青钱柳产品仅有青钱柳保健茶、青钱柳速溶茶、青钱柳口含片等。中国专利 CN1489946A 公开的“青钱柳叶复方速溶茶”,其主要工艺是将青钱柳叶、绿茶、山药、黄芪、生地黄粉碎过筛后,混合浸提,配料干燥后制得。因为上述原料中的活性成分不同,其所需的最佳提取条件也并不尽相同,这种混合式的提取法仍然延续传统中药混合煎煮的方式,无法做到特异的、有针对性的获取其中的活性成分。此外,由于青钱柳叶自身的特性,其水提物经干燥后极易吸潮结块,严重影响到速溶茶的溶解性和后续包装,如何调整配料和工艺解决上述问题也是其开发的一个难点。因此,有待于进一步深入研究和开发新型的、附加值更高的青钱柳产品。

[0005] 本发明则克服上述不足之处,有针对性的将青钱柳中的功效成分——多糖采用超声微波协同的方式高效提取出来,这样避免了直接煎煮法带来的功效成分含量低的缺点,提高了成品中的有效成分含量。另外针对青钱柳多糖易吸潮结块的特点,本发明选取辅料包埋的方式,通过冲剂配方筛选和制造工艺的优化,有效地提高了产品的稳定性,增加了产品的溶解度和溶出速率,并根据市场不同人群的需求,开发出甜味无糖型和原味两种口味的青钱柳冲剂,所采用的制备技术可进一步提高加工效率和功效成分多糖的稳定性,降低生产成本。

### 发明内容

[0006] 解决的技术问题:本发明的目的是针对青钱柳开发的现有技术中所存在的缺陷,

制备出青钱柳活性成分多糖的冲剂,提供了一种工艺条件更合理、制备效率更高,携带更方便、疗效确切的青钱柳冲剂制备方法,并对所制冲剂的降血糖效果进行评估验证。

[0007] 技术方案:青钱柳降血糖冲剂的制备方法,步骤为:制备青钱柳多糖,青钱柳叶烘干粉碎,过 20~40 目筛,以料水质量比 1:8~1:20,在 60~90℃ 下进行超声微波协同提取 1~2h,提取液经 8000rad/min-10000rad/min 高速离心,上清液经减压浓缩至相对密度为 1.1~1.2(室温),浓缩液加入 3 倍~4 倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入 3 倍~4 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖;再将青钱柳多糖、麦芽糊精、木糖醇、甜蜜素和柠檬酸,按照质量份青钱柳总多糖占 20-90 份,麦芽糊精占 5-50 份,木糖醇占 5-25 份,柠檬酸 0.01-1 份,甜蜜素 0.05-0.5g/kg 的配比混合,经制粒干燥整粒,得青钱柳降血糖无糖甜型冲剂。

[0008] 青钱柳降血糖冲剂的制备方法,步骤为:制备青钱柳多糖,青钱柳叶烘干粉碎,过 20~40 目筛,以料水质量比 1:8~1:20,在 60~90℃ 下进行超声微波协同提取 1~2h,提取液经 8000rad/min-10000rad/min 高速离心,上清液经减压浓缩,浓缩液加入 3 倍~4 倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入 3 倍~4 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖;再将青钱柳多糖、麦芽糊精和  $\beta$ -环糊精,按照质量份青钱柳总多糖占 20-90 份,麦芽糊精占 5-40 份, $\beta$ -环糊精占 5-40 份的比例混合,经制粒干燥整粒,得青钱柳降血糖原味冲剂。

[0009] 上述提取时超声功率为 100-1000w,频率 25KHz,微波功率为 100-1000w,频率为 2450MHz。

[0010] 上述的干燥方式为真空干燥或流化床干燥。

[0011] 上述的制粒方式为湿法制粒或真空干燥物料后粉碎制粒。

[0012] 有益效果:通过青钱柳的提取试验,比较热水浸提、超声提取、超声微波协同提取青钱柳多糖的得率,见表 1 所示,采用超声微波协同提取的多糖得率可提高 2.35 倍。多糖得率是指占原料质量的百分率。

[0013] 表 1 青钱柳多糖提取得率的对比

[0014]

	热水浸提	超声提取	超声微波协同提取
多糖得率	1.33%	1.95%	3.12%

#### 附图说明

[0015] 图 1 正常组胰腺组织切片;

[0016] 图 2 模型组胰腺组织切片;

[0017] 图 3 阳性组胰腺组织切片;

[0018] 图 4 高剂量组胰腺组织切片;

[0019] 图 5 中剂量组胰腺组织切片;

[0020] 图 6 低剂量组胰腺组织切片。

#### 具体实施方式

**[0021] 实施例 1**

**[0022]** 青钱柳叶烘干粉碎,过 30 目筛,以料水质量比 1 : 8,在 70℃下进行超声微波协同提取 2h,超声提取功率为 500w,频率 25KHz,微波功率为 600w,频率 2450MHz,提取液经 10000rad/min 高速离心,上清液经减压浓缩至相对密度为 1.15(室温),浓缩液加入 4 倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入 4 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖。按质量份称取青钱柳多糖 5kg,麦芽糊精 3.5kg,木糖醇 1.5kg,柠檬酸 20g,甜蜜素 2g,将上述材料充分混合均匀,以 85% vt 的乙醇为湿润剂经制粒机制粒,于 60℃下干燥,经 16 目筛整粒,即得青钱柳多糖冲剂。

**[0023] 实施例 2**

**[0024]** 青钱柳叶烘干粉碎,过 20 目筛,以料水质量比 1 : 10,在 80℃下进行超声微波协同提取 1.5h,超声提取功率为 600w,频率 25KHz,微波功率为 800w,频率 2450MHz,提取液经 10000rad/min 高速离心,上清液经减压浓缩至相对密度为 1.18(室温),浓缩液加入 4 倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入 4 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖。按质量份称取青钱柳多糖 4kg,麦芽糊精 4kg,木糖醇 2kg,柠檬酸 30g,甜蜜素 4g,将上述材料加适量水后充分混合均匀,再添加甜蜜素至其在体系中的浓度为 0.4g/kg,于 60℃下进行真空干燥,再由粉碎机粉碎,经 24 目筛整粒,即得青钱柳多糖冲剂。

**[0025] 实施例 3**

**[0026]** 青钱柳叶烘干粉碎,过 40 目筛,以料水质量比 1 : 15,在 85℃下进行超声微波协同提取 1h,超声功率为 800w,频率 25KHz,微波功率为 700w,频率为 2450MHz,提取液经 9000rad/min 高速离心,上清液经减压浓缩至相对密度为 1.16(室温),浓缩液加入 3 倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入 4 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖。按质量分称取青钱柳多糖 6kg,麦芽糊精 3kg,β-环糊精 1kg,将上述材料加适量水后充分混合均匀,于 60℃下进行真空干燥,再由粉碎机粉碎,经 24 目筛整粒,即得青钱柳多糖冲剂。

**[0027] 实施例 4**

**[0028]** 青钱柳叶烘干粉碎,过 24 目筛,以料水质量比 1 : 20,在 90℃下进行超声微波协同提取 1h,超声功率为 900w,频率 25KHz,微波功率为 900w,频率为 2450MHz,提取液经 10000rad/min 高速离心,上清液经减压浓缩至相对密度为 1.2(室温),浓缩液加入 4 倍体积的无水乙醇沉淀,沉淀物经热水溶解后,再次加入 3 倍体积的无水乙醇重复沉淀,收集沉淀物即为青钱柳多糖,测得多糖得率为 3.06%。按质量比称取青钱柳多糖 6.5kg,麦芽糊精 2kg,β-环糊精 1.5kg,将上述材料加适量水后充分混合均匀,以 75% vt 的乙醇为湿润剂经制粒机制粒,于 50℃下流化床干燥,经 20 目筛整粒,即得青钱柳多糖冲剂。

**[0029]** 在青钱柳的降血糖功效方面作了如下研究:以所制得青钱柳冲剂为样本,对糖尿病小鼠在连续给药后 3 周后,测量其血糖值、体重、肝糖原、总胆固醇、甘油三酯,并观测小鼠胰腺组织病理切片,全面考察其降血糖效果,为后续应用提供实验依据。

**[0030]** 降血糖试验(以实施例 4 所制得的青钱柳多糖冲剂为样品)

**[0031]** 实验目的:用链佐霉素注射小鼠体内,诱导糖尿病小鼠模型,考察青钱柳冲剂对糖尿病小鼠的降血糖作用。

[0032] 受试样品与方案:青钱柳原味型冲剂。将冲剂,以高中低三种剂量,蒸馏水配成水悬浮液灌胃给药 3 周,每天 1 次。其中高中低剂量组给药量分别为 2g/kg、1g/kg、0.5g/kg;正常对照组灌胃给予等量溶媒(蒸馏水),每天 1 次,持续 21 天;模型对照组灌胃给予等量溶媒,每天 1 次,持续 21 天;阳性对照组:灌胃给予消渴丸 2g/kg,每天 1 次,持续 21 天;

[0033] 对照药物:消渴丸,广州中一药业有限公司,批号:2176。

[0034] 受试动物:来源、种系、品系:SPF 级 ICR 小鼠,由南通大学实验动物中心提供。实验动物质量合格证:SCXK(苏)2008-0010,合格证编号:2012391,实验动物使用许可证:SYXK(军)2007-030

[0035] 实验设备与试剂:ACCU-CHEK Advantage 血糖检测系统,罗氏诊断产品(上海)有限公司;AU2700 全自动生化分析仪,Olympus,日本;链佐霉素,Sigma,批号:S-0130;柠檬酸,成都市科龙化工试剂厂,批号:20071118;甲醛,南京宁诚化学药品试剂有限公司,批号:20100518

[0036] 实验与结果

[0037] 1. 青钱柳冲剂对小鼠体重、血糖、总胆固醇和甘油三酯的影响

[0038] 实验前禁食 24h,除正常组外,其余各组尾静脉注射 200mg/kg 链佐霉素 10ml/kg,48h 后检测血糖浓度及体重。检测血糖浓度在 15-30mmol/L 小鼠为造模成功。(正常小鼠空腹血糖参考值:3.5-7.1mmol/L)选取 ICR 小鼠 48 只随机分为 6 组,每组 8 只,(1)模型对照组;(2)正常对照组;(3)阳性对照组消渴丸 2g/kg;(4)青钱柳冲剂高剂量组 2g/kg;(5)青钱柳冲剂中剂量组 1g/kg;(6)青钱柳冲剂低剂量组 0.5g/kg;每天给予小鼠 10ml/kg 量灌胃,每天 1 次,连续给药 21 天。正常对照组和模型对照组给予等体积蒸馏水灌胃。实验期间自由饮水,给予普通饲料。

[0039] ACCU-CHEK Advantage 血糖检测系统测定受试小鼠的血糖,由 AU2700 全自动生化分析仪测定受试小鼠的总胆固醇和甘油三酯,其结果见下表,数据表明样品具有显著降低糖尿病小鼠的血糖值和总胆固醇,极显著的改善和保持受试小鼠的体重。

[0040] 表 2. 青钱柳冲剂对小鼠体重与血糖值的影响

[0041]

	血糖值 mmol/L	体重 /g
正常对照组	6.5±0.7	28.4±1.9
模型对照组	32.4±0.9	18.2±1.6
阳性对照组	8.8±7.0**	26.4±1.3**
冲剂高剂量组	11.3±3.5**	23.9±2.0**
冲剂中剂量组	15.1±5.4*	21.4±2.5**
冲剂低剂量组	16.7±6.2*	23.1±2.0**

[0042] 与模型对照组比较,\*P < 0.05,\*\*P < 0.01

[0043] 表 3. 青钱柳冲剂对糖尿病小鼠血脂的影响

[0044]

	总胆固醇 mmol/L	甘油三酯 mmol/L
正常对照组	2.075±0.248	1.456±0.462
模型对照组	3.311±0.565	1.245±0.436
阳性对照组	2.453±0.432**	1.428±0.120
冲剂高剂量组	2.286±0.412**	1.721±0.483
冲剂中剂量组	2.638±0.516*	1.266±0.325
冲剂低剂量组	2.889±0.575	1.306±0.365

[0045] 与模型对照组比较, \*P &lt; 0.05, \*\*P &lt; 0.01

[0046] 2. 青钱柳冲剂对小鼠糖肝原的影响

[0047] 取新鲜肝脏样本用生理盐水漂洗后, 滤纸吸干, 称重。按样本重量 (mg) : 碱液体积 (μl) = 1 : 3, 一起加入试管中, 沸水浴煮 20min, 流水冷却。将糖原水解液进一步制备成糖原检测液, 肝糖原检测液为 1%, 混匀后置沸水中煮 5min, 冷却后于 620nm 波长, 1cm 光径, 空白管调零, 测各管 OD 值。由下列公式计算出组织中糖原含量。

[0048]

$$\text{糖原含量 (mg/g)} = \frac{\text{测定管OD值}}{\text{标准管OD值}} \times \text{标准管含量} \times \text{样本稀释倍数} \times 10 \div 1.11$$

[0049] 糖原代谢是体内糖代谢的重要组成部分, 肝糖原是体内血糖的重要来源。肝糖原合成减少, 糖异生增多以及肝脂肪合成减少、分解增多是血糖增高的主要原因之一, 在糖尿病机体中, 肝脏伴有代谢变化, 如肝细胞脂肪变性, 肝糖原减少。从实验结果来看, 青钱柳冲剂低剂量组肝糖原含量与模型组比较, 有显著增加, 而高剂量组和中剂量组的肝糖原有极显著的增加, 表明该冲剂可以显著提高肝糖原含量, 促进肝糖原恢复至正常水平, 缓解糖尿病症。

[0050] 表 4 青钱柳冲剂对糖尿病小鼠肝糖原的影响

[0051]

	糖原含量 (mg/g)
正常对照组	2.514±0.241
模型对照组	1.837±0.342
阳性对照组	2.105±0.169
冲剂高剂量组	2.681±0.932**
冲剂中剂量组	2.669±0.589**

冲剂低剂量组	2.138±0.220*
--------	--------------

[0052] 与模型对照组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 ;

[0053] 3. 青钱柳冲剂对小鼠胰腺组织的影响

[0054] 将不同处理小鼠的胰腺组织用4%福尔马林溶液固定, 分别做胰正常组、模型组、阳性组、高剂量组、中剂量组、低剂量组的胰腺组织病理切片, 其结果见附图。由图和下表可知糖尿病模型组, 胰腺的组织病理学表现主要为: 胰岛数量明显减少, 胰岛面积小, 边缘不整齐。胰岛内细胞数目减少, 排列松散, 部分细胞变性。药物应用后有减轻胰岛病变的作用。表现为冲剂低剂量组能显著增加胰岛数目, 冲剂中剂量组合高剂量组能极显著增加胰岛数目, 冲剂高剂量组能显著增大胰岛面积, 减轻胰岛细胞变性程度。

[0055] 表5 对糖尿病小鼠胰腺病理变化的影响

[0056]

	平均胰岛数 (个/只)	平均胰岛面积 (mm <sup>2</sup> /个/100倍)
正常对照组	1.10±1.16	0.84±0.82
模型对照组	0.33±0.77	0.41±0.19
阳性对照组	2.25±1.92**	0.82±0.50*
冲剂高剂量组	1.54±1.67**	1.03±0.83*
冲剂中剂量组	1.38±1.36**	0.58±0.46
冲剂低剂量组	1.10±1.14*	0.57±0.37

[0057] 与模型对照组比较, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

[0058] 通过一系列实验可以看出, 青钱柳冲剂能显著降低糖尿病小鼠的血糖值和总胆固醇, 显著的改善和保持受试小鼠的体重, 并可以显著提高肝糖原含量, 促进肝糖原恢复至正常水平, 缓解糖尿病症。从胰腺组织切片则可以看出冲剂应用后有减轻胰岛病变的作用。表现为增加胰岛数目, 增大胰岛面积, 减轻胰岛细胞变性程度。其中高剂量效果较好, 与模型组相比有统计学差异。

[0059] 附图: 青钱柳冲剂对小鼠胰腺组织的影响, 通过模型组和药剂组的胰腺组织切片图比较可以看出, 药物应用后有减轻胰岛病变的作用, 表现为可以显著增加胰岛数目, 增大胰岛面积, 减轻胰岛细胞变性程度。其中高剂量效果较好, 与模型组相比有统计学差异。



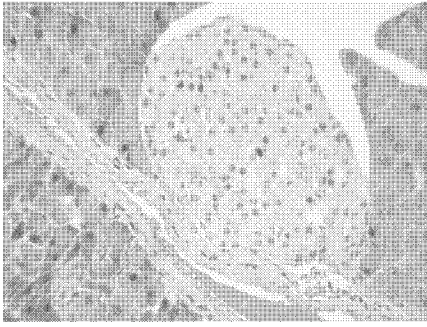


图 1

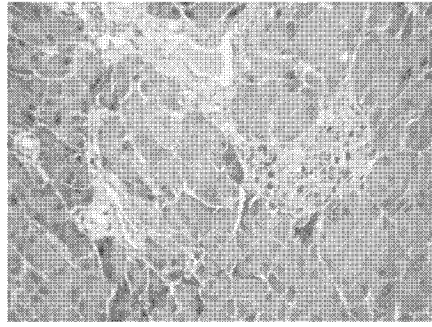


图 2

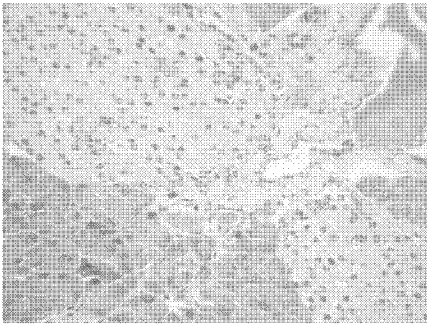


图 3

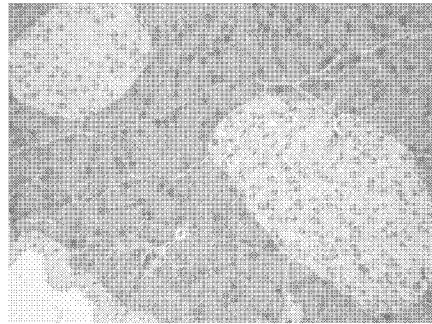


图 4

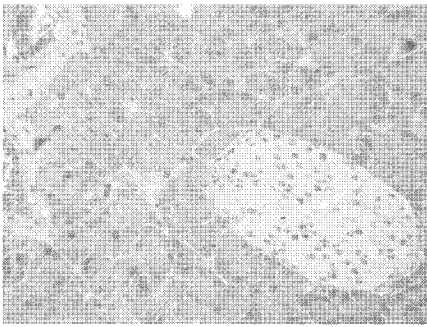


图 5

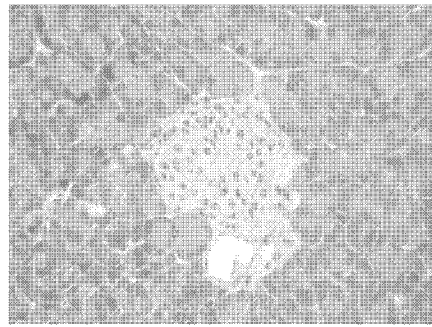


图 6