

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2010 年 12 月 23 日 (23.12.2010)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2010/145192 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/7048 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) A61P 13/08 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) A61P 25/16 (2006.01)
A61P 1/18 (2006.01) A61P 27/06 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) A61P 27/10 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) A61P 27/12 (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 9/06 (2006.01) A61K 31/4375 (2006.01)

(30) 优先权:

200910040336.X 2009 年 6 月 16 日 (16.06.2009) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 海南德泽药物研究有限公司 (HAINAN DEZE DRUG RESEARCH CO., LTD.) [CN/CN]; 中国海南省海口市秀英区滨海大道 129-2 号东方洋大厦 6A 吴巍, Hainan 570105 (CN)。

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 腾厚雷 (TENG, Houlei) [CN/CN]; 中国海南省海口市秀英区滨海大道 129-2 号东方洋大厦 6A, Hainan 570105 (CN)。
吴巍 (WU, Wei) [CN/CN]; 中国海南省海口市秀英区滨海大道 129-2 号东方洋大厦 6A, Hainan 570105 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2010/000791

(22) 国际申请日: 2010 年 6 月 3 日 (03.06.2010)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,

[见续页]

(54) Title: MANGIFERIN-BERBERINE SALT, MANUFACTURING METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种芒果苷小檗碱盐及其制备方法与用途

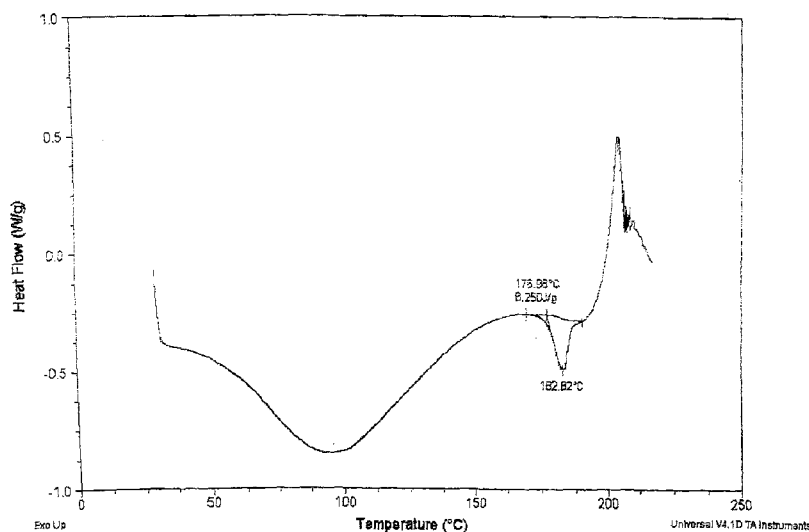


图 1 / FIG. 1

(57) Abstract: The present invention provides a mangiferin-berberine salt and manufacturing method thereof. Otherwise, the present invention also provides the use of mangiferin-berberine salt as AMPK activator.

(57) 摘要:

本发明提供了一种芒果苷小檗碱盐及其制备方法。另外亦提供该芒果苷小檗碱盐用作 AMPK 激活剂的用途。

WO 2010/145192 A1



GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

- (84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ,

BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

说明书

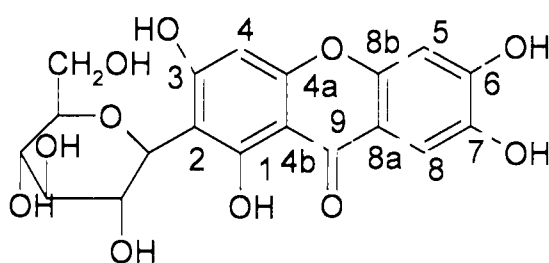
一种芒果苷小檗碱盐及其制备方法与用途

技术领域

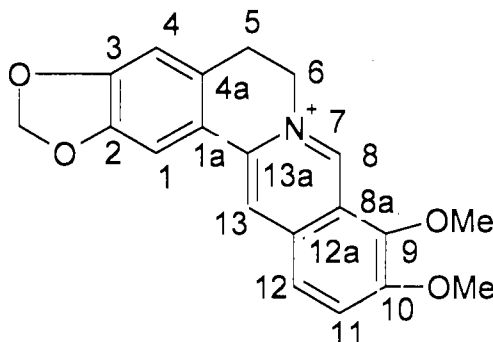
本发明涉及一种芒果苷小檗碱盐及其制备方法及作为 AMPK 激活剂的用途。

背景技术

芒果苷(mangiferin)是天然多酚类化合物, 分子式: $C_{19}H_{18}O_{11}$, 分子量: 422。其化学结构如下:



小檗碱(berberine)为异喹啉类生物碱。分子式: $[C_{20}H_{18}NO_4]^+$, 分子量: 336.37。其化学结构如下:



广西中医学院李学坚课题组公开的专利说明书【公开号: CN101066275A; 发明名称: 芒果苷-小檗碱组合物】之发明内容第一段论到: “芒果苷呈酸性, 而小檗碱 (或其盐类) 呈碱性, 可在一定条件下反应生成芒果苷-小檗碱组合物——定位为组合物, 是因为两者的结合并不十分牢固, 只是分子间范德华力作用的结果。这种组合物在浓度较大, 或在体内消化时, 又互相分开而独立存在, 这也为它们发挥各自的药理作用创造了条件。” 第五段论到: “试验结果表明, 浓度在 2.5% 以下的芒果苷-小檗碱组合物溶液十分稳定, 即使置于 5℃ 环境中保存, 也不会析出结晶; 如是 2.5-5% 的溶液, 即配即用, 在 8 个小时内不会析出结晶; 如是 5-10% 的溶液, 即配即用, 在 3 个小时内不会析出结晶”。

分析上述技术方案可知：首先其阐述的物质基础是“溶液状态下的组合物”，其次，由于该物质基础为溶液状态下的组合物，故存在着以下缺陷：

1、稳定性差；根据上述专利说明书中公开的内容可见，该组合物的稳定性为数小时，而符合药物特性的稳定性至少需达1年以上，可见该技术方案中阐述的组合物的稳定性较差。

2、不易贮存；

3、无法制备固体制剂。上述专利说明书中公开的内容仅为将该组合物制备成液体制剂或半固体制剂，未见有固体制剂的内容。

我们已公开的关于芒果苷与小檗碱的组合物【公开号：WO/2008/043246；发明名称：具有2型糖尿病及其慢性并发症治疗作用的药物组合物】则仅为芒果苷与小檗碱两个化合物按一定比例组合的组合物，并未涉及化合物间的反应或结合。

CN101066275A 公开的专利申请中提供的芒果苷小檗碱溶液状态下的组合物的制备方法，尽管芒果苷呈弱酸性，而小檗碱（或其盐类）呈弱碱性，但在其所公开的反应条件下，无法获得芒果苷小檗碱盐。该说明书中亦论到“芒果苷呈酸性，而小檗碱（或其盐类）呈碱性，可在一定条件下反应生成芒果苷-小檗碱组合物——定位为组合物，是因为两者的结合并不十分牢固，只是分子间范德华力作用的结果。”

综上所述，上述公开文献皆未给出将芒果苷与小檗碱通过反应可结合为芒果苷小檗碱盐的技术启示。

磷酸腺苷（AMP）激活的蛋白激酶（AMP-activated protein kinase, AMPK）是一种在细胞内行使能量代谢调节的蛋白激酶。随着对AMPK研究的日益深入，AMPK在代谢性疾病、心血管疾病、神经系统疾病、炎症性疾病、肿瘤、肌肉系统疾病的发病中发挥至关重要的作用，AMPK正成为疾病治疗新靶点，但目前尚未有上市的AMPK激活剂，故研究开发AMPK激活剂具有重要的临床意义【李忌. AMPK：糖尿病与心血管疾病治疗新靶点. 中国医学论坛报, 2009, (1149); 任俊芳. AMPK与心血管重构. 国际病理科学与临床杂志, 2008, 28(1):33-36; Ricardo Lage, Carlos Dieguez, Antonio Vidal-Puig, et al. AMPK: a metabolic gauge regulating whole-body energy homeostasis. Trends Mol Med, 2008, 14(12):

539-49; 符庆瑛, 高钰琪. 蛋白激酶 AMPK 的研究进展. 生命科学, 17(2):147-152; 陈奇, 梁后杰, 邹岚, 等. 一磷酸腺苷活化蛋白激酶对环氧合酶-2 表达与 5-氟尿嘧啶治疗结肠癌敏感性的关系. 实用医院临床杂志, 2008, 5(3):56-58 等】。

发明内容

我们通过大量的研究创造性地获得芒果苷小檗碱盐。该芒果苷小檗碱盐的物质基础为芒果苷与小檗碱通过离子键结合的化合物，其相较于 CN101066275A 所公开的芒果苷-小檗碱组合物具有以下特点：

- 1、稳定性好。
- 2、可制成固体、液体等各种制剂。
- 3、易于贮存。

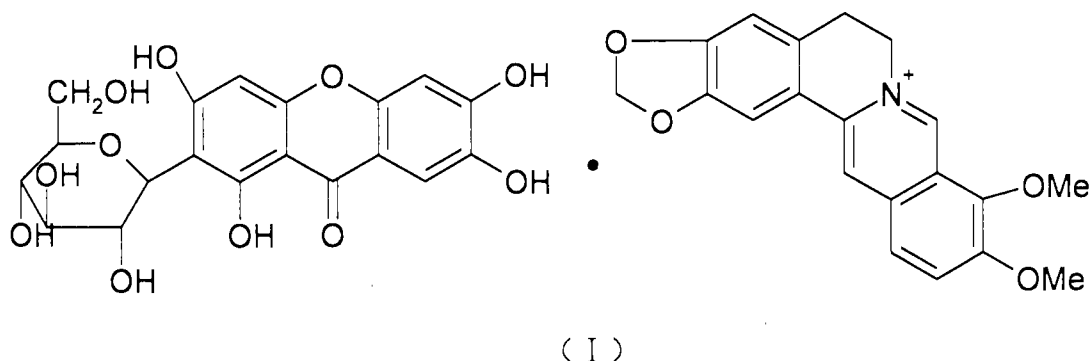
另外，该芒果苷小檗碱盐更表现出以下意想不到的技术效果：

我们的研究发现该芒果苷小檗碱盐在较强酸性溶液溶解，pH 值越小溶解越好，在 pH 值 1-3 的酸液中，芒果苷小檗碱盐浓度低于 2mg/ml 的溶液中 12 小时内仅有微量沉淀析出；在芒果苷小檗碱盐浓度大于 4mg/ml，溶解后会很快析出沉淀。由于人体胃液的 pH 值为 1-3，芒果苷小檗碱盐的上述性质可使其很好的溶解在胃液中，这非常有利于药物在体内的吸收。而芒果苷小檗碱任何比例的组合物在酸水中不能增加溶解度。

具体技术方案如下：

本发明提供一种芒果苷小檗碱盐，其特征在于：

①所述芒果苷小檗碱盐具有下式 (I) 的结构；



②所述芒果苷小檗碱盐的熔点为 176°C-178°C。

本发明所述的芒果苷小檗碱盐，还具有以下特征：所述芒果苷小檗碱盐的碳谱数据具有以下特征：小檗碱 C₆, C_{13a}, C_{8a}, C_{12a} 碳原子的化学位移由于屏蔽作用

而发生显著改变。

本发明所述的芒果苷小檗碱盐，还具有以下特征：所述芒果苷小檗碱盐的碳谱数据具有以下特征：芒果苷 C₃, C₇ 碳原子的化学位移由于去屏蔽作用而发生显著改变。

本发明提供所述芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：

- ①将芒果苷与碱性钠（钾）盐反应制备成芒果苷单钠（钾）盐；
- ②将芒果苷单钠（钾）盐与小檗碱反应生成芒果苷小檗碱盐。

本发明所述的芒果苷小檗碱盐可以采用的制备方法如下：

①在反应器中加入反应溶媒和芒果苷混悬得混悬液，将碱性钠（钾）盐水溶液加入混悬液中，反应至澄清，滤过，得溶液 A。

②将小檗碱加入水中溶解，滤过，得溶液 B。

③将溶液 A 滴加入搅拌状态下的溶液 B 中，滴加完毕继续搅拌，使反应完全，产生大量沉淀，过滤，固体物干燥，得芒果苷小檗碱盐。

本发明所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：所述芒果苷与碱性钠（钾）盐的摩尔配比为 1:0.5-1。

本发明所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：所述芒果苷单钠（钾）盐与小檗碱摩尔配比为 1:1。

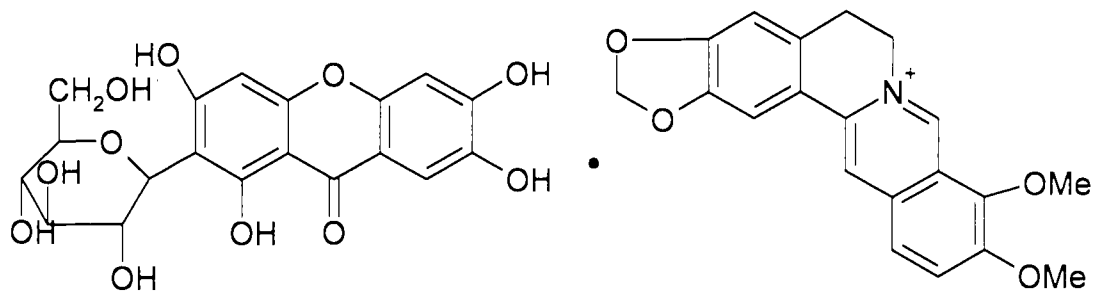
本发明所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：所述碱性钠（钾）盐可以选自碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、醋酸钠、醋酸钾中的一种或两种以上的混合物。

上述制备方法中所述反应溶媒为水与乙醇、甲醇、丙酮等可与水混溶的有机溶剂中一种或两种以上的混合物，其中水的体积比 10-90%(v/v)。

本发明所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：所述小檗碱也可以是盐酸小檗碱、硫酸小檗碱、鞣酸小檗碱或小檗碱其他医学上可接受的盐。优选小檗碱、盐酸小檗碱、硫酸小檗碱。

芒果苷小檗碱盐的理化性质：

芒果苷小檗碱盐，橙色粉末状物，熔点：176-178℃，几乎不溶于水，在沸水中略溶。结构式如下：



芒果苷小檗碱盐的结构确证:

芒果苷小檗碱盐与芒果苷、小檗碱 ¹³CNMR (400MHz) 数据如下表:

	¹³ CNMR(DMSO-d ₆) (δppm)	¹³ CNMR(DMSO-d ₆) (δppm)	化学位移影响 (δppm)
碳序号	芒果苷	芒果苷小檗碱盐	
C4	94.24	93.8	-0.44
C4b	102.21	100.29	-1.92
C5	103.56	101	-2.56
C2	108.49	106.15	-2.34
C8	108.98	102.86	-6.12
C8a	112.64	107.72	-4.92
C7	144.62	147.36	+3.71
C8b	151.69	147.56	-4.13
C6	154.91	154.51	-0.4
C4a	157.14	156.53	-0.61
C1	162.7	162.45	-0.25
C3	164.74	166.23	+1.49
C9	180.0	177.91	-2.09
C6'	62.41	61.86	-0.55
C4'	71.14	71.16	+0.02
C2'	71.55	71.7	+0.15
C1'	73.99	74.21	+0.22
C3'	79.89	80.16	+0.27
C5'	82.49	82.32	-0.17
	小檗碱		
C5	28.24	27.14	-1.1
C6	57.20	55.87	-1.33
C10(-OCH ₃)	57.61	57.64	+0.03
C9(-OCH ₃)	62.56	62.56	0
-O-CH ₂ -O	103.68	102.69	-0.99
C1	106.54	105.73	-0.81
C4	109.40	109.01	-0.39
C1a	121.49	120.89	-0.6
C13	121.86	121.07	-0.79

C8a	123.33	121.97	-1.36
C12	124.55	124.18	-0.37
C11	128.04	126.99	-1.05
C4a	131.90	131.15	-0.75
C12a	135.13	133.56	-1.57
C13a	139.65	137.96	-1.69
C8	145.73	145.69	-0.04
C9	146.42	144.12	-2.3
C2	149.92	149.79	-1.59
C10	152.02	150.48	-1.54
C3	152.17	150.89	-1.28

芒果苷小檗碱盐与芒果苷、小檗碱¹HNMR (400MHz) 数据如下表

	¹ HNMR(DMSO-d ₆) (δppm)	¹ HNMR(DMSO-d ₆) (δppm)	化学位移影响 (δppm)
氢序号	芒果苷	芒果苷小檗碱盐	
H1'	4.60	4.56	-0.04
H5	6.37	6.01	-0.36
H4	6.86	6.15	-0.71
H8	7.39	6.88	-0.51
	小檗碱		
H1	7.8	7.75	-0.05
H4	7.09	7.05	-0.04
H5	3.19	3.11	-0.08
H6	4.92	4.90	-0.02
H8	9.9	9.84	-0.06
H9 (OCH ₃)	4.11	4.05	-0.06
H10 (OCH ₃)	4.21	4.08	-0.13
H11	8.19	8.14	-0.05
H12	7.99	7.92	-0.07
H13	8.96	8.86	-0.1
H(O-CH ₂ -O)	6.17	6.16	-0.01

上述数据分析如下:

芒果苷小檗碱盐的碳核磁数据与芒果苷、小檗碱碳核磁数据比较: 小檗碱基团的 C₈, C_{13a}, C_{8a}, C_{12a} 等碳原子的化学位移由于屏蔽作用改变显著, 其他碳原子的化学位移都有不同程度的改变。芒果苷基团的 C₃, C₇ 碳原子的化学位移由于去屏蔽作用而发生显著改变, 其他碳原子的化学位移由于屏蔽作用均有不同程度的改变。

芒果苷小檗碱盐的氢核磁数据与芒果苷、小檗碱氢核磁数据比较: 小檗碱基团的 H₅, H₁₂, H₁₃ 等氢原子的化学位移由于屏蔽作用而改变显著, 其他氢原子的化学

位移都有不同程度的改变。芒果苷基团的端基质子 H_1' 和三个芳香质子 H_1, H_5, H_8 等氢原子的化学位移由于屏蔽作用改变显著。

上述核磁数据化学位移的变化表明：芒果苷基团与小檗碱基团中各原子的化学环境发生了变化，说明小檗碱基团与芒果苷基团结合形成了芒果苷小檗碱盐。

本发明的另一目的是提供一种药物，该药物由上述芒果苷小檗碱盐与药学上可接受的药用辅料组合，并按相应的制药方法，即可制成临床适用的任何一种口服制剂、外用制剂或注射剂，例如片剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、颗粒剂、丸剂、糖浆剂、口服溶液剂、口服混悬剂、凝胶剂、冻干粉针等临床可接受的剂型。

本发明提供所述芒果苷小檗碱盐在制备 AMPK 激活剂中的用途。

本发明提供以芒果苷小檗碱盐为活性成分制备的药物在制备 AMPK 激活剂中的用途。

鉴于现代医学对 AMPK 在疾病发生发展中所起重要作用的揭示，本发明提供一种芒果苷小檗碱盐在制备 AMPK 激活剂中的应用，其特征在于：所述 AMPK 激活剂可用于预防或治疗下述疾病中的任何一种或几种：糖尿病、糖尿病各种慢性并发症（包括冠心病、动脉粥样硬化、脑血管病等大血管病变；糖尿病肾病、糖尿病性视网膜病变等微血管病变；神经病变；糖尿病足；黄斑病、白内障、青光眼、屈光改变、虹膜睫状体病变等眼的其他病变等）、肥胖、高脂血症、胰岛素抵抗、高胰岛素血症、X 综合征、心肌肥大、心律失常、动脉粥样硬化、缺血性心脏病、心力衰竭、高血压、上呼吸道感染、慢性支气管炎、慢性阻塞性肺病、哮喘、肺纤维化、肝炎、脂肪肝、酒精肝、肝纤维化、肝硬化、前列腺炎、胰腺炎、肾炎、肾病综合征、慢性肾功能不全、风湿性关节炎、类风湿性关节炎、骨性关节炎、炎症性肠病、阿尔茨海默氏病、记忆障碍、梗塞性痴呆、帕金森氏症、肿瘤（包括肿瘤放疗、化疗不敏感；肿瘤放疗、化疗产生的毒性反应）、肌肉萎缩、肌肉无力症。

本发明提供一种芒果苷小檗碱盐在制备 AMPK 激活剂中的应用，其特征在于：所述 AMPK 激活剂可用于运动替代。

本发明提供的芒果苷小檗碱盐用作 AMPK 激活剂的有效剂量范围为 0.1—30mg/kg/日/人。以上用量是根据体外试验及动物实验结果推算的，因动物与人体之间的差异，各种疾病之间的差异、体内外差异，故允许实际临床应用剂量有所

调整。用法可根据具体疾病进行选择，以口服为优选。

下面给出具体实施方式对本发明作进一步说明，但不限于此。

附图说明

图 1 芒果苷小檗碱盐的差热分析 (DSC) 曲线图。

图 2 芒果苷小檗碱盐对肿瘤细胞毒性的影响。纵坐标为细胞死亡率 (%)。

(注：与单独给药组比较：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$)

图 3 芒果苷小檗碱盐对 KK-ay 小鼠胰岛素敏感指数与血脂等的影响 (注：与模型组比较：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$)

图 4 芒果苷小檗碱盐对 KK-ay 小鼠肝酶的影响 (注：与模型组比较：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$)

图 5 芒果苷小檗碱盐对痴呆大鼠学习记忆力影响。纵坐标为潜伏期 (EL)。(注：与模型组比较：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$)

图 6 芒果苷小檗碱盐对类风湿性关节炎模型大鼠的影响。(注：与模型组比较：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$)

具体实施方式

本发明所述的芒果苷采用市售品 (广西百色天星科技发展有限公司，具有相应提取设备的厂家均可以生产)。盐酸小檗碱、小檗碱等均为市售品 (西安小草植物科技有限公司)。碳酸氢钠、碳酸钠、碳酸氢钾、碳酸钾试等剂均采用市售品。

实施例 1：芒果苷小檗碱盐的制备

在反应器中加入芒果苷 42.2g (0.1mol)、水 1800ml、乙醇 600ml 充分混悬，将碳酸氢钠 8.4g (0.1mol) 加水制成 0.5% (w/v) 溶液，缓慢加入搅拌状态的混悬液中，反应至澄清，滤过，得反应液 A；取小檗碱 33.6g (0.1mol) 加沸水 1500ml 溶解，滤过，得溶液 B。将反应液 A 缓慢加入溶液 B 中，充分搅拌，静置 12 小时，有沉淀析出，过滤，沉淀物用纯水充分洗涤，固体物低于 60℃ 真空干燥，得棕色固体芒果苷小檗碱盐 53.4g，收率为 70.5%。样品纯度经 HPLC 测定为 98.6%。

实施例 2：芒果苷小檗碱盐的制备

在反应器中加入芒果苷 42.2g (0.1mol)、水 2000ml、乙醇 800ml 充分混悬，将碳酸钠 5.3g (0.05mol) 加水制成 1% (w/v) 溶液，缓慢加入搅拌状态的混悬液

中，反应至澄清，滤过，得反应液 A；取盐酸小檗碱 37.3g (0.1mol) 加沸水 2500ml 溶解，滤过，得溶液 B。将反应液 A 缓慢加入溶液 B 中，充分搅拌，静置 12 小时，有沉淀析出，过滤，沉淀物用纯水充分洗涤，固体物低于 60℃ 真空干燥，得棕色固体芒果苷小檗碱盐 53.3g，收率为 67.4%。样品纯度经 HPLC 测定为 98.5%。

实施例 3：芒果苷小檗碱盐的制备

在反应器中加入芒果苷 42.2g (0.1mol)、水 1600ml、甲醇 800ml 充分混悬，将碳酸钾 6.9g (0.05mol) 加水制成 0.2% (w/v) 溶液，缓慢加入搅拌状态的混悬液中，反应至澄清，滤过，得反应液 A；取硫酸小檗碱 43.2g (0.1mol) 加水 2500ml 溶解，滤过，得溶液 B。将反应液 A 缓慢加入溶液 B 中，充分搅拌，静置 12 小时，有沉淀析出，过滤，沉淀物用纯水充分洗涤，固体物低于 60℃ 真空干燥，得棕色固体芒果苷小檗碱盐 51.8g，收率为 60.6%。样品纯度经 HPLC 测定为 98.6%。

实施例 4：芒果苷小檗碱盐的制备

在反应器中加入芒果苷 42.2g (0.1mol)、水 1000ml、甲醇 1000ml 充分混悬，将碳酸氢钾 10.0g (0.1mol) 加水制成 2% (w/v) 溶液，缓慢加入搅拌状态的混悬液中，反应至澄清，滤过，得反应液 A；取小檗碱 33.6g (0.1mol) 加沸水 2500ml 溶解，滤过，得溶液 B。将反应液 A 缓慢加入溶液 B 中，充分搅拌，静置 12 小时，有沉淀析出，过滤，沉淀物用纯水充分洗涤，固体物低于 60℃ 真空干燥，得棕色固体芒果苷小檗碱盐 49.5g，收率为 65.3%。样品纯度经 HPLC 测定为 98.5%。

实施例 5：芒果苷小檗碱盐的制备

在反应器中加入芒果苷 42.2g (0.1mol)、水 3000ml、丙酮 300ml 充分混悬，将碳酸钠 5.30g (0.05mol) 加水制成 5% (w/v) 溶液，缓慢加入搅拌状态的混悬液中，反应至澄清，滤过，得反应液 A；取小檗碱 33.6g (0.1mol) 加沸水 2500ml 溶解，滤过，得溶液 B。将反应液 A 缓慢加入溶液 B 中，充分搅拌，静置 12 小时，有沉淀析出，过滤，沉淀物用纯水充分洗涤，固体物低于 60℃ 真空干燥，得棕色固体芒果苷小檗碱盐 50.9g，收率为 67.2%。样品纯度经 HPLC 测定为 98.5%。

实施例 6：芒果苷小檗碱盐的制备

在反应器中加入芒果苷 42.2g (0.1mol)、水 300ml、乙醇 3000ml 充分混悬，将碳酸钠 5.30g (0.05mol) 加水制成 0.2% (w/v) 溶液，缓慢加入搅拌状态的混悬液中，反应至澄清，滤过，得反应液 A；取小檗碱 33.6g (0.1mol) 加沸水 3000ml

溶解，滤过，得溶液 B。将反应液 A 缓慢加入溶液 B 中，充分搅拌，静置 12 小时，有沉淀析出，过滤，沉淀物用纯水充分洗涤，固体物低于 60℃真空干燥，得棕色固体芒果苷小檗碱盐 51.6g，收率为 68.1%。经 HPLC 测定纯度为 98.6%。

实施例 7：芒果苷小檗碱盐片剂的制备

称取上述方法制备的芒果苷小檗碱盐粉末 333g，过 100 目筛，加入微晶纤维素 200g、药用淀粉 300g 作为稀释剂组成制剂配方，混匀，加入粘合剂制软材，用 24 目筛制粒，干燥后整粒，加入适量润滑剂，压片，制成 10000 片，包衣，即得，含药量为 33.3mg/片。

实施例 8：芒果苷小檗碱盐颗粒的制备

称取上述方法制备的芒果苷小檗碱盐粉末 10g，过 100 目筛，加入羧甲基纤维素 490g、木糖 500g，混匀，加入粘合剂制软材，用 24 目筛制粒，干燥后整粒，制成 1000g，即得，含药量为 10mg/g。

实施例 9：芒果苷小檗碱盐胶囊的制备

称取上述方法制备的芒果苷小檗碱盐粉末 333g，过 100 目筛，加入微晶纤维素 100g、药用淀粉 600g 作为稀释剂组成制剂配方，混匀，加入粘合剂制软材，用 24 目筛制粒，干燥后整粒，加入适量润滑剂，分装胶囊，即得，含药量为 33.3mg/粒。

实施例 10：芒果苷小檗碱盐混悬剂的制备

称取上述方法制备的芒果苷小檗碱盐粉末 10g，研成极细粉，备用；取羧甲基纤维素钠、羟苯乙酯适量，加适量水制成胶浆，分别加入芒果苷小檗碱盐，单糖浆适量，随加随搅拌，加水至 1 000 ml，搅匀，分装，即得含药量为 10mg/ml。

试验例 1：芒果苷小檗碱盐溶解度测定

分别精密称取研成细粉芒果苷小檗碱盐 5mg，置于 25℃±2℃50ml 蒸馏水中，每隔 5 分钟强力振摇 30 秒钟；观察 30 分钟内的溶解情况。芒果苷小檗碱盐仍有可见溶质颗粒，其水溶解度小于 0.1mg/ml，属水几乎不溶物质。

试验例 2：芒果苷小檗碱盐在不同 pH 酸水中的溶解情况

取纯净水，加盐酸分别调 pH 值为 1、3、5；分别取不同 pH 值的水各 50ml，分别精密称取研成细粉的芒果苷小檗碱盐 50mg 加入，振摇；观察溶解情况。芒果苷小檗碱盐在 pH 值 1 的水中在数秒钟内迅速溶解，在 pH 值 3 的水中 5 分钟内

溶解，在 pH 值 5 的水中不能完全溶解。

另取 pH 值 1、3 的水各 50ml，分别精密称取研成细粉的芒果苷小檗碱盐 100mg 加入，振摇；观察溶解情况。芒果苷小檗碱盐在 pH 值 1 的水中在 1 分钟内溶解，在 pH 值 3 的水中不能完全溶解。

另取 pH 值 1 的水 50ml，分别精密称取研成细粉的芒果苷小檗碱盐 200mg 加入，振摇；观察溶解情况。芒果苷小檗碱盐在 pH 值 1 的水中在仍能溶解，但很快有沉淀物析出。

取 pH 值 1 的水 50ml 三份，分别精密称取研成细粉不同比例芒果苷-小檗碱组合物(摩尔比：1:1, 1:3, 1:5)各 50mg，加入，振摇；观察溶解情况。不同比例芒果苷-小檗碱组合物均仅有微量溶解。

将上述溶液标记后室温静置，观察 24 小时内的现象。在 pH 值 1、3 的酸液中，芒果苷小檗碱盐浓度 1mg/ml、2mg/ml 的溶液中 12 小时内仅有微量沉淀析出；在 pH 值 1 的酸液中，芒果苷小檗碱盐浓度 4mg/ml 的溶液中 12 小时沉淀析出较多。

试验例 3：芒果苷小檗碱盐的初步稳定性考察试验

取芒果苷小檗碱盐数份置玻璃瓶内，密闭，置药品稳定性试验箱内，设置为加速试验条件：40℃±2℃/75%RH+5%RH。分别在 0、1、2、3 月取样，采用高效液相法测定芒果苷小檗碱盐的含量。试验结果显示芒果苷小檗碱盐在加速试验条件下三月内含量无明显变化，提示本品在常温条件下的稳定性大于 1 年。

为了说明发明内容中所述芒果苷小檗碱盐的药理活性，本发明人采用体内外相结合、以具代表性的疾病模型作为各类疾病代表的方式进行实验研究。即用体外方式研究芒果苷小檗碱盐对 AMPK 磷酸化的影响及对肿瘤细胞的化疗增敏作用；又分别以 KK-ay 小鼠、类风湿性关节炎大鼠、阿尔茨海默氏病大鼠来代表糖脂代谢紊乱性疾病、自身免疫疾病、神经变性疾病。以期说明芒果苷小檗碱盐作为 AMPK 激活剂、用以治疗各种疾病的可行性。详细阐述如下：

试验例 4：芒果苷小檗碱盐对 AMPK 激活作用

1、材料

按上述实施例制备芒果苷小檗碱盐，以 DMSO 溶解。临用前以培养基或 HBS 缓冲液稀释。DMSO 终浓度≤0.2%。

L6 细胞购自 ATCC。高糖 DMEM 培养基购自 GIBCO 公司；胎牛血清购自 Hyclone 公司。抗 AMPK 兔源多克隆抗体、抗 ACC 兔源多克隆抗体、抗 AMPK 苏氨酸 172 位点磷酸化兔源多克隆抗体、抗 ACC 丝氨酸 79 位点磷酸化兔源多克隆抗体购自 Cell Signal Technology 公司。

2、实验方法

2.1 细胞培养与分化：

分化前的 L6 细胞用高糖 DMEM 培养基，含 10%胎牛血清，100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素，置于含有的 5% CO₂ 的培养箱内 37℃ 培养。L6 细胞的分化是在细胞长满 60%左右时，换成含 2%胎牛血清的高糖 DMEM 培养基，每两天更换一次培养基，直到 L6 细胞分化至 90%左右。

2.2 化合物处理及样品收集：

先将 6 孔板中的细胞在无血清的高糖 DMEM 培养基中饥饿。受试物以不同的浓度梯度加到无血清的高糖 DMEM 培养基中，DMSO 含量 0.2%。受试物与细胞孵育 3 h，然后，用冰冷的 1×PBS 洗 2 次，加入 200μl 1×SDS 电泳缓冲液(50mM Tris · HCL, 100mM DTT, 2%电泳级 SDS, 0.1%溴酚蓝, 10%甘油)裂解细胞 10min。收集裂解液，超声 15 秒钟，在 100℃煮样品 10 min。

2.3 免疫印迹检测：

裂解液经 10%SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析，再在转膜仪中以 100V, 1-2h 转移到 PVDF 膜上。将凝胶中的蛋白质半干转移到硝酸纤维薄膜上，丽春红 S (Ponceau S) 确定条带。在封闭液(3%脱脂奶粉, 0.1%Tween , TBS 溶解)中封闭 1 小时，加入 1: 1000 稀释一抗 4℃过夜，TBS 洗涤 3×15min，加入 1: 1000 稀释二抗，室温孵育 1 小时，TBS 洗涤 3×15min，置于 ECL 中冲洗 5-10 min，用 X 光片压片显影。

3、结果

结果表明：1.25-5μmol/L 芒果苷小檗碱盐呈剂量依赖性地显著增强了 AMPK 磷酸化水平，同时显著增强 ACC 磷酸化水平。

试验例 5：芒果苷小檗碱盐对肿瘤细胞的化疗增效作用

1、材料：

按实施例方法制备芒果苷小檗碱盐(简称 BM)。顺铂(DDP)、阿霉素(ADM)、

紫杉醇 (TAXOL) 由市场购得。实验样品者皆用 DMSO 溶解后使用。

2、分组：

阴性对照组为 DMSO 组、芒果苷小檗碱盐组(20 μ mol/L)、顺铂组(1 μ mol/L)、阿霉素组(1 μ mol/L)、紫杉醇组(1 μ mol/L)、芒果苷小檗碱盐(20 μ mol/L)+顺铂组(1 μ mol/L)、芒果苷小檗碱盐(20 μ mol/L)+阿霉素组(1 μ mol/L)、芒果苷小檗碱盐(20 μ mol/L)+紫杉醇组(1 μ mol/L)。

3、实验方法：

将体外培养的人肝癌 Bel-7402 细胞系，按照 10^3 - 10^4 /孔，每孔 200 μ l 接种到 96 孔细胞培养板中，24 小时后加入各受试物，其中加入两个样品的组别，需在加入芒果苷小檗碱盐后与细胞共同培养 3h 后，再加入顺铂或阿霉素或紫杉醇，培养 72h，然后采用四氮唑盐还原法 (MTT 法) 检测细胞毒性。试验重复两次。

4、结果：

芒果苷小檗碱盐联合顺铂或阿霉素或紫杉醇组的细胞毒性显著高于单独应用顺铂或阿霉素或紫杉醇组。表明芒果苷小檗碱盐对化疗具有增加其细胞毒作用 (见附图 2)。

试验例 6：芒果苷小檗碱盐对 KK-ay 小鼠的影响

1、药物：

按实施例方法制备芒果苷小檗碱盐，用 3% 羧甲基纤维素钠混悬后使用。盐酸罗格列酮为浙江万马药业有限公司生产。

2、动物：

雄性 KK-ay 小鼠，16 周龄。

3、分组及给药

将 KK-ay 小鼠随机分为 8 组，即模型组($n = 10$)，芒果苷小檗碱盐低剂量组[20mg/kg, $n = 10$ ，简称 BML 组]，芒果苷小檗碱盐中剂量组[40mg/kg, $n = 10$ ，简称 BMM 组]，芒果苷小檗碱盐高剂量组[80mg/kg, $n = 10$ ，简称 BMH 组]，二甲双胍组[500mg/kg, $n = 10$]。每日固定时间以灌胃给药的方式进行。空白组给予等量的生理盐水。共给药 30 天。

4、观察指标

血糖与血脂：试验结束时采血标本，血糖（mmol/L）、血脂[包括甘油三酯（TG，mmol/L）、胆固醇（TC，mmol/L）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL，mmol/L）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL，mmol/L）、肝酶[包括丙氨酸转氨酶（ALT，U/L）、天门冬氨酸转氨酶（AST，U/L）]采用 GF-D800 型半自动生化分析仪（山东高密彩虹分析仪器有限公司生产）检测。

胰岛素：放射免疫法， γ 计数器计数，胰岛素放免分析试剂盒，山东潍坊市三维（3V）生物公司生产。

胰岛素敏感指数（ISI）计算： $ISI = \ln(1/FPG \times 1/INS)$ 。

尿微量白蛋白：于代谢笼中收集 24 h 尿液并记录尿量，尿液离心取上清-80℃保存备用。随意尿于每周周一 13:00 用提尾反射法收集。采用竞争 ELISA 法检测尿微量白蛋白，计算尿白蛋白排泄率（尿白蛋白排泄率=尿微量白蛋白浓度（mg/L） $\times$ 尿液的总量（ml）/收集总量的时间（分钟）=μg/分钟，UAER），图中单位以 mg/24h 表示。

5、统计学分析：

计量资料值以均数标准差（ $\bar{x} \pm SD$ ）表示。两组间比较采用 t 检验。

6、结果

芒果苷小檗碱盐 40mg/kg 即能显著改善 KK-ay 小鼠的血糖、血脂、胰岛素、尿白蛋白排泄率、肝酶等各项指标，显著提高胰岛素敏感指数（见附图 3-4）。

试验例 7：芒果苷小檗碱盐对痴呆大鼠的活性作用

1 试验材料

1.1 动物：

SD 雄性大鼠，SPF 级，体重 250~300g，自由饮水进食，实验前在实验环境中适应 2-3d，实验室温度控制在 25℃，相对湿度为 40%-80%。

1.2 药品、试剂及设备：

芒果苷小檗碱盐：按实施例方法制备。

凝聚态 β 淀粉样肽 1~40 片段（A $_{\beta$ 1-40）：购自美国 Sigma 公司。

实验动物脑立体定位仪（SN2 型）：为日本成茂公司产品。

水迷宫：中国医学科学院药物研究所研制。

2 分组与给药

将 SD 鼠随机分为 5 组，每组 10 只，具体如下：(1)假手术对照组：即海马内注射等量生理盐水；(2) $A_{\beta 1-40}$ 处理模型组；(3) 芒果苷小檗碱盐低剂量组 (20mg/kg，简称 BML 组)；(4) 芒果苷小檗碱盐中剂量组 (40mg/kg，简称 BMM 组)；(5) 芒果苷小檗碱盐高剂量组 (80mg/kg，简称 BMH 组)。

给药方法：各组动物于造模前一周开始灌胃给药，每天 1 次，连续 4 周。迷宫训练期间，于训练前 0.5h 给药。

3 试验方法

3.1 $A_{\beta 1-40}$ 诱导大鼠 AD 样病变模型的制备：

应用凝聚态 β 淀粉样肽 1~40 片段 ($A_{\beta 1-40}$) 注入大鼠海马内建立 AD 样病变的动物模型。具体如下：

SD 大鼠经麻醉后于立体定位仪下以 $A_{\beta 1-40}$ 行双侧海马内注射，每侧各 1 μ l (预先将 $A_{\beta 1-40}$ 溶于无菌生理盐水 10 μ g/ μ l，用前 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1 周)。注射部位为：前囟后 3.5mm，脑正中线旁开 2.0mm，其深度为 2.7mm。

3.2 观察指标与方法

空间学习记忆力测试：采用 Morris 水迷宫法。平台设于迷宫东北象限正中，水平面高出平台 1.5cm，水温保持在 19 $^{\circ}$ C~20 $^{\circ}$ C，大鼠连续训练 5d，每天 2 次，设定最长游动时间为 70s，以秒表计时，记录大鼠找到平台所需时间(潜伏期, EL)。

4. 结果：

随训练天数增加，各组大鼠平均 EL 逐渐缩短。与假手术组比较，模型组大鼠 EL 明显延长，第 4 天开始差异显著，说明造模成功。以第 5d 潜伏期为例，比较实验各组的 EL，结果：芒果苷小檗碱盐中高剂量组大鼠 EL 皆明显缩短，表明芒果苷小檗碱盐能显著改善 $A_{\beta 1-40}$ 诱导的大鼠空间学习记忆障碍 (见附图 5)。

试验例 8：芒果苷小檗碱盐对类风湿性关节炎动物模型的影响

1 材料

Wistar 大鼠，雌性，100 $\pm$ 20g。牛源性 II 型胶原蛋白(Collagen II)，酸可溶性，美国 Sigma 公司产品；弗氏不完全佐剂，美国 Sigma 公司产品。TNF- α 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

2 造模

将酸溶性 II 型胶原蛋白(C II) 用弗氏不完全佐剂配成 C II 浓度为 2.5mg/ml 的乳剂, 按每只大鼠 100 μ l 乳剂含 C II 250 μ g, 于右后足跖皮内注射致炎。

正常对照组: 每只大鼠注射不含 C II 的弗氏不完全佐剂制成的乳剂 100 μ l。

3 给药与分组

将大鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 具体如下: (1) 正常对照组; (2) 模型组; (3) 芒果苷小檗碱盐低剂量组 (10mg/kg, 简称 BML 组); (4) 芒果苷小檗碱盐中剂量组 (20mg/kg, 简称 BMM 组); (5) 芒果苷小檗碱盐高剂量组 (40mg/kg, 简称 BMH 组); (6) 阳性对照组: 地塞米松磷酸钠组 (0.1mg/kg, 简称 Dexa 组)。

给药方法: 初次免疫 2 周后开始灌胃给药, 每天 1 次, 连续 4 周, 正常对照组与模型组给予同等体积的生理盐水。

4 观察指标

4.1 足肿胀度: 用毛细管放大测量法测右后足体积, 求出肿胀增长百分率
[(给药后值-给药前值) / 给药前值] $\times$ 100 %。

4.2 细胞因子的检测: 实验结束时大鼠股动脉取血, 提取血清, 冷藏待测。
TNF- α 按 ELISA 试剂盒说明进行检测。

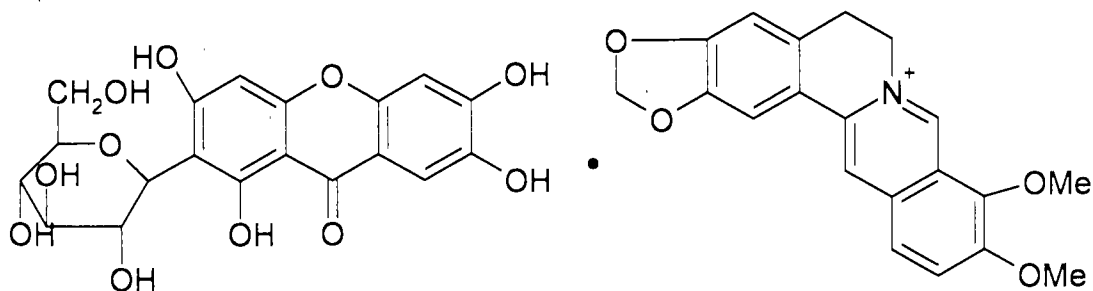
5 结果

芒果苷小檗碱盐中高剂量组可显著抑制模型大鼠足肿胀与细胞因子 TNF- α 的分泌。表明芒果苷小檗碱盐对类风湿性关节炎模型大鼠具有治疗作用 (见附图 6)。

权 利 要 求 书

1、一种芒果苷小檗碱盐，其特征在于：

①所述芒果苷小檗碱盐具有下式（I）的结构；



（I）

②所述芒果苷小檗碱盐的熔点为 176℃-178℃。

2、根据权利要求 1 所述的芒果苷小檗碱盐，其特征在于：所述芒果苷小檗碱盐的碳谱数据具有以下特征：小檗碱 C₆，C_{13a}，C_{8a}，C_{12a} 等碳原子的化学位移由于屏蔽作用而发生显著改变。

3、根据权利要求 2 所述的芒果苷小檗碱盐，其特征在于：所述芒果苷小檗碱盐的碳谱数据具有以下特征：芒果苷 C₃，C₇ 碳原子的化学位移由于去屏蔽作用而发生显著改变。

4、权利要求 1 所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：

①将芒果苷与碱性钠（钾）盐反应制备成芒果苷单钠（钾）盐；

②将芒果苷单钠（钾）盐与小檗碱反应生成芒果苷小檗碱盐。

5、根据权利要求 4 所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：所述芒果苷与碱性钠（钾）盐的摩尔配比为 1:0.5-1；所述芒果苷单钠（钾）盐与小檗碱摩尔配比为 1:1。

6、根据权利要求 4 所述的芒果苷小檗碱盐的制备方法，其特征在于：所述碱性钠（钾）盐可以选自碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸氢钾、醋酸钠、醋酸钾中的一种或两种以上的混合物；所述小檗碱也可以是盐酸小檗碱、硫酸小檗碱、鞣酸小檗碱或小檗碱其他医学上可接受的盐，优选小檗碱、盐酸小檗碱、硫酸小檗碱。

7、权利要求 1-3 所述的芒果苷小檗碱盐在制备 AMPK 激活剂的应用。

8、根据权利要求 7 所述的应用，其特征在于：所述 AMPK 激活剂可用于预防或

治疗下述疾病中的任何一种或几种：糖尿病、糖尿病各种慢性并发症（包括冠心病、动脉粥样硬化、脑血管病等大血管病变；糖尿病肾病、糖尿病性视网膜病变等微血管病变；神经病变；糖尿病足；黄斑病、白内障、青光眼、屈光改变、虹膜睫状体病变等眼的其他病变等）、肥胖、高脂血症、胰岛素抵抗、高胰岛素血症、X 综合征、心肌肥大、心律失常、动脉粥样硬化、缺血性心脏病、心力衰竭、高血压、上呼吸道感染、慢性支气管炎、慢性阻塞性肺病、哮喘、肺纤维化、肝炎、脂肪肝、酒精肝、肝纤维化、肝硬化、前列腺炎、胰腺炎、肾炎、肾病综合征、慢性肾功能不全、风湿性关节炎、类风湿性关节炎、骨性关节炎、炎症性肠病、阿尔茨海默氏病、记忆障碍、梗塞性痴呆、帕金森氏症、肿瘤（包括肿瘤放疗、化疗不敏感；肿瘤放疗、化疗产生的毒性反应）、运动替代。

9、一种药物，其特征在于：所述药物由权利要求 1 所述的芒果苷小檗碱盐与可药用辅料组成。

10、权利要求 9 所述的药物，其特征在于：所述药物可以制成临床适用的各种剂型，具体为片剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、颗粒剂、丸剂、糖浆剂、口服溶液剂、口服混悬剂、凝胶剂、冻干粉针。

附图

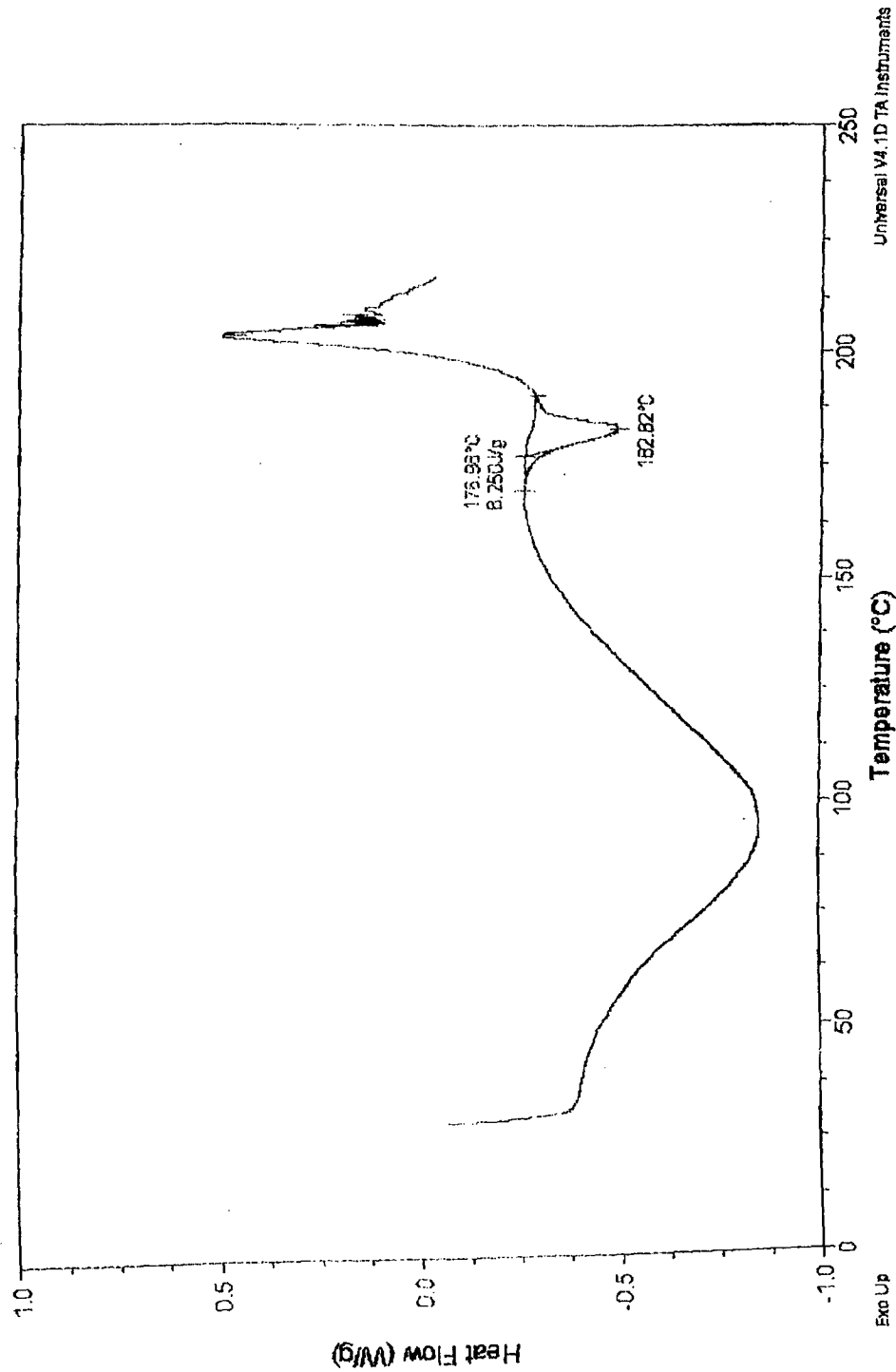


图 1

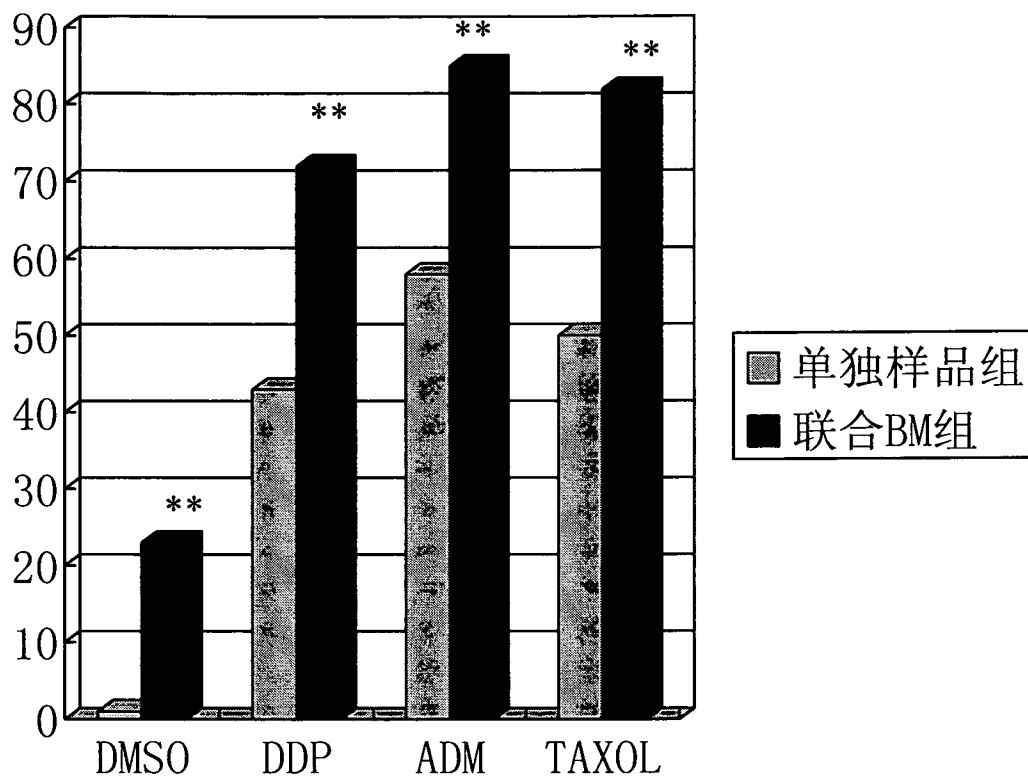


图 2

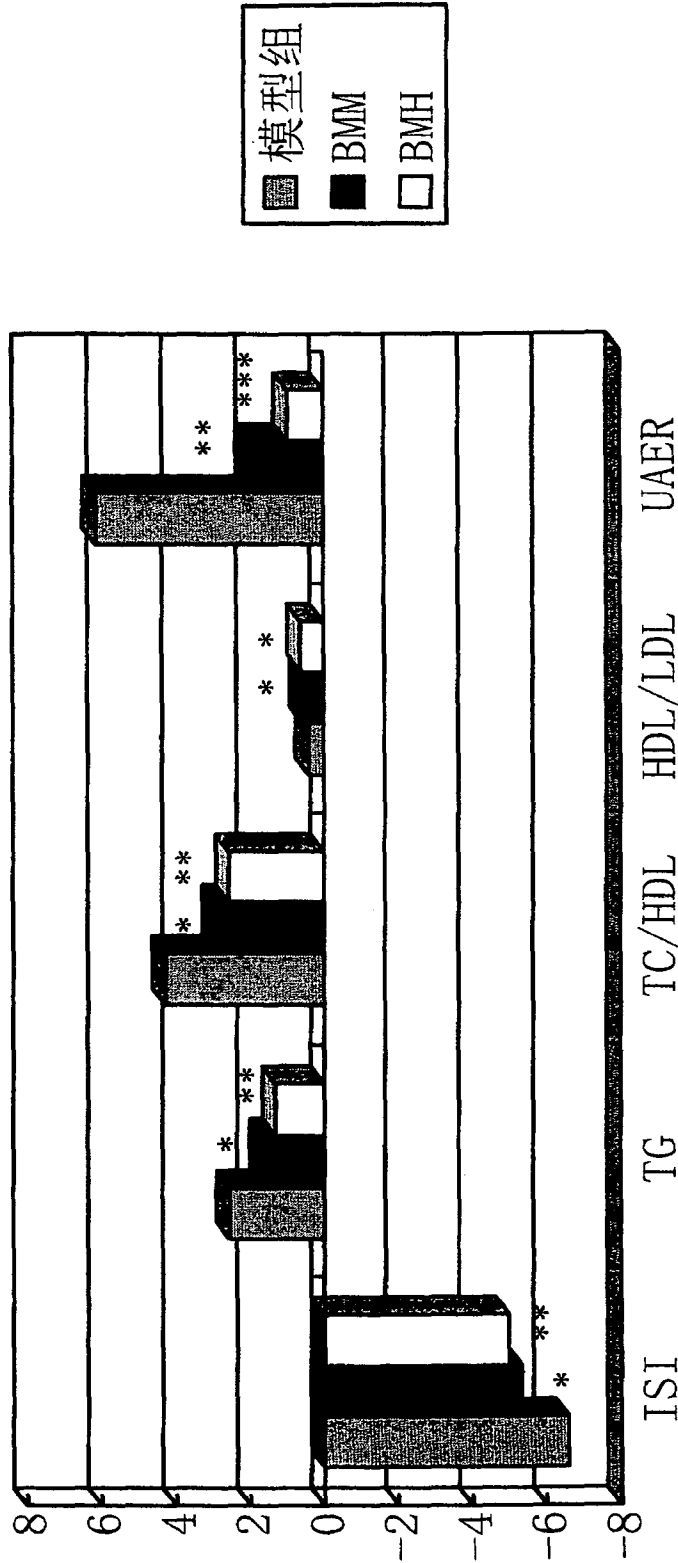


图 3

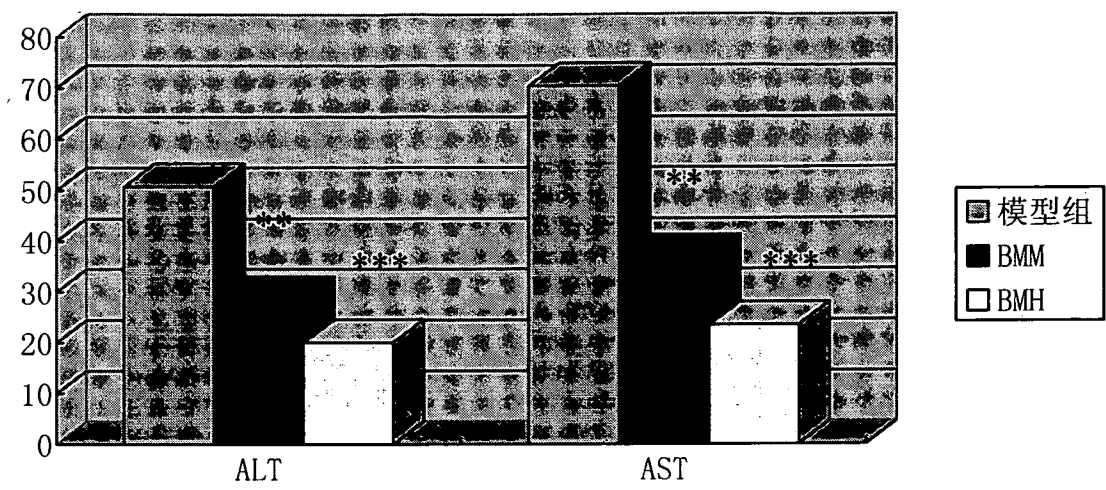


图 4

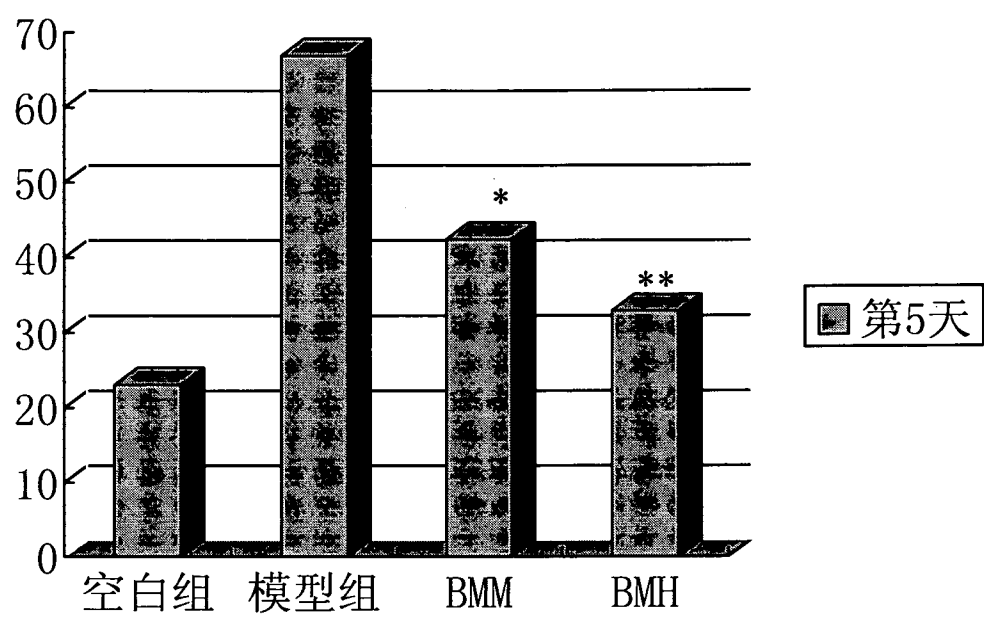


图 5



图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000791

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT(CN), CNKI(CN), Chinese Pharmaceutical Abstract (CN), CHEMICAL ABSTRACTS(US), EMBASE, STN: mangiferin, berberine, adenosine phosphate, AMP, protein kinase, AMPK, STN search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 101066275 A (GUANGXI TRADITIONAL CHINESE MEDICAL UNIVERSITY) 07 Nov. 2007(07.11.2007) whole document	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 25 Aug. 2010(25.08.2010)	Date of mailing of the international search report 09 Sep. 2010 (09.09.2010)
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer XIU, Wen Telephone No. (86-10)62411205

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2010/000791

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101066275 A	07.11.2007	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2010/000791

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

A61K 31/7048 (2006.01) i

A61K 9/08 (2006.01) i

A61K 9/10 (2006.01) i

A61K 9/14 (2006.01) i

A61K 9/19 (2006.01) i

A61K 9/20 (2006.01) i

A61K 9/48 (2006.01) i

A61P 1/16 (2006.01) i

A61P 1/18 (2006.01) i

A61P 3/04 (2006.01) i

A61P 3/10 (2006.01) i

A61P 9/04 (2006.01) i

A61P 9/06 (2006.01) i

A61P 9/10 (2006.01) i

A61P 9/12 (2006.01) i

A61P 11/00 (2006.01) i

A61P 13/08 (2006.01) i

A61P 13/12 (2006.01) i

A61P 19/02 (2006.01) i

A61P 25/28 (2006.01) i

A61P 25/16 (2006.01) i

A61P 27/06 (2006.01) i

A61P 27/10 (2006.01) i

A61P 27/12 (2006.01) i

A61P 35/00 (2006.01) i

A61K 31/4375 (2006.01) n

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2010/000791

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNPAT(CN), CNKI(CN), 中国药学文摘库(CN), CHEMICAL ABSTRACTS(US), EMBASE, STN; 芒果苷, 芒果素, 知母宁, 小檗碱, 黄连素, 磷酸腺苷, 蛋白激酶, mangiferin, berberine, adenosine phosphate, AMP, protein kinase, AMPK, STN 检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 101066275 A (广西中医学院) 07. 11 月 2007(07.11.2007) 全文	1-10

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
25. 8 月 2010(25.08.2010)

国际检索报告邮寄日期
09.9 月 2010 (09.09.2010)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

受权官员

修文

电话号码: (86-10) **62411205**

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2010/000791

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 101066275 A	07.11.2007	无	

主题的分类:

A61K 31/7048 (2006.01) i
A61K 9/08 (2006.01) i
A61K 9/10 (2006.01) i
A61K 9/14 (2006.01) i
A61K 9/19 (2006.01) i
A61K 9/20 (2006.01) i
A61K 9/48 (2006.01) i
A61P 1/16 (2006.01) i
A61P 1/18 (2006.01) i
A61P 3/04 (2006.01) i
A61P 3/10 (2006.01) i
A61P 9/04 (2006.01) i
A61P 9/06 (2006.01) i
A61P 9/10 (2006.01) i
A61P 9/12 (2006.01) i
A61P 11/00 (2006.01) i
A61P 13/08 (2006.01) i
A61P 13/12 (2006.01) i
A61P 19/02 (2006.01) i
A61P 25/28 (2006.01) i
A61P 25/16 (2006.01) i
A61P 27/06 (2006.01) i
A61P 27/10 (2006.01) i
A61P 27/12 (2006.01) i
A61P 35/00 (2006.01) i
A61K 31/4375 (2006.01) n