



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107158012 A

(43)申请公布日 2017.09.15

(21)申请号 201710411670.6

A23L 33/125(2016.01)

(22)申请日 2017.06.05

(71)申请人 广东省微生物研究所(广东省微生物分析检测中心)

地址 510075 广东省广州市先烈中路100号大院56号

(72)发明人 陈地灵 杨俭 帅欧 唐晓萃
谢意珍 吴清平

(74)专利代理机构 广州致信伟盛知识产权代理有限公司 44253

代理人 彭玲

(51)Int.Cl.

A61K 31/702(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

A23L 33/105(2016.01)

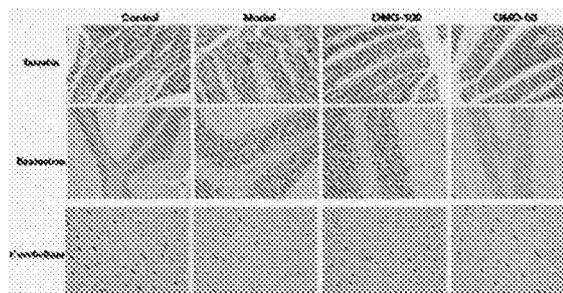
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用

(57)摘要

本发明公开了巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,本发明经体内动物实验研究发现,巴戟天低聚果糖提取物能显著改善A β ₁₋₄₂和D-半乳糖致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力;经动物急性毒性实验证实,巴戟天低聚果糖提取物安全剂量范围较大,可用于防治阿尔茨海默症药物、保健品和食品等领域。



1. 巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用。
2. 根据权利要求1所述的巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,其特征在于,所述巴戟天低聚果糖提取物的安全剂量范围为30mg/kg-500mg/kg。
3. 根据权利要求1所述的巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,其特征在于,所述巴戟天低聚果糖提取物的制备方法包括以下步骤:
 - (1) 将巴戟天鲜药材,去除杂质,适当粉碎;
 - (2) 加蒸馏水提取,提取液减压浓缩,得到浓缩液;
 - (3) 将浓缩液加乙醇沉淀,沉淀经水复溶、加乙醇再沉淀,得到巴戟天低聚果糖粗品;
 - (4) 将巴戟天低聚果糖粗品复溶于水,经阴离子交换型树脂洗脱,收集洗脱液,洗脱液减压浓缩后加乙醇沉淀,静置,抽滤,干燥,即得巴戟天低聚糖提取物。
4. 根据权利要求1所述的巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,其特征在于,所述步骤(2)中提取的方式为加热回流、热浸渍或渗漉中的一种或几种。
5. 根据权利要求4所述的巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,其特征在于,所述步骤(2)的具体步骤为:加8-10倍量蒸馏水,煮沸1-2h,过滤,滤渣再加8-10倍量蒸馏水,煮沸1-2h,过滤,合并滤液,减压浓缩,得到浓缩液。
6. 根据权利要求1所述的巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,其特征在于,所述步骤(3)的具体步骤为:在浓缩液中加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,将沉淀复溶于热水,冷却至室温,再加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,得沉淀,即为巴戟天低聚果糖粗品。
7. 根据权利要求1所述的巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用,其特征在于,所述步骤(4)的具体步骤为:将巴戟天低聚果糖粗品复溶于热水,冷却至50℃,调pH至4.5-6.5,溶液经D-900阴离子交换型树脂,以1.0-1.5BV/h流速连续洗脱,收集洗脱液,50-70℃减压浓缩至相对密度为1kg:200ml体积,在浓缩液中加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,静置,抽滤,干燥,即得巴戟天低聚糖提取物。
8. 一种防治阿尔茨海默症的药物,包含巴戟天低聚果糖提取物和药学上可接受的载体。
9. 根据权利要求8所述的一种防治阿尔茨海默症的药物,其特征在于,所述药物的剂型为片剂、颗粒剂、粉剂、胶囊剂或口服液。

巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及巴戟天低聚果糖提取物的新用途,具体涉及巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用。

背景技术

[0002] 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性疾病。临床上以记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍以及人格和行为改变等全面性痴呆表现为特征,病因迄今未明。老年痴呆病因及发病机制迄今尚不明确,可能有多因素参与,如年龄、遗传、代谢、头部外伤史、雌激素缺乏等。

[0003] 研究发现,人类的肠道内有非常多的神经元,这些神经元的数量与大脑相当。肠道神经元与大脑神经元使用的神经递质、代谢通路几乎是一致的。从肠道神经元到大脑神经元有频繁的通信,比从大脑到肠道的信息交流还要多。肠道微生物和大脑的沟通很频繁,学界认为肠道和大脑之间形成了一条“菌肠脑轴”,肠脑可以影响大脑,大脑也可以影响肠脑,它们之间是双向互通的。它们两者之间主要通过内分泌途径、神经途径、免疫途径和代谢途径相互影响。孕期感染、污染物、病原菌、饮食、炎症等因素都会影响到它们之间的通信。我们可以通过益生菌、饮食以及粪菌移植来进行干预。

[0004] 因此寻找可影响肠道微生物结构或生态的食品、益生元、益生菌、植物提取物或药物等,用于神经退行性疾病的治疗是一新途径。

[0005] 中药巴戟天为补肾助阳之要药。前期研究显示其富含低聚糖类成分,且具补肾助阳、抗抑郁、抗骨质疏松以及提高学习记忆能力、免疫力和耐疲劳等活性。目前国内外对巴戟天低聚果糖的研究主要集中在抗精神病剂、免疫佐剂等方面,但对巴戟天低聚果糖提取物在防治阿尔茨海默症中的应用的研究还较少。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供巴戟天低聚果糖提取物在制备防治阿尔茨海默症药物、保健品或食品中的应用。

[0007] 优选的,所述巴戟天低聚果糖提取物的安全剂量范围为30mg/kg-500mg/kg。

[0008] 优选的,所述巴戟天低聚果糖提取物的制备方法包括以下步骤:

- (1) 将巴戟天鲜药材,去除杂质,适当粉碎;
- (2) 加蒸馏水提取,提取液减压浓缩,得到浓缩液;
- (3) 将浓缩液加乙醇沉淀,沉淀经水复溶、加乙醇再沉淀,得到巴戟天低聚果糖粗品;
- (4) 将巴戟天低聚果糖粗品复溶于水,经阴离子交换型树脂洗脱,收集洗脱液,洗脱液减压浓缩后加乙醇沉淀,静置,抽滤,干燥,即得巴戟天低聚糖提取物。

[0009] 优选的,所述步骤(2)的提取方式为加热回流、热浸渍或或渗漉中的一种或几种。

[0010] 优选的,所述步骤(2)的具体步骤为:加8-10倍量蒸馏水,煮沸1-2h,过

滤,滤渣再加8-10倍量蒸馏水,煮沸1-2h,过滤,合并滤液,减压浓缩,得到浓缩液。

[0011] 优选的,所述步骤(3)的具体步骤为:在浓缩液中加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,将沉淀复溶于热水,冷却至室温,再加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,得沉淀,即为巴戟天低聚果糖粗品。

[0012] 本发明可将沉淀经水复溶、加醇沉淀的操作重复多次,以便更好的除去醇溶性杂质。

[0013] 优选的,所述步骤(4)的具体步骤为:将巴戟天低聚果糖粗品复溶于热水,冷却至50℃,调pH至4.5-6.5,溶液经D-900阴离子交换型树脂,以1.0-1.5BV/h流速连续洗脱,收集洗脱液,50-70℃减压浓缩至相对密度为1kg:200ml体积,在浓缩液中加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,静置,抽滤,干燥,即得巴戟天低聚糖提取物。

[0014] 采用本发明上述制备方法得到的巴戟天低聚果糖提取物,经结合化学鉴别、HPLC、LC-MS等技术检测,结果显示其主要含有巴戟素、耐斯糖、1F-果呋喃糖基耐斯糖、菊淀粉(即(2→1)果呋喃糖基蔗糖)型六聚糖和七聚糖等多种低聚糖,收率大于30%。

[0015] 本发明还提供一种防治阿尔茨海默症的药物,包含上述巴戟天低聚果糖提取物和药学上可接受的载体。

[0016] 本发明所述药物的剂型可以为片剂、颗粒剂、粉剂、胶囊剂或口服液等,其制备方法采用常规的方法制备即可。

[0017] 本发明与现有技术相比,具有如下有益效果:

本发明经体内动物实验研究发现,巴戟天低聚果糖提取物能显著改善A β ₁₋₄₂和D-半乳糖致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力;经细胞和动物急性毒性实验证实,其安全剂量范围大,可用于防治阿尔茨海默症药物、保健品和食品等领域。

附图说明

[0018] 图1为巴戟天低聚果糖提取物对D-半乳糖致衰老模型大鼠肠、脑病理组织的HE染色图。

[0019] 图2为巴戟天低聚果糖提取物对A β ₁₋₄₂致痴呆模型大鼠肠、心脏、脑病理组织的影响,以及脑组织中A β ₁₋₄₂和Tau蛋白表达水平的影响的HE染色及免疫组化图。

具体实施方式

[0020] 下面通过具体实施方式来进一步说明本发明,以下实施例为本发明具体的实施方式,但本发明的实施方式并不受下述实施例的限制。

[0021] 本发明所述的巴戟天由广东德庆市高良镇巴戟天种植基地采集,经鉴定为茜草科植物巴戟天的干燥根。根扁圆柱形式圆柱形,略弯曲,长度不等,直径1-2cm,表面灰黄色或灰黄棕色,有的微带紫色,具纵皱及深陷的横纹,有的呈缢缩状或皮部横向断离而露出木部,形如鸡肠。质坚韧,折断面不平,皮部厚5-7mm,淡紫色,木部直径2-4mm。气微,味苦,略涩。

[0022] 实施例1:巴戟天低聚果糖提取物的制备

具体包括以下步骤:

将巴戟天鲜药材,去除杂质,适当粉碎;加8倍量蒸馏水,煮沸2h,过滤,

滤渣再加8倍量蒸馏水,煮沸2h,过滤,合并滤液,减压浓缩,得到浓缩液;在浓缩液中加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置24h,将沉淀复溶于热水,冷却至室温,再加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置24h,得沉淀,即为巴戟天低聚果糖粗品;将巴戟天低聚果糖粗品复溶于热水,冷却至50℃,调pH至5.0,溶液经D-900阴离子交换型树脂,以1.0-1.5BV/h流速连续洗脱,收集洗脱液,50-70℃减压浓缩至相对密度为1kg:200ml体积,在浓缩液中加入乙醇,调节乙醇浓度至90%,冷藏,静置2-24h,静置,抽滤,干燥,即得巴戟天低聚糖提取物。

[0023] 将上述巴戟天低聚果糖提取物(OMO)进行药效试验:

试验例一:巴戟天低聚果糖提取物改善D-半乳糖致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力以SPF级SD大鼠进行试验,采用长期腹腔注射D-半乳糖法造模,制备衰老痴呆模型。造模后,正常对照组、模型组分别以2 mL/d生理盐水灌胃,OMO低剂量组(50 mg/kg/d)、OMO高剂量组(100 mg/kg/d),按各自剂量灌胃给予巴戟天低聚果糖提取物OMO治疗,各组持续给药8周。8周后,通过Morris水迷宫(MWM)来评估对大鼠的空间学习记忆能力,结果见表1,表2,图1。

[0024] 表1. 巴戟天低聚糖提取物对D-半乳糖致衰老模型大鼠水迷宫测试潜伏期的影响结果 (n=6)

	正常组	模型组	100mg/kg/d OMO 处理组	50mg/kg/d OMO 处理组
d1	74.25 ± 37.01	103.81 ± 16.11	82 ± 19.44	86.37 ± 11.46
d2	45.24 ± 9.37	63.43 ± 20.31	47.08 ± 16.47	48.41 ± 13.83
d3	36.09 ± 4.82	57.43 ± 17.70	32.57 ± 1.88	39.81 ± 5.14
d4	39.31 ± 2.66	56.18 ± 9.96	30.74 ± 3.69	39.3 ± 5.63

表2. 巴戟天低聚糖提取物对D-半乳糖致衰老模型大鼠水迷宫测试平台期的影响结果 (n=6)

	正常组	模型组	100mg/kg/d OMO 处理组	50mg/kg/d OMO 处理组
S1	24.36 ± 0.34	24.77 ± 1.22	24.50 ± 1.71	24.60 ± 1.11
S2	24.21 ± 1.77	25.77 ± 1.43	21.73 ± 2.85	23.21 ± 0.75
S3	28.00 ± 1.08	25.23 ± 1.38	29.00 ± 1.44	27.00 ± 1.13
S4	25.43 ± 1.95	26.00 ± 1.04	24.00 ± 0.59	25.43 ± 1.20

由表1可以看出,潜伏期试验的不同测试时间点,与正常组相比较,模型组潜伏期显著延长,差异具有统计学意义(P<0.05),提示本实验模型制备成功。与模型组相比较,各给药组潜伏期明显缩短,其中OMO高剂量组优于OMO低剂量组(P<0.05)。

[0025] 由表2可以看出,正常组大鼠在第三象限(即平台原所在象限)游泳时间(28.00 ± 1.08)s长于其他象限,差异具有显著性,说明大鼠已对平台形成记忆。与正常组比较,模型组在第三象限游泳时间(25.23 ± 1.38)s明显较短,说明D-半乳糖具有损害大鼠记忆功能;与模型组比较,OMO高剂量组在第三象限游泳时间(29.00 ± 1.44)s明显延长(P<0.05),提示巴戟天低聚果糖提取物具有改善D-半乳糖致大鼠记忆功能障碍作用。

[0026] 由图1可以看出,模型组小肠细胞(Intestin)皱缩,细胞不规则,各给药组小肠细

胞更加光滑,形状规则、饱满。脑干(Brainstem)中,模型组炎性细胞数目明显多于各给药组,提示给药组可以减轻细胞的炎症反应。小脑(cerebellum)中,与模型组比较,各给药组的细胞数目明显增多。

[0027] 因此,由上述可以看出,巴戟天低聚果糖提取物能够改善D-半乳糖致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力,降低组织炎症反应。

[0028] 试验例二:巴戟天低聚果糖提取物改善 $A\beta_{1-42}$ 致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力

以SPF级SD大鼠进行试验,采用双侧海马内注射 $A\beta_{1-42}$ 法造模,制备衰老痴呆模型。造模后,正常对照组、模型组分别以2 mL/d生理盐水灌胃,OMO低剂量组(50 mg/kg/d)、OMO高剂量组(100 mg/kg/d),按各自剂量灌胃给予巴戟天低聚果糖提取物OMO治疗,各组持续给药4周。4周后,通过Morris水迷宫(MWM)来评估对大鼠的空间学习记忆能力,结果见表3,表4,图2。

[0029] 表3. 巴戟天低聚糖提取物对 $A\beta_{1-42}$ 致痴呆模型大鼠水迷宫测试潜伏期的影响结果 (n=6)

	正常组	模型组	50 mg/kg/d OMO 处理组	100 mg/kg/d OMO 处理组
d1	84.35 ± 17.1	113.75 ± 16.11	86.49 ± 11.64	82.03 ± 19.44
d2	45.37 ± 9.73	73.34 ± 20.13	50.16 ± 13.38	46.12 ± 16.74
d3	36.12 ± 4.28	59.33 ± 1.77	39.75 ± 5.41	31.54 ± 1.88
d4	29.27 ± 2.68	56.29 ± 6.69	37.19 ± 3.36	28.27 ± 3.96

表4. 巴戟天低聚糖提取物对 $A\beta_{1-42}$ 致痴呆模型水迷宫测试平台期的影响结果 (n=6)

	正常组	模型组	50 mg/kg/d OMO 处理组	100 mg/kg/d OMO 处理组
S3	26.63 ± 3.83	20.77 ± 2.36	26.50 ± 3.59	27.36 ± 2.51

由表3可以看出,潜伏期试验的不同测试时间点,与正常组相比较,模型组潜伏期显著延长,差异具有统计学意义($P < 0.05$),提示本实验模型制备成功。与模型组相比较,各给药组潜伏期明显缩短,其中OMO高剂量组优于OMO低剂量组。

[0030] 由表4可以看出,在第三象限(即平台原所在象限)游泳时间,与模型组相比较,各给药组游泳时间显著延长($P < 0.05$),提示巴戟天低聚糖提取物能够改善 $A\beta_{1-42}$ 致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力。

[0031] 由图2可以看出,与模型组相比较,各给药组中,小肠(Intestin)细胞更加光饱满有规则,心脏(Heart)细胞间隙变小,脑(Brain)细胞数目明显增多, $A\beta_{1-42}$ 和Tau蛋白的表达量减少,提示巴戟天低聚糖提取物能够改善大鼠组织细胞的功能与形态,显著减少阿尔茨海默症相关蛋白 $A\beta_{1-42}$ 和Tau的表达。

[0032] 因此,由上述可以看出,巴戟天低聚糖提取物能够改善 $A\beta_{1-42}$ 致拟老年痴呆模型大鼠学习记忆能力,减少 $A\beta_{1-42}$ 和Tau蛋白的表达。

[0033] 安全性评价：

毒性试验,按照《中药、天然药物安评技术指导原则》,巴戟天低聚果糖提取物给药量范围为30mg/kg-500mg/kg。最大给药量500mg/kg灌胃给予昆明小鼠,连续观察14天,未有动物死亡。表明巴戟天低聚果糖提取物的安全剂量范围较大,用药安全。

[0034] 应用例:含有巴戟天低聚果糖提取物的颗粒剂的制备

有效成分:巴戟天低聚果糖提取物65份;

辅料:预胶化淀粉25份,微粉硅胶4份,硬脂酸镁6份。

[0035] 制备工艺:将巴戟天低聚果糖提取物、预胶化淀粉、微粉硅胶、硬脂酸镁投入混合机中混合均匀。

[0036] 将上述混合料通过全自动胶囊填充剂填充入胶囊,即得。

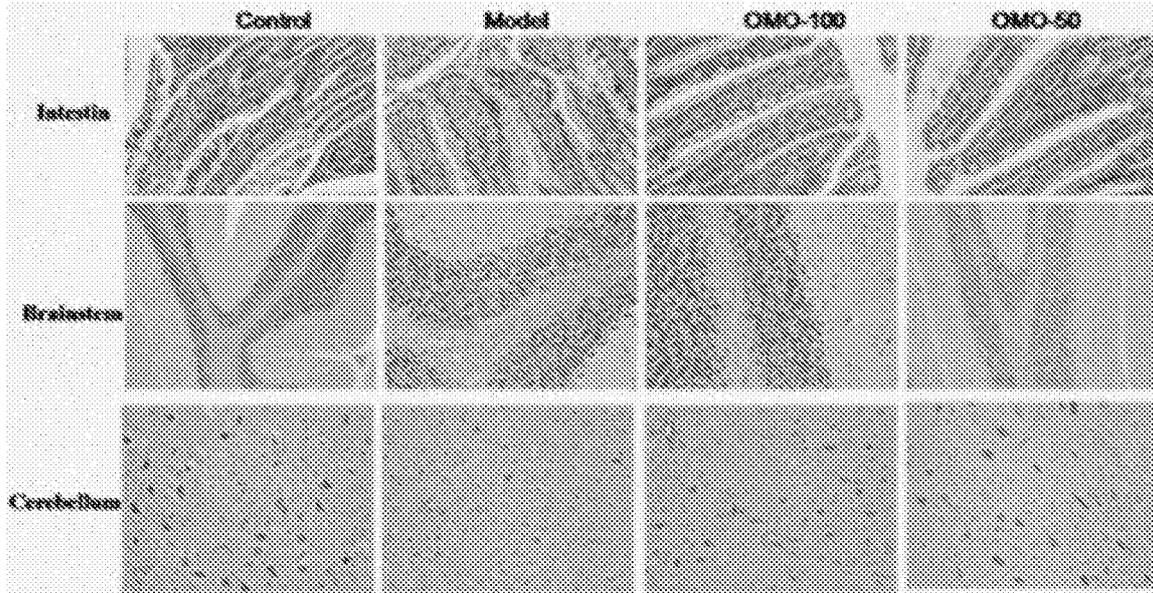


图1

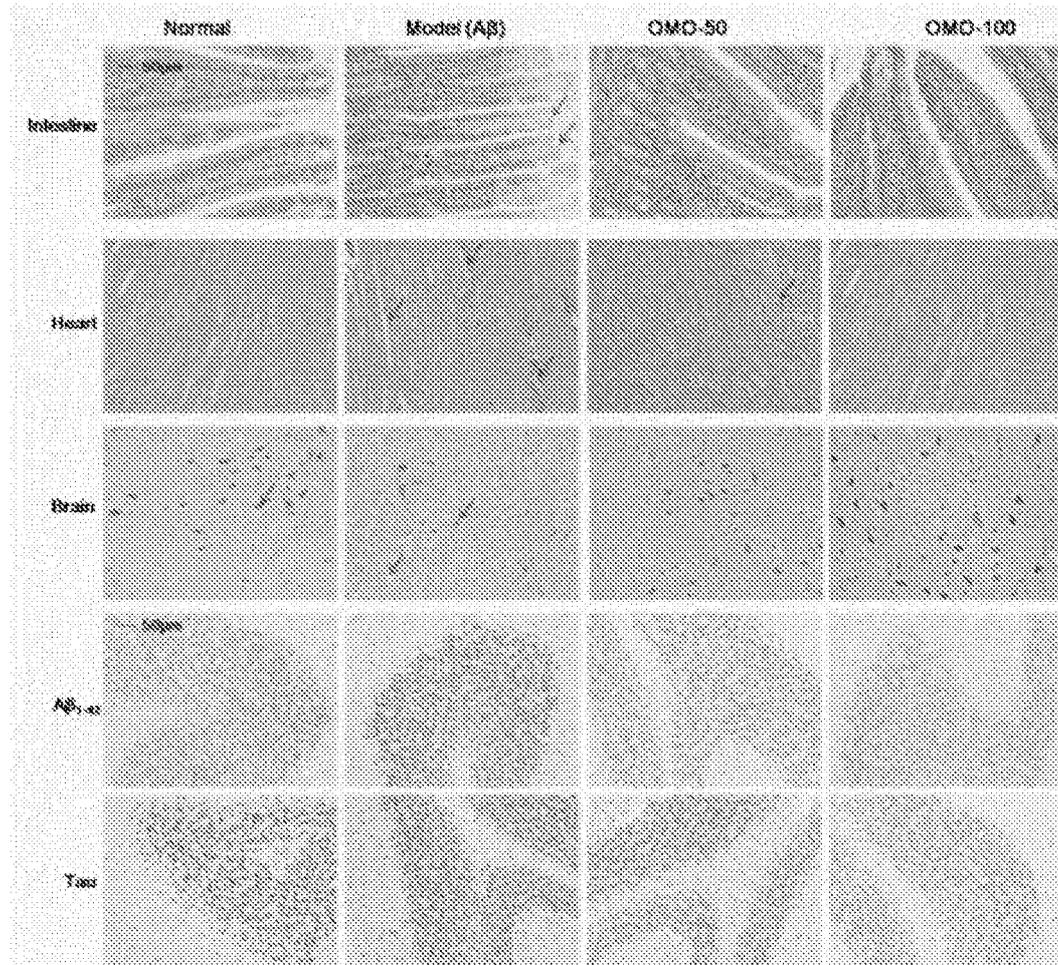


图2