

(19) 国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119386081 A

(43) 申请公布日 2025.02.07

(21) 申请号 202411976326.8

(22) 申请日 2024.12.31

(71) 申请人 河北大学附属医院

地址 071000 河北省保定市裕华东路212号

(72) 发明人 赵亚敏 高雅娜 崔洁

(74) 专利代理机构 北京精金石知识产权代理有限公司 11470

专利代理人 尉月丽

(51) Int.Cl.

A61K 36/537 (2006.01)

A61K 47/40 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

B01D 11/02 (2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54) 发明名称

一种荔枝草活性组合物及其提取方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种荔枝草活性组合物及其提取方法和应用,属于活性成分提取技术领域,所述提取方法,包括如下步骤:S1、将荔枝草粉碎,得到荔枝草粉;S2、向荔枝草粉中加入低共熔溶剂和水超声,固液分离,得到上清液A和残渣;S3、向残渣加复合酶酶解,固液分离,得到酶解液;S4、将酶解液加乙醇醇沉,得到沉淀物和上清液B;S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合加环状糊精浓缩,得到所述荔枝草活性组合物。实验表明,本发明制备得到的荔枝草活性组合物,在降血糖的同时还具有降血脂的功效,实现了糖脂同调。

1. 一种荔枝草活性组合物的提取方法,其特征在于,包括如下步骤:

S1、将荔枝草粉碎,得到荔枝草粉;

S2、向荔枝草粉中加入低共熔溶剂和水超声,固液分离,得到上清液A和残渣;

S3、向残渣加复合酶酶解,固液分离,得到酶解液;

S4、将酶解液加乙醇醇沉,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合加环状糊精浓缩,得到所述荔枝草活性组合物;

步骤S2中所述低共熔溶剂为摩尔比1:1-3的氯化胆碱和甘油;

步骤S3中所述复合酶为质量比3-6:1的果胶酶和碱性蛋白酶;

步骤S5中所述低温萃取为:萃取温度40-50℃,压力为-0.04到-0.02MPa,萃取时间2-4h。

2. 根据权利要求1所述的提取方法,其特征在于,步骤S2中所述荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g: 5-8mL:2mL。

3. 根据权利要求1所述的提取方法,其特征在于,步骤S2中所述超声的条件为:功率100-500W,温度40-50℃,时间30-60min。

4. 根据权利要求1所述的提取方法,其特征在于,步骤S3中所述复合酶的加入量为残渣质量的0.5-1.5%。

5. 根据权利要求4所述的提取方法,其特征在于,步骤S3中所述酶解的条件为:30-40℃下酶解1-3h。

6. 根据权利要求1所述的提取方法,其特征在于,步骤S6中所述环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.2-0.8%。

7. 根据权利要求1所述的提取方法,其特征在于,步骤S6中所述浓缩为:40-50℃下浓缩至相对密度为1.25-1.30。

8. 权利要求1-7任一项所述的提取方法得到的荔枝草活性组合物。

9. 权利要求8所述的荔枝草活性组合物在制备降血糖和降血脂药物中应用。

10. 一种降血糖和降血脂的药物,包括权利要求8所述的荔枝草活性组合物和药学上可接受的辅料。

一种荔枝草活性组合物及其提取方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及活性成分提取技术领域,具体来说,涉及一种荔枝草活性组合物及其提取方法和应用。

背景技术

[0002] 2型糖尿病占总糖尿病的90%,其主要发病机制是胰岛素抵抗、胰岛 β 细胞功能衰竭和胰岛素分泌障碍。2型糖尿病病人多伴随有肥胖、高甘油三脂或高胆固醇血症,高血脂是胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能紊乱的主要原因之一。糖尿病可导致多种急性和慢性并发症,如酮症酸中毒、心脑血管疾病、肾病等,对人类健康构成严重威胁。目前常用的降糖药有:胰岛素、磺脲类药物、非磺脲类胰岛素促分泌剂、双胍类降糖药、胰岛素增敏剂等,这几类降糖药作用快、疗效好、但毒副作用强,对肝、肾等器官损害,部分糖尿病人对胰岛素表现明显的抗药性。糖尿病为终身性疾病,需长期服药,因此,发现新的安全有效的抗糖尿病药物是目前社会的迫切需要。

[0003] 荔枝草(*Salvia plebaia* R. Brown),又名雪见草,是唇形科鼠尾草属植物,首载于《本草纲目》,其味苦辛、性凉,归胃、肺、肾经,叶对生,背面有腺点,两面均披短毛,为两年生直立草本植物,全草均可入药。研究表明,荔枝草含黄酮类、萜类、苯丙素类、挥发油类和多糖等活性成分,有抗氧化、抗菌、抗炎、抗病毒、保肝护肝、止咳平喘等多种药理作用。

[0004] 现有技术中对荔枝草具有降血糖的活性成分的研究较少,郭畅等在荔枝草多糖的提取工艺优化及其体外抗氧化、降血糖活性分析(郭畅,李超,侯明,等. 荔枝草多糖的提取工艺优化及其体外抗氧化、降血糖活性分析[J]. 食品工业科技,2022,43(20):211-219)中披露采用水提法和碱提法获得的荔枝草粗多糖具有抑制 α -淀粉酶的活性。

[0005] 中药的提取工艺与提取的活性成分的功效密切相关,现有的荔枝草的提取方法制备得到的降血糖功效的活性成分单一,其降糖效果仍有较大的提升空间。

发明内容

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种荔枝草活性组合物及其提取方法和应用。

[0007] 为了实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

第一方面,本发明提供一种荔枝草活性组合物的提取方法,包括如下步骤:

S1、将荔枝草粉碎,得到荔枝草粉;

S2、向荔枝草粉中加入低共熔溶剂和水超声,固液分离,得到上清液A和残渣;

S3、向残渣加复合酶酶解,固液分离,得到酶解液;

S4、将酶解液加乙醇醇沉,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S2得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合加环状糊精浓缩,得到所述荔枝草活性组合物。

- [0008] 优选地,步骤S1中所述荔枝草粉的粒径为60-120目。
- [0009] 优选地,步骤S2中所述低共熔溶剂由氯化胆碱和甘油组成;进一步优选地,所述氯化胆碱和甘油的摩尔比为1:1-3。
- [0010] 优选地,步骤S2中所述荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:(5-8)mL:2mL;进一步优选为1g:6mL:2mL。
- [0011] 优选地,步骤S2中所述超声的条件为:功率100-500W,温度40-50°C,时间30-60min;进一步优选为300W,温度45°C,时间45min。
- [0012] 优选地,步骤S3中所述复合酶为果胶酶和碱性蛋白酶;进一步优选地,所述果胶酶和碱性蛋白酶的质量比为3-6:1,进一步优选为4:1。
- [0013] 优选地,步骤S3中所述复合酶的加入量为残渣质量的0.5-1.5%。
- [0014] 优选地,步骤S3中所述酶解的条件为:30-40°C下酶解1-3h。
- [0015] 优选地,步骤S4中所述乙醇的加入量为酶解液体积的2-4倍;进一步优选为3倍。
- [0016] 优选地,所述乙醇的体积分数为70-95%。
- [0017] 优选地,步骤S4中所述醇沉为0-4°C下静置12h以上,优选为静置12-24h。
- [0018] 优选地,步骤S5中所述低温萃取为:萃取温度40-50°C,压力为-0.04到-0.02MPa,萃取时间2-4h。
- [0019] 优选地,步骤S6中所述环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.2-0.8%。
- [0020] 优选地,步骤S6中所述浓缩为:40-50°C下浓缩至相对密度为1.25-1.30。
- [0021] 第二方面,本发明提供上述提取方法得到的荔枝草活性组合物。
- [0022] 第三方面,本发明提供上述荔枝草活性组合物在制备降血糖和降血脂药物中应用。
- [0023] 第四方面,本发明提供一种降血糖和降血脂的药物,包括上述荔枝草活性组合物和药学上可接受的辅料。
- [0024] 本发明的有益效果为:
- (1)本发明通过对荔枝草提取工艺的改进,利用低共熔提取、酶解和低温萃取相结合制备得到荔枝草活性组合物,相比现有的提取技术,本发明无需纯化处理,产率更高。
- [0025] (2)通过实验表明,本发明制备得到的荔枝草活性组合物,在降血糖的同时还具有降血脂的功效,实现了糖脂同调。

具体实施方式

- [0026] 以下实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想。应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以对本发明进行若干改进和修饰,这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。对所公开的实施例的下述说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例中,而是可以应用于符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的更宽的范围。虽然在本发明的实施或测试中可以使用与本发明中所述相似或等价的任何方法和材料,本文在此处列举优选的方法和材料。

[0027] 除非另外定义,本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属技术领域的普通技术人员通常理解的相同意义。

[0028] 本实施例中的原料均为普通市售产品,部分原料的购买信息如表1。

[0029] 表1 原料信息

原料	原料信息
氯化胆碱	CAS号67-48-1
甘油	CAS号56-81-5
果胶酶	600U/g, CAS号9032-75-1
碱性蛋白酶	12U/g, CAS号9014-01-1
环状糊精	CAS号7585-39-9

[0030] 实施例1 荔枝草活性组合物的提取方法

所述提取方法,步骤如下:

S1、将荔枝草粉碎过80目筛,得到荔枝草粉;

S2、按荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:6mL:2mL,将三者混合,在温度为45°C,300W下超声45min,过滤(0.22μm醋酸膜),得到上清液A和残渣;

S3、向步骤S2得到的残渣加水,水的加入量为残渣质量的1倍,再加入复合酶,复合酶的加入量为残渣质量的1%,在35±2°C下酶解2h,过滤,得到酶解液;

S4、向步骤S3得到的酶解液中加入乙醇(体积分数85%),乙醇的加入量为酶解液体积的3倍,在2±2°C下醇沉12h,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合,加环状糊精再次混合均匀,环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.5%,在45±2°C下浓缩至相对密度为1.25-1.30,即得所述荔枝草活性组合物。

[0031] 工艺参数如表2所示。

[0032] 表2 实施例1提取方法的主要工艺参数

低共熔溶剂		摩尔比1:2的氯化胆碱和甘油
复合酶		质量比4:1的果胶酶和碱性蛋白酶
低温萃取	温度/°C	45
	压力/MPa	-0.03
	时间/h	3

[0033] 实施例2 荔枝草活性组合物的提取方法

所述提取方法,步骤如下:

S1、将荔枝草粉碎过80目筛,得到荔枝草粉;

S2、按荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:6mL:2mL,将三者混合,在温度为45°C,300W下超声45min,过滤(0.22μm醋酸膜),得到上清液A和残渣;

S3、向步骤S2得到的残渣加水,水的加入量为残渣质量的1倍,再加入复合酶,复合酶的加入量为残渣质量的1%,在35±2°C下酶解2h,过滤,得到酶解液;

S4、向步骤S3得到的酶解液中加入乙醇(体积分数85%),乙醇的加入量为酶解液体积的3倍,在2±2°C下醇沉12h,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合，加环状糊精再次混合均匀，环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.2%，在45±2℃下浓缩至相对密度为1.25-1.30，即得所述荔枝草活性组合物。

[0034] 工艺参数如表3所示。

[0035] 表3 实施例2提取方法的主要工艺参数

低共熔溶剂		摩尔比1:1的氯化胆碱和甘油
复合酶		质量比3:1的果胶酶和碱性蛋白酶
低温萃取	温度/℃	40
	压力/MPa	-0.02
	时间/h	4

[0036] 实施例3 荔枝草活性组合物的提取方法

所述提取方法，步骤如下：

S1、将荔枝草粉碎过80目筛，得到荔枝草粉；

S2、按荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:6mL:2mL，将三者混合，在温度为45℃，300W下超声45min，过滤(0.22μm醋酸膜)，得到上清液A和残渣；

S3、向步骤S2得到的残渣加水，水的加入量为残渣质量的1倍，再加入复合酶，复合酶的加入量为残渣质量的1%，在35±2℃下酶解2h，过滤，得到酶解液；

S4、向步骤S3得到的酶解液中加入乙醇(体积分数85%)，乙醇的加入量为酶解液体积的3倍，在2±2℃下醇沉12h，得到沉淀物和上清液B；

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取，得到萃取物；

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合，加环状糊精再次混合均匀，环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.8%，在45±2℃下浓缩至相对密度为1.25-1.30，即得所述荔枝草活性组合物。

[0037] 工艺参数如表4所示。

[0038] 表4 实施例3提取方法的主要工艺参数

低共熔溶剂		摩尔比1:3的氯化胆碱和甘油
复合酶		质量比6:1的果胶酶和碱性蛋白酶
低温萃取	温度/℃	50
	压力/MPa	-0.04
	时间/h	2

[0039] 对比例1 荔枝草活性组合物的提取方法

本对比例与实施例1的区别仅在于：复合酶不同，利用 α -淀粉酶代替碱性蛋白酶；具体地，所述提取方法，步骤如下：

S1、将荔枝草粉碎过80目筛，得到荔枝草粉；

S2、按荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:6mL:2mL，将三者混合，在温度为45℃，300W下超声45min，过滤(0.22μm醋酸膜)，得到上清液A和残渣；

S3、向步骤S2得到的残渣加水，水的加入量为残渣质量的1倍，再加入复合酶，复合酶的加入量为残渣质量的1%，在35±2℃下酶解2h，过滤，得到酶解液；

S4、向步骤S3得到的酶解液中加入乙醇(体积分数85%)，乙醇的加入量为酶解液体

积的3倍,在2±2°C下醇沉12h,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合,加环状糊精再次混合均匀,环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.5%,在45±2°C下浓缩至相对密度为1.25-1.30,即得所述荔枝草活性组合物。

[0040] 工艺参数如表5所示。

[0041] 表5 对比例1提取方法的主要工艺参数

低共熔溶剂	摩尔比1:2的氯化胆碱和甘油	
复合酶	质量比4:1的果胶酶和α-淀粉酶	
低温萃取	温度/°C	45
	压力/MPa	-0.03
	时间/h	3

[0042] 对比例2 荔枝草活性组合物的提取方法

本对比例与实施例1的区别仅在于:低共熔溶剂不同,利用苹果酸代替甘油。

[0043] 具体地,所述提取方法,步骤如下:

S1、将荔枝草粉碎过80目筛,得到荔枝草粉;

S2、按荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:6mL:2mL,将三者混合,在温度为45°C,300W下超声45min,过滤(0.22μm醋酸膜),得到上清液A和残渣;

S3、向步骤S2得到的残渣加水,水的加入量为残渣质量的1倍,再加入复合酶,复合酶的加入量为残渣质量的1%,在35±2°C下酶解2h,过滤,得到酶解液;

S4、向步骤S3得到的酶解液中加入乙醇(体积分数85%),乙醇的加入量为酶解液体积的3倍,在2±2°C下醇沉12h,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合,加环状糊精再次混合均匀,环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.5%,在45±2°C下浓缩至相对密度为1.25-1.30,即得所述荔枝草活性组合物。

[0044] 工艺参数如表6所示。

[0045] 表6对比例2提取方法的主要工艺参数

低共熔溶剂	摩尔比1:2的氯化胆碱和苹果酸	
复合酶	质量比4:1的果胶酶和碱性蛋白酶	
低温萃取	温度/°C	45
	压力/MPa	-0.03
	时间/h	3

[0046] 对比例3荔枝草活性组合物的提取方法

本对比例与实施例1的区别仅在于:复合酶的组成比例以及低共熔溶剂的组成比例不同。

[0047] 具体地,所述提取方法,步骤如下:

S1、将荔枝草粉碎过80目筛,得到荔枝草粉;

S2、按荔枝草粉、低共熔溶剂和水的质量体积比为1g:6mL:2mL,将三者混合,在温

度为45°C,300W下超声45min,过滤(0.22μm醋酸膜),得到上清液A和残渣;

S3、向步骤S2得到的残渣加水,水的加入量为残渣质量的1倍,再加入复合酶,复合酶的加入量为残渣质量的1%,在35±2°C下酶解2h,过滤,得到酶解液;

S4、向步骤S3得到的酶解液中加入乙醇(体积分数85%),乙醇的加入量为酶解液体积的3倍,在2±2°C下醇沉12h,得到沉淀物和上清液B;

S5、将步骤S2得到的上清液B低温萃取,得到萃取物;

S6、将步骤S1得到的上清液A、步骤S4得到的沉淀物和步骤S5得到的萃取物混合,加环状糊精再次混合均匀,环状糊精的加入量为上清液A和萃取物总重量的0.5%,在45±2°C下浓缩至相对密度为1.25-1.30,即得所述荔枝草活性组合物。

[0048] 工艺参数如表7所示。

[0049] 表7对比例3提取方法的主要工艺参数

低共熔溶剂		摩尔比1:4的氯化胆碱和甘油
复合酶		质量比1:1的果胶酶和α-淀粉酶
低温萃取	温度/°C	45
	压力/MPa	-0.03
	时间/h	3

[0050] 功效验证

1、实验动物

雄性SD大鼠,体重180-200g。

[0051] 2、实验药物

实施例1-实施例3制备的荔枝草活性组合物、对比例1-对比例3制备的荔枝草活性组合物。

[0052] 3、实验方法

(1) 造模

SD大鼠适应性喂养3天后,按体重随机分为模型组和正常对照组(8只)。模型组给予高糖高脂饲料(猪油10%,蛋黄粉6%、蔗糖21%,胆固醇2.0%,胆酸盐1%和普通饲料60%)喂养,正常对照组给予普通饲料喂养。喂养6周后,模型组大鼠空腹12小时腹腔注射链脲佐菌素(STZ)40mg/kg,正常对照组注射相同剂量的柠檬酸(0.1mol/L柠檬酸)作为对照。2周后,大鼠禁食12h后,取血测血糖,以12 mmol/L<空腹血糖<17 mmol/L为标准判定为造模成功。

[0053] (2) 分组与给药

将造模成功的大鼠,按空腹血糖随机分为实验组S1-实验组S3、实验组D1-实验组D3、模型对照组,每组8只,其中,实验组S1-实验组S3、实验组D1-实验组D3分别灌胃实施例1-实施例3、对比例1-对比例3制备的荔枝草活性组合物,给药量为10mg/kg,每天灌胃1次,连续6周,模型对照组和正常对照组灌服等体积生理盐水。

[0054] 4、检测指标

实验结束,大鼠禁食12h后,将大鼠麻醉取血后处死。

[0055] 空腹血糖检测:尾尖用75%的药用酒精消毒后剪尾取血,用血糖仪检测血糖。

[0056] 血脂检测:心脏取血,置37°C恒温水浴箱水浴5分钟,3000rpm离心5分钟,取上清

液,采用全自动生化分析仪检测总胆固醇TC、甘油三酯TG。

[0057] 结果如表8和表9所示。

[0058] 表8 大鼠空腹血糖(平均值±标准差)

组别	空腹血糖 (mmol/L)
正常对照组	6.37±0.89 b
模型对照组	15.21±4.53a
实验组S1	6.74±0.51b
实验组S2	7.10±0.62 b
实验组S3	6.95±0.58 b
实验组D1	13.12±2.73a
实验组D2	14.67±2.64a
实验组D3	12.28±2.29a

[0059] 注:同列中不同字母代表组间数据具有显著性差异,P<0.05。

[0060] 结果显示:

与模型对照组相比,实验组S1-实验组S3大鼠的空腹血糖显著降低(P<0.05),表明本发明实施例1-实施例3提取的荔枝草活性组合物具有较好的降血糖功效。

[0061] 实验组D1-实验组D3,采用对比例1-对比例3提取的荔枝草活性组合物,以10mg/kg的剂量灌胃给药6周,相比模型对照组,大鼠在空腹血糖变化上无统计学差异(P>0.05),表明在本发明的技术方案中,对比例1-对比例3提取的荔枝草活性组合物无调节血糖的效果。

[0062] 表9大鼠血清总胆固醇和甘油三酯(平均值±标准差)

组别	总胆固醇TC (mmol/L)	甘油三酯TG (mmol/L)
正常对照组	1.29±0.10c	0.63±0.08c
模型对照组	4.13±0.28a	1.70±0.19a
实验组S1	2.11±0.12b	1.17±0.11b
实验组S2	2.26±0.17b	1.23±0.10b
实验组S3	2.19±0.14b	1.20±0.14b
实验组D1	3.86±0.21a	1.57±0.18a
实验组D2	4.05±0.27a	1.64±0.22a
实验组D3	3.97±0.23a	1.61±0.20a

[0063] 注:同列中不同字母代表组间数据具有显著性差异,P<0.05。

[0064] 结果显示:

与正常对照组相比,模型对照组大鼠血清总胆固醇和甘油三酯显著升高(P<0.05),表明高糖糖脂饮食可导致血清总胆固醇和甘油三酯的升高。

[0065] 与模型对照组相比,实验组S1-实验组S3大鼠血清总胆固醇和甘油三酯显著降低(P<0.05),表明本发明实施例1-实施例3提取的荔枝草活性组合物具有降血脂的功效。

[0066] 与模型对照组相比,实验组D1-实验组D3,大鼠血清总胆固醇和甘油三酯无统计学

差异 ($P > 0.05$)，表明在本发明的技术方案中，对比例1-对比例3提取的荔枝草活性组合物无降血脂的效果。

[0067] 以上是结合具体实施例对本发明进一步的描述，但这些实施例仅仅是范例性的，并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应该理解的是，在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换，但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。