



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103301205 B

(45) 授权公告日 2015.06.03

(21) 申请号 201310238235.X

(22) 申请日 2013.06.14

(73) 专利权人 南京中医药大学

地址 210029 江苏省南京市汉中路 282 号

(72) 发明人 杨念云 段金廛 唐于平 钱大玮

(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 杨海军

(51) Int. Cl.

A61K 36/638(2006.01)

A23L 1/29(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

审查员 耿胜燕

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷及其制备方法,本发明通过对女贞子进行系统的化学成分和药理活性研究筛选,实验结果表明,本发明筛选得到的女贞子精制总苷,可显著降低 CCl_4 致肝损伤模型小鼠血清 ALT、AST 活性,降低酒精致肝损伤模型小鼠肝组织 MDA 含量,增强肝脏 GSH 活性,表明本发明提供的女贞子精制总苷不仅对化学性肝损伤、长期饮酒致肝损伤均具有明显的肝脏保护作用,有望开发成新的抗肝损伤的药物或保健品。

1. 具有治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷在制备治疗肝损伤药物中的应用；
所述的女贞子精制总苷由下列方法制备得到：

取干燥的女贞子，粉碎，加 10 倍量浓度为 50%乙醇回流提取 2 次，每次 2 小时，过滤，合并滤液减压回收乙醇，滤液上 D101 型大孔树脂，用浓度为 50%乙醇洗脱，洗脱液减压回收乙醇，真空干燥，得到包括重量百分比分别为 39%女贞苷、17%特女贞苷、19%女贞苷 G1-13、6%红景天苷成分的女贞子精制总苷。

2. 根据权利要求 1 所述的具有治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷在制备治疗肝损伤药物中的应用，其特征在于，将女贞子精制总苷和药学上可接受的载体制成片剂、胶囊剂、颗粒剂、滴丸剂、合剂剂型的药物。

具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种植物提取物,具体涉及具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 女贞子是木犀科女贞属植物女贞的干燥成熟果实。冬季果实成熟时采收,除去枝叶,稍蒸或置沸水中略烫后,干燥;或直接干燥。其性味甘苦、凉,入肝、肾经,为常用药食同源的药材,具有滋补肝肾之功效,用于治疗肝肾阴虚、眩晕耳鸣、腰膝酸软等症。现代研究表明,女贞子主要含有三萜类、裂环环烯醚萜苷类和苯乙醇苷类等化学成分,具有提高机体免疫功能、抗衰老、对缺氧/缺糖损伤神经细胞的保护等药理作用。女贞还是常见的绿化树、行道树,每年秋天大量成熟的女贞子落在地上,把地面染黑,造成环境污染和资源浪费。

[0003] 目前,尚未见以女贞子为原料提取分离得到具有防治肝损伤的皂苷的报道。因此为了充分利用女贞药材的资源,减少资源的浪费和环境污染,很有必要对女贞子的活性成分及药理作用进行深入研究,进而扩大女贞子的药用途径,同时也为女贞子效应物质基础的阐明奠定基础。

发明内容

[0004] 发明目的:本发明的目的是为了克服现有技术的不足,在女贞子原有化学成分及其用途的基础上,对其化学成分进行深入研究,开发其新的临床用途,提供一种具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷,本发明另一个目的在于提供女贞子精制总苷的制备方法。

[0005] 技术方案:为了实现以上目的,本发明采取的技术方案为:

[0006] 一种具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷,它是通过以下步骤制备得到:

[0007] 取干燥的女贞子,粉碎,加6~10倍量浓度为40%~60%乙醇回流1~3次,每次1~3小时,过滤,合并滤液减压回收乙醇,滤液上D101型大孔树脂,用浓度为40%~60%乙醇洗脱,洗脱液减压回收乙醇,真空干燥,得包括女贞苷、特女贞苷、女贞苷G1-13、红景天苷成分的女贞子精制总苷。

[0008] 本发明通过优选方法制备得到的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷,通过HPLC-DAD-MS等仪器分析,女贞子精制总苷包括重量百分比分别为39%女贞苷、17%特女贞苷、19%女贞苷G1-13、6%红景天苷成分。本发明通过化学成分分析,结合药理实验筛选,制备得到具有很好防治肝损伤功效的女贞子精制总皂苷。

[0009] 本发明所述的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷的制备方法,其包括以下步骤:

[0010] 取干燥的女贞子,粉碎,加6~10倍量浓度为40%~60%乙醇回流提取1~3次,

每次 1 ~ 3 小时,过滤,合并滤液减压回收乙醇,滤液上 D101 型大孔树脂,用浓度为 40%~60%乙醇洗脱,洗脱液减压回收乙醇,真空干燥,得包括女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G1-13、红景天苷成分的女贞子精制总苷。

[0011] 作为优选方案,以上所述的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷的制备方法,加 10 倍量浓度为 50%乙醇回流提取 2 次,每次 2 时。本发明对提取方法进行优选,采用浓度为 50%乙醇回流提取 2 次,可增加皂苷目标成分的溶出率,减少杂质成分的溶出。因此本发明根据活性成分的性质,确定乙醇的浓度和用量,得到的提取物目标成分溶出率高,活性更强。

[0012] 作为优选方案,以上所述的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷的制备方法,滤液上 D101 型大孔树脂,用浓度为 50%乙醇洗脱,洗脱液减压回收乙醇,真空干燥,得到包括重量百分比分别为 39%女贞苷、17%特女贞苷、19%女贞苷 G1-13、6%红景天苷成分的女贞子精制总苷。本发明通过药理实验优选活性成分,实验结果表明采用 D101 型大孔树脂,用浓度为 50%乙醇洗脱,可得到含量最高的 39%女贞苷、17%特女贞苷、19%女贞苷 G1-13、6%红景天苷成分组成的女贞子精制总苷,具有强的抗肝损伤的功效,取得了很好的技术效果。

[0013] 本发明所述的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷在制备防治肝损伤药物或保健品中的应用。

[0014] 作为优选方案,以上所述的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷在制备防治肝损伤药物或保健品中的应用,将大枣提取物和药学上可接受的载体制成片剂、胶囊剂、颗粒剂、丸剂、微丸、散剂、滴丸剂、汤剂、糖浆剂、合剂、煎膏剂或浸膏剂剂型的药物。

[0015] 本发明提供的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷制成胶囊剂时把具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷和载体乳糖或玉米淀粉混合均匀,整粒,然后装胶囊制成胶囊剂。

[0016] 本发明提供的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷制成片剂时,把具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷和乳糖或玉米淀粉,需要时加入润滑剂硬脂酸镁,混合均匀,然后压片制成片剂。

[0017] 本发明提供的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷制成颗粒剂时,把具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷和稀释剂乳糖或玉米淀粉混合均匀,整粒,干燥,制成颗粒剂。

[0018] 本发明提供的具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷制成其它剂型时,可按药学常规方法制备得到。

[0019] 有益效果:本发明和现有技术相比具有以下优点:

[0020] 本发明通过对女贞子进行系统的化学成分和药理活性研究筛选,实验结果表明,本发明筛选得到的女贞子精制总苷活性成分含量高达 81%以上,可显著降低 CCl_4 致肝损伤模型小鼠血清 ALT、AST 活性,降低酒精致肝损伤模型小鼠肝组织 MDA 含量,增强肝脏 GSH 活性,表明本发明提供的女贞子精制总苷不仅对化学性肝损伤、长期饮酒致肝损伤均具有明显的肝脏保护作用,同时对病毒性肝炎所致肝损伤也具有保护作用。

[0021] 本发明提供的女贞子精制总苷,在充分利用女贞子中药资源基础上,开发出女贞子抗肝损伤活性的精制活性部位,抗肝损伤活性强,可开发成为新的抗肝损伤药物或保健

食品。且本发明提供的女贞子精制总苷可以方便的和药学上可接受的载体制备成各种剂型的药物,方便临床应用。

具体实施方式

[0022] 下面结合具体实施例进一步阐明本发明,应理解这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围,在阅读了本发明之后,本领域技术人员对本发明的各种等价形式的修改均落于本申请所附权利要求所限定的范围。

[0023] 实施例 1

[0024] 具有预防和治疗肝损伤作用的女贞子精制总苷,其通过以下方法制备得到:

[0025] 取干燥的女贞子,粉碎,加 10 倍量浓度为 50%乙醇回流提取 2 次,每次 2 小时,过滤,合并滤液减压回收乙醇,滤液上 D101 型大孔树脂,用浓度为 50%乙醇洗脱,洗脱液减压回收乙醇,真空干燥,得到包括重量百分比分别为 39%女贞苷、17%特女贞苷、19%女贞苷 G1-13、6%红景天苷成分的女贞子精制总苷。

[0026] 实施例 2 女贞子精制总苷抗大鼠四氯化碳肝损伤实验研究

[0027] 1、实验方法:

[0028] 取 60 只大鼠正常喂养一周后,随机分为 6 组:正常对照组 (n = 10),给予正常饲料;模型组 (n = 10),给予正常饲料;阳性药干预组 (n = 10),给予护肝片(每日以 150mg/kg 护肝片灌胃给药)与正常饲料;实施例 1 制备得到的女贞子精制总苷的高、中、低干预组 (n = 10×3),分别给予实施例 1 制备得到的女贞子精制总苷 600mg/kg、300mg/kg、150mg/kg 与正常饲料。给药同时,除正常对照组以外各组于第 1 天、第 4 天、第 8 天、第 12 天皮下注射皮下注射 40% CCl₄(用玉米油配制),剂量为 4mL/kg。末次给药当天晚上禁食,第二天大鼠眼球取血,检测血清学指标。大鼠眼球取血后,颈椎脱臼法处死,分离肝脏,部分肝组织用 4%甲醛固定 36h 后,HE 染色,观察肝组织形态。

[0029] 2、实验结果:

[0030] 具体实验结果如表 1 所示:

[0031] 表 1 女贞子精制总苷对四氯化碳肝损伤模型大鼠血脂水血清 AST 和 ALT 的影响($\bar{x} \pm S$, n=10)

[0032]

| 组别 | ALT(U/L) | AST(U/L) |
|-------------|--------------|----------------|
| 正常组 | 40.71±5.37** | 133.82±10.1** |
| 模型组 | 63.97±12.4 | 173.56±24.16 |
| 护肝片组 | 51.37±9.04* | 144.76±14.58* |
| 女贞子精制总苷低剂量组 | 41.09±5.24** | 137.21±10.07** |
| 女贞子精制总苷中剂量组 | 39.70±3.12** | 136.10±9.10** |
| 女贞子精制总苷高剂量组 | 36.10±2.68** | 134.21±8.31** |

[0033] 注：与模型组比较，*P<0.05，**P<0.01；

[0034] 通过以上表 1 实验结果表明，本发明提供的女贞子精制总苷具有很好的抗四氯化碳肝损伤活性的作用，且随着女贞子精制总苷剂量的升高，抗肝损伤活性逐渐增强，呈现较好的量效关系，由表 1 可知，与模型组相比较，护肝片组、女贞子精制总苷各组均能显著降低 AST、ALT 水平 (P<0.05 或 P<0.01)。病理检查结果显示，模型组小鼠肝组织明显充血，水肿，脂肪变性，炎症反应明显，肝细胞呈重度坏死。本发明提供的女贞子精制总苷高、中、低剂量组能不同程度减轻肝组织各种损伤性病理改变，显示出了很好的抗肝损伤的活性。

[0035] 实施例 3 女贞子精制总苷抗小鼠酒精肝损伤实验研究

[0036] 1、实验方法：

[0037] 小鼠自由摄食和饮水，实验前观察适应一周。随机分为 6 组：正常对照组 (n = 10)，给予正常饲料；模型组 (n = 10)，每天清晨灌服 58 度红星二锅头酒 (0.2ml/10g)；阳性药干预组 (n = 10)，给予护肝片 (每日以 1.0mg/10g 护肝片灌胃给药) 与 58 度红星二锅头酒 (0.2ml/10g)；本发明实施例 1 制备得到的女贞子精制总苷高、中、低干预组 (n = 10×3)，分别灌胃给药实施例 1 制备得到的女贞子精制总苷 1.0mg/10g、0.5mg/10g、0.25mg/10g 与 58 度红星二锅头酒 (0.2ml/10g)。30 天后处死小鼠 (前一天晚上禁食)，取肝脏制成 0.1g·mL⁻¹ 肝匀浆，检测丙二醛 (MDA)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量。同时取部分肝组织用 4% 甲醛固定 36h 后，HE 染色，镜检，观察肝组织形态。

[0038] 2、实验结果：

[0039] 具体实验结果如表 2 所示：

[0040] 表 2 女贞子精制总苷对酒精肝损伤模型小鼠肝组织 MDA、GSH 含量的影响 ($\bar{x} \pm S$, n=10)

[0041]

| 组别 | MDA(nmol·100 g ⁻¹ 肝) | 还原型 GSH (μmol·g ⁻¹ 肝) |
|-------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 正常组 | 6.81±1.82* | 11.08±1.86** |
| 模型组 | 16.28±5.92 | 8.05±1.50 |
| 护肝片组 | 5.01±0.98* | 9.42±1.07** |
| 女贞子精制总苷低剂量组 | 9.28±2.10 | 9.00±0.87 |
| 女贞子精制总苷中剂量组 | 6.21±0.92* | 9.90±1.10** |
| 女贞子精制总苷高剂量组 | 4.01±0.71* | 11.20±1.68** |

[0042] 注：与模型组比较，*P<0.05，**P<0.01；

[0043] 通过以上表 2 实验结果表明，本发明提供的女贞子精制总苷具有很好的抗酒精肝损伤活性的作用，呈现较好的量效关系。由表 2 可知，女贞子精制总苷中、高剂量组 MDA 含量比模型对照组降低，差异有显著性 (P<0.05)。女贞子精制总苷中、高剂量组 GSH 含量高于模型对照组，差异有极显著性 (P<0.01)。并且病理检查结果显示，模型组肝脏均可见弥漫性肝细胞重度水样变性，胞浆疏松，并可见大量炎细胞浸润，纤维结缔组织增生。女贞子精制

总苷组和阳性药护肝片组较模型组脂肪变性和水样变性程度明显减轻,炎症反应减轻,部分肝细胞呈水样变性。也显示了很好的抗肝损伤活性。

[0044] 本发明充分利用女贞子药材资源,通过对女贞子的化学成分研究和药理活性实验筛选,去粗存精,制备得到活性成分含量高的具有较强抗肝损伤活性的女贞子精制总苷有效部位,实验结果表明,本发明提供的女贞子精制总苷有效部位有效成分清楚,抗 CCl_4 和酒精肝损伤活性强,不良反应少,有望开发成为新的保肝药物与保健食品。

[0045] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,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,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。