



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108403980 B

(45)授权公告日 2020.10.16

(21)申请号 201810561855.X

(22)申请日 2018.06.04

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108403980 A

(43)申请公布日 2018.08.17

(73)专利权人 中国科学院西双版纳热带植物园
地址 666303 云南省西双版纳傣族自治州
勐腊县勐仑镇中国科学院西双版纳热带植物园

(72)发明人 张玉梅

(74)专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务所(普通合伙) 53108

代理人 旃习涵

(51)Int.Cl.
A61K 36/899(2006.01) (续)

(56)对比文件
CN 103845634 A,2014.06.11
Adegbegi J. Ademuyiwa等.The Effects of Cymbopogon citratus (Lemon grass) on the Blood Sugar Level, Lipid Profiles and Hormonal Profiles of Wistar Albino Rats.《American Journal of Toxicology》.2015,第1卷(第1期),
欧阳炜.广西产香茅草化学成分及抗炎镇痛

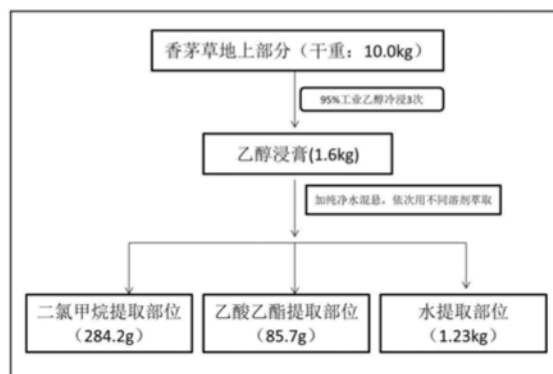
作用的研究.《万方学位论文》.2013,
褚武菁.胡柚果肉平衡血糖组分的初步筛选.《中国优秀硕士学位论文全文数据库》.2015,(第1期),
Chinwe O. Ewenighi等.Estimation of lipid profile and glucose level in alloxan-induced diabetic rats treated with Cymbopogon citratus (lemongrass).《J Exp Integr Med》.2013,第3卷(第3期),
Christopher E. Ekpenyong等.Cymbopogon citratus Stapf (DC) Extract Ameliorates Atherogenic Cardiovascular Risk in Diabetes-Induced Dyslipidemia in Rats.《British Journal of Medicine & Medical Research》.2014,第4卷(第28期), (续)

审查员 杨超

(54)发明名称
一种降血糖植物提取物有效部位及其制备方法和应用

(57)摘要
本发明提供了一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位及其制备方法和用途。所述提取物有效部位为植物香茅草的乙酸乙酯提取物，以此提取物有效部位为活性成分的降血糖药物或功能食品，其制备方法，及其在制备降血糖药物或功能食品中的应用。本发明的植物乙酸乙酯提取物有效部位去除了大量无用和有毒成分，可以快速有效地降低血糖，具有很好的安全性。

权利要求书1页 说明书6页 附图1页



CN 108403980 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

A61P 3/10(2006.01)

A23L 33/105(2016.01)

(56) 对比文件

N. K. K. Boaduo等.Evaluation of six plant species used traditionally in the treatment and control of diabetes mellitus in South Africa using in vitro methods.《Pharm Biol》.2014,第52卷(第6期),

María del Carmen Vázquez-Briones等 .Physicochemical and Antioxidant Properties of Cymbopogon citrates Essential Oil.《Journal of Food Research》

.2015,第4卷(第3期),

Sudhanshu Kumar Bharti等.Essential Oil of Cymbopogon Citratus Against Diabetes: Validation by In vivo Experiments and Computational Studies.《Journal of Bioanalysis & Biomedicine》.2013,第5卷(第5期),

1,2Protus ArreyTarkang等.Effect of Long-Term Oral Administration of the aqueous and ethanol leaf extracts of Cymbopogon citratus (DC. ex Nees) Stapf.《Annals of Biological Research》.2012,第3卷(第12期),

1. 一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位,该提取物有效部位为植物香茅草乙酸乙酯提取部位,该有效部位是按照以下方法制备得到的:植物香茅草地上部分原料晾干粉碎后加入工业乙醇室温下浸提3次,加入溶剂的量分别为4~8倍、3~5倍、3~5倍,浸提时间分别为7天、3天、3天,合并三次提取液并减压浓缩,得到香茅草乙醇提取浸膏,将该浸膏用6~10倍60℃纯净水溶解后室温下放置冷却,以等体积的二氯甲烷萃取3次,合并二氯甲烷萃取液并减压浓缩回收溶剂,水溶液部分再以等体积乙酸乙酯萃取3次,合并三次乙酸乙酯萃取液减压浓缩干燥,得香茅草乙酸乙酯提取物有效部位,其中所述香茅草植物为香茅草的地上部位,为其叶或茎秆或两者的组合,所述提取物有效部位为去除香茅草中有毒性的二氯甲烷提取部位和无活性的水提取部位后的乙酸乙酯提取物有效部位。

2. 药物组合物,其由治疗有效量的权利要求1所述的一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位和可药用载体组成。

3. 功能食品,其由有效量的权利要求1所述的一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位和食品用辅料组成。

4. 权利要求1所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备降血糖药物中的应用。

5. 权利要求1所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备降血糖药物组合物或制剂中的应用。

6. 权利要求1所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备预防和/或治疗糖尿病的药物中的应用。

7. 权利要求1所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备降血糖功能食品中的应用。

一种降血糖植物提取物有效部位及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物或功能食品技术领域,具体涉及植物香茅草的乙酸乙酯提取物有效部位,该有效部位可用作抗糖尿病降血糖活性成分,以其为有效成分的药物组合物或功能食品,其制备方法及其在制备降血糖药物或功能食品中的应用。

背景技术

[0002] 糖尿病是一种以高血糖为特征的代谢性疾病,目前在全球范围内发病率持续增高,已经成为继心脑血管病和恶性肿瘤之后第三大严重威胁人们健康和生命的非传染性疾病。随着现代生活水平提高、人口老龄化以及肥胖发生率的增加,糖尿病发病率迅速升高并有年轻化趋势。糖尿病的持续高血糖与长期代谢紊乱等可导致全身组织器官,特别是心血管、眼、肾及神经系统的损害及其功能障碍和衰竭。目前,临床上使用的抗糖尿病降血糖药物主要有胰岛素类,二甲双胍类, α -葡萄糖苷酶抑制剂类(如阿卡波糖和伏格列波糖等),肠促胰岛素类似物(如利拉鲁肽等),DPP-4抑制剂类(如西格列汀等),促胰岛素分泌剂磺脲类(如格列美脲等)以及胰岛素增敏类(如双胍类及噻唑烷二酮类)等。这些药物基本都为化学合成药物,其使用虽然取得了较好的疗效,都能使血液中葡萄糖浓度明显下降,但长期使用要么给药不方便,要么不能稳定控制血糖水平。此外,一些药物还有严重的副作用,如肝肾毒性、浮肿以及严重胃肠道反应等。因此,新型降血糖药物或功能食品的研发一直是抗糖尿病治疗领域的研究热点。降血糖药用或食用植物承载了千百年来人们防治糖尿病的经验,具有疗效确切、安全低毒以及无依耐性等优点,是研发新型降血糖药物或功能性食品的重要源泉。

[0003] 二型糖尿病是一种代谢性综合疾病,其形成与现代人高糖高脂以及运动不足的生活方式密切相关,其患者占总糖尿病患者人数约90%以上。db/db自发性糖尿病小鼠由C57BL/KsJ近亲交配株常染色体隐性遗传衍化而来,属II型糖尿病模型。动物在一个月时开始贪食及发胖,继而产生血糖的不受控制的增高、高血胰岛素、胰高血糖素升高、胰岛 β 细胞、后期外周神经病变和心肌病和伤愈速度减慢等严重的糖尿病症状,一般在10个月内死亡,是研究人类II型糖尿病治疗新药的理想模型。

[0004] 现有技术中未见有香茅草乙酸乙酯提取物有效部位作为抗糖尿病降血糖药物或功能食品的报道。香茅草(*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.),又名柠檬草,为禾本科香茅属植物,是傣族及东南亚地区人们常用的一种调味食品,也是这些地区居民常用的一味药材,有通络驱风之效,现代药理学则证明其具有抗菌、抗氧化、调节免疫、抗肿瘤、镇痛、降血压和抗糖尿病等作用。现有文献中报道,香茅草叶鞘用水蒸汽蒸馏得到的精油对泊洛沙姆407诱导的糖尿病大鼠具有治疗作用,参见:Bharti SK, *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*, 2014, 5 (5), 194-203。另,香茅草甲醇提取物具有抑制 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶活性的作用,参见:Boaduo, NKK等, *Pharmaceutical Biology*, 52 (6), 756-761。在现有技术中,香茅草抗糖尿病的降血糖有效部位为叶鞘的精油部分和全草的甲醇粗提取物,前者的缺点在于仅使用了植物的叶鞘部分,其降血糖有效部位是精油部分,对植物的利用不够

充分,且精油成分的质量控制也比较困难;后者的缺点是降血糖有效部位为甲醇粗提物,对植物的提取利用虽达到最大化,但粗提物成分复杂,其中包含了许多无用甚至有毒副作用的成分,无法满足现代降血糖药物或功能食品对安全性的要求。

发明内容

[0005] 针对现有技术存在的上述不足之处,本发明的目的在于提供香茅草降血糖更加安全有效的提取物部位,本发明涉及的具有降血糖作用的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位为首次发现其降血糖活性;提供该乙酸乙酯提取物有效部位的制备方法,该提取方法可控性和重现性好,样品利用率高,成本较低,操作方便,降血糖效果及安全性好,可较易提取得到该质量成分稳定性好的乙酸乙酯提取物有效部位,溶剂可以反复回收利用,也适用于工业生产。本发明的目的还在于提供以本乙酸乙酯提取物有效部位为有效成分的降血糖药物或功能食品组合物;该提取物有效部位及其组合物在制备降血糖药物或功能食品中的应用。

[0006] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下技术方案:

[0007] 一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位,该提取物有效部位为植物香茅草乙酸乙酯提取部位,该有效部位是按照以下方法制备得到的:植物香茅草地上部分原料晾干粉碎后加入工业乙醇室温下浸提3次,加入溶剂的量分别为4~8倍、3~5倍、3~5倍,浸提时间分别为7天、3天、3天,合并三次提取液并减压浓缩,得到香茅草乙醇提取浸膏,将该浸膏用6-10倍60℃纯净水溶解后室温下放置冷却,以等体积的二氯甲烷萃取3次,合并二氯甲烷萃取液并减压浓缩回收溶剂,水溶液部分再以等体积乙酸乙酯萃取3次,合并三次乙酸乙酯萃取液减压浓缩干燥,即得香茅草乙酸乙酯提取物有效部位。

[0008] 根据所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位,其中所述香茅草植物为香茅草的地上部位,为其叶和茎秆或两者的组合。

[0009] 根据所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位,其中所述提取物有效部位为去除香茅草中有毒性的二氯甲烷提取部位和无活性的水提取部位后的乙酸乙酯提取物有效部位。

[0010] 本发明同时提供了一种药物组合物,其中由治疗有效量的一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位和可药用载体组成。

[0011] 此外,还提供了一种功能食品,其中由有效量的一种降血糖植物乙酸乙酯提取物有效部位和食品用辅料组成。

[0012] 本发明此外还提供了所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备降血糖药物中的应用。

[0013] 以及,所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备降血糖药物组合物或制剂中的应用。

[0014] 以及,所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备预防和/或治疗糖尿病的药物中的应用。

[0015] 和,所述的香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在制备降血糖功能食品中的应用。

[0016] 本发明对禾本科植物香茅草用乙醇进行充分提取再划分成二氯甲烷、乙酸乙酯和水三个不同的极性段,所用溶剂包括乙醇、水、二氯甲烷和乙酸乙酯,之后对乙醇总提取物和三个不同的极性段在体外3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取模型和db/db二型糖尿病小鼠模型上检测其降血糖作用,体外测试发现乙醇总提取物、二氯甲烷提取物部位以及乙酸乙酯提

取物部位在3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取模型均有显著的活性,水提取部位则没有明显的促进细胞糖摄取活性,但乙醇总提取物对脂肪细胞有一定毒性,二氯甲烷提取物部位则对3T3-L1细胞具有明显毒性,而乙酸乙酯提取物部位则对3T3-L1细胞没有毒性;体内db/db二型糖尿病小鼠模型上显示,香茅草乙酸乙酯提取物部位降血糖作用略优于同剂量的阳性对照药盐酸二甲双胍,为新型纯植物来源的降血糖活性提取物,可用于制备抗糖尿病的降血糖药物或功能食品。

[0017] 本发明所述的抗糖尿病降血糖药物或功能食品组合物,由香茅草乙酸乙酯提取有效部位与药学上可接受的载体制备的药物剂型包括片剂、胶囊以及口服液等。由于片剂、胶囊、口服液等药物剂型的制备是本领域的常规知识,因此,由香茅草乙酸乙酯提取有效部位与相应载体制备的各种药物剂型也能够由本领域技术人员实现。

[0018] 上文中所述的药学上可接受的载体是指药学领域常规的药物载体,例如:稀释剂、赋形剂如水等,填充剂如淀粉、蔗糖等;黏合剂如纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮;湿润剂如甘油;崩解剂如琼脂、碳酸钙和碳酸氢钠;吸收促进剂如季铵化合物;表面活性剂如十六烷醇;吸附载体如高岭土和皂黏土;润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙和硬脂酸镁、

[0019] 以及聚乙二醇等。另外还可以在组合物中加入其它辅剂如香味剂、甜味剂等。

[0020] 本发明化合物可以以组合物的形式通过口服等方式施用于需要降血糖的患者。用于口服时,可将其制成常规的固体制剂如片剂、粉剂、粒剂、胶囊等,制成液体制剂如水或油悬浮剂或其他液体制剂如糖浆、酞剂等;本发明药物组合物的各种剂型可以按照药学领域的常规生产方法制备。例如使活性成分与一种或多种载体混合,然后将其制成所需的剂型。

[0021] 本发明的药物组合物优选含有重量比为0.1%~99.9%的活性成分,最优选含有重量比为0.5%~95%的活性成分。

[0022] 本发明化合物的施用量可根据用药途径、患者的年龄、体重、所治疗的疾病的类型和严重程度等变化,其日剂量可以是0.01~20mg/kg体重,优选0.1~10mg/kg体重。可以一次或多次施用。

[0023] 本发明香茅草乙酸乙酯提取有效部位提取方法的优越性在于,首先提取分离操作简单,利用乙醇,充分浸提出香茅草的降血糖活性成分,再利用有机溶剂萃取技术将有毒性的小极性成分富集到二氯甲烷萃取部位,然后将降血糖活性好且安全性好的中等极性成分成功富集到乙酸乙酯萃取部位。其次,仅利用实验室或工业上的常规溶剂,包括乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯和水。总之,本发明制备方法可控性和重现性好,样品损失少,成本较低,操作方便,溶剂可以反复回收利用,适用于工业生产。

附图说明:

[0024] 图1为本发明香茅草乙酸乙酯提取物有效部位的制备方法流程图。

[0025] 图2为给药前后db/db糖尿病小鼠体重增加率(Model为糖尿病模型对照组,M.H.为盐酸二甲双胍组,Sam.为香茅草乙酸乙酯提取物部位组)

[0026] 图3为给药前后db/db糖尿病小鼠血糖降低率(Model为糖尿病模型对照组,M.H.为盐酸二甲双胍组,Sam.为香茅草乙酸乙酯提取物部位组)

具体实施方式：

[0027] 下面结合附图，用本发明的实施例来进一步说明本发明的实质性内容，但并不以此来限定本发明。根据本发明的实质对本发明进行的改进都属于本发明的范围。

[0028] 实施例1：

[0029] 香茅草乙酸乙酯提取物有效部位的制备方法：

[0030] 植物香茅草地上部分原料晾干粉碎后加入工业乙醇室温下浸提3次，加入溶剂的量分别为4~8倍、3~5倍、3-5倍，浸提时间分别为7天、3天、3天，合并三次提取液并减压浓缩，得到香茅草乙醇提取浸膏，将该浸膏用6-10倍60℃纯净水溶解后室温下放置冷却，以等体积的二氯甲烷萃取3次，合并二氯甲烷萃取液并减压浓缩回收溶剂，水溶液部分再以等体积乙酸乙酯萃取3次，合并三次乙酸乙酯萃取液减压浓缩干燥，即得香茅草乙酸乙酯提取物有效部位。

[0031] 实施例2：

[0032] 本发明香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在体外3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取模型上具有显著促进3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取的作用。实验原理、方法和结果如下：

[0033] 实验原理：胰岛素通过特定的信号通路如(PI3K信号通路)调节GLUT4将葡萄糖从细胞外转运至细胞内，使细胞完成对葡萄糖的摄取。不同的胰岛素刺激浓度与胰岛素刺激导致脂肪组织/骨骼肌对葡萄糖的摄取量在有效范围内成线性关系。通过检测细胞对葡萄糖的摄取量多少，判断化合物的潜在降血糖活性。

[0034] 实验方法：

[0035] (1) 细胞诱导分化

[0036] 将3T3-L1细胞诱导分化成脂肪细胞后，将细胞消化并接种到96孔板中培养过夜。

[0037] (2) 细胞孵育

[0038] 用低糖培养基(葡萄糖浓度为1800mg/L)将细胞清洗一次后，分别加入含不同药物的200 μ l低糖培养基。对照组分别用DMSO以及100nM的胰岛素(Insulin)、小檗碱(10 μ M)孵育，待测样品组用25 μ g/ml终浓度孵育。每个样品设3个重复孔。

[0039] (3) 葡萄糖浓度检测

[0040] 孵育24小时后吸取10 μ l细胞培养基，用葡萄糖氧化酶—过氧化物酶法测定培养液中葡萄糖的浓度。同时在细胞剩余培养基中加20 μ l MTS，在37℃孵育2小时后，测492nm吸光度值，以判断提取物样品对脂肪细胞是否有毒性。

[0041] (4) 数据计算

[0042] 葡萄糖浓度 (mmol/L) = $\frac{\text{样本吸光度}}{\text{标准品吸光度}} \times \text{校准品浓度}$

[0043] 葡萄糖消耗率 (%) = $[(\text{初始葡萄糖浓度} - \text{实验孔葡萄糖浓度}) / \text{初始葡萄糖浓度}] \times 100\%$

[0044] 实验结果：在25 μ g/ml的浓度下，香茅草乙醇总提取物、香茅草二氯甲烷提取物部位和香茅草乙酸乙酯提取物部位提取物部位在体外3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取模型上均有显著的活性，但乙醇总提取物对脂肪细胞有一定毒性，二氯甲烷提取物部位对脂肪细胞有显著毒性，乙酸乙酯提取物部位则无毒性，水提取部位无毒性也没有明显活性。因此，香茅草乙酸乙酯提取物部位是一个具有潜在降血糖作用且安全的有效提取物部位(表1)。

[0045] 表1. 香茅草各提取物部位对3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取的作用

样品名	葡萄糖摄取率(±SD; %)	细胞活力(±SD; %)
DMSO 溶媒对照	17.25±0.93	100.00±1.36
胰岛素	36.64±1.42	101.12±0.63
小檗碱	33.15±0.73	96.85±0.96
[0046] 香茅草乙醇总提取物	34.47±1.01	94.58±0.83
香茅草二氯甲烷提取部位	35.46±1.25	86.23±1.15
香茅草乙酸乙酯提取部位	38.54±0.77	99.12±1.45
香茅草水提取部位	18.39±0.89	101.27±0.94

[0047] 实施例3:

[0048] 本发明香茅草乙酸乙酯提取物有效部位在db/db自发性糖尿病小鼠体内模型上具有显著降血糖作用。实验原理、方法和结果如下:

[0049] 实验原理:db/db自发性糖尿病小鼠由C57BL/KsJ近亲交配株常染色体隐性遗传衍化而来,属II型糖尿病模型。动物在一个月时开始贪食及发胖,继而产生血糖的不受控制的增高、高血胰岛素、胰高血糖素升高、胰岛β细胞、后期外周神经病变和心肌病和伤愈速度减慢等严重的糖尿病症状,一般在10个月内死亡,是研究人类II型糖尿病治疗新药的理想模型。

[0050] 实验方法:取9-10周龄db/db糖尿病雄性小鼠,于给药前2日上午9:00测定随机血糖和随机体重,之后禁食6h(不禁水)测定空腹血糖,空腹体重。选取30只db/db小鼠,其随机血糖大于11.1mmol/l。根据小鼠随机血糖、随机体重、空腹血糖及空腹体重将小鼠分为3组,每组10只。分别为模型对照组(同剂量CMC-Na+生理盐水)、阳性药物盐酸二甲双胍对照组和香茅草乙酸乙酯提取物部位组。每天口服灌胃给药一次,乙酸乙酯提取物和阳性药物盐酸二甲双胍组给药量均为200mg/kg.bw,持续28天,实验结束测定各组小鼠给药前后随机血糖、随机体重、空腹血糖及空腹体重。

[0051] 血糖下降率按以下公式计算:

$$[0052] \quad \text{血糖下降率} = \frac{(\text{对照组血糖} - \text{给药组血糖})}{\text{对照组血糖}} \times 100\%$$

[0053] 实验结果:香茅草乙酸乙酯提取物部位能显著降低db/db自发糖尿病小鼠的随机血糖及空腹血糖,且效果略优于同剂量盐酸二甲双胍,对随机体重及空腹体重无明显影响(图2-图3)。

[0054] 实验结果表明,香茅草乙酸乙酯提取物部位能显著降低db/db自发糖尿病小鼠的随机血糖及空腹血糖,且效果优于同剂量盐酸二甲双胍,对随机体重及空腹体重无明显影响,证明香茅草乙酸乙酯提取物部位能成为一种安全的治疗糖尿病降血糖药物或功能食品。

[0055] 实施例4:

[0056] 片剂:将实施例1所得香茅草乙酸乙酯提取物部位浸膏粉100mg,乳糖90mg,淀粉55mg,硬脂酸镁5mg、乳糖和淀粉混和,用水均匀湿润、把湿润后的混合物过筛并干燥,再过筛,加入硬脂酸镁,然后将混合物压片,每片重250mg,提取物含量为100mg。

[0057] 实施例5:

[0058] 胶囊剂:将实施例1所得香茅草乙酸乙酯提取物部位浸膏粉100mg,乳糖97mg,硬脂酸镁3mg混和,过筛,均匀混合,把得到的混合物装入硬明胶胶囊,每个胶囊重200mg,提取物含量为100mg。

[0059] 实施例5:

[0060] 口服安瓿剂:将实施例1所得香茅草乙酸乙酯提取物部位浸膏粉200mg,加入制备口服液所用常规添加剂及纯净水,在无菌条件下装入安瓿瓶中,定容至10ml,每个安瓿瓶10ml,提取物含量为200mg。

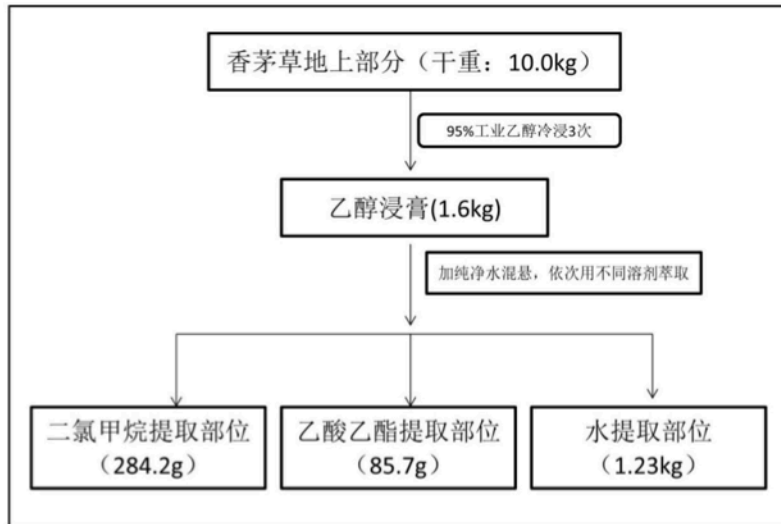


图1

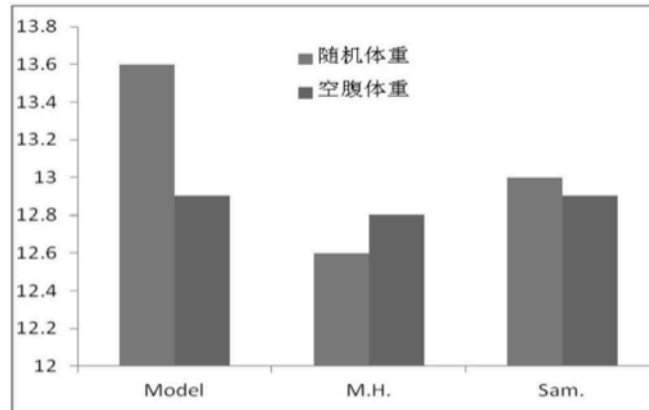


图2

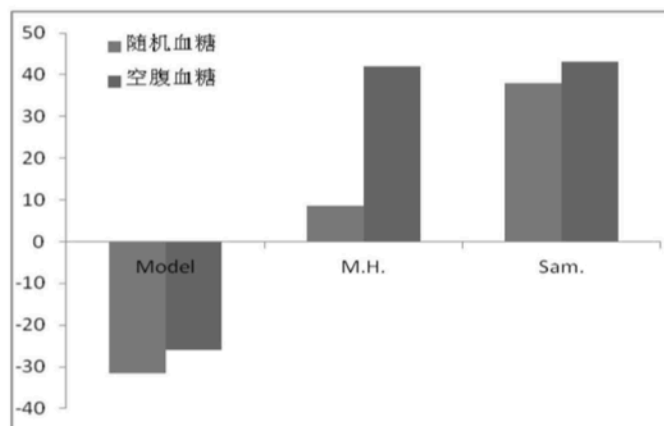


图3