



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105878322 B

(45)授权公告日 2017.10.27

(21)申请号 201610294538.7

A61K 133/00(2006.01)

(22)申请日 2016.05.06

审查员 王楠

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105878322 A

(43)申请公布日 2016.08.24

(73)专利权人 洮南市金塔生物科技有限公司

地址 137000 吉林省白城市洮南市经济开发
发区

(72)发明人 不公告发明人

(74)专利代理机构 吉林长春新纪元专利代理有
限责任公司 22100

代理人 陈宏伟

(51)Int.Cl.

A61K 36/28(2006.01)

A61P 19/06(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种结晶酶解法制备的葵花盘提取物及其
制备方法

(57)摘要

本发明提供一种结晶酶解法制备的葵花盘
提取物及其制备方法,葵花盘为纯天然中药或药
食同源材料,经科学提取制成抗痛风,治疗高尿
酸血症,提高免疫力,降血糖血脂,保肾护肝,消
肿抗炎止痛的功能性保健药食同源保健品,能够
溶解尿酸石,降低血尿酸浓度,消肿抗炎,调整嘌
呤和尿酸代谢,平衡体内酸碱,平衡体内激素的
功效;产品安全、无副作用,具有显著保健功效,
可长期服用,具有很好的市场开发前景。

1. 一种用于治疗痛风疾病的葵花盘提取物,是通过以下方法制备的:

称取新鲜或冷冻去籽的葵花盘,粉碎成80-150目细粉,加5-10质量倍的15-30%乙醇溶液,置于闪式提取器中进行破碎提取,提取时间为100-300s,提取电压为100-200V,然后利用悬浮结晶法低温冷冻浓缩,浓缩液中加入0.003-0.005质量倍的复合蛋白酶酶解3-5h,并用中空纤维膜超滤,滤液冷冻结晶浓缩,加入适量赋形剂,喷雾干燥即得;

制备的葵花盘提取物,包含总黄酮10-20%,小分子肽1-3%,生物碱10-30%。

2. 如权利要求1所述的用于治疗痛风疾病的葵花盘提取物,其特征在于用于提取葵花盘细粉的乙醇溶液浓度为18-20%,低温冷冻温度为-28℃- -40℃。

3. 如权利要求1所述的用于治疗痛风疾病的葵花盘提取物,其特征在于所述的复合蛋白酶为胃蛋白酶和胰蛋白酶按质量比为1:(1.5-3.0)混合的混合物;所述赋形剂选自葡萄糖、半乳糖和/或微晶纤维素。

4. 一种用于治疗痛风疾病的药物组合物,其特征在于包含如权利要求1-3之一所述的用于治疗痛风疾病的葵花盘提取物和任选的药学上可接受的载体。

一种结晶酶解法制备的葵花盘提取物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于中药领域,特别是涉及一种悬浮结晶法和酶解法制备的葵花盘提取物及其制备方法,以及用于制备预防和治疗痛风的药物的用途。

背景技术

[0002] 痛风是嘌呤代谢紊乱所致的一种代谢疾病,血尿酸浓度升高,尿酸钠晶体沉积于下肢骨关节、动脉、脊椎骨间隙组织而引起,表现为关节红、肿、热、痛,关节活动不利,严重者呈关节畸形及功能障碍,且具有反复发作的特点。痛风的存在还可导致冠心病、糖尿病、高血压等疾病的恶化。在治疗方面,西医药治疗痛风,尚无根治的方法,秋水仙碱、非甾体类抗炎药、别嘌呤醇等药物虽可减轻症状,降低血尿酸,但其作用较单一,很难从根本上治疗痛风,且长期服用此类西药对身体造成的伤害远比治疗效果多。而中医药治疗痛风,副作用少,易被患者接受,从而达到长期用药,最终根治疾病的目的。但是,传统的中医药治疗痛风方法还存在以下问题:对痛风病机的认识还缺乏共识,辨证分型较难统一;临床报道较多,因缺乏对照,影响了治疗结果的可靠性;汤剂加减者多,固定剂型少,药物作用机制缺乏动物试验的验证。直到现在,尚未有很好的治疗痛风药物。

[0003] 葵花盘为除葵花子后向日葵盘,中医理论认为:向日葵花盘,药性甘、寒,归肝经,功用清热平肝,止痛止血;主治高血压病、头痛头晕、耳鸣、痛经、子宫出血、疮疹。《河北中草药》曰:“葵花盘清热燥湿,舒气散结。治头痛、头晕、风火牙痛,目赤云翳,颈前腹痛,外用于蜂窝织炎”,具有明显消炎、利尿、降压的作用。

[0004] 在传统应用中,通常是将除葵花子后葵花盘作为牲畜饲料喂养牲畜或作为烧材取暖做饭,没有发挥出其更大的经济效益和医疗作用,造成资源浪费。随着对葵花盘研发的逐渐深入,出现了一些有关葵花盘活性成分提取的文献。

[0005] 胡文彬等(“葵花盘片治疗经典三叉神经痛的初步疗效观察”,安徽医药,2013年,第17卷,第5期,第828-830页)探讨了葵花盘片对71例三叉神经痛患者的临床疗效,结果表明,葵花盘片组和卡马西平片组治疗三叉神经痛的总有效率差异无显著性($P>0.05$),卡马西平片组治疗三叉神经痛的显效率显著高于葵花盘片组($P<0.05$),但葵花盘片组治疗三叉神经痛的不良反应明显低于卡马西平片组($P<0.05$)。

[0006] 中国专利申请CN201210466655.9利用向日葵采收过程中产生的废弃物向日葵花盘,通过粉碎、热水浸泡和果胶酶进行酶解的方法获得了向日葵多糖,并公开了所述的多糖具有调节免疫功能,增强免疫效应的作用。

[0007] 中国专利申请CN201510055248.2提供了一种提取率高、能耗低、操作简便的葵花盘总黄酮的提取方法,是以开花期向日葵花盘为提取原料,利用超临界CO₂萃取方法进行总黄酮的提取分离。通过该方法,总黄酮的提取率可达到1.93%,但是所述文献没有公开葵花盘总黄酮的药理活性和临床应用。

[0008] 我国是向日葵的种植大国,葵花盘的资源丰富。为减少资源浪费,并获得安全、有效的葵花盘活性成分,需要对葵花盘活性成分的提取做更为深入的研究。

发明内容

[0009] 为了克服本技术领域中的资源浪费现状,开发出更为安全、有效的葵花盘活性成分,本发明提供了一种葵花盘提取物,其富含总黄酮、小分子肽和生物碱,具有降低血尿酸,消除痛风产生的疼痛,溶解痛风石,抗炎消肿的功效,对痛风的预防和治疗具有显著的效果,并且毒副作用较少,可长期服用。同时,用来制备本发明葵花盘提取物的方法操作简便、提取效率高、生产成本低,适合工业化大生产。

[0010] 本发明是通过以下的技术方案来实现的。

[0011] 一方面,本发明提供了一种葵花盘提取物,包含总黄酮10-20%,小分子肽1-3%和生物碱10-30%。优选地,葵花盘提取物包含总黄酮16-20%,小分子肽2.4-3%和生物碱18-30%。

[0012] 在本发明的葵花盘提取物中,总黄酮、小分子肽和生物碱均为有效活性成分。其中,葵花盘生物碱可以特异性结合尿酸形成葵花碱尿酸复合物,对痛风进行治疗;能抑制嘌呤合成和嘌呤代谢,减少体内尿酸含量而消除尿酸;同时抑制炎症细胞的趋化和减少炎症因子释放,对于急性发作的痛风关节炎具有独特的抗炎消肿效用。葵花盘里的黄酮是一种很强的抗氧化剂,可有效清除体内的氧自由基,阻止核酸的氧化,起到降低嘌呤含量的作用;可以降低血糖和甘油三酯,降低毛细血管脆性,增加通透性可以减轻肾脏细胞压力,透过更多尿酸。同时可以稳定肾蛋白小管,有利于肾脏代谢尿酸。黄酮还可以抑制炎症生物酶的渗出,用以止痛。小分子肽是将大分子的蛋白质利用特制酶分解成小分子的物质,由2到10个氨基酸残基分子组成,小分子肽可以经过肠道毛细血管直接吸收,转运全身起效,可以控制嘌呤合成的PRPP酰胺转移酶,从而抑制嘌呤的合成抑制嘌呤代谢。小分子肽可以干扰黄嘌呤氧化酶等嘌呤转化为尿酸的酶,从而控制体内尿酸含量。特别是对于遗传性痛风患者,由于基因缺失,缺乏嘌呤代谢的酶,导致尿酸积累,小分子肽可以起到一定的缺失酶的作用。

[0013] 本发明的葵花盘提取物是采用破碎提取器破碎提取法提取、悬浮结晶法低温冷冻浓缩、酶解、超滤、低温冷冻浓缩、干燥等工艺制成的。具体地,本发明的葵花盘提取物由包括以下步骤的方法制备得到:称取新鲜或冷冻去籽的葵花盘,粉碎成80-150目细粉,加5-10质量倍的15-30%乙醇溶液,置于闪式提取器中进行破碎提取,提取时间为100-300s,提取电压为100-200V,然后利用悬浮结晶法低温冷冻浓缩,浓缩液中加入0.003-0.005质量倍的复合蛋白酶酶解3-5h,并用中空纤维膜超滤,滤液冷冻结晶浓缩,加入适量赋形剂,喷雾干燥即得。

[0014] 优选地,用于提取葵花盘细粉的乙醇溶液浓度为18-20%,低温冷冻温度为-28℃--40℃。所述的复合蛋白酶为胃蛋白酶和胰蛋白酶按质量比为1:(1.5-3.0)混合的混合物。所述赋形剂选自例如葡萄糖、半乳糖和/或微晶纤维素。

[0015] 因此,本发明还提供了葵花盘提取物的制备方法,所述方法包括以下步骤:称取新鲜或冷冻去籽的葵花盘,粉碎成80-150目细粉,加5-10质量倍的15-30%乙醇溶液,置于闪式提取器中进行破碎提取,提取时间为100-300s,提取电压为100-200V,然后利用悬浮结晶法低温冷冻浓缩,浓缩液中加入0.003-0.005质量倍的复合蛋白酶酶解3-5h,并用中空纤维膜超滤,滤液冷冻结晶浓缩,加入适量赋形剂,喷雾干燥即得。

[0016] 优选地,在本发明的制备方法中,用于提取葵花盘细粉的乙醇溶液浓度为18-20%,低温冷冻温度为-28℃--40℃。所述的复合蛋白酶为胃蛋白酶和胰蛋白酶按质量比

为1:(1.5-3.0)混合的混合物。所述赋形剂选自例如葡萄糖、半乳糖和/或微晶纤维素。

[0017] 本发明的葵花盘提取物作为活性成分可被广泛应用于药品和/或保健品中。因此,进一步地,本发明提供了一种药物组合物,其包含本发明的葵花盘提取物和任选的药学上可接受的载体。所述的药物组合物可以为片剂、胶囊剂、滴丸剂、颗粒剂、散剂、微丸、溶液剂、糖浆剂、乳剂或注射剂。例如,对于口服制剂,用法用量为口服1-2次/日,10-20g /次。适应症为痛风、嘌呤代谢紊乱、尿酸高等疾病的预防和治疗。

[0018] 本发明的葵花盘提取物可通过多方面作用发挥其疗效,对动物急性痛风性关节炎模型有抗炎作用,对化学或热刺激的疼痛有镇痛作用,可降低正常及高尿酸血症动物的尿酸,对动物的急、亚急性炎症早、后期均有抗炎作用。其治疗的机理是,通过小分子肽调节体内嘌呤和尿酸代谢途径,阻断尿酸的代谢酶,同时黄酮类化合物具有镇痛消炎,增加肾小管代谢尿酸的作用,葵花盘生物碱可以中和尿酸,消除尿酸,起到降低体内尿酸作用。经过口服,尿酸病人2小时内95%病人可以达到降尿酸作用,连续服用本发明1个月,75%病人尿酸水平恢复正常,无毒副作用。

[0019] 因此,本发明还提供了所述的葵花盘提取物或包含该葵花盘提取物的药物组合物在制备预防和治疗痛风的药物中的用途。

[0020] 本发明与现有技术相比,积极效果在于:

[0021] 葵花盘为纯天然中药或药食同源的材料,经科学提取后具有预防或治疗痛风,高尿酸血症,以及消肿抗炎止痛的功能,并且可进一步制备成药物或保健品;

[0022] 本发明的产品安全、无副作用,具有显著功效,可长期服用,具有很好的市场开发前景;

[0023] 本发明葵花盘提取物的制备方法操作简便、提取效率高、生产成本低,适合工业化大生产。

[0024] 具体实施方式:

[0025] 为使本发明更加容易理解,下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。这些实施例只用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。

[0026] 实施例1:

[0027] 葵花盘提取物的制备方法:称取新鲜或冷冻去籽葵花盘10kg,将葵花盘粉碎成80目细粉,加5质量倍的20%乙醇溶液,置于闪式破碎提取器(菏泽杰普仪器有限公司)中破碎提取,提取时间100s,提取电压150V,然后利用悬浮结晶法低温冷冻浓缩,低温冷冻温度为一28℃,浓缩液中加入0.004质量倍的复合蛋白酶(胃蛋白酶和胰蛋白酶以质量比1:2混合)酶解解3h,并用中空纤维膜超滤,滤液冷冻结晶浓缩,加入葡萄糖0.5kg,喷雾干燥,分装,包装。

[0028] 实施例2:

[0029] 葵花盘提取物的制备方法:称取新鲜或冷冻去籽葵花盘20kg,将葵花盘粉碎成100目细粉,加8质量倍的20%乙醇溶液,置于闪式破碎提取器(菏泽杰普仪器有限公司)破碎提取,提取时间200s,提取电压100V,然后利用悬浮结晶法低温冷冻浓缩,低温冷冻温度为一40℃,浓缩液加入0.003质量倍的复合蛋白酶(胃蛋白酶和胰蛋白酶以质量比1:1.5混合)酶解解4h,并用中空纤维膜超滤,滤液冷冻结晶浓缩,加入半乳糖1kg,喷雾干燥,分装,包装。

[0030] 实施例3

[0031] 葵花盘提取物的制备方法:称取新鲜或冷冻去籽葵花盘30kg,将葵花盘粉碎成150目细粉,加10质量倍的20%乙醇溶液,置于闪式破碎提取器(菏泽杰普仪器有限公司)破碎提取,提取时间300s,提取电压200V,然后利悬浮结晶法低温冷冻浓缩,低温冷冻温度为-30℃,浓缩液加入0.0048质量倍的复合蛋白酶(胃蛋白酶和胰蛋白酶以质量比1:2.8混合)酶解解,酶解5h,并用中空纤维膜超滤,滤液冷冻结晶浓缩,加入微晶纤维素0.5kg,喷雾干燥,分装,包装。

[0032] 实施例4

[0033] 片剂的制备:称取实施例1的葵花盘提取物100kg,加入淀粉25kg、微晶纤维素10kg和麦芽糊精6kg,混合均匀,用40%乙醇溶液制软材,过25目筛制粒,干燥,过20目筛整粒,加入适量硬脂酸镁,混合均匀,压片,即得。

[0034] 实施例5

[0035] 胶囊剂的制备:称取实施例2的葵花盘提取物150kg,加入微晶纤维素30kg和乳糖12kg,混合均匀,用2.0%羟丙甲基纤维素溶液制软材,过40目筛制粒,干燥,过30目筛整粒,加入适量胶体二氧化硅,混合均匀,填充至胶囊壳内,即得。

[0036] 实施例6

[0037] 薄膜包衣片的制备:称取实施例1的葵花盘提取物100kg,加入淀粉25kg、微晶纤维素12kg和羧甲基淀粉钠8kg,混合均匀,用30%乙醇溶液制软材,过20目筛制粒,干燥,过20目筛整粒,加入适量硬脂酸镁,混合均匀,压片,即得片芯;将羟丙基甲基纤维素2.5kg溶解于适量乙醇溶液中,并对片芯喷雾包衣,干燥,即得薄膜包衣片。

[0038] 试验例1:药理性实验

[0039] 一、试验材料

[0040] 1.动物:昆明种小鼠,体重(20g±2g),由吉林大学临床动物研究中心提供。

[0041] 2.给药样品:空白对照组(蒸馏水),本发明组(实施例1、2、3制备得到的葵花盘提取物)。

[0042] 二、试验方法

[0043] 1.镇痛实验:取雄性小鼠40只,随机分为空白对照组,本发明组(实施例1、实施例2、实施例3)。按100mg kg⁻¹给药,1次一天,空白对照组给予等量蒸馏水。连续给药5天,于末次给药1小时后,每组各取10只小鼠腹腔注射0.7%醋酸0.1ml·g⁻¹,记录各组小鼠20min内扭体次数。结果见表1。

[0044] 表1. 对醋酸所致小鼠扭体反应的影响

剂量组	剂量 mg kg ⁻¹	动物数	扭体次数	抑制率 (%)
空白对照	0	10	26.58±4.63	-
实施例 1	100	10	13.45±5.10	73.12
实施例 2	100	10	12.93±3.67	74.95
实施例 3	100	10	13.76±8.72	71.75

[0046] 与空白对照组比较,*P<0.05,**P<0.01

[0047] 2. 小鼠足肿胀实验:取雄性小鼠40只,随机分为空白对照组,本发明组(实施例1、实施例2、实施例3)。按 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药,1次一天,空白对照组给予等量蒸馏水。连续给药5天,于末次给药1小时后,每鼠左后趾皮下注射5%MSU0.08ml,5h后颈椎脱臼处死小鼠,沿裸关节上0.5cm处剪下左右后足,称重,以左右后足质量之差作为炎症肿胀度。结果见表2。

[0048] 表2 对MSU所致小鼠足肿胀的影响

[0049]

剂量组	剂量 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	动物数	足肿胀值	抑制率 (%)
空白对照	-	10	0.1396 ± 0.0152	-
实施例 1	100	10	0.1185 ± 0.0107	62
实施例 2	100	10	0.1137 ± 0.0113	60
实施例 3	100	10	0.1236 ± 0.0231	58

[0050] 3. 小鼠血尿酸(UA)、黄嘌呤氧化酶(XOD)及尿素氮(BUN):取雄性小鼠100只,随机分为正常组、模型组、本发明组(实施例1、实施例2、实施例3),每组20只。除正常组外,每组均以酵母 $30\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,连续一周。从第3天开始本发明组灌胃,按 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药,连续给药5d。小鼠摘除眼球法取血,分离血清,在波长690nm、530nm和640nm处测定UA、XOD和BUN值。结果见表3。

[0051] 表3.对酵母膏致高尿酸血症小鼠血清UA、XOD及BUN的影响

[0052]

组别	剂量 g/kg	UA $\mu\text{mol}/\text{L}$	XOD U/L	BUN Mmol/L
正常对照	-	105.35 ± 31.58	15.56 ± 5.53	6.29 ± 3.43
模型组	-	149.98 ± 47.94	27.58 ± 7.23	10.88 ± 6.69
实施例 1	100	74.65 ± 22.19	14.87 ± 6.93	4.32 ± 5.01
实施例 2	100	72.79 ± 32.68	15.67 ± 6.81	5.86 ± 4.64
实施例 3	100	77.57 ± 35.99	14.96 ± 4.69	5.55 ± 4.78

[0053] 与正常组比较* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较* $P<0.05$,** $P<0.01$ $n=20$

[0054] 三、试验结果

[0055] 痛风是体内嘌呤代谢障碍、尿酸过多或者肾脏排泄尿酸减少,导致尿酸盐在组织沉积所致疾病。尿酸钠晶体会引起足部,关节,软组织炎症和疼痛。由表1-3的试验结果可以看出,本发明的葵花盘提取物能明显减轻化学物质产生的疼痛和肿胀,表明具有镇痛消肿作用。另外,本发明的葵花盘提取物还能显著抑制黄嘌呤氧化酶活性,减少尿酸的生成,明显降低血中尿素氮,改善肾功能。