(19) 中华人民共和国国家知识产权局





(12) 发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101693034 A (43)申请公布日 2010.04.14

- (21)申请号 200910070846.1
- (22)申请日 2009.10.16
- (71) 申请人 天津中医药大学 地址 300193 天津市南开区玉泉路 88 号
- (72) 发明人 张祎 王涛 韩立峰 刘二伟 葛丹丹 高秀梅
- (74)专利代理机构 天津市三利专利商标代理有限公司 12107

代理人 闫俊芬

(51) Int. CI.

A61K 31/7034(2006.01) A61K 36/22(2006.01) A61P 3/10(2006.01)

A61K 127/00 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 8 页

(54) 发明名称

芒果叶中裂环芒果苷 A 及含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物的新用途

(57) 摘要

本发明提供了芒果叶中裂环芒果苷 A 及含有 裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物在抑制 α - 葡萄糖苷酶活性方面的用途,进一步表明其具有在制备用于治疗糖尿病的药物中的用途,实现上述用于治疗糖尿病的用途的组合物,包含治疗有效量的裂环芒果苷 A 和含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物的一种或任意组合以及任选的药学可接受的赋形剂。

1. 裂环芒果苷 A 在制备预防和治疗糖尿病的药物中的用途,所述裂环芒果苷 A 的结构式为:

- 2. 实现权利要求 1 所述用途的药物组合物,其特征在于:包含治疗有效量的裂环芒果苷 A 以及任选的药学可接受的赋形剂。
- 3. 含有上述裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物在制备预防和治疗糖尿病的药物中的用途,所述芒果叶提取物可用下述方法得到:将芒果叶用含水乙醇溶液提取;使所得醇提取物的水溶液用乙酸乙酯萃取,弃去有机层,将残余物浓缩,干燥,得芒果叶提取物;或将残余物的水溶液用大孔吸附树脂吸附后取乙醇洗脱部分烘干得芒果叶提取物。
- 4. 根据权利要求 3 所述的用途, 其特征在于: 裂环芒果苷 A 占所述芒果叶提取物总重量的 2-90% (w/w)。
- 5. 根据权利要求 3 所述的用途, 其特征在于: 裂环芒果苷 A 占所述芒果叶提取物总重量的 20-80% (w/w)。
- 6. 根据权利要求 3 所述的用途, 其特征在于: 裂环芒果苷 A 占所述芒果叶提取物总重量的 30-60% (w/w)。
- 7. 实现权利要求 3 所述用途的药物组合物,其特征在于:包含治疗有效量的含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物以及任选的药学可接受的赋形剂。

芒果叶中裂环芒果苷 A 及含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物的新用途

技术领域

[0001] 本发明涉及芒果叶中裂环芒果苷 A 及含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物的新用途。

背景技术

[0002] 芒果叶 (Mango Leaf) 为漆树科植物芒果 Mangifera indica L. 的叶。中医认为芒果甘酸、平、无毒。入肝、脾经。能益胃生津、止渴、止呕、利尿,适用于口渴咽干、胃气虚弱、眩晕呕逆。《食性本草》记载芒果"主妇人经脉不通";《本草纲目拾遗》指出芒果"凡渡海者,食之不呕浪";"能益胃气,故能止呕晕"。芒果叶的应用始见于《岭南采药录》。《陆川本草》、《南宁市药物志》(1959年,第一辑)和《全国中草药汇编》对芒果叶也有相应记载,但均附录于芒果项下。而单独将芒果叶作为中药记载则始于1977年的《中药大辞典》。据《广西中药材标准》记载:性味酸、甘、凉,平,具有行气疏滞,祛痧积的功能,用于热滞腹痛,气胀,小儿疳积,消渴等证。在我国,芒果分布于台湾、广东、广西、海南、福建、云南、以及四川等省及自治区,药材资源非常丰富。

[0003] 芒果叶的化学成分包括:抗坏血酸、鞣质、芒果苷、及鞣花酸、儿茶酚、莽草酸、奎尼酸、山奈醇、侧柏烯等多种成分。以往的药理学研究表明,芒果叶提取物具有平喘止咳祛痰作用。1973年广西中医学院将芒果叶开发成为芒果止咳片;1998年被列为国家中药保护品种;同年又被列为国家基本药物。芒果叶中的代表成分芒果苷(mangiferin)具有抗脂质过氧化、免疫、抗炎、镇痛、保肝利胆、抗病毒、抗肿瘤、中枢神经系统兴奋等作用。

[0004] α-葡萄糖苷酶 (α-glucosidase) 存在于人体小肠刷状缘上,参与人体糖的代谢,对维持人体正常生理功能起着重要作用。α-葡萄糖苷酶通过水解α-1,4糖苷键从淀粉和多糖的非还原端切下葡萄糖,人体对淀粉、糊精、蔗糖等碳水化合物的利用吸收依赖于小肠刷状缘上该酶的活性,α-葡萄糖苷酶抑制剂是临床上治疗糖尿病的一种药物,目前主要来源于微生物代谢产物,如阿卡波糖(acarbose,商品名:拜糖平)、伏格列波糖(voglibose,商品名:倍欣)、米格列醇(miglitol)等,临床证明阿卡波糖、伏格列波糖等治疗 II 型糖尿病有明显的降低餐后高血糖效果,是较好的治疗糖尿病药物,可见α-葡萄糖苷酶抑制剂能够有效可逆性竞争抑制小肠壁刷状缘上α-葡萄糖苷酶的活性,从而明显延缓和阻碍碳水化合物的降解和在消化道的吸收速度,延迟来自双糖、低聚糖及多糖的葡萄糖吸收,有效推迟并减轻糖尿病人餐后血糖升高的时间及进程,有助于控制2型糖尿病的血糖上升。因此从天然产物中寻找安全性高的α-葡萄糖苷酶抑制剂来降低血糖是现阶段一个新的研究方向。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题在于提供芒果叶中裂环芒果苷 A 的新用途。

[0006] 本发明所要解决的另一技术问题在于提供含有上述裂环芒果苷 A 的芒果叶提取

物的新用途。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明的技术方案是:

[0008] 本发明通过系统的植物化学分离得到一系列化合物,包含化合物裂环芒果苷 A,以及包含裂环芒果苷 A的不同层次的提取物和组分,通过 α - 葡萄糖苷酶活性筛选实验表明, 芒果叶中裂环芒果苷 A 能很好的抑制 α - 葡萄糖苷酶活性,提示该化合物可以用于 2- 型糖尿病的治疗,化合物结构确证表明,裂环芒果苷 A 的化学结构式为:

[0009]

[0010] 本发明提供了裂环芒果苷 A 在制备预防和治疗糖尿病的药物中的用途。

[0011] 优选的,上述裂环芒果苷 A 可用下述方法得到:将芒果叶用含水乙醇溶液提取;使所得醇提取物的水溶液用乙酸乙酯萃取,弃有机层,将残余物浓缩,干燥,得芒果叶提取物;或将残余物的水溶液用大孔吸附树脂吸附后取95%乙醇洗脱部分烘干得芒果叶提取物;将95%洗脱所得的芒果叶提取物进一步用硅胶层析富集裂环芒果苷 A 部分的提取物;或者进一步用反相 ODS 柱层析富集裂环芒果苷 A 成分;或者进一步用聚酰胺柱层析;或者进一步用制备液相可制得裂环芒果苷 A 单体成分。

[0012] 本发明还提供了实现上述用途的药物组合物,包含治疗有效量的裂环芒果苷 A 以及任选的药学可接受的赋形剂。

[0013] 上述药学可接受的赋形剂可以是药物制剂领域中任何常规的赋形剂,特定赋形剂的选择将取决于用于治疗特定患者的给药方式或疾病类型和状态,用于特定给药模式的合适药物组合物的制备方法完全在药物领域技术人员的知识范围内。例如,可以作为药学可接受的赋形剂包括药学领域常规的稀释剂、载体、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂等。

[0014] 上述组合物可以制成片剂、粉剂、颗粒剂、胶囊、口服液、注射乳剂、注射用无菌粉针等多种形式。上述各种剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。

[0015] 本发明提供了含有上述裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物在制备预防和治疗糖尿病的药物中的用途,所述芒果叶提取物可用下述方法得到:将芒果叶用含水乙醇溶液提取;使所得醇提取物用乙酸乙酯萃取,弃有机层,将残余物浓缩,干燥,得芒果叶提取物;或将残余物用大孔吸附树脂吸附后取乙醇洗脱部分烘干得芒果叶提取物。

[0016] 优选的,所述裂环芒果苷 A 占所述芒果叶提取物总重量的 2-90% (w/w,即重量百分数,下同),优选 20-80% (w/w),更优选 30-60% (w/w)。

[0017] 本发明提供了实现上述用途的药物组合物,包含治疗有效量的上述含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物以及任选的药学可接受的赋形剂。

[0018] 上述药学可接受的赋形剂可以是药物制剂领域中任何常规的赋形剂,特定赋形剂的选择将取决于用于治疗特定患者的给药方式或疾病类型和状态,用于特定给药模式的合

适药物组合物的制备方法完全在药物领域技术人员的知识范围内。例如,可以作为药学可接受的赋形剂包括药学领域常规的稀释剂、载体、填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂等。

[0019] 上述组合物可以制成片剂、粉剂、颗粒剂、胶囊、口服液、注射乳剂、注射用无菌粉针等多种形式。上述各种剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。

[0020] 本发明的有益效果是:

[0021] 芒果叶中裂环芒果苷 A 具有很强的抑制 α - 葡萄糖苷酶活性的作用,并且含有该裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物也显现出强的抑制 α - 葡萄糖苷酶活性的作用,从而有望用于制备治疗糖尿病的药物,进而达到对于糖尿病的治疗目的。

具体实施方式

[0022] 为了使本领域的技术人员更好的理解本发明的技术方案,下面结合具体实施方式 对本发明所述技术方案作进一步的详细说明。

[0023] 实施例 1

[0024] 活性成分单体的制备

[0025] 芒果叶 5kg 用 9 倍量的乙醇回流提取 2 次,每次 3 小时,合并滤液,回收溶剂;用真空干燥箱 50℃干燥,得浸膏 1.163kg。

[0026] 取上述浸膏 600g,加 5L 蒸馏水溶解,用乙酸乙酯 5L 萃取三次,分别得到乙酸乙酯 层和水层;水层部分含大量沉淀,取水层混悬液体积的 4/5,减压浓缩至 2L,离心,过滤,上清液经过大孔吸附树脂处理 $(H_0O \rightarrow 95\% E,OH)$,得到 95% 乙醇洗脱物 84g。

[0028] 实施例 2

[0029] 活性成分的结构确证

[0030] 对实施例 1 获得的化合物(即裂环芒果苷 A 进行了结构确认(委托天津药明康德新药开发有限公司分析测试中心检测,400MHz 核磁),分析结果显示这些化合物的结构与文献报道的结构一致,具体如下:

[0031] 裂环芒果苷 A, 无色针晶, 核磁数据如下:。

[0032] 1H-NMR (DMSO-d6,400MHz) :7. 16 (1H, d, J = 2.0Hz,2' -H),7. 06 (1H, dd, J = 2.0, 8.0Hz,5' -H),6. 74 (1H, d, J = 8.0Hz,6' -H),5. 95 (1H, s,5-H),4. 61 (1H, d, J = 9.6Hz, 1" -H),3. 63 (1H, br. d, ca. 12Hz,6" -H),3. 55 (1H, dd, J = 9.6,9.6Hz,2" -H),3. 51 (1H, dd, J = 3.2,11.6Hz,6" -H),3. 22 (1H, m, overlapped,3" -H),3. 22 (1H, m, overlapped,

4'' -H), 3. 22 (1H, m, overlapped, 6'' -H, 5'' -H).

[0034] 由核磁数据可知结构式为:

[0035]

[0036] 实施例3

[0037] 本发明所述化合物降血糖作用实验研究

[0038] I α - 葡萄糖苷酶抑制活性研究方法——取 200gWistar 雄性大鼠,断头处死后摘除空肠,刮下刷子缘绒毛膜,混合于 0.1M 马来酸缓冲液 (pH6.0) 中,混合液作为 α - 葡萄糖苷酶粗酶使用;在 74mM 蔗糖基质溶液 100uL 中加入溶解于 2.5% DMSO 样品溶液 50uL,加入大鼠小肠 α - 葡萄糖苷酶溶液 50uL,37 度反应 30 分钟后,加入 800uL 水,放入沸水浴中加热 2 分钟灭活;用葡萄糖试剂盒测定葡萄糖生成量。

[0039] 样品组溶液配制:

[0040] 将 0.1M 马来酸水溶液与 0.1M 马来酸钠水溶液混合,调至 pH6.0,为 0.1M 马来酸缓冲液;样品溶解于 DMS0 溶液中,用 0.1M 马来酸缓冲液稀释 10 倍,作为样品溶液使用。

[0041] 其中,样品组为:按照以上实验方法添加样品实验组(样品为裂环芒果苷 A、含有裂环芒果苷 A的提取物);对照组为:按照以上实验方法添加 2.5% DMSO 实验组;空白组为:与样品组使用试剂种类与用量相同,加入大鼠小肠 α-葡萄糖苷酶溶液 50uL 后马上加入 800uL 水,放入沸水浴中加热 2 分钟灭活。

[0042] 抑制率 (%) = (A-B)/(A-C)*100

[0043] 其中 A 为对照组吸收度, B 为样品组吸收度; C 为空白组吸收度。

[0044] 实验结果参加表一、表二。

[0045] II 大鼠糖耐量实验:

[0046] 样品组:取20-24小时绝食wistar雄性大鼠,体重约为150g;将样品混悬于5%阿拉伯胶中,制成混悬溶液;口服给药后30分钟给与20%蔗糖(5m1/kg),0.5、1、2小时后眼眶取血,血液样品3000rpm离心4分钟,得到血清样品,用葡萄糖试剂盒测定血清中葡萄糖含量。

[0047] 样品组溶液配制:称取 5g 阿拉伯胶,与 1g 样品(样品为裂环芒果苷 A、含有裂环芒果苷 A 的提取物)混合,边研磨边少量加入蒸馏水,配制成 100ml 水溶液,研磨均匀后的 澄明溶液作为样品液使用,按照给药量用 5%阿拉伯胶水溶液稀释成供试溶液。

[0048] 空白组:先口服给予 5m1/kg 蒸馏水,30 分钟后给予 5m1/kg 蒸馏水,再测定血糖;

[0049] 对照组:先口服给予 5m1/kg5%阿拉伯胶溶液,30 分钟后给予 5m1/kg 20%蔗糖溶液,再测定血糖。

[0050] 数据采用 SPSS11.0 进行统计学处理, 计量资料以均数 ± 标准差(±s)表示, 进行单因素方差分析进行组间比较, 两两对比。

[0051] 实验结果参加表三、表四。

[0052] 表一 裂环芒果苷 A 对小肠 α - 葡萄糖苷酶的抑制率

[0053]

浓度 (uM)	空白组水解出葡萄糖 浓度 (mg/d1)	样品组水解出葡萄糖浓度 (mg/dl)	抑制率
0	0. 76	6. 11	0.0%
50	0. 84	6. 02	3. 2%
100	0. 88	5. 87	6. 7%
200	0. 65	4. 13	35.0%
400	0. 72	2. 66	63.7%

[0054] 表二 芒果叶提取物对小肠 α-葡萄糖苷酶的抑制率

[0055]

浓度	空白组水解出葡萄糖	样品组水解出葡萄	抑制率
(ug/ml)	浓度 (mg/d1)	糖浓度 (mg/dl)	
0	0. 89	5. 67	0.0%
50	0. 91	5. 72	-0.7%
100	0. 76	5. 13	8.6%
	0. =0		00 =04
200	0. 59	4. 25	23. 5%
400	0. 85	3. 11	52. 7%

[0056] 表三 裂环芒果苷 A 对糖耐量大鼠血糖的影响

[0057]

给药量	0.5 小时血糖浓度	1 小时血糖浓度	2 小时血糖浓度
(mg/kg)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
空白组	75. 6 ± 3 . 7	78.9 ± 6.4	80.4 ± 5.9
模型对照组	161. 7 ± 7 . 1	130. 0 ± 3.9	121.9 ± 2.4
5(样品组)	150. 5 ± 7.4	129. 3 ± 5.8	115. 7 ± 3.2
15(样品组)	125. 4±5. 8**	125. 6 ± 13.4	101. 5 ± 5.4

[0058] **,与对照组相比,P < 0.01

[0059] 表四 芒果叶提取物对糖耐量大鼠血糖的影响

[0060]

给药量	0.5 小时血糖浓度	1 小时血糖浓度	2 小时血糖浓度
(mg/kg)	(mg/d1)	(mg/d1)	(mg/d1)
空白组	101.6 ± 6.4	87. 2±5. 5	71. 1 ± 1.6
模型对照组	165. 2 ± 5 . 4	120. 3 ± 3 . 4	105.9 ± 2.9
250(样品组)	148. $3 \pm 6. 2$	128. 1 ± 3 . 3	103.8 ± 3.7
500(样品组)	138.1 \pm 6.5mg/d1**	113.7 ± 7.4	98. 3 ± 5.7

[0061] **,与对照组相比,P < 0.01

[0062] 实验结果表明:

[0063] α - 葡萄糖苷酶抑制活性研究中,在 400 μ 浓度下,裂环芒果苷 A 对 α - 葡萄糖苷酶的抑制率为 63.7%,从芒果叶中分离得到的其他化合物抑制率低于 30%。另外,在同样的活性测试系统中,400 μ 世果叶提取物对 α - 葡萄糖苷酶的抑制率为 52.7%。

[0064] 大鼠糖耐量实验中,15mg/kg裂环芒果苷A给药组0.5小时血糖值为125.4±5.8mg/dl,模型对照组为161.7±7.1mg/dl,组间统计学分析结果表明,15mg/kg裂环芒果苷A能有效的提高大鼠的糖耐量。另外,同样活性测试系统下,500mg/kg芒果叶提取物0.5小时血糖值为138.1±6.5mg/dl,与模型组比较也有效的提高大鼠的糖耐量。

[0065] 以上活性测试结果说明裂环芒果苷 A 为芒果叶降低血糖的有效成分。

[0066] 实施例 4:

[0067] 片剂:裂环芒果苷 A 10mg [0068] 乳糖 187mg [0069] 玉米淀粉 50mg [0070] 硬脂酸镁 3mg

[0071] 制备方法:按上述比例将裂环芒果苷 A、乳糖和淀粉混和,过 200 目筛,用水均匀润湿,把润湿后的混合物干燥再过筛,加入硬脂酸镁,然后将混合物压片,每片重 250mg,活性

成分含量为 10mg。

[0072] 实施例 5:

[0073] 胶囊剂:裂环芒果苷 A 20mg

[0074] 半乳糖 188mg

[0075] 硬脂酸镁 2mg

[0076] 制备方法:按上述比例将裂环芒果苷 A 与半乳糖均匀混合,过 200 目筛,把得到的混合物装入 2 号胶囊,即得。

[0077] 实施例 6:

[0078] 口服液:芒果叶提取物 2g

[0079] (裂环芒果苷 A 占所述芒果叶提取物总重量的 30% (w/w))

[0080] 将配方量芒果叶提取物加入 400 毫升蒸馏水中溶解,滤过,加入适量单糖浆、苯甲酸钠,再加蒸馏水至 1000 毫升,冷藏,滤过,封装于 10 毫升安瓿中,100℃灭菌 30 分钟,即得。

[0081] 实施例7:

[0082] 颗粒剂:芒果叶提取物 1000mg

[0083] (裂环芒果苷 A 占所述芒果叶提取物总重量的 60% (w/w))

[0084] 将配方量芒果叶提取物加入 600g 蔗糖中,混合均匀,过 200 目筛,80% 乙醇软材,制粒,干燥,6g/ 袋。

[0085] 有益效果分析:

[0086] 本发明中所述 α-葡萄糖苷酶 (α-glucosidase) 存在于人体小肠刷状缘上,参与人体糖的代谢,对维持人体正常生理功能起着重要作用。α-葡萄糖苷酶通过水解 α-1,4糖苷键从淀粉和多糖的非还原端切下葡萄糖,人体对淀粉、糊精、蔗糖等碳水化合物的利用吸收依赖于小肠刷状缘上该酶的活性,α-葡萄糖苷酶抑制剂是临床上治疗糖尿病的一种药物,治疗 II 型糖尿病有明显的降低餐后高血糖效果,是较好的治疗糖尿病药物;α-葡萄糖苷酶抑制剂可逆性竞争抑制小肠壁刷状缘上 α-葡萄糖苷酶的活性,从而明显延缓和阻碍碳水化合物的降解和在消化道的吸收速度,延迟来自双糖、低聚糖及多糖的葡萄糖吸收,有效推迟并减轻糖尿病人餐后血糖升高的时间及进程,有助于控制 2 型糖尿病的血糖上升。

[0087] α-糖苷酶抑制剂主要适用于以餐后血糖升高为主的2型糖尿病患者,尤其是肥胖者及老年人,对于空腹、餐后血糖均升高的患者,可与其他口服降糖药或胰岛素合用;并且能降低糖耐量低减患者向糖尿病转化的风险,故可用于对糖耐量低减患者的干预治疗;2型糖尿病患者服用磺脲类或双胍类降糖药效果不佳,尤其是餐后血糖控制不理想,可以加用α-糖苷酶抑制剂;用于单纯饮食治疗血糖得不到满意控制的糖尿病患者,特别是肥胖者更为适宜;对于1型糖尿病患者,α-糖苷酶抑制剂可作为胰岛素的辅助治疗药物。

[0088] α-糖苷酶抑制剂几乎不被肠道吸收入血,对肝、肾功能影响甚微,几乎没有全身副作用,对碳水化合物的消化和吸收只是延缓而不是完全阻断,最终对碳水化合物的吸收总量不会减少,因此不会导致热量丢失;不抑制蛋白质和脂肪的吸收,故通常不会引起营养物质的吸收障碍。

[0089] 本发明通过对从芒果叶中分离得到的裂环芒果苷 A 进行的体外 a - 糖苷酶抑制活

性以及体内糖耐量上升活性的研究,发现裂环芒果苷 A 能有效的抑制二糖在肠内分解,从而提高实验动物的糖耐量,从而确证裂环芒果苷 A 以及含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物为抑制血糖上升的有效成分。

[0090] 经上述实验研究表明,本发明通过对芒果叶化学成分进行系统分离,发现裂环芒果苷 A (化学名:Maclurin-3-C- β -D-glucoside) 具有强的抑制 α -葡萄糖苷酶活性的作用,并且包含裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物也具有抑制 α -葡萄糖苷酶活性的作用。因此裂环芒果苷 A 以及包含裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物可以用于制备治疗糖尿病的药物。

[0091] 上述参照具体实施方式对该芒果叶中裂环芒果苷 A 及含有裂环芒果苷 A 的芒果叶提取物的新用途进行的详细描述,是说明性的而不是限定性的,可按照所限定范围列举出若干个实施例,因此在不脱离本发明总体构思下的变化和修改,应属本发明的保护范围之内。