



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105560262 A

(43) 申请公布日 2016. 05. 11

(21) 申请号 201610003277. 9

(22) 申请日 2016. 01. 04

(71) 申请人 中国科学院昆明植物研究所  
地址 650201 云南省昆明市蓝黑路 132 号  
申请人 北京维亿阳光日用品销售有限公司

(72) 发明人 陈纪军 杨通华 黄晓燕 马云保  
张雪梅 沈勇 耿长安 卢承杰

(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 谢嘉

(51) Int. Cl.

A61K 31/7048(2006. 01)

C07H 17/07(2006. 01)

C07H 1/08(2006. 01)

A61K 36/23(2006. 01)

A61P 19/06(2006. 01)

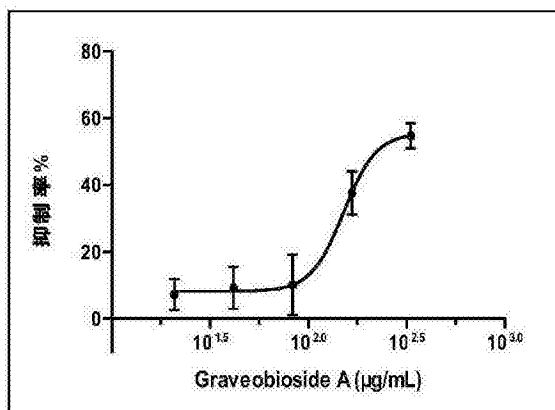
权利要求书2页 说明书9页 附图1页

## (54) 发明名称

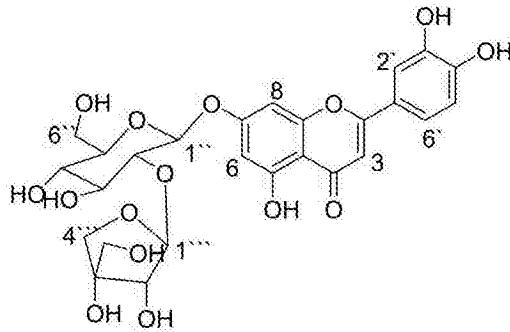
Graveobioside A 在制备抗高尿酸血症和抗痛风的药物或保健食品中的应用

## (57) 摘要

本发明涉及一种 Graveobioside A 在制备抗高尿酸血症和抗痛风中的药物或保健食品中的应用。本发明还提供一种治疗高尿酸血症和抗痛风的药物或保健食品,以 Graveobioside A 为活性成分,配入适量医药上的载体或赋形剂制成的制剂。本发明的 Graveobioside A 可显著降低氧嗪酸钾盐致高尿酸血症模型小鼠的血清尿酸,不同程度降低黄嘌呤氧化酶活性,对小鼠关节炎有明显抑制作用。对高尿酸血症或痛风具有防治作用,可应用于制备抗高尿酸血症或抗痛风的药物或保健食品。



1. 如下结构式所示的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风的药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的药物是每人每天服用剂量以20mg~800mg的Graveobioside A为活性成分并与赋形剂组成的药物制剂,



Graveobioside A

2. 根据权利要求1所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的药物制剂中Graveobioside A的含量占药物制剂质量的0.1~99%,其余为药物学和药剂学上可接受的,对人和动物无毒的药用辅料或载体。

3. 根据权利要求1所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的药物制剂中Graveobioside A的含量占药物制剂质量的0.5~90%,其余为药物学和药剂学上可接受的,对人和动物无毒的药用辅料或载体。

4. 根据权利要求1所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的应用是Graveobioside A通过降低血清的黄嘌呤氧化酶活性,降低高尿酸血症的血清尿酸水平,从而达到抗高尿酸血症的作用。

5. 根据权利要求1所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的应用是Graveobioside A通过抑制对角叉菜胶所致足肿胀,从而达到预防痛风性关节炎足肿胀的作用。

6. 根据权利要求1所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的应用是Graveobioside A通过明显抑制尿酸所致足肿胀,从而达到预防痛风性关节炎足肿胀的作用。

7. 根据权利要求1所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其特征在于所述的应用是Graveobioside A对黄嘌呤氧化酶具有抑制作用并呈剂量依赖关系,从而达到降尿酸的作用,Graveobioside A是黄嘌呤氧化酶的竞争性抑制剂。

8. 抗高尿酸血症的药物组合物,含有Graveobioside A化合物及可药用载体或赋形剂。

9. 抗痛风的药物组合物,含有Graveobioside A化合物及可药用载体或赋形剂。

10. Graveobioside A的制备方法,取芹菜干燥种子,以8~15倍量30~70%V/V乙醇渗漉提取或加热提取2~4次,每次0.5~2小时,提取液减压浓缩至近无乙醇,于浓缩液用1~3倍量乙酸乙酯萃取1~3次,分出乙酸乙酯并回收乙酸乙酯,水层过D-101大孔吸附树脂,先用水洗脱,再用50%乙醇洗脱,收集50%乙醇洗脱液,浓缩,浓缩液上硅胶柱色谱,用90:10-0:100的氯仿:甲醇梯度洗脱,分段收集洗脱液,用薄层色谱跟踪检查,合并Graveobioside A的流份,浓缩,将浓缩液过Sephadex LH-20凝胶色谱进行纯化,用甲醇洗

脱,收集洗脱液,减压浓缩干燥,得Graveobioside A。

## Graveobioside A在制备抗高尿酸血症和抗痛风的药物或保健食品中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于天然药物化学和医药技术领域,具体地说,涉及一种Graveobioside A在制备抗高尿酸血症和抗痛风的药物中的应用。

### 背景技术

[0002] 痛风是细小针尖状的尿酸盐的慢性沉积所致的一种疾病,痛风的生化标志是高尿酸血症。其临床表现为高尿酸盐结晶而引起的痛风性关节炎和关节畸形,周身局部出现红、肿、热、痛等症状,痛风一般分为无症状期、急性关节炎期、间歇期及慢性关节炎期,痛风在早期阶段往往仅表现间断发作的急性关节炎。以单关节受累为主,关节肿痛通常持续7-10天,可自发或通过药物缓解,在间歇期无任何症状。而随着痛风病程的延长,发作次数、累及受累关节数目逐渐增多,间歇期也开始出现关节症状。同时关节或皮肤软组织中痛风石形成,关节出现毁损甚至致残。肾脏也出现肾结石、慢性肾损伤等表现,最终可能发展为慢性肾功能衰竭。痛风同时是糖尿病、慢性肾病、肥胖、高血压、肾结石、心梗等多种代谢相关疾病的危险因素。究其原因,痛风主要是先天遗传基因以及后天饮食环境两个因素共同造成的,其病理都跟代谢酶有关,嘌呤碱基分解代谢的关键酶是黄嘌呤氧化酶(XOD),它是决定体内尿酸生成速度的限速酶。

[0003] 目前,对于痛风与高尿酸血症的常规治疗仍以西药为主,现代医学对痛风的治疗方法多以消炎止痛、促进尿酸盐排泄、降低血尿酸为主,西医治疗痛风的药物主要分为以下两大类:抗炎药:包括秋水仙碱,非甾体类抗炎药(NSAIDs),糖皮质激素,肾上腺皮质激素,氨基葡萄糖,IL-1抑制剂等;降尿酸药:有促尿酸排泄药苯溴马隆,抑制尿酸生成药别嘌醇、非布司他。这些药物以不同的作用环节达到缓解或治疗痛风与高尿酸血症的目的,但越来越多的临床观察发现它们都具有一定的毒副作用。研究发现,中药对治疗痛风也有较好的效果,并显示较小或无的毒副作用。一些中药通过抗炎、镇痛活性抑制足肿胀而发挥作用,如短葶山麦冬、秦艽醇提物、黄柏等,Tian YQ等,对短葶山麦冬水提物及其有效部位抗炎活性研究中发现,采用二甲苯诱导小鼠耳廓肿胀和角叉菜胶或组胺诱导小鼠足跖肿胀模型,短葶山麦冬具有显著体内外抗炎活性。另外一些中药通过抑制XOD的活性而发挥作用,如肉桂细枝、买麻藤、泽兰、虎杖水提取物等。从葡萄籽提取的原花青素,植物提取的黄酮类、槲皮素、紫槲皮苷,从蜂蜜提取的蜂胶可抑制肝脏的XOD,降低高尿酸血症模型小鼠血液尿酸水平。

[0004] 芹菜籽风味独特,芹菜籽中油脂含量丰富,同时其中含有多种生理活性物质,主要包括:丁基苯酞类(其药用有效成分为3-正丁基-4,5-二氢苯并呋喃酮)、不饱和脂肪酸、黄酮类、矿物元素、维生素等。芹菜籽具有平肝清热息风、安神定志、祛风利湿等功效,用于高血压病、眩晕头痛、面红耳赤、皮肤湿疹、疮肿等。

[0005] 服用芹菜籽提取物来缓解和治疗关节疼痛在澳洲已有百年的历史,被视为传统民间偏方,长期服用无毒副作用,现代营养学已初步肯定油菜籽油中含有对关节软骨有益的

营养。另外,越来越多的文献报道证明,中药芹菜籽提取物抗炎效果良好,并能显著降低高尿酸血症水平,有明显防治痛风的作用,并对痛风性关节炎产生的肾功能损害有一定的保护作用,芹菜籽提取物是从芹菜籽中提取的一种有效成分,芹菜籽所含有的丁基苯酞是一类具有镇静止痛作用的化合物,目前已经从芹菜籽中提取出了多种这类具镇静止痛作用的活性成分,同时芹菜籽中主要活性成分为柯伊利素、木犀草素和芹菜素等黄酮类成分。研究表明,柯伊利素、木犀草素和芹菜素在体外可以显著抑制黄嘌呤氧化酶的活性,且其活性与别嘌呤醇的活性相当。目前为止,毒理学数据显示芹菜籽并无明显的毒副作用。因此芹菜籽作为防治痛风的中药新药研发,具有很大优势及良好前景。

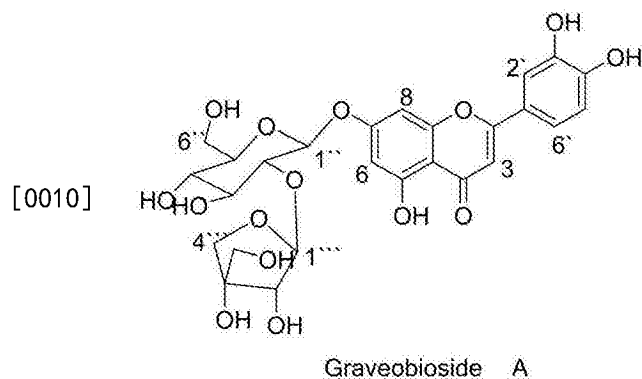
[0006] 专利ZL 200710062800.6对芹菜籽提取物经石油醚和乙酸乙酯多次萃取后得到芹菜籽乙酸乙酯萃取物,所含的萃取物含有6个香豆素类和12个黄酮类化合物,其中黄酮类化合物包含Graveobioside A,仅对18个化合物中的柯伊利素、木犀草素、芹菜素进行黄嘌呤氧化酶体外抑制活性,柯伊利素对高尿酸血症模型对小鼠的影响,尚未对Graveobioside A进行抗痛风相关的药理活性实验。

### 发明内容

[0007] 本发明所要解决的技术问题是Graveobioside A在制备抗高尿酸血症和抗痛风的药物或保健食品中的应用。本发明涉及的Graveobioside A是从芹菜籽中分离得到,并证明Graveobioside A能显著降低高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,其降尿酸作用与抑制黄嘌呤氧化酶的活性有关,并且Graveobioside A对小鼠关节炎有明显抑制作用。Graveobioside A在制备抗高尿酸血症和抗痛风药物或保健食品中的用途属于首次公开。

[0008] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下的技术方案:

[0009] 如下结构式所示的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风的药物或保健食品中的应用,所述的药物是每人每天服用剂量以20mg~800mg的Graveobioside A为活性成分并与赋形剂制成的药物制剂。



[0011] 根据所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其中所述的药物制剂中Graveobioside A的含量占药物制剂质量的0.1~99%,其余为药物学和药剂学上可接受的,对人和动物无毒的药用辅料或载体。

[0012] 根据所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其中所述的药物制剂中含Graveobioside A的含量占药物制剂质量的0.5~90%,其余为药物学和药剂学上可接受的,对人和动物无毒的药用辅料或载体。

[0013] 根据所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的

应用,其中所述的应用是Graveobioside A通过降低血清的黄嘌呤氧化酶活性,降低高尿酸血症的血清尿酸水平,从而达到抗高尿酸血症的作用。

[0014] 根据所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其中所述的应用是Graveobioside A通过抑制对角叉菜胶所致足肿胀,从而达到预防痛风性关节炎足肿胀的作用。

[0015] 根据所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其中所述的应用是Graveobioside A通过明显抑制尿酸所致足肿胀,从而达到预防痛风性关节炎足肿胀的作用。

[0016] 根据所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症或抗痛风药物或保健食品中的应用,其中所述的应用是Graveobioside A对黄嘌呤氧化酶具有抑制作用并呈剂量依赖关系,从而达到降尿酸作用,Graveobioside A是黄嘌呤氧化酶的竞争性抑制剂。

[0017] 本发明还提供了一种抗高尿酸血症的药物组合物,含有Graveobioside A化合物及可药用载体或赋形剂。

[0018] 以及,抗痛风的药物组合物,含有Graveobioside A化合物及可药用载体或赋形剂。

[0019] 本发明同时还提供了一种Graveobioside A的制备方法,取芹菜干燥种子,以8~15倍量30~70%V/V乙醇渗漉提取或加热提取2~4次,每次0.5~2小时,提取液减压浓缩至近无乙醇,于浓缩液中用1~3倍量乙酸乙酯萃取1~3次,分出乙酸乙酯并回收乙酸乙酯,水层过D-101大孔吸附树脂,先用水洗脱,再用50%乙醇洗脱,收集50%乙醇洗脱液,浓缩,浓缩液上硅胶柱色谱,用90:10-0:100的氯仿:甲醇梯度洗脱,分段收集洗脱液,用薄层色谱跟踪检查,合并Graveobioside A的流份,浓缩,将浓缩液过Sephadex LH-20凝胶色谱进行纯化,用甲醇洗脱,收集洗脱液,减压浓缩干燥,得GraveobiosideA。

[0020] 本发明所述的Graveobioside A经如下动物实验和体外对黄嘌呤氧化酶的抑制率实验,证明Graveobioside A能显著降低高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,其降尿酸作用与抑制黄嘌呤氧化酶的活性有关,GraveobiosideA是黄嘌呤氧化酶的竞争性抑制剂,同时对小鼠关节炎有明显抑制作用。

[0021] 通过制备氧嗪酸钾盐致小鼠高尿酸血症模型,观察Graveobioside A对高尿酸血症的预防作用。GraveobiosideA低、中、高三个剂量组(按体重剂量组依次为5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg)与模型对照组、正常对照组、阳性对照组(药物为别嘌醇40mg/kg)比较,与正常对照组相比,模型组动物血清尿酸和黄嘌呤氧化酶水平显著升高,表明小鼠高尿酸血症模型成功;所有给药组均能明显降低氧嗪酸钾盐致高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,与模型对照组相比差异显著;其中,阳性对照别嘌醇、Graveobioside A 20mg/kg、10mg/kg组还明显降低模型小鼠血清的黄嘌呤氧化酶活性。结果表明Graveobioside A能明显降低高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,其降尿酸作用与抑制黄嘌呤氧化酶的活性有关。

[0022] 通过制备对角叉菜胶致小鼠足肿胀模型,观察Graveobioside A对痛风性关节炎的预防作用。GraveobiosideA低、中、高三个剂量组(按体重剂量组依次为5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg)与模型对照组和阳性对照组(药物为吲哚美辛片10mg/kg)比较,Graveobioside A、阳性对照吲哚美辛片均能明显抑制对角叉菜胶所致小鼠的足肿胀,其中以Graveobioside A 20mg/kg组抑制作用最为显著。结果表明GraveobiosideA对痛风性关节

炎足肿胀具有明显的预防作用。

[0023] 通过制备尿酸致小鼠足肿胀模型,观察Graveobioside A对痛风性关节炎的预防作用。Graveobioside A低、中、高三个剂量组(按体重剂量组依次为5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg)与模型对照组和阳性对照组(药物为吲哚美辛片10mg/kg、秋水仙碱片1.0mg/kg)比较,除Graveobioside A低剂量组外仅有作用趋势外,阳性对照吲哚美辛片、秋水仙碱片、Graveobioside A高、中剂量均能明显抑制尿酸所致小鼠的足肿胀。结果表明Graveobioside A对痛风性关节炎足肿胀具有明显的预防作用。

[0024] 通过对Graveobioside A体外黄嘌呤氧化酶抑制率实验,以别嘌呤醇为阳性对照,测定不同浓度Graveobioside A对黄嘌呤氧化酶的抑制率,其实验结果表明Graveobioside A对黄嘌呤氧化酶具有显著的抑制作用并呈剂量依赖关系,Graveobioside A是黄嘌呤氧化酶的竞争性抑制剂。

[0025] 本发明所述的Graveobioside A在制备抗高尿酸血症和抗痛风药物或保健食品时,Graveobioside A含量占活性成分质量的0.1~99%,优选为0.5-90%的有效成分Graveobioside A,其余为药物学和药剂学上可接受的,对人和动物无毒的药用辅料或载体。

[0026] 本发明所述的Graveobioside A用于治疗高尿酸血症或痛风,是每天服用以20mg~800mg Graveobioside A为活性成分的制成的制剂。

[0027] 所述的制剂是临床上能够使用的各种剂型,如胶囊、颗粒剂、丸剂、片剂、注射剂、膏剂、酏剂、口服液;或已有的保健食品剂型,如胶囊、颗粒剂、片剂、饮料等。

[0028] 本发明提供了Graveobioside A在制备抗高尿酸血症和抗痛风药物或保健食品中的应用,扩大了抗高尿酸血症和抗痛风药物或保健食品的资源范围。

#### 附图说明:

[0029] 图1为Graveobioside A的结构示意图;

[0030] 图2为Graveobioside A对黄嘌呤氧化酶抑制率的IC<sub>50</sub>值曲线图。

#### 具体实施方式:

[0031] 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,便并不以此来限定本发明。

[0032] 实施例1:

[0033] Graveobioside A的制备方法:

[0034] 芹菜干燥种子10kg,以8~15倍量30~70%(V/V)乙醇渗漉提取或加热提取2~4次,每次0.5~2小时,提取液减压浓缩至近无乙醇,于浓缩液用1~3倍量乙酸乙酯萃取1~3次,分出乙酸乙酯并回收乙酸乙酯,水层过D101大孔吸附树脂,先用水洗脱,再用50%乙醇洗脱,收集0%乙醇洗脱液,浓缩,浓缩液上硅胶柱色谱,用氯仿:甲醇(90:10-0:100)梯度洗脱,分段收集洗脱液,用薄层色谱跟踪检查,合并Graveobioside A的流份,浓缩,将浓缩液过Sephadex LH-20凝胶色谱进行纯化,用甲醇洗脱,收集洗脱液,减压浓缩干燥,得Graveobioside A。

[0035] Graveobioside A的结构鉴定数据:

[0036] 质谱(MS)用VGAutopec-3000型质谱仪测定;核磁共振谱{<sup>1</sup>H-、<sup>13</sup>C-NMR(DEPT)}用

BrukerAM-400型和DRX-500型超导核磁共振波谱仪测定,以TMS(四甲基硅烷)为内标。

[0037] 结构:见图1。

[0038] 分子式: $C_{26}H_{28}O_{15}$ 。

[0039] 分子量:786。

[0040] ESI-MS(positive):581[M+H]<sup>+</sup>,579[M-H]<sup>+</sup>。

[0041] <sup>13</sup>C-NMR(CD<sub>3</sub>OD):(见表1),与文献Materskal M,Peruckal I,Stochmal A,et al.Quantitative and qualitative determination of flavonoids and phenolic acid derivatives from pericarp of hot pepper fruit cv.Bronowicka Ostra.Polish Journal of Food and Nutrition Sciences.2003,12(2):72-76.中相应的化合物数据一致。

[0042] 表1 GraveobiosideA的化学位移值

[0043]

碳原子序号	化学位移值	碳原子序号	化学位移值
C-2	166.6	C-5'	116.5
C-3	103.8	C-6'	120.2
C-4	184.3	C-1''	100.5
C-5	162.7	C-2''	78.4
C-6	101.1	C-3''	78.3
C-7	164.5	C-4''	71.4
C-8	95.8	C-5''	78.0

[0044]

C-9	158.9	C-6''	62.4
C-10	107.4	C-1'''	110.5
C-1'	122.9	C-2'''	78.0
C-2'	114.0	C-3'''	80.4
C-3'	147.0	C-4'''	75.2
C-4'	151.0	C-5'''	65.3

[0045] 实施例2:

[0046] GraveobiosideA对氧嗪酸钾盐致小鼠高尿酸血症的影响:

[0047] 实施例1的GraveobiosideA三个剂量组,分别为20、10、5mg/kg,用纯水配制成1、0.5、0.25mg/mL浓度的溶液;别嘌醇片用纯水配制成2mg/mL浓度的混悬液。

[0048] 取21~24g雄性ICR小鼠72只,按体重随机分为6组:正常对照组;模型对照组;阳性对照别嘌醇片40mg/kg组;Graveobioside A 20、10、5mg/kg组。除阳性对照别嘌醇片于实验当天灌胃给药一次外,其余各组动物均每日按剂量灌胃给药一次,连续3天。第2天小鼠禁食不禁水过夜(12h),次日晨除正常对照组注射等量生理盐水外,其余各组动物均按300mg/kg剂量腹腔注射氧嗪酸钾盐0.2mL/10g.bw。造型后1h末次给药,间隔1h(造型2h)后于内眦取血,3000r/min离心10min,按试剂盒方法(磷乌酸还原法)测定各组小鼠血尿酸(UA)和黄嘌呤氧化酶(XOD)水平。

[0049] 低、中、高剂量Graveobioside A组及别嘌醇对高尿酸血症小鼠尿酸水平的影响结



果见表2、表3。与正常对照组相比,模型组动物血清尿酸和黄嘌呤氧化酶水平显著升高,表明小鼠高尿酸血症模型成功;所有给药组均能明显降低氧嗪酸钾盐致高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,与模型对照组相比差异显著;其中,阳性对照别嘌醇、Graveobioside A 20mg/kg、10mg/kg组还明显降低模型小鼠血清的黄嘌呤氧化酶活性。

[0050] 表2对氧嗪酸钾盐致小鼠UA升高的影响

[0051]

组别	剂量 (/kg)	给药途径	动物数 (只)	UA ( $\bar{x} \pm SD$ , $\mu\text{mol/L}$ )	变化率 (%)
正常对照	20ml	ig	12	113.2 $\pm$ 13.5	—
模型对照	20ml	ig	12	197.8 $\pm$ 11.8 <sup>##</sup>	42.76
别嘌醇	40mg	ig	12	84.4 $\pm$ 8.1 <sup>**</sup>	57.34
Graveobioside A	20mg	ig	12	126.6 $\pm$ 20.0 <sup>**</sup>	36.01
	10mg	ig	12	128.7 $\pm$ 19.6 <sup>**</sup>	34.96
	5mg	ig	12	130.5 $\pm$ 24.4 <sup>**</sup>	34.01

[0052] 与正常组相比,<sup>##</sup>P<0.01;与模型组相比,\*/\*\*P<0.05/0.01

[0053] 表3对氧嗪酸钾盐致小鼠XOD升高的影响

[0054]

组别	剂量 (/kg)	给药途径	动物数 (只)	XOD ( $\bar{x} \pm SD$ , U/L)	变化率 (%)
正常对照	20ml	ig	12	506.5 $\pm$ 109.2	—
模型对照	20ml	ig	12	737.9 $\pm$ 101.5 <sup>#</sup>	30.84
别嘌醇	40mg	ig	12	385.7 $\pm$ 81.7 <sup>**</sup>	47.72
Graveobioside A	20mg	ig	12	644.3 $\pm$ 105.1 <sup>*</sup>	12.68
	10mg	ig	12	624.3 $\pm$ 99.2 <sup>*</sup>	15.38
	5mg	ig	12	665.2 $\pm$ 187.5	9.85

[0055] 与正常组相比,<sup>##</sup>P<0.01;与模型组相比,\*/\*\*P<0.05/0.01

[0056] 实施例3:

[0057] GraveobiosideA对对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响:

[0058] 实施例1的GraveobiosideA三个剂量组,分别为200、100、50mg/kg,用纯水配制成1、0.5、0.25mg/mL浓度的溶液;吡哌美辛肠溶片用纯水配制成0.5mg/mL浓度的混悬液。

[0059] 选19~21g雄性ICR小鼠,按体重随机分为5组:对照组;阳性对照吡哌美辛片10mg/kg、GraveobiosideA20、10、5mg/kg组,每组12只。除吡哌美辛片仅于实验当天灌胃给药一次

外,其余各组动物均每日按剂量灌胃给药一次,连续3天,对照组给予20mL/kg.bw的纯水。末次给药后30分钟,于各组小鼠右后足跖皮下注射1%角叉菜胶0.05mL/足。致炎后4h脱颈椎处死动物,用利剪于踝关节处取下双足称重,以两足重量之差作为肿胀度。

[0060] 低、中、高剂量Graveobioside A组及吲哚美辛片对叉菜胶致小鼠足肿胀的影响结果见表4。结果表明所有给药组均能明显抑制角叉菜胶所致小鼠的足肿胀,与溶媒对照组相比差异均具有统计学意义,其中以GraveobiosideA20mg/kg组作用最为显著。

[0061] 表4对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响

[0062]

组别	剂量 (/kg)	给药途径	动物数 (只)	足肿胀度 ( $\bar{x} \pm SD$ , mg)	抑制率 (%)
对照	20ml	ig	12	52.4 ± 10.9	—
吲哚美辛	10mg	ig	12	25.3 ± 17.4**	51.69
Graveobioside A	20mg	ig	12	35.6 ± 15.6**	32.13
	10mg	ig	12	45.9 ± 25.5	12.54
	5mg	ig	12	40.7 ± 16.0*	22.33

[0063] 与对照组相比,\*/\*\*P<0.05/0.01

[0064] 实施例4:

[0065] GraveobiosideA对尿酸致小鼠足肿胀的影响:

[0066] 实施例1的Graveobioside A三个剂量组,分别为20、10、5mg/kg,用纯水配制成1、0.5、0.25mg/mL浓度的溶液;吲哚美辛肠溶片用纯水配制成0.5mg/mL浓度的混悬液;秋水仙碱片用纯水配制成0.05mg/mL浓度的混悬液;制备尿酸钠:取194mL蒸馏水加6mL 1mol/L NaOH,煮沸,加1g尿酸,用1mol/L Hcl调PH值至7.2,搅拌冷却,4℃冰箱保存24h,去上清液,用滤纸将沉淀物水分吸干,放入干燥箱,70℃烘2h,取出,刮下粉末,放入研钵内研成细末,装瓶备用。临用时用1%吐温-80配成20mg/mL的混悬液,注射时振摇均匀。

[0067] 实验取20~22g雄性ICR小鼠60只,按体重随机分为6组:对照组;阳性对照吲哚美辛片10mg/kg、秋水仙碱片1.0mg/kg、

[0068] Graveobioside A200、100、50mg/kg组;每组10只。除吲哚美辛和秋水仙碱仅于实验当天灌胃给药一次外,其余各组动物均每日按剂量灌胃给药一次,连续3天,溶媒对照组给予20mL/kg.bw的纯水。末次给药后30分钟,于小鼠左足趾向踝关节方向皮下注射自制尿酸钠混悬液0.05mL/只(1mg/只)。致炎后5h脱颈椎处死动物,用利剪于踝关节处取下双足称重,以两足重量之差作为肿胀度。

[0069] 低、中、高剂量GraveobiosideA组及吲哚美辛片、秋水仙碱对尿酸致小鼠足肿胀的影响结果见表5。由表5可见,阳性对照吲哚美辛片10mg/kg、秋水仙碱片1.0mg/kg、GraveobiosideA三个剂量组均能明显抑制尿酸所致小鼠的足肿胀,与对溶媒照组相比差异均具有统计学意义。

[0070] 表5对尿酸钠致小鼠足肿胀的影响

[0071]

组别	剂量 (/kg)	给药途	动物数 (只)	足肿胀度 ( $\bar{x} \pm SD$ , mg)	抑制率 (%)
----	----------	-----	---------	-------------------------------	---------

[0072]

径					
对照	20ml	ig	10	103.1 ± 13.3	—
吲哚美辛	10mg	ig	10	56.5 ± 11.9**	45.19
秋水仙碱	1.0mg	ig	10	59.4 ± 22.1**	42.41
Graveobioside A	20mg	ig	10	81.1 ± 15.4**	21.39
	10mg	ig	10	73.0 ± 18.3**	29.23
	5mg	ig	10	87.1 ± 21.1	15.50

[0073] 与对照组相比,\*\*P&lt;0.01

[0074] 实施例5:

[0075] GraveobiosideA体外黄嘌呤氧化酶抑制率实验:

[0076] 称取实施例1的Graveobioside A 1.65mg,用20 $\mu$ L DMSO溶解并用缓冲液稀释至1.0mL,得到1.65mg/mL母液,接着采用逐级稀释2倍的方法得到5个样品浓度梯度。[0077] 在空白对照组中加入100 $\mu$ L焦磷酸钠缓冲液(pH=7.4);阴性对照组先加入60 $\mu$ L缓冲液;酶组中加入20 $\mu$ L缓冲液和40 $\mu$ L酶溶液(2.5U/L);样品测定组加入20 $\mu$ L样品和40 $\mu$ L酶溶液(2.5U/L);样品阴性对照组加入20 $\mu$ L样品溶液和40 $\mu$ L缓冲液;阳性对照组中加入20 $\mu$ L别嘌呤溶液(50 $\mu$ M)和40 $\mu$ L酶溶液(2.5U/L)。加样完成后,将其放入恒温箱中在25 $^{\circ}$ C孵育15分钟。孵育完成后,除了空白对照组,其余均加入40 $\mu$ L黄嘌呤溶液(400 $\mu$ M),每组的终体积为0.1mL,并立即在在295nm波长进行动态法测定,读取时间为30分钟,5分钟/次。[0078] 黄嘌呤氧化酶抑制率计算公式:( $\Delta$ 酶- $\Delta$ 样/ $\Delta$ 酶- $\Delta$ 阴) $\times$ 100%,IC50的计算软件采用GraphPad Prism 5。GraveobiosideA对黄嘌呤氧化酶抑制率的IC50值曲线见表6。[0079] 实验结果表明Graveobioside A对黄嘌呤氧化酶具有显著的抑制作用并呈剂量依赖关系,在浓度为333.33 $\mu$ g/mL时对黄嘌呤氧化酶抑制率达54.73%,GraveobiosideA是黄嘌呤氧化酶的竞争性抑制剂。

[0080] 表6 GraveobiosideA对黄嘌呤氧化酶抑制率的IC50值曲线

Graveobioside A			
浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	抑制率%-1	抑制率%-2	抑制率%-平均
333.33	58.42	51.03	54.73
166.67	31.14	44.07	37.61
[0081] 83.33	19.12	1.03	10.07
41.67	15.46	2.92	9.19
20.83	11.81	2.62	7.22
0.00	0.00	0.00	0.00
IC <sub>50</sub>	283.17		

[0082] 实施例6

[0083] 按实施例1的方式先获得Graveobioside A,按其与赋形剂重量比4:1的比例混合均匀,制粒,压片。治疗高尿酸血症和痛风1~4片/次,3次/日。

[0084] 实施例7:

[0085] 按实施例1的方式先获得Graveobioside A,按其与赋形剂重量比8:1的比例混合均匀,制粒,压片。治疗高尿酸血症和痛风3~4片/次,3次/日。

[0086] 实施例8:

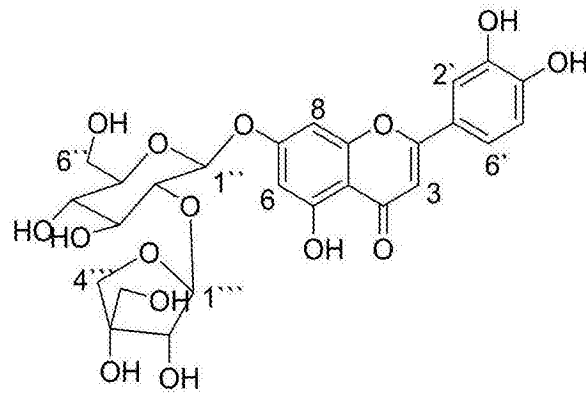
[0087] 按实施例1的方式先获得Graveobioside A,按其与赋形剂重量比3:1的比例混合均匀,制粒,制成胶囊剂。治疗高尿酸血症和痛风3~4粒/次,3次/日。

[0088] 实施例9:

[0089] 按实施例1的方式先获得Graveobioside A,按其与赋形剂重量比6:1的比例混合均匀,制粒,制成胶囊剂。治疗高尿酸血症和痛风3~4粒/次,3次/日。

[0090] 实施例10:

[0091] 按实施例1的方式先获得Graveobioside A,按常规口服液的制法制成口服液。治疗高尿酸血症和痛风20~30ml粒/次,3次/日。



Graveobioside A

图1

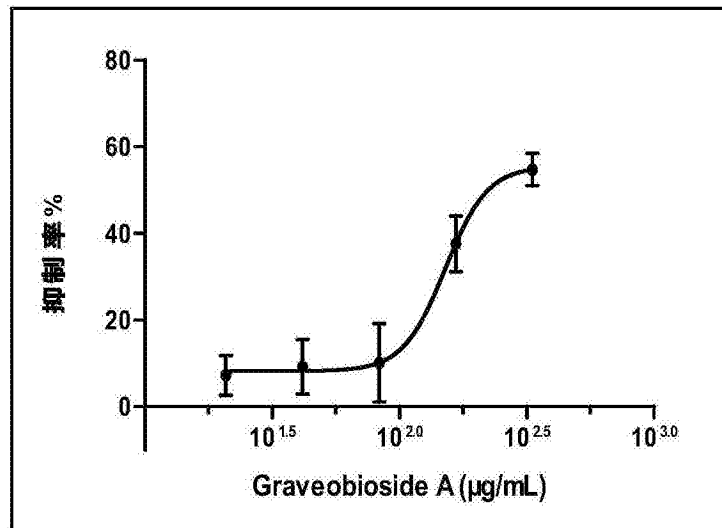


图2