



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105535048 A

(43) 申请公布日 2016.05.04

(21) 申请号 201610003095.1

(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 36/23(2006.01)

A23L 33/105(2016.01)

A61P 19/06(2006.01)

A61P 19/02(2006.01)

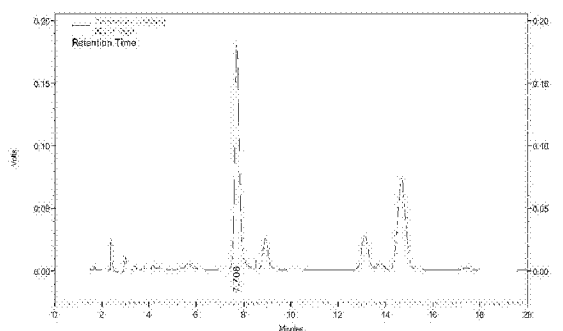
权利要求书1页 说明书9页 附图2页

(54) 发明名称

芹菜籽提取物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

本发明涉及一种芹菜籽提取物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,以芹菜籽提取物为活性成分,配入适量医药上的载体或辅助性成分制成的制剂。本发明制备工艺简单,芹菜籽提取物可明显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. 一种芹菜籽提取物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,其特征在于,所述的药物以芹菜籽提取物为活性成分,芹菜籽提取物含量占药物活性成分质量的10~100%。

2. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於,所述的芹菜籽提取物中Graveobioside A含量为8~11%。

3. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於,所述的芹菜籽提取物由以下方法获得: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1.5~3小时,提取液减压浓缩,干燥。

4. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於所述的应用是芹菜籽提取物通过降低血清的黄嘌呤氧化酶活性,降低血清尿酸水平,达到降尿酸作用。

5. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於所述的应用是芹菜籽提取物通过抑制对角叉菜胶所致足肿胀,达到预防痛风性关节炎足肿胀作用。

6. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於所述的应用是通过抑制尿酸所致足肿胀,达到预防痛风性关节炎足肿胀作用。

7. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於所述的应用是芹菜籽提取物浓度为200 μ g/mL时对体外黄嘌呤氧化酶抑制率为45.32 \pm 8.94%($x \pm sd$)。

8. 根据权利要求1所述的一种芹菜籽提取物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,其特征在於所述的应用是每人每天服用以0.5g~6.0g芹菜籽提取物为活性成分制成的药物制剂。

9. 抗高尿酸血症和抗痛风的药物组合物,含有芹菜籽提取物及可药用载体或赋形剂,所述的芹菜籽提取物中Graveobioside A的含量为8~11%,由以下方法获得: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1.5~3小时,提取液减压浓缩,干燥,芹菜籽提取物含量占药物活性成分质量的10~100%。

芹菜籽提取物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] 本发明涉及天然药物化学和医药技术领域,具体地说,是一种芹菜籽提取物在制备抗高尿酸血症和抗痛风的药物中的应用,及其在制备抗高尿酸血症和抗痛风药物的保健食品中的应用。

背景技术

[0002] 在中医传统典籍记载中,痛风属于“痹证”的范畴,病因多与饮食失节、嗜食甘肥厚味,导致湿热蕴结、湿热阻络、蕴遏化热,表现为痛甚、漫肿甚、热重等症状。痛风是长期嘌呤代谢障碍,血尿酸持续增高导致尿酸盐结晶沉积,引起特征性慢性关节炎和关节畸形等组织损伤的一组临床综合征。近年来随着人们生活水平的不断提高,饮食结构也发生了变化,过多摄入嘌呤和蛋白质,使我国痛风的发病率呈逐年上升,发病年龄呈现低龄化,给社会带来巨大的负担,并且与高血压、高脂血症、糖尿病等疾病的发生密切相关,已成为识别代谢综合征的早期标志,痛风是全因死亡和心血管死亡的独立危险因素,它显著降低了患者的生存质量。

[0003] 对于痛风病的治疗,除了进行饮食控制外,目前使用较多的药物主要以西药为主,包括抗炎类药有: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;降尿酸类药有:促进尿酸排泄药和抑制尿酸生成药。其中别嘌呤醇是一种黄嘌呤氧化酶抑制剂,通过消耗磷酸核糖焦磷酸合成酶(PRPP)和反馈性抑制嘌呤核苷酸从头合成的酶两种途径减少嘌呤核苷酸的合成,达到减少尿酸生成,降低血和尿中尿酸水平的效果。但西药大多显示其具有较严重的不良反应,比如肝肾损害、超敏变态反应、骨髓抑制等,限制了其安全使用。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。黄柏与二妙丸的水提物和秦皮素苷对氧嗪酸钾盐诱导的高尿酸血症模型小鼠有明显的降尿酸作用。

[0004] 芹菜籽为芹菜的种子,芹菜不但有较高的食用价值,其果实也含有丰富的营养元素和多种具有生理活性的物质,主要包括挥发油化合物、不饱和脂肪酸、类黄酮物质、丁基苯酞类、氨基酸、膳食纤维、香豆素衍生物等。芹菜籽具有较高的食用和药用价值,其功能性成分具有良好的抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抑菌及杀虫等生物活性,已经作为一种有效治疗膀胱炎和肾病的利尿药在临床上应用,另外,在食品、医药、化妆品等领域也有广泛应用。

[0005] 芹菜籽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,据1983年版英国草药典记载,芹菜籽有治疗痛风等并发症的作用,相关文献报道,芹菜籽提取物具有明显的防治心血管疾病,抑制癌症肿瘤增长速度的药理作用。现代营养学确定芹菜籽油中含

有对关节软骨有益的营养。芹菜籽提取物不仅抗炎效果良好,并能显著降低高尿酸血症水平,有明显防治痛风的作用,同时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,其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和丁基苯酞类化合物。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。另外,丁基苯酞类化合物是一类具有镇静止痛作用的化合物。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] 芹菜籽有治疗痛风及其并发症的作用,Powanda M.C.等研究证明芹菜籽良好的利尿及抗炎作用可用作治疗风湿病和关节炎的辅助用药(Powanda M.C.,Rainsford K.D.A toxicological investigation of a celery seed extract having anti-inflammatory activity.Inflammopharmacology,2010,19(4):227-233.);全国辉等对芹菜籽提取对高尿酸血症大鼠血清尿酸水平的影响及对于急性痛风性关节炎镇痛效果,结果表明芹菜籽提取物对高尿酸血症及其引起的肾功能损害有一定的保护作用(全国辉,等,芹菜籽提取物对高尿酸血症大鼠的影响,食品科学,2008,29(6):641-644.);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,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,以及芹菜籽乙酸乙酯萃取物对小鼠足肿胀抑制率实验,但足肿胀抑制率仅为10.1%(阳性对照组抑制率24.9%)。相关研究论文中芹菜籽乙酸乙酯萃取物中柯伊利素、木犀草素、芹菜素含量仅为0.148mg/g、0.176mg/g、0.145mg/g(徐娜,芹菜籽活性成分及其抗痛风新药研究,第二军医大学硕士学位论文,2012),药理活性作用单体含量低且乙酸乙酯萃取物对小鼠足肿胀抑制率仅为10.1%。专利ZL20100615591.2对芹菜籽乙醇提取物治疗痛风的口服液或软胶囊制剂进行保护,但尚未进行相关药理作用机理研究。

发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题是芹菜籽提取物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。本发明对芹菜籽乙醇提取物抗高尿酸血症和抗痛风的动物模型进行实验,其提取物通过对角叉菜胶和尿酸致小鼠足肿胀模型,观察芹菜籽提取物对高尿酸血症和痛风性关节炎的治疗作用。实验表明芹菜籽提取物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,并且芹菜籽提取物对小鼠关节炎有明显抑制作用。说明芹菜籽提取物在抗高尿酸血症和抗痛风方面有较好的预防和治疗作用。

[0008] 为了实现本发明的上述目的,本发明采用了如下的技术方案:

[0009] 一种芹菜籽提取物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,所述的药物以芹菜籽提取物为活性成分,芹菜籽提取物含量占药物活性成分质量的10~100%。

[0010] 根据所述的一种芹菜籽提取物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,其中所述的芹菜籽提取物中Graveobioside A含量不低于9%。所述的芹菜籽提取物由以下方法获得: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1.5~3小时,提取液减压浓缩,干燥。

[0011] 根据所述的一种芹菜籽提取物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,其中所述的应用是芹菜籽提取物通过降低血清的黄嘌呤氧化酶活性,降低血清尿酸水平,达到降尿酸作用。

[0012] 根据所述的一种芹菜籽提取物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,其中所述的应用是芹菜籽提取物通过抑制对角叉菜胶所致足肿胀,达到预防痛风性关节炎足肿胀作用。

[0013] 根据所述的一种芹菜籽提取物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,其中所述的应用是通过抑制尿酸所致足肿胀,达到预防痛风性关节炎足肿胀作用。

[0014] 根据所述的一种芹菜籽提取物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,其中所述的应用是芹菜籽提取物浓度为200 μ g/mL时对体外黄嘌呤氧化酶抑制率为45.32 \pm 8.94%($x\pm sd$)。

[0015] 根据所述的一种芹菜籽提取物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,其中所述的应用是每人每天服用以0.5g~6.0g芹菜籽提取物为活性成分制成的药物制剂。

[0016] 芹菜籽提取物,由以下方法获得: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1.5~3小时,提取液减压浓缩,干燥。

[0017] 抗高尿酸血症和抗痛风的药物组合物,含有芹菜籽提取物及可药用载体和/或赋形剂,所述的芹菜籽提取物由以下方法获得: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1.5~3小时,提取液减压浓缩,干燥;芹菜籽提取物含量占药物活性成分质量的10~100%;芹菜籽提取物中Graveobioside A的含量为8~11%。

[0018] 本发明所述的芹菜籽提取物经如下动物实验和体外黄嘌呤氧化酶抑制率实验,证明芹菜籽提取物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,芹菜籽提取物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。

[0019] 通过制备氧嗪酸钾盐致小鼠高尿酸血症模型,观察芹菜籽提取物对高尿酸血症的预防作用。芹菜籽提取物低、中、高三个剂量组(按体重剂量组依次为50mg/kg、100mg/kg、200mg/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、芹菜籽提取物200mg/kg组还明显降低模型小鼠血清的黄嘌呤氧化酶活性。结果表明芹菜籽提取物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。

[0020] 通过制备对角叉菜胶致小鼠足肿胀模型,观察芹菜籽提取物对痛风性关节炎的预防作用。芹菜籽提取物低、中、高三个剂量组(按体重剂量组依次为50mg/kg、100mg/kg、200mg/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,芹菜籽提取物、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。结果表明芹菜籽提取物对痛风性关节炎足肿胀具有明显的预防作用。

[0021] 通过制备尿酸致小鼠足肿胀模型,观察芹菜籽提取物对痛风性关节炎的预防作用。芹菜籽提取物低、中、高三个剂量组(按体重剂量组依次为50mg/kg、100mg/kg、200mg/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,除芹菜籽提取物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、芹菜籽提取物高中剂量均能明显抑制尿酸所致小鼠的足肿胀。结果表明芹菜籽提取物对痛风性关节炎足肿胀具有明显的预防作用。

[0022] 通过对芹菜籽提取物体外黄嘌呤氧化酶抑制率实验,以别嘌呤为阳性对照,芹菜籽提取物浓度为200 μ g/mL下,测定黄嘌呤氧化酶的抑制率,测试结果为45.32 \pm 8.94%(\bar{x} \pm sd)。

[0023] 本发明所述的芹菜籽提取物,通过HPLC检测Graveobioside A的含量,色谱条件为岛津LC-2010AHT高效液相色谱仪,SHIMADZU(5 μ m,VP-ODS,150L \times 4.6)色谱柱,检测波长345nm,流速为0.8ml/min,柱温30 $^{\circ}$ C,流动相为乙腈:0.05%甲酸水溶液(19:81),经四次平行测定芹菜籽提取物中的Graveobioside A,根据外标法计算得到Graveobioside A的含量为9.5%。

[0024] 本发明所述的芹菜籽提取物在制备抗高尿酸血症和抗痛风药物或保健食品时,芹菜籽提取物含量占活性成分质量的10~100%。

[0025] 本发明所述的芹菜籽提取物用于治疗高尿酸血症或痛风,是每天服用以0.5g~6.0g芹菜籽提取物为活性成分的制成的制剂。

[0026] 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、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。

[0027] 本发明提供了芹菜籽提取物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。

[0028] 与现有技术相比,本发明具备如下的优益性:

[0029] 本发明的芹菜籽提取物中Graveobioside A含量为9.5%;芹菜籽提取物对痛风性关节炎足肿胀明显预防作用,对尿酸致小鼠足肿胀抑制率为31.5%,对对角叉菜胶致小鼠足肿胀抑制率为29.7%;芹菜籽提取物明显降低氧嗪酸钾盐致高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平,芹菜籽提取物200mg/kg剂量组小鼠血尿酸为133.0 μ mol/L,变化率32.77%,还明显降低模型小鼠血清的黄嘌呤氧化酶活性,芹菜籽提取物200mg/kg剂量组小鼠血黄嘌呤氧化酶为644.0U/L,变化率为12.72%;芹菜籽提取物体外对黄嘌呤氧化酶抑制率为45.32%,具有显著的抑制活性。表明芹菜籽提取物在抗高尿酸血症和抗痛风方面有较好的预防和治疗作用。

[0030] 经专利与文献检索,本发明与专利ZL 200710062800.6、ZL20100615591.2具有一定的相似性,但专利ZL 200710062800.6主要对芹菜籽乙酸乙酯萃取物中的单体进行相关药理活性实验,但是并未对本发明的芹菜籽乙醇提取物进行相关的药理活性研究。专利ZL20100615591.2对芹菜籽乙醇提取物的组合物进行保护,但尚未进行相关药理作用机理研究。本发明针对芹菜籽70%乙醇提取物进行了氧嗪酸钾盐致小鼠高尿酸血症实验、对角叉菜胶、尿酸致小鼠足肿胀实验以及体外黄嘌呤氧化酶抑制率实验等相关实验,证明芹菜籽提取物在抗高尿酸血症和抗痛风方面有较好的预防和治疗作用,与专利ZL 200710062800.6、ZL20100615591.2具有不同保护内容。

附图说明：

- [0031] 图1为Graveobioside A的结构式示意图；
[0032] 图2为Graveobioside A的HPLC图；
[0033] 图3芹菜籽提取物的HPLC图。

具体实施方式：

- [0034] 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。
- [0035] 实施例1：
- [0036] 芹菜籽提取物的制备：
- [0037] 芹菜干燥种子20kg，加8倍量70%(V/V)乙醇加热提取2次，每次2小时；合并提取液，提取液65℃减压浓缩，干燥得到芹菜籽提取物3.2kg。
- [0038] 实施例2：
- [0039] 芹菜籽提取物对氧嗪酸钾盐致小鼠高尿酸血症的影响：
- [0040] 取实施例1的芹菜籽提取物，高、中、低三个剂量组分别为200、100、50mg/kg，用纯水配制成10、5、2.5mg/mL浓度的混悬液；别嘌醇片用纯水配制成2mg/mL浓度的混悬液。
- [0041] 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；芹菜籽提取物200、100、50mg/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(磷尿酸还原法)测定各组小鼠血尿酸(UA)和黄嘌呤氧化酶(XOD)水平。
- [0042] 低、中、高剂量芹菜籽提取物组及别嘌醇对高尿酸血症小鼠尿酸水平的影响结果见表1、表2。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、芹菜籽提取物200mg/kg还明显降低模型小鼠血清的黄嘌呤氧化酶活性。
- [0043] 表1对氧嗪酸钾盐致小鼠UA升高的影响
- [0044]

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 ^{##}	42.76
别嘌醇	40mg	ig	12	84.4 \pm 8.1 ^{**}	57.34
	200mg	ig	12	133.0 \pm 35.8 ^{**}	32.77
芹菜籽提取物	100mg	ig	12	131.2 \pm 8.4 ^{**}	33.69
	50mg	ig	12	138.2 \pm 17.0 ^{**}	30.13

[0045] 与正常组相比, ^{##}P<0.01;与模型组相比, ^{*}/^{**}P<0.05/0.01

[0046] 表2对氧嗪酸钾盐致小鼠XOD升高的影响

[0047]

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 ^{##}	30.84
别嘌醇	40mg	ig	12	385.7 \pm 81.7 ^{**}	47.72
	200mg	ig	12	644.0 \pm 98.3 [*]	12.72
芹菜籽提取物	100mg	ig	12	698.1 \pm 86.9	5.40
	50mg	ig	12	721.5 \pm 130.0	2.22

[0048] 与正常组相比, ^{##}P<0.01;与模型组相比, ^{*}/^{**}P<0.05/0.01

[0049] 实施例3:

[0050] 芹菜籽提取物对对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响:

[0051] 实施例1的芹菜籽提取物,高、中、低三个剂量组分别为200、100、50mg/kg,用纯水配制成10、5、2.5mg/mL浓度的混悬液;吡罗美辛肠溶片用纯水配制成0.5mg/mL浓度的混悬液。

[0052] 选19~21g雄性ICR小鼠,按体重随机分为5组:对照组;阳性对照吡罗美辛片10mg/kg、芹菜籽提取物200、100、50mg/kg组,每组12只。除吡罗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。

[0053] 低、中、高剂量芹菜籽提取物组及吡罗美辛片对叉菜胶致小鼠足肿胀的影响结果见表3。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。

[0054] 表3对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响

[0055]

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 \pm 10.9	—
吲哚美辛	10mg	ig	12	25.3 \pm 17.4**	51.69
	200mg	ig	12	38.4 \pm 16.5*	26.72
芹菜籽提取物	100mg	ig	12	36.9 \pm 19.0*	29.70
	50mg	ig	12	40.9 \pm 12.5*	22.01

[0056] 与对照组相比,*/**P<0.05/0.01

[0057] 实施例4:

[0058] 芹菜籽提取物对尿酸致小鼠足肿胀的影响:

[0059] 实施例1的芹菜籽提取物,高、中、低三个剂量组分别为200、100、50mg/kg,用纯水配制成10、5、2.5mg/mL浓度的混悬液;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。尿酸钠的配制: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。

[0060] 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、芹菜籽提取物200、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。为减小系统误差,试验采用平行操作。

[0061] 低、中、高剂量芹菜籽提取物组及吲哚美辛片、秋水仙碱对尿酸致小鼠足肿胀的影响结果见表4。由表4可见,除芹菜籽提取物低剂量组外仅有作用趋势外,阳性对照吲哚美辛片10mg/kg、秋水仙碱片1.0mg/kg、芹菜籽提取物高中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。

[0062] 表4对尿酸钠致小鼠足肿胀的影响

[0063]

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	10	103.1 \pm 13.3	—
吲哚美辛	10mg	ig	10	56.5 \pm 11.9**	45.19
秋水仙碱	1.0mg	ig	10	59.4 \pm 22.1**	42.41
	200mg	ig	10	73.7 \pm 25.2**	28.48
芹菜籽提取物	100mg	ig	10	70.6 \pm 15.6**	31.51
	50mg	ig	10	80.5 \pm 14.9**	21.91

[0064] 与对照组相比,**P<0.01

[0065] 实施例5:

[0066] 芹菜籽提取物体外黄嘌呤氧化酶抑制率实验:

[0067] 实施例1的芹菜籽提取物,取1.00mg,用20 μ L DMSO溶解并用缓冲液稀释至1.0mL,得到1.00mg/mL母液。经过以下步骤,样品测试的终浓度为200.00 μ g/ml。在空白对照组中加入100 μ L焦磷酸钠缓冲液(pH=7.4);阴性对照组先加入60 μ L缓冲液;酶组中加入20 μ L缓冲液和40 μ L酶溶液(2.5U/L);样品测定组加入20 μ L样品和40 μ L酶溶液(2.5U/L);样品阴性对照组加入20 μ L样品溶液和40 μ L缓冲液;阳性对照组中加入20 μ L别嘌呤溶液(50 μ M)和40 μ L酶溶液(2.5U/L)。加样完成后,将其放入恒温箱中在25 $^{\circ}$ C下孵育15分钟。孵育完成后,除了空白对照组,其余均加入40 μ L黄嘌呤溶液(400 μ M),每组的终体积为0.1mL,并立即在295nm波长进行动态法测定,读取时间为30分钟,5分钟/次,平行测定三次。

[0068] 黄嘌呤氧化酶抑制率计算公式:(Δ 酶— Δ 样/ Δ 酶— Δ 阴) \times 100%,通过计算来检测受试样品的黄嘌呤氧化酶抑制率活性强弱,芹菜籽提取物对黄嘌呤氧化酶抑制率为45.32% \pm 8.94%($x\pm sd$),具有显著的抑制活性。

[0069] 实施例6:

[0070] HPLC检测芹菜籽提取物中Graveobioside A的含量:

[0071] 色谱条件为岛津LC-2010AHT高效液相色谱仪,SHIMADZU(5 μ m,VP-ODS,150L \times 4.6)色谱柱,检测波长345nm,流速为0.8ml/min,柱温30 $^{\circ}$ C,流动相为乙腈:0.05%甲酸水溶液(19:81)。

[0072] 对照品配制:精密称取对照品Graveobioside A 5.00mg,置于10ml的容量瓶中,用50%的乙醇超声溶解,并定容至刻度,以0.45 μ m滤膜过滤。供试品配制:精密称取实施例1的芹菜籽提取物25.00mg,置于10ml的容量瓶中,用50%的乙醇超声溶解,并定容至刻度,以0.45 μ m滤膜过滤。

[0073] Graveobioside A结构式见图1,Graveobioside A对照品及芹菜籽提取物色谱图见图2、图3。经四次平行测定芹菜籽提取物中的Graveobioside A,根据外标法计算含量,Graveobioside A对照品的峰面积为5345953,杂质峰的峰面积为205175,其纯度为96.30%。芹菜籽提取物中Graveobioside A四次检测峰面积为2532486、2439593、2256169、2228582,平均值为2364207(RSD%),Graveobioside A含量平均值为9.519 \pm 0.28%($\pm sd$)。

[0074] 实施例7:

[0075] 按实施例1的方式先获得芹菜籽提取物,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3~5片/次,3次/日。

[0076] 实施例8:

[0077] 按实施例1的方式先获得芹菜籽提取物,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2~4片/次,2次/日。

[0078] 实施例9:

[0079] 按实施例1的方式先获得芹菜籽提取物,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3~6粒/次,3次/日。

[0080] 实施例10:

[0081] 按实施例1的方式先获得芹菜籽提取物,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2~4粒/次,3次/日。

[0082] 实施例11:

[0083] 按实施例1的方式先获得芹菜籽提取物,按常规口服液的制法制成口服液。治疗高尿酸血症和痛风5~20ml粒/次,2-3次/日。

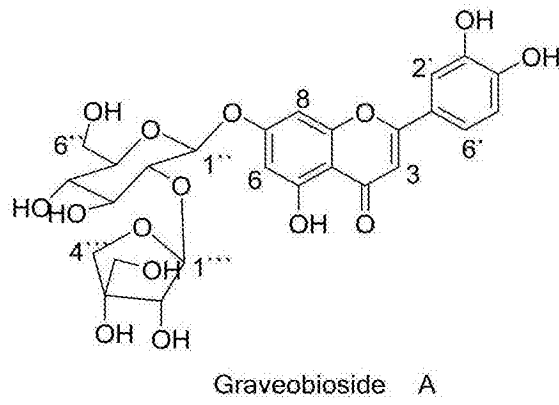


图1

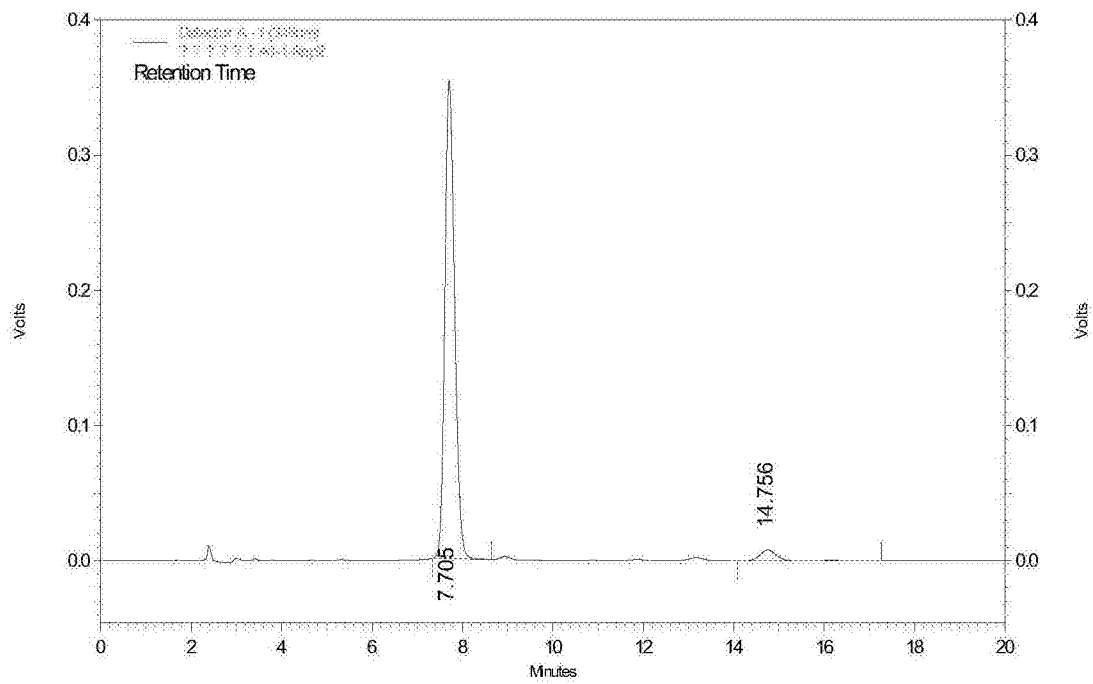


图2

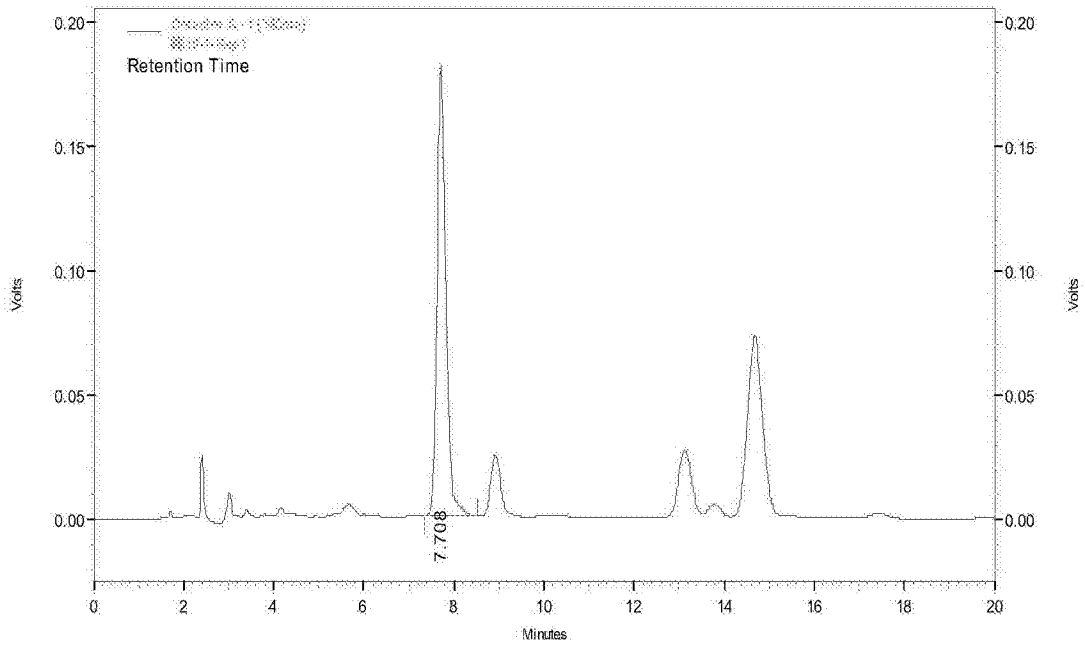


图3