



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106822166 B

(45)授权公告日 2019.11.05

(21)申请号 201710059298.7

A23L 33/105(2016.01)

(22)申请日 2017.01.24

A23L 33/125(2016.01)

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106822166 A

(43)申请公布日 2017.06.13

(73)专利权人 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
专利权人 中南民族大学

(72)发明人 熊文勇 刘吉开 许宇辉 牛艳芬
胡敬

(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 31/7048(2006.01)
A61P 3/06(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)

(56)对比文件

CA 2847250 A1,2015.09.20,
KR 20150109774 A,2015.10.02,
CN 104138417 A,2014.11.12,
Siwaporn Praman等.Hypotensive and
cardio-chronotropic constituents of
Tinospora crispa and mechanisms of action
on the cardiovascular system in
anesthetized rats.《Journal of
Ethnopharmacology》.2012,第140卷(第1期),参
见全文.

白文婷等.藏药宽筋藤的化学成分及其药理
作用研究进展.《中国现代中药》.2016,第18卷
(第12期),参见全文.

审查员 程婷

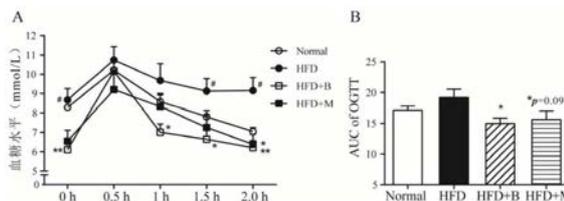
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种防治糖尿病和高脂血症的药物及其在
制药中的应用

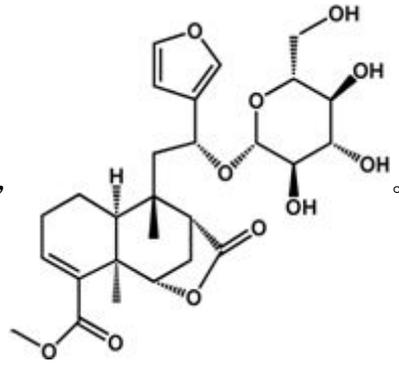
(57)摘要

本发明涉及borapetoside E防治糖尿病和
高脂血症的新用途。通过研究发现:化合物
borapetoside E可以明显降低高脂饮食(HFD)
诱导小鼠的血糖和血脂水平并改善其胰岛
素敏感性。40mg/kg剂量的降血糖和降血
脂作用优于200mg/kg二甲双胍。此外,其
降血糖作用持续时间长于200mg/kg二甲
双胍,40mg/kg单次给药停药后其降血糖
效果持续至第36小时,给药5次停药后持
续至第4天。该治疗剂量下Borapetoside
E无毒副作用,小鼠连续给药16天后血清
谷丙转氨酶水平显著降低,血清谷草转氨
酶、肌酸激酶及肌酐未出现显著变化,可
以用于制备防治糖尿病的药物、保健品及
功能食品。



1. 如下结构式所示的化合物borapetoside E作为唯一活性成分在制备治疗和预防高

脂血症的药物中的应用，



一种防治糖尿病和高脂血症的药物及其在制药中的应用

技术领域：

[0001] 本发明涉及化合物borapetoside E及以该化合物作为活性成分的药物组合在防治糖尿病和高脂血症方面的新用途,属于医药技术领域。

技术背景：

[0002] 据国际糖尿病联盟估计,2013年,全球糖尿病患者已经升至3.8亿,其中超过90%为2型糖尿。二型糖尿病患者的主要症状是高血糖、高血脂及胰岛素抵抗等,这也是导致白内障、感染、脂肪肝、心血管疾病、糖尿病足,甚至死亡等的主要原因。糖尿病已经严重影响了人们的生活质量,造成了大量的医疗花费。因此,除了通过运动和饮食的控制,寻找治疗糖尿病的药物依然是目前药学研究的热点。

[0003] 波叶青牛胆属于防己科植物,其广泛分布于中国南方、柬埔寨、印度、印度尼西亚、老挝、马来西亚、缅甸、菲律宾以及泰国等区域。波叶青牛胆是一种传统的药用植物,在古代就被广泛运用于治疗糖尿病,炎症等多种疾病。波叶青牛胆中含有大量的克罗烷型二萜类化合物。上世纪80年代,日本科学家首次从该植物的茎中提取到了一类克罗烷二萜糖苷类化合物,包括borapetoside A-H 8个单体化合物。但是关于borapetoside E治疗糖尿病和高脂血症的药理作用未见报道。本发明发现borapetoside E具有显著降血糖作用,其作用机制可能与改善胰岛素抵抗有关;同时其能够显著改善HFD小鼠的高脂血症。

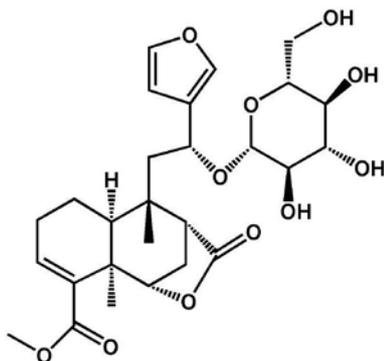
发明内容：

[0004] 本发明的目的在于提供一种化合物borapetoside E或含有该化合物为主要活性成分的药物组合物用于制备防治糖尿病和高脂血症的药物、保健品和功能食品中的新用途。经过大量多次的独立重复试验,本发明发现borapetoside E能够显著改善HFD小鼠的高糖血症,其降血糖作用机制可能与改善胰岛素抵抗有关,并且其同时也能改善HFD小鼠的高脂血症。

[0005] 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：

[0006] 如下结构式所示的化合物borapetoside E在制备治疗和预防糖尿病和高脂血症的药物、保健品或功能食品中的应用,

[0007]



[0008] 如所述的应用,其中化合物borapetoside E通过明显降低高脂饮食诱导小鼠的血

糖和血脂水平并改善其胰岛素敏感性,达到治疗和预防糖尿病和高脂血症。

[0009] 本发明同时提供了用于治疗 and 预防糖尿病和高脂血症的药物组合物、保健品或功能食品,其中含有治疗有效量的化合物borapetoside E及其在药学上可接受的盐及其载体。

[0010] 本发明还提供了所述的药物组合物在制备治疗和预防糖尿病和高脂血症的药物、保健品或功能食品中的应用。

[0011] 通过研究发现:化合物borapetoside E可以明显降低高脂饮食(HFD)诱导小鼠的血糖和血脂水平并改善其胰岛素敏感性。40mg/kg剂量的降血糖作用和降血脂作用优于200mg/kg二甲双胍。此外,其降血糖作用持续时间长于200mg/kg二甲双胍,40mg/kg单次给药停药后其降血糖效果持续至第36小时,给药5次停药后持续至第4天。该治疗剂量下Borapetoside E无毒副作用,小鼠连续给药16天后血清谷丙转氨酶水平显著降低,血清谷草转氨酶、肌酸激酶及肌酐未出现显著变化,可以用于制备防治糖尿病的药物、保健品及功能食品。

[0012] 本发明化合物用作药物时,可以直接使用,或者以药物组合物的形式使用。也可以与其他药物组成复方的形式使用,该药物组合物含有0.1~99%,优选为0.5~90%的本发明化合物,其余为药物学上可接受的,对人和动物无毒和惰性的药物制剂常用的药用载体和/或赋形剂。将本发明的药物组合物以单位体重服用量的形式使用。可以使用不同的药用辅料,制成固体制剂(片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂等)或液体制剂(注射剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂等)。本发明的药物可经口服和注射(静脉注射、静脉滴注、肌肉注射、皮下注射、腹腔注射等)形式给药。

附图说明:

[0013] 图1.为Borapetoside E降血糖作用持续时间示意图;

[0014] 其中,(A)给药1次后停药小鼠血糖随时间变化。(B)给药5次后停药小鼠血糖随时间变化。Normal,正常饮食对照组;HFD,高脂饮食组;B,40mg/kg borapetoside E;M,200mg/kg二甲双胍。组间比较使用独立样本T检验,误差线为标准误,n=6-7。与HFD组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与Normal组比较,# $P < 0.05$,### $P < 0.01$ 。

[0015] 图2.为Borapetoside E改善小鼠胰岛素治疗指数和肝脏Akt的磷酸化水平示意图;

[0016] 其中,(A-C)分别为小鼠空腹血糖水平,空腹胰岛素水平以及胰岛素敏感指数,n=6。(D)小鼠肝脏p-Akt水,n=6-7。Normal,正常饮食对照组;HFD,高脂饮食组;B,40mg/kg borapetoside E;M,200mg/kg二甲双胍。组间比较使用独立样本T检验,误差线为标准误。与HFD组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与Normal组比较,# $P < 0.05$,### $P < 0.01$ 。

[0017] 图3为Borapetoside E改善小鼠口服糖耐量示意图;

[0018] 其中,(A)Borapetoside E对小鼠口服糖耐量的影响。(B)A图曲线下面积。Normal,正常饮食对照组;HFD,高脂饮食组;B,40mg/kg borapetoside E;M,200mg/kg二甲双胍。组间比较使用独立样本T检验,误差线为标准误,n=6,与HFD组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与正常饮食组比较,# $P < 0.05$,### $P < 0.01$ 。

具体实施方式：

[0019] 下面结合附图，用本发明的下述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。

[0020] 实施例1：

[0021] 波叶青牛胆藤采集于2012年采于云南思茅，干重15千克，粉碎，用95%乙醇室温下冷浸提取三次（每次25升），每次5天。减压回收浓缩得到提取物1100克，进行硅胶柱层析，用石油醚/丙酮混合溶剂梯度洗脱（99:1至0:100），得到A-G 7个组分。组分E（180克）再进行硅胶柱层析，用氯仿/甲醇混合溶剂梯度洗脱（40:1至5:1）得到三个组分E1-E3。组分E1通过Sephadex LH-20柱反复层析，甲醇洗脱，得到5.3克纯化合物borapetoside E。化合物结构的鉴定通过波谱数据的比较和解析确定。

[0022] 1、Borapetoside E对高脂饮食（HFD）诱导小鼠高糖血症的影响

[0023] 3-4周健康雄性C57BL/6J小鼠，购于中国医学科学院医学实验动物研究所，实验动物生产许可证号：SCXK 2014-0004。动物饲养于无菌条件：室温为22-25℃，相对湿度60~70%，动物自由饮水摄食。其中模型组动物给予45%高脂饲料喂养20周，正常组给予普通饲料。20周后将高脂饮食（HFD）诱导小鼠按照初始血糖均等分为模型组，20mg/kg borapetoside E组，40mg/kg borapetoside E组以及200mg/kg二甲双胍组。根据分组给予相应剂量的化合物，其中二甲双胍溶于含1.5% DMSO的生理盐水进行灌胃给药，borapetoside E先溶于DMSO，再将其与生理盐水混溶后进行腹腔给药（DMSO含量为1.5%），其他各组腹腔给予含1.5% DMSO的生理盐水，一天给药2次，连续给药3次后使用试剂盒（上海荣盛）检测小鼠血糖值。

结果如表1所示，HFD小鼠血糖高于正常饮食组动物，20或40 mg/kg的 borapetoside E 给药3次后能显著降低HFD小鼠的高糖血症，并且40 mg/kg剂量的作用优于二甲双胍。

表 1. Borapetoside E 对高脂饮食诱导小鼠血糖水平的影响

组别	剂量	血糖
	mg/kg	mmol/L
[0024] Normal	1.5% DMSO	6.46±1.13
HFD	1.5% DMSO	7.47±1.18
HFD+B	20 mg/kg	6.11±0.87*
HFD+B	40 mg/kg	5.24±0.74**
HFD+M	200 mg/kg	5.67±0.73**

[0025] 注：Mean±SD, n=9-10。Normal, 正常饮食对照组；HFD, 高脂饮食组；B, borapetoside E；M, 二甲双胍。各组均与HFD组比较，*P<0.05, **P<0.01, 不同剂量borapetoside E与HFD组比较使用单因素方差分析，两组间比较使用独立样本T检验。实验在不同群体动物中独立重复三次。

[0026] 2、Borapetoside E降血糖作用持续时间研究

[0027] 小鼠饲养及造模方式同前所述。分别在给药1次和5次后停药，并在不同时间点检测各组小鼠的血糖。实验独立重复2次，研究结果提示，停药后，40mg/kg borapetoside E的降血糖作用持续时间明显长于二甲双胍组。其中borapetoside E给药1次后，其降血糖作用能持续至第36小时（图1.A），给5次后其降血糖作用能持续至第4天（图1.B），时间长于二甲

双胍。

[0028] 3、Borapetoside E改善小鼠胰岛素抵抗

[0029] (1) Borapetoside E改善小鼠胰岛素治疗指数

[0030] HFD小鼠造模及饲养方式同前所述。第4次给药后禁食不禁水12小时。禁食完成后给药第5次,并于给药2小时后取血检测小鼠空腹胰岛素及血糖水平,以此计算小鼠胰岛素敏感指数(IRI,insulin sensitive index), $IRI=1/(\text{空腹血糖值} \times \text{空腹胰岛素值})$ 。实验结果显示borapetoside E显著降低了HFD小鼠空腹血糖水平及空腹胰岛素水平,IRI得到显著改善(图2.A-C)。

[0031] (2) Borapetoside E增加小鼠肝脏Akt的磷酸化水平

[0032] 另取同样造模处理的小鼠,分组与之相同,给药5次,2次每天,末次给药后2小时处死动物(处死前禁食4小时),取动物肝脏,使用9倍体积的蛋白裂解液(碧云天生物科技有限公司)充分匀浆后于4℃12000转/分离心15分钟,取上清裂解液进行蛋白免疫印记(western blot)实验,检测磷酸化Akt(p-Akt)及总Akt(均购于美国CST公司)水平。实验结果显示borapetoside E显著改善了HFD小鼠肝脏p-Akt水平(图2.D)。由此说明borapetoside E能够显著改善高脂诱导小鼠的胰岛素抵抗状态。

[0033] (3) Borapetoside E改善小鼠口服糖耐量

[0034] 高脂饮食诱导小鼠造模、饲养方式及分组同前所述。动物给药5次,2次每天,末次给药2小时(borapetoside E)或1小时(二甲双胍)后口服给予葡萄糖(2g/kg),给葡萄糖前禁食不禁水4小时,给予葡萄糖后分别于第0,0.5,1,1.5及2小时取小鼠尾尖血,用试剂盒检测其血糖值。结果显示borapetoside E显著改善了HFD小鼠的口服糖耐量(图3)

[0035] 4、Borapetoside E对高脂饮食(HFD)诱导小鼠高脂血症的影响

[0036] 与实施方式1同样造模及分组小鼠,5次给药后通过摘除眼球取血,3000转/分离心10分钟,取上层血清,用试剂盒(中生北控)检测血脂含量,包括甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHO)、低密度胆固醇(HDL-c)以及游离脂肪酸(FFA)(南京建成)。

[0037] 实验结果如表2所示,HFD动物的血脂含量显著高于正常饮食组,而40mg/kg剂量的borapetoside E能显著改善HFD小鼠的高脂血症,效果优于二甲双胍。

[0038] 表2.Borapeoside E对高脂饮食诱导小鼠血脂影响

[0039]

血脂参数 (mmol/L)	Normal 1.5% DMSO	HFD 1.5% DMSO	HFD+B 20 mg/kg	HFD+B 40 mg/kg	HFD+M 200 mg/kg
TG	0.94±0.17	1.31±0.48 [#]	1.09±0.27	0.50±0.12 ^{**}	0.97±0.19 [*]
CHO	1.19±0.54	4.56±1.01 ^{##}	3.80±0.98	2.24±0.75 ^{**}	4.47±0.80
LDL-c	0.93±0.31	2.54±0.87 ^{##}	2.21±0.63	1.65±0.50 [*]	2.93±0.58
FFA	1.01±0.23	1.41±0.30 ^{##}	1.39±0.17	0.82±0.12 ^{**}	1.18±0.20 [*]

[0040] 注:Mean±SD,n=9-10.与HFD组比较,*P<0.05,**P<0.01;与Normal组比较,[#]P<0.05,^{##}P<0.01。不同剂量borapetoside E与模型组比较使用单因素方差分析,两组间比较使用独立样本T检验。Normal,正常饮食对照组;HFD,高脂饮食组;B,borapetosideE;M,二甲双胍。

[0041] 5、Borapetoside E安全性评价

[0042] HFD动物分组方式同前所述,动物每天给药2次持续5次;5次给药后继续每天给药一次,持续至第16天。于末次给药后2小时取动物血清,使用试剂盒(南京建成)检测小鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酐(Creatinine)及肌酸激酶(CK)含量。

[0043] 结果如表3所示40mg/kg borapetoside E能够改善HFD小鼠血清AST的水平,同时ALT水平也轻微降低。此外,小鼠血清肌酐及肌酸激酶不受影响,结果提示该治疗剂量下,borapetoside E并未对小鼠产生毒性反应。

[0044] 表3.borapetoside E安全性评价

[0045]

	ALT IU/L	AST IU/L	Creatinine umol/L	CK U/L
Normal (1.5% DMSO)	14.57 ± 3.79	7.62 ± 2.10	103.53 ± 16.45	456.11 ± 143.20
HFD (1.5% DMSO)	20.49 ± 4.50 [#]	15.14 ± 3.84 ^{##}	100.67 ± 17.20	551.93 ± 126.48
HFD+B (40 mg/kg)	15.75 ± 4.97	8.61 ± 2.62 ^{**}	86.37 ± 17.32	520.40 ± 182.40

[0046] 注:Mean ± SD, n=6. 与HFD组比较,*P<0.05,**P<0.01;与Normal组比较,[#]P<0.05,^{##}P<0.01。两组间比较使用独立样本T检验。Normal,正常饮食对照组;HFD,高脂饮食组;B,borapetoside E 40mg/kg。

[0047] 实施例2:

[0048] 保健食品的制备:

[0049] 取borapetoside E 15.5毫克,加入淀粉200毫克,乳糖66.6毫克,薄荷醇1毫克,羧甲基淀粉钠50.6毫克,制成含片,作为保健食品。

[0050] 实施例3:

[0051] 注射液制剂的制备:

[0052] 按实施例1的方法先得到本发明的化合物borapetoside E 50mg,将其溶解于2毫升丙二醇中,过滤所得溶液在无菌条件下装入安瓿瓶中。

[0053] 实施例4:

[0054] 粉剂的制备:

[0055] 按实施例1的方法先得到本发明的化合物borapetoside E,与赋形剂重量比为9:1的比例加入赋形剂,制成粉剂。

[0056] 实施例5:

[0057] 片剂的制备:

[0058] 按实施例1的方法先得到本发明的化合物borapetoside E,按其与赋形剂重量比为1:5-1:10的比例加入赋形剂,制粒压片。

[0059] 实施例6:

[0060] 口服液制剂的制备:

[0061] 按实施例1的方法先得到本发明的化合物borapetoside E,按常规口服液制法制

成口服液。

[0062] 实施例7:

[0063] 胶囊剂、颗粒剂、或冲剂的制备:

[0064] 按实施例1的方法先得到本发明的化合物borapetoside E,按其与赋形剂重量比为5:1的比例加入赋形剂,制成胶囊或颗粒剂或冲剂。

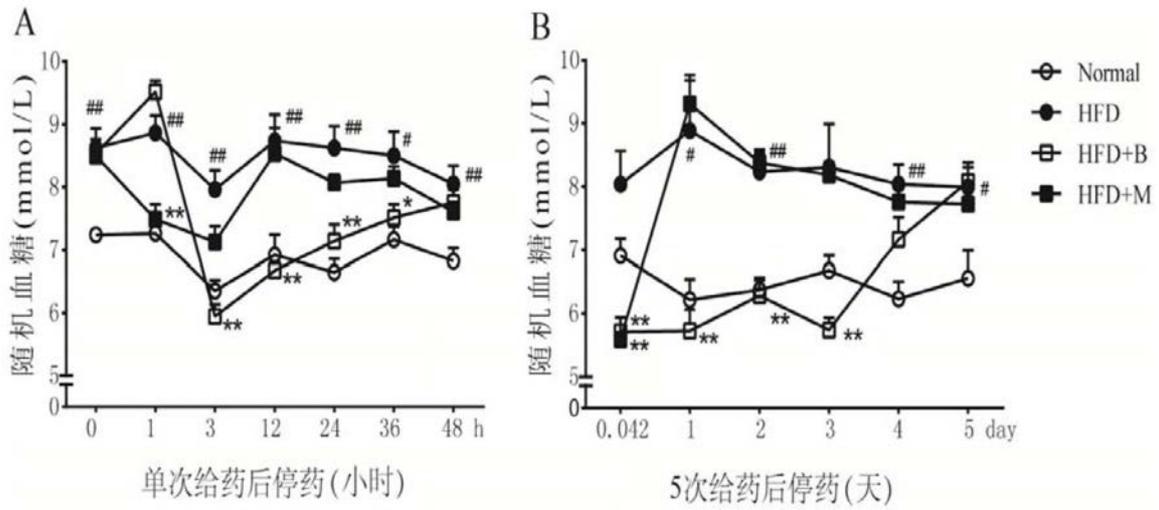


图1

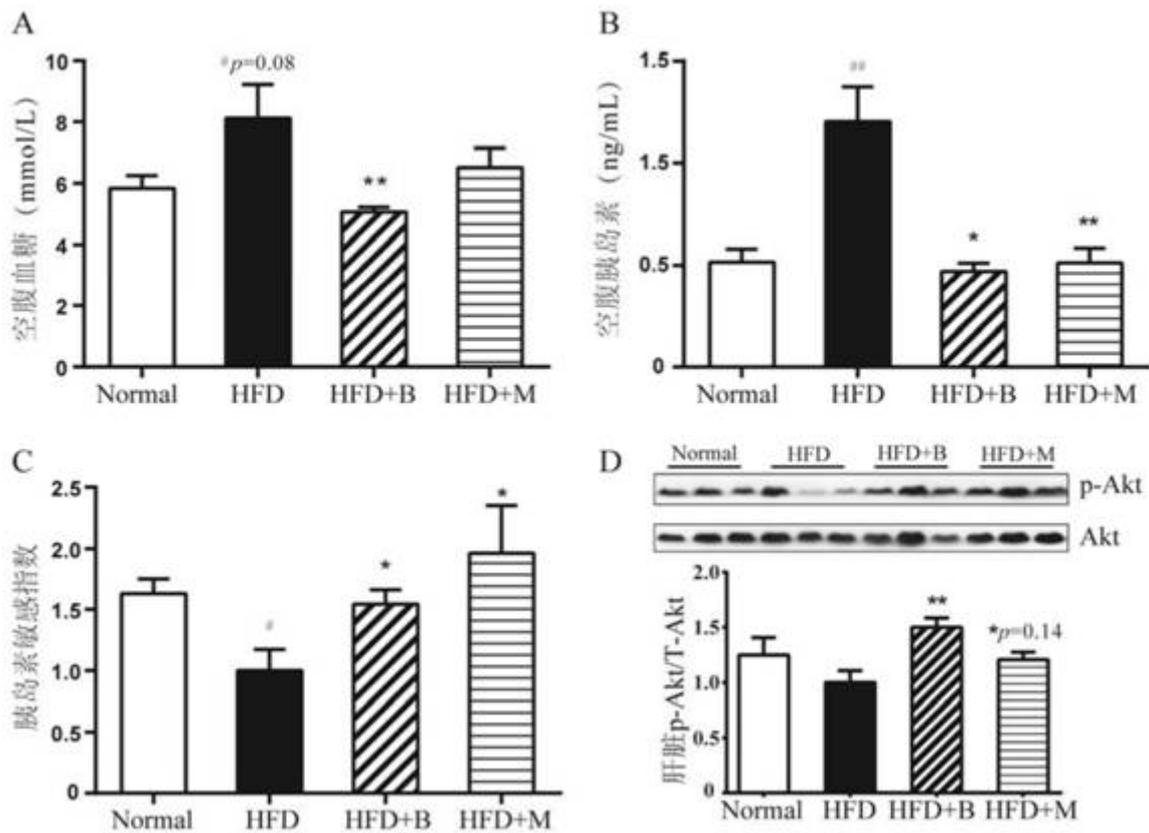


图2

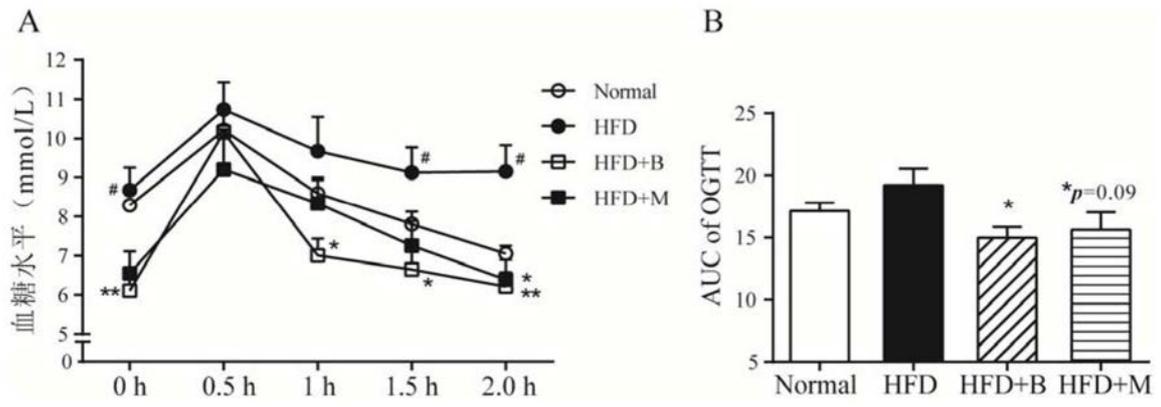


图3