

一种治疗代谢综合征的中药组合物及其制剂

技术领域

本发明属于医药技术领域，具体涉及一种中药组合物及其制剂。

背景技术

代谢综合征是以糖耐量受损、高血压、血脂异常、中心性肥胖为主要内涵，以胰岛素抵抗为共同病理基础，以多种代谢性疾病集结为临床特点的一组严重影响人类健康的临床症候群。目前，全世界有 1/4-1/3 成人受到代谢综合征的影响，随着人口老龄化和超重/肥胖的流行，其发病率/患病率逐年升高。在过去 20 年内，美国成年人代谢综合征的患病率从 21% 上升至 39%。我国 20 岁以上成年人群中，以 WHO 和 NCEP-ATPIII 标准分别进行诊断，代谢综合征的患病率分别为 14%-18% 和 12%-21%。代谢综合征者发生心血管事件及中风的患病率及死亡率是非代谢综合征患者的 2-3 倍，有代谢综合征的非糖尿病者发生 2 型糖尿病的危险是无代谢综合征者的 5 倍。在代谢综合征人群中，有糖代谢异常的约为 45% 左右，有血脂异常的为 80% 以上，有血压升高的约为 90%。目前，西医控制代谢综合征主要采用多种药物联合应用，价格昂贵、服用不便、副作用较大；中药也没有开发出有效的方药。由于代谢综合征的复杂性，国际上至今尚无专门治疗代谢综合征的药物问世，开展代谢综合征的新药临床研究具有划时代的意义。本发明将填补国际上此领域的空白。

发明内容

本发明的目的之一是提供一种中药组合物，其特征在于，所属中药组合物包括黄连、枳实、半夏、瓜蒌、肉桂、红曲。

组合物中枳实优选麸炒枳实，半夏优选姜炙半夏，瓜蒌优选全瓜蒌。优选的，所述组合物包括黄连 5-80%、枳实 5-70%、半夏 0-60%、瓜蒌 0-40%、肉桂 2-12%、红曲 10-60%（重量比），更优选地，所述组合物包括黄连 10-30%、枳实 10-30%、半夏 10-30%、瓜蒌 5-30%、肉桂 2-10%、红曲 12-36%（重量比）。最优选的，所述中药组合物中优选的比例组合为黄连 19.6%、枳实 19.6%、半夏 19.6%、瓜蒌 26.1%、肉桂 2.1%、红曲 13.0%（重量比）。

本发明的目的之二是提供一种中药组合物，其特征在于，所述组合物包括黄

连、枳实、红曲、以及任选存在的由半夏、瓜蒌、肉桂组成的组中的一种或多种。
所述多种包括 1、2、3 种。

所述组合物中包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 0-60 重量%、瓜蒌 0-40 重量%、肉桂 0-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述组合物包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 0-60 重量%、瓜蒌 5-40 重量%、肉桂 2-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述组合物包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 10-60 重量%、瓜蒌 0-40 重量%、肉桂 2-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述组合物包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 10-60 重量%、瓜蒌 5-40 重量%、肉桂 0-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述组合物包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 0-60 重量%、瓜蒌 0-40 重量%、肉桂 2-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述组合物包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 0-60 重量%、瓜蒌 5-40 重量%、肉桂 0-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述组合物包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 10-60 重量%、瓜蒌 0-40 重量%、肉桂 0-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述枳实优选麸炒枳实，半夏优选姜炙半夏，瓜蒌优选全瓜蒌。

本发明的另一目的是提供一种中药提取物组合物，其特征在于，由黄连、枳实、半夏、瓜蒌、肉桂、红曲六味中药材的提取物混合而成，提取物的组成比例为：黄连总生物碱提取物（简称黄连提取物）占 2-30%，枳实、半夏、红曲（其中 10-100%提取，0-90%粉碎成细粉做崩解剂或填充剂，下同）、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物占 70-98%。优选的，黄连提取物占 3-25%，枳实、半夏、红曲、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物占 75-97%。最优选的，黄连提取物占 5-15%，枳实、半夏、红曲、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物占 85-95%。

将枳实、半夏、红曲、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物或者五味中药单独提取物及 0-90%的红曲细粉与黄连提取物混合均匀即得中药提取物组合物。

所述的中药提取物组合物中，活性成分的含量为（mg/g）：总生物碱为（盐酸小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀四种生物碱总和，下同）6-122，其中含小檗碱为 4-89；总黄酮（新橙皮苷、橙皮苷、柚皮苷三种黄酮苷总和，下

同) 为 30-315, 其中含新橙皮苷 20-186; 洛伐他汀为 0.5-9。

所述的中药提取物组合物中, 活性成分的含量为(mg/g): 总生物碱为 12-122, 其中含小檗碱为 9-89, 总黄酮为 130-315, 其中含新橙皮苷为 80-186, 洛伐他汀为 1-9。

所述的中药提取物组合物中活性成分的含量进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 20-85, 其中含小檗碱为 15-62; 总黄酮为 140-250, 其中含新橙皮苷 90-170; 洛伐他汀为 1-5。

所述的中药提取物组合物中活性成分的含量更进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 30-75, 其中含小檗碱为 20-50; 总黄酮为 110-250, 其中含新橙皮苷 60-120; 洛伐他汀为 1-5。

所述的中药提取物组合物中活性成分的含量进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 20-85, 其中含小檗碱为 15-62; 总黄酮为 100-250, 其中含新橙皮苷 30-170; 洛伐他汀为 1-5。

所述的中药提取物组合物中活性成分的含量更进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 30-75, 其中含小檗碱为 20-50; 总黄酮为 110-250, 其中含新橙皮苷 40-120; 洛伐他汀为 1-5。

本发明的另一目的是提供一种中药提取物的制备方法, 其特征在于黄连经酸水提取、过滤、浓缩、碱沉、盐析、过滤、干燥、粉碎制得总生物碱提取物。红曲处方量 10-100% 的红曲、枳实、半夏、肉桂四味药经 50-90% 乙醇提取, 过滤; 瓜蒌经 75-95% 的乙醇提取, 将瓜蒌提取液与上述四味中药材提取液合并, 回收乙醇, 减压浓缩, 干燥, 粉碎, 制得枳实、半夏、红曲、肉桂、瓜蒌五味中药混合提取物; 或者红曲、枳实、半夏、肉桂、瓜蒌五味中药混合, 经 50-90% 乙醇提取, 过滤, 减压回收乙醇, 浓缩, 干燥, 粉碎, 制得红曲、枳实、半夏、肉桂、瓜蒌五味中药混合提取物; 或者将每味中药材分别单独经 50-90% 乙醇提取, 过滤, 分别制得单味中药乙醇提取液, 然后将五味中药单独制得的乙醇提取液过滤, 减压回收乙醇, 浓缩, 干燥, 粉碎, 分别制得红曲、枳实、半夏、肉桂、瓜蒌五味中药单独提取物; 将以上五味中药单独提取物混合得五味中药混合提取物; 将以上黄连提取物、五味中药混合提取物混合得中药提取物组合物。

所述的组合物中, 黄连经 0.1-1% 硫酸水提取, 过滤, 滤液浓缩, 加氢氧化钙

碱沉，除去沉淀，取滤液用盐酸调 pH 值至酸性并加入氯化钠盐析沉淀，分离沉淀物，水洗，过滤，干燥，粉碎，制得黄连提取物。

所述的组合物红曲处方量 10-100% 的红曲、枳实、半夏、肉桂四味药经 50-90% 乙醇提取，过滤；瓜蒌经 75-95% 的乙醇提取，将瓜蒌提取液与上述四味中药材提取液合并，回收乙醇，减压浓缩，干燥，粉碎，制得枳实、半夏、红曲、肉桂、瓜蒌五味中药混合提取物；

所述的组合物中红曲、枳实、半夏、瓜蒌、肉桂五味中药混合，经 50-90% 乙醇提取，过滤，减压回收乙醇，浓缩，干燥，粉碎，制得枳实、半夏、瓜蒌、肉桂、红曲五味中药混合提取物。或者将每味中药材分别单独经 50-90% 乙醇提取，过滤，分别制得单味中药乙醇提取液，然后将五味中药单独制得的乙醇提取液过滤，减压回收乙醇，浓缩，干燥，粉碎，混合，制得枳实、半夏、肉桂、红曲、瓜蒌五味中药单独提取物。所述的中药混合提取物或单独提取物中的枳实、半夏、肉桂、红曲、瓜蒌五味中药乙醇提取时，优选 60-85% 乙醇的提取。

将以上五味中药混合提取物或者五味中药单独提取物或者瓜蒌提取物、枳实、半夏、红曲、肉桂四味药材提取物以及作为片剂崩解剂或填充剂的 0-90% 的红曲细粉与黄连提取物混合得中药提取物组合物。

本发明的另一目的是提供一种包含的服用剂量中药组合物。

本发明所述中药组合物，其特征在于每日的服用剂量为，黄连 1.5-9g、枳实 1.5-9g、半夏 0-12g、瓜蒌 0-12g、肉桂 0-5g、红曲 1.5-30g；优选的服用剂量为黄连 3-6g、枳实 3-6g、半夏 3-6g、瓜蒌 0-6g、肉桂 0.5-2.5g、红曲 1.5-6g；更优选的服用剂量为黄连 4.5g、枳实 4.5g、半夏 4.5g、瓜蒌 6g、肉桂 0.5g、红曲 3g。

本发明的另一目的是提供一种包含的服用剂量中药提取物药物组合物。

根据本发明所述的中药提取物组合物，其特征在于提取物服用的剂量是每日 1-15g，优选的服用剂量是每日 2-10g，更优选的服用剂量是每日 3-6g。

所述的中药提取物组合物，其特征在于提取物含活性成分的量（mg）：总生物碱为 6-122，其中含小檗碱为 4-89；总黄酮为 30-315，其中含新橙皮苷 20-186；洛伐他汀为 0.5-9。

进一步的，总生物碱为 12-122，其中含小檗碱为 9-89；总黄酮为 130-315，其中含新橙皮苷 80-186；洛伐他汀为 1-9。

进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 20-85, 其中含小檗碱为 15-62; 总黄酮为 100-250, 其中含新橙皮苷 30-170; 洛伐他汀为 1-5。更进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 30-75, 其中含小檗碱为 20-50; 总黄酮为 110-250, 其中含新橙皮苷 40-120; 洛伐他汀为 1-5。

进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 20-85, 其中含小檗碱为 15-62, 总黄酮为 140-250, 其中含新橙皮苷 90-170; 洛伐他汀为 1-5; 更进一步优选为 (mg/g): 总生物碱为 30-75, 其中含小檗碱为 20-50; 总黄酮为 110-250, 其中含新橙皮苷 60-120; 洛伐他汀为 1-5。

发明详述

现代研究综述。

黄连: 黄连中主要成分为盐酸小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀等。具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗菌、抗病毒等作用。

枳实: 枳实中主要成分为黄酮类和生物碱类, 主要有效成分为柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷和辛弗林等。具有改善胃肠功能、抗血栓, 加强心肌收缩等作用。

瓜蒌: 瓜蒌中的主要有效成分为瓜蒌皂苷和黄酮。具有祛痰、抗菌、保护心肌缺血、抗衰老等作用。

半夏: 姜半夏的主要有效成分为 6-姜酚和生物碱等。具有降压、镇咳等作用。

肉桂: 肉桂中肉桂酸和桂皮醛。具有镇静、降压等作用。

红曲: 红曲类的主要有效成分为洛伐他汀。具有降血脂作用, 对免疫有非特异的增强作用, 能提高吞噬细胞的吞噬率, 增加抗体的产生, 改善 T 细胞功能。

方解: 代谢综合征因过食膏粱厚味, 痰浊化热, 相互搏结, 凝聚于中焦所致。方中黄连味苦性寒, 归心、胃、大肠经, 功能清热泻火, 开腹部之痞结, 善解胃热消渴, 《用药类法象》云黄连: “泻心火, 除脾胃中湿热, 治烦躁恶心, 郁热在中焦, 兀兀欲吐。治心下痞满必用药也”, 心下胃也, 心下痞满与仲景小陷胸汤“心下痞, 按之则痛”, 与代谢综合征肚腹硕大, 按之较硬, 具有类似的特征, 故为君药。

姜半夏辛温, 归脾、胃、肺经, 化痰消痞, 散腹部痰结, 降逆止呕, 《别录》说半夏: “消心腹胸膈痰热满结, 咳嗽上气, 心下急痛坚痞, 时气呕逆”; 半夏与黄连合用, 一辛一苦, 辛开苦降, 同走中焦, 清热化痰, 散结消痞。全瓜蒌苦寒,

归肺胃经，功能清热化痰，开痹散结，行气润肠，代谢综合征腹部坚实，非瓜蒌不散不通。半夏与瓜蒌相伍，润燥相得，清热涤痰；瓜蒌与黄连配伍，善走中焦，苦而不燥，苦而能下，开中焦之痰结，三味组合取“小陷胸汤”之意。枳实实行大腹之气，有推墙倒壁之功，行气力强，《别录》云枳实“所主除胸胁痰癖，逐停水，破结实，消胀满，心下急痞痛，逆气”。《药品化义》：“枳实专泄胃实，开导坚结，故主中脘以治血分，疔脐腹间实满，消痰癖，祛停水，逐宿食，破结胸，通便闭，非此不能也”。代谢综合征腹部坚实，非枳实不开。姜半夏、全瓜蒌、炒枳实三者共为臣药。黄连之苦以泻之，半夏之辛以散之，瓜蒌之苦润以涤之，枳实之苦以行之。张洁古云“治心下痞及宿食不消，并用枳实、黄连”。

红曲甘温无毒，归肝、脾胃、大肠经，消食和胃，善消脂浊肉积，活血化瘀，《本草衍义补遗》云红曲：“活血消食，健脾暖胃”，《本草求原》指出红曲：“粳米饭加酒曲窖造，变为真红，能走营气以活血，燥胃消食。凡七情六欲之病于气以致血涩者，皆宜佐之”，故取红曲为佐药。

肉桂辛温能散，散中焦之结滞。《玉楸药解》：“肉桂，温暖条畅，大补血中温气。香甘入土，辛甘入木，辛香之气，善行滞结，是以最解肝脾之郁”。与黄连配伍，一升一降，辛开苦降，泻火扶土，寒热并用，相辅相成，既可防黄连苦寒伤中，又可散结，生发津液，故为使药。

全方相伍，共凑清热化痰，行气散满之功，用于痰热中阻所致体胖、腹大，胸闷痰多，脘腹胀满，口干、口渴、多饮，易饥饿，急躁易怒，面色红油光，夜卧打呼噜，大便粘腻不爽或干结，小便色黄，舌红、苔黄白，脉滑硕；西医属于高血脂、糖尿病、高血压、肥胖、代谢综合征（腹型肥胖伴血糖、糖化血红蛋白、血压、血脂及尿酸异常）等患者。药效试验以具有胰岛素抵抗和肥胖特征的自发性2型糖尿病 KK^{AY} 小鼠和高脂饲料喂养的 C57/6J 小鼠为实验动物模型，分别给予本发明的中药组合物 500、1000 和 1500 mg/kg（相当于成人服用本发明中药提取物组合物 3000mg、6000mg、9000mg），考察本发明的中药组合物对胰岛素抵抗、糖脂代谢、血压等代谢综合征相关指标的影响，结果表明有以下作用：（1）降低血糖；（2）降低血胰岛素水平；（3）改善口服葡萄糖耐量异常；（4）降低糖化血红蛋白（HbA1c）；（5）增加胰岛素敏感指数，改善机体胰岛素抵抗；（6）降低血甘油三酯水平，对总胆固醇有降低趋势，降低血压；因此我们将优选的日

服用量定为每日服用本发明的中药提取物组合物约 2-10g。

在药物稳定性研究试验表明，本发明的中药组合物片易于吸潮，对高湿比高温和光照更敏感；高温对桂皮醛含量影响明显；光照对洛伐他汀含量影响明显。在最终包装条件下，即包衣片剂选用铝塑泡罩作为内包装，外套铝箔袋，在温度 $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 $75\% \pm 5\%$ 条件下进行 6 个月的加速试验，本发明的中药组合物片的吸湿增重变化率在 0.5% 以内，在本包装条件下防潮隔湿效果良好。本发明的中药组合物片中盐酸小檗碱和黄连总生物碱，枳实总黄酮和柚皮苷的含量变化很小；洛伐他汀的含量略有变化，含量变化率在 12.23% 以内，主要为异构体互变所致，不影响疗效。

本发明的中药组合物片经过稳定性研究确定：内包材为铝塑泡罩包装；贮藏条件为密封，置干燥处保存；在上述贮藏条件下，制成品稳定，防潮效果良好，有效期暂定两年。

本发明的目的之一是提供一种中药组合物，该组合物具有明确的有效成分、作用机理，有明确的药理活性和临床疗效，质量可控，服用安全。

本发明所采取的技术方案如下：一种中药组合物其特征在于，所属组合物包括黄连、枳实、半夏、瓜蒌、肉桂、红曲。

组合物中枳实优选麸炒枳实，半夏优选姜炙半夏，瓜蒌优选全瓜蒌。

优选的，所述组合物包括黄连 5-80%、枳实 5-70%、半夏 0-60%、瓜蒌 0-40%、肉桂 2-12%、红曲 10-60%（重量比），更优选地，所述组合物包括黄连 10-30%、枳实 10-30%、半夏 10-30%、瓜蒌 5-30%、肉桂 2-10%、红曲 12-36%（重量比）。最优选的，所述中药组合物中优选的比例组合为黄连 19.6%、枳实 19.6%、半夏 19.6%、瓜蒌 26.1%、肉桂 2.1%、红曲 13.0%（重量比）。

本发明提供另外一种技术方案：所述组合物包括黄连、枳实、红曲、以及任选存在的由半夏、瓜蒌、肉桂组成的组中的一种或多种。

所述组合物中包括黄连 5-80 重量%、枳实 5-70 重量%、半夏 0-60 重量%、瓜蒌 0-40 重量%、肉桂 0-12 重量%、红曲 10-60 重量%。

所述中药材组合物服用的剂量是每日 10-50 克，优选的服用剂量是每日 14-38g，更优选的服用剂量是每日 18-25g。

另一方面，本发明提供一种中药提取物组合物，其特征在于，由黄连、枳实、

半夏、瓜蒌、肉桂、红曲六味中药材的提取物混合而成，提取物的组成比例为：黄连提取物占 2-30%，枳实、半夏、红曲（其中 10-100%提取，0-90%粉碎成细粉做崩解剂或填充剂，下同）、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物占 70-98%。优选的，黄连提取物占 3-25%，枳实、半夏、红曲、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物占 75-97 %。更优选的，黄连提取物占 5-15%，枳实、半夏、红曲、瓜蒌、肉桂五味中药混合提取物占 85-95%。

所述的中药提取物组合物，其特征在于提取物含活性成分的量（mg/g）：总生物碱为 6-122，其中含小檗碱为 4-89，总黄酮为 30-315，其中含新橙皮苷 20-186；洛伐他汀为 0.5-9；进一步优选为（mg/g）：总生物碱为 20-85，其中含小檗碱为 15-62，总黄酮为 100-250，其中含新橙皮苷 30-170；洛伐他汀为 1-5；更进一步优选为（mg/g）：总生物碱为 30-75，其中含小檗碱为 20-50；总黄酮为 110-250，其中含新橙皮苷 40-120；洛伐他汀为 1-5。

所述的中药提取物组合物中含活性成分的量（mg/g）：总生物碱为 12-122，其中含小檗碱为 9-89，总黄酮为 130-315，其中含新橙皮苷 80-186；洛伐他汀为 1-9；进一步优选为（mg/g）：总生物碱为 20-85，其中含小檗碱为 15-62，总黄酮为 140-250，其中含新橙皮苷 90-170；洛伐他汀为 1-5；更进一步优选为（mg/g）：总生物碱为 30-75，其中含小檗碱为 20-50；总黄酮为 110-250，其中含新橙皮苷 60-120；洛伐他汀为 1-5。

所述的中药材提取物组合物服用的剂量是每日 1-15g，优选的服用剂量是每日 2-10g，更优选的服用剂量是每日 3-6g。

所述的中药组合物和中药提取物组合物，其特征在于制备成药物制剂，如针剂、片剂、胶囊剂、颗粒剂、口服液等剂型。

所述的中药组合物和中药提取物组合物具有清热化痰，行气散满的功能。用于痰热中阻所致体胖、腹大，胸闷痰多，脘腹胀满，口干、口渴、多饮，易饥饿，急躁易怒，面色红油光，夜卧打呼噜，大便粘腻不爽或干结，小便色黄，舌红、苔黄白，脉滑硕；西医属于高血脂、糖尿病、高血压、肥胖、代谢综合征（腹型肥胖伴血糖、糖化血红蛋白、血压、血脂及尿酸异常）等患者。

所述的中药组合物或和中药提取物组合物在制备用于治疗代谢综合征、肥胖、高血糖、高血压或高血脂中的一种或多种的药物中的用途。

进一步的,所述药物用于治疗代谢综合征患者早期的血糖血脂代谢紊乱的药物中、以及用于治疗肥胖、高血糖、高血压、高血脂中的一种或多种的药物中的用途。更进一步的,所述药物用于降低血糖、降低血胰岛素水平、改善口服葡萄糖耐量异常、降低糖化血红蛋白(HbA1c)、增加胰岛素敏感指数、改善机体胰岛素抵抗、降低血甘油三酯水平、降低总胆固醇、降低血压中的一种或多种。

其中多种包括2、3、4、5、6、7、8、9种。

本发明中药提取物组合物有益的技术效果。

(1) 使代谢综合征明显改善。

按实施例1-7制备的提取物分组进行药效学对比试验结果表明,本发明的提取物组对血糖、血清中甘油三酯、总胆固醇的降低作用均具有统计学差异。

系统的药效学研究证明,本发明的中药提取物组合物具有下述效果:降低体重、降低血糖、降低血胰岛素水平、改善口服葡萄糖耐量异常、降低糖化血红蛋白(HbA1c)、增加胰岛素敏感指数,改善机体胰岛素抵抗、降低血甘油三酯水平、降低总胆固醇、降低血压。

(2) 本发明的中药组合物性质稳定,质量可控。

本发明的中药组合物片经过稳定性研究确定:内包材为铝塑泡罩包装;贮藏条件为密封,置干燥处保存;在上述贮藏条件下,制成品稳定,防潮效果良好,有效期暂定两年。

(3) 本发明的中药组合物使用安全。

本发明的中药组合物经口服给药途径小鼠急性毒性试验测定,LD₅₀大于20000mg/kg,为临床拟用剂量200倍。经口服给药途径Beagle犬急性毒性试验测定,致死剂量大于7500mg/kg。为临床拟用剂量75倍。

本发明的中药组合物经口服大鼠长期毒性试验,剂量为临床拟用剂量的8、28、98倍,结果证明本发明的中药组合物临床拟用量是安全的。

(4) 本发明的中药组合物适合工业化生产。经9批中试生产,工艺可行。

具体实施方式

以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件者,按照本领域内的文献所描述的技术或条件,或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可通过正规渠道商购买得到

的常规产品。

实施例 1

处方 1: 克 (% , 重量比): 黄连 1.5 (7.9)、枳实 6 (31.6)、半夏 3 (15.8)、瓜蒌 0、肉桂 2.5 (13.1)、红曲 6 (31.6), 每日服用药材总剂量为 19 克, 制得的提取物量为 5.58 克, 收率为 29.4%。

制备方法: 黄连药材, 粉碎成粗粉或切成合适大小的饮片, 置于提取罐中, 加入 0.5% 的硫酸 10 倍量, 加热煎煮提取 3 次, 每次 2h, 过滤, 提取液合并, 减压浓缩; 浓缩液置于沉淀罐中, 搅拌, 缓慢加入石灰乳, 调 pH 到 9, 静置, 过滤除去硫酸钙沉淀; 滤液用浓盐酸调 pH 至 1-2, 加氯化钠至 10% 的量, 盐析, 静置 24h, 抽滤; 沉淀用水洗至 pH5, 60℃ 减压干燥, 得总生物碱提取物。

炒枳实、姜半夏、红曲和肉桂药材, 粉碎成粗粉或切成合适大小的饮片, 按处方量配制, 混合, 置于酒精回流提取罐中, 分别加 10 倍、8 倍量 70% 乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 过滤; 减压回收乙醇, 浓缩, 干燥, 既得四味中药材混合提取物。

将枳实、半夏、肉桂、红曲四味中药混合提取物与黄连提取物混合均匀即得最终的本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果 (mg/g): 总生物碱为 12.53 (其中含小檗碱为 9.27), 总黄酮为 292.48 (其中含新橙皮苷 171.11); 洛伐他汀为 4.31。

实施例 2

处方 2: 克 (% , 重量比): 黄连 4.5 (45)、枳实 3 (30)、半夏 0%、瓜蒌 0.5 (5)、肉桂 0.5 (5)、红曲 1.5 (15), 每日药材总剂量为 10 克, 制得的提取物量为 2.74 克, 收率为 27.4%。

制备方法: 黄连药材, 按实施例 1 的方法制得总生物碱提取物。

炒枳实、红曲、瓜蒌、肉桂药材, 按处方量配制, 混合, 置于酒精回流提取罐中, 分别加 10 倍、8 倍量 70% 乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 过滤, 减压回收乙醇, 浓缩, 干燥, 既得四味中药材混合提取物。

将枳实、瓜蒌、肉桂和红曲四味中药混合提取物与黄连提取物混合均匀即得本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果 (mg/g): 总生物碱为 85.34 (其中含小檗碱为 62.24), 总黄酮

为 290.35（其中含新橙皮苷 170.37）；洛伐他汀为 2.03。

实施例 3

处方 3：克（%，重量比）：黄连 4.5（21.4）、枳实 4.5（21.4）、半夏 0%、瓜蒌 0%、肉桂 0%、红曲 12（57.2）。每日药材总剂量为 21 克，制得的提取物量为 5.21 克，收率为 24.8%。

制备方法：黄连药材，按实施例 1 的方法制得总生物碱提取物。

炒枳实、红曲按实施例 1 的方法制得二味中药材混合提取物。

将枳实、红曲二味中药混合提取物与黄连提取物混合均匀即得本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果（mg/g）：总生物碱为 43.51（其中含小檗碱为 31.83），总黄酮为 234.38（其中含新橙皮苷 136.56）；洛伐他汀为 9.31。

实施例 4

处方 4：克（%，重量比）：黄连 4.5（32.1）、枳实 4.5（32.1）、半夏 0%、瓜蒌 0%、肉桂 0.5（3.6）、红曲 4.5（32.1）。每日药材总剂量为 14 克，制得的提取物量为 3.74 克，收率为 26.7%。

制备方法：黄连药材，按实施例 1 的方法制得总生物碱提取物。

炒枳实、红曲、肉桂按实施例 1 的方法制得三味中药材混合提取物。

将枳实、肉桂和红曲三味中药混合提取物与黄连提取物混合均匀即得本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果（mg/g）：总生物碱为 63.42（其中含小檗碱为 46.25），总黄酮为 315.19（其中含新橙皮苷 185.75）；洛伐他汀为 4.63。

实施例 5

处方 5：克（%，重量比）：黄连 6（33.8）、枳实 1.5（8.5）、半夏 6（33.8）、瓜蒌 0%、肉桂 1.25（7）、红曲 3（16.9）。每日药材总剂量为 17.75 克，制得的提取物量为 2.64 克，收率为 14.9%。

制备方法：黄连药材，按实施例 1 的方法制得总生物碱提取物。

炒枳实、半夏、红曲和肉桂药材，按实施例 1 的方法制得四味中药材混合提取物。

将枳实、红曲、半夏和肉桂四味中药混合提取物与黄连提取物混合均匀即得本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果 (mg/g): 总生物碱为 122.06 (其中含小檗碱为 89.03), 总黄酮为 161.34 (其中含新橙皮苷 92.86); 洛伐他汀为 4.87。

实施例 6

处方 6: 克(% , 重量比): 黄连 4.5(19.57)、枳实 4.5(19.56)、半夏 4.5(19.57)、瓜蒌 6 (26.09)、肉桂 0.5 (2.17)、红曲 3 (13.04)。每日药材总剂量为 23 克, 制得的提取物量为 4.4 克, 收率 19.1%。

制备方法: 黄连药材, 按实施例 1 的方法制得总生物碱提取物。

红曲总量的 90%的红曲、炒枳实、半夏、肉桂药材, 粉碎成粗粉或切成合适大小的饮片, 按处方量配制, 混合, 置于酒精回流提取罐中, 加 10 倍、8 倍量 70%乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 静置, 过滤; 瓜蒌药材或饮片加 85%7 倍、5 倍乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 静置, 过滤, 与上述四味中药材醇提液合并, 回收乙醇, 减压浓缩, 干燥, 粉碎, 制得五味中药材混合提取物。

将上述黄连提取物、五味中药材提取物及作为片剂崩解剂或填充剂的处方量 10%红曲细粉混匀, 即得本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果 (mg/g): 总生物碱为 47.05 (其中含小檗碱为 31.58), 总黄酮为 203.6 (其中含新橙皮苷 108.3); 洛伐他汀为 2.59。

实施例 7

处方 7: 克(% , 重量比): 黄连 4.5(19.57)、枳实 4.5(19.56)、半夏 4.5(19.57)、瓜蒌 6 (26.09)、肉桂 0.5 (2.17)、红曲 3 (13.04)。每日药材总剂量为 23 克, 制得的提取物量为 5.62 克, 收率为 24.4%。

制备方法: 黄连药材, 按实施例 1 的方法制得总生物碱提取物。

炒枳实药材, 粉碎成粗粉或切成合适大小的饮片, 按处方量配制, 置于酒精回流提取罐中, 加 8 倍量 70%乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 过滤, 减压回收乙醇、浓缩、干燥, 得炒枳实提取物。

姜半夏药材, 粉碎成粗粉或切成合适大小的饮片, 按处方量配制, 置于酒精回流提取罐中, 加 8 倍量 70%乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 过滤, 减压回收乙醇、浓缩、干燥, 得姜半夏提取物。

全瓜蒌药材饮片, 按处方量配制, 置于酒精回流提取罐中, 加 8 倍量 70%乙醇提取 2 次, 每次 1 小时, 过滤, 减压回收乙醇、浓缩、干燥, 得全瓜蒌提取

物。

红曲药材，按处方量配制，置于酒精回流提取罐中，加 8 倍量 70%乙醇提取 2 次，每次 1 小时，过滤，减压回收乙醇、浓缩、干燥，得红曲提取物。

肉桂药材，按处方量配制，置于酒精回流提取罐中，加 8 倍量 70%乙醇提取 2 次，每次 1 小时，过滤，减压回收乙醇、浓缩、干燥，得肉桂提取物。

将枳实、肉桂、半夏、瓜蒌、红曲混合均匀既得五味中药混合提取物。将五味中药混合提取物与黄连提取物混合均匀即得本发明所述的中药提取物组合物。

含量测定结果 (mg/g)：总生物碱为 38.69 (其中含小檗碱为 28.10)，总黄酮为 204.49 (其中含新橙皮苷 123.2)；洛伐他汀为 2.27。

比较例 1

处方：克 (%，重量比)：黄连 0 (0)、枳实 4.5 (19.57)、半夏 4.5 (19.57)、瓜蒌 6 (26.1)、肉桂 0.5 (2.17)、红曲 3 (13.04)。每日药材总剂量为 18.5 克，制得的提取物量为 5.9 克，收率为 31.9%。

制备方法：按照与实施例 6 中相应成分的提取方法制备。

含量测定结果 (mg/g)：总生物碱为 0 (其中含小檗碱为 0)，总黄酮为 34.16 (其中含新橙皮苷 20.11)；洛伐他汀为 0.41。

比较例 2

处方：克 (%，重量比)：黄连 4.5 (19.57)、枳实 0 (0)、半夏 4.5 (19.57)、瓜蒌 6 (26.1)、肉桂 0.5 (2.17)、红曲 3 (13.04)。每日药材总剂量为 18.5 克，制得的提取物量为 4.06 克，收率为 21.9%。

制备方法：按照与实施例 6 中相应成分的提取方法制备。

含量测定结果 (mg/g)：总生物碱为 9.53 (其中含小檗碱为 6.98)，总黄酮为 0 (其中含新橙皮苷 0)；洛伐他汀为 0.55。

比较例 3

处方：克 (%，重量比)：黄连 4.5 (19.57)、枳实 4.5 (19.57)、半夏 4.5 (19.57)、瓜蒌 6 (26.1)、肉桂 0.5 (7)、红曲 0。每日药材总剂量为 20 克，制得的提取物量为 5.71 克，收率为 28.55%。

制备方法：按照与实施例 6 中相应成分的提取方法制备。

含量测定结果 (mg/g)：总生物碱为 6.88 (其中含小檗碱为 4.96)，总黄酮为

36.01 (其中含新橙皮苷 21.67); 洛伐他汀为 0。

比较例 4

处方: 克 (% , 重量比): 黄连 4.5 (19.57)、枳实 4.5 (19.57)、半夏 0 (0)、瓜蒌 0 (0)、肉桂 0 (0)、红曲 0 (0)。每日药材总剂量为 9 克, 制得的提取物量为 2.66 克, 收率为 9.56%。

制备方法: 按照与实施例 6 中相应成分的提取方法制备。

含量测定结果 (mg/g): 总生物碱为 15.11 (其中含小檗碱为 10.65), 总黄酮为 76.71 (其中含新橙皮苷 46.62); 洛伐他汀为 0。

比较例 5

处方: 克 (% , 重量比): 黄连 4.5 (19.57)、枳实 0、半夏 4.5 (19.57)、瓜蒌 6 (26.1)、肉桂 0.5 (2.17)、红曲 0 (0)。每日药材总剂量为 15.5 克, 制得的提取物量为 3.46 克, 收率为 22.32%。

制备方法: 按照与实施例 6 中相应成分的提取方法制备。

含量测定结果 (mg/g): 总生物碱为 11.88 (其中含小檗碱为 8.12), 总黄酮为 0 (其中含新橙皮苷 0); 洛伐他汀为 0。

将实施例 1-7 与比较例 1-5 的药物处方和活性成分的含量测定结果总结如下:

表 I .药物处方

		黄连	枳实	半夏	瓜蒌	肉桂	红曲	处方总量
实施例 1	重量 g	1.5	6	3	0	2.5	6	19
	比例%	7.89	31.57	15.79	0	13.16	31.57	
实施例 2	重量 g	4.5	3	0	0.5	0.5	1.5	10
	比例%	45	30	0	5	5	15	
实施例 3	重量 g	4.5	4.5	0	0	0	12	21
	比例%	21.4	21.4	0	0	0	57.2	
实施例 4	重量 g	4.5	4.5	0	0	0.5	4.5	14
	比例%	32.1	32.1	0	0	3.57	32.1	
实施例 5	重量 g	6	1.5	6	0	1.25	3	17.75
	比例%	33.8	8.5	33.8	0	7	13.04	
实施例 6	重量 g	4.5	4.5	4.5	6	0.5	3	23
	比例%	19.57	19.57	19.57	26.1	2.17	13.04	
实施例 7	重量 g	4.5	4.5	4.5	6	0.5	3	23
	比例%	19.57	19.57	19.57	26.1	2.17	13.04	
重量范围		1.5-6	1.5-6	0-6	0-6	0-2.5	1.5-12	
优选处方(实施例 6)		4.5	4.5	4.5	6	0.5	3	1 天量
比较例 1	重量 g	0	4.5	4.5	6	0.5	3	18.5
	比例%	0	19.57	19.57	26.1	2.17	13.04	
比较例 2	重量 g	4.5	0	4.5	6	0.5	3	18.5
	比例%	19.57	0	19.57	26.1	2.17	13.04	
比较例 3	重量 g	4.5	4.5	4.5	6	0.5	0	20
	比例%	19.57	19.57	19.57	26.1	2.17	0	
比较例 4	重量 g	4.5	4.5	0	0	0	0	9
	比例%	19.57	19.57	0	0	0	0	
比较例 5	重量 g	4.5	0	4.5	6	0.5	0	15.5
	比例%	19.57	0	19.57	26.1	2.17	0	

表 II. 含量测定结果 (mg/g)

	总生物碱	小檗碱	总黄酮	新橙皮苷	洛伐他汀
实施例 1	12.53	9.27	292.48	171.11	4.31
实施例 2	85.34	62.24	290.35	170.37	2.03
实施例 3	43.51	31.83	234.38	136.56	9.31
实施例 4	63.42	46.25	315.19	185.75	4.63
实施例 5	122.06	89.03	161.34	92.86	4.87
实施例 6	47.05	31.58	203.6	108.3	2.59
实施例 7	38.69	28.10	204.49	123.2	2.27
比较例 1	0	0	34.16	20.11	0.41
比较例 2	9.53	6.98	0	0	0.55
比较例 3	6.88	4.96	36.01	21.67	0
比较例 4	15.11	10.65	76.71	46.62	0
比较例 5	11.88	8.12	0	0	0

实施例 8

处方 8: 按照实施例 6 制备的提取物混合物

表 III

制剂处方	用量/1000 片 (g)	比例 (%)
中药提取物组合物	1010	92.9
红曲粉	75	6.9
硬脂酸镁	1.1	0.1
二氧化硅	1.1	0.1
薄膜包衣预混剂	20-25	增重 2-2.5

制法: 按处方量称取提取物粉, 加入干法制粒机中制粒, 整粒, 加入硬脂酸镁和二氧化硅, 混合均匀, 选用异形冲头压制片剂, 片重 1.1g, 制备 1000 片, 合格片剂包被深红棕色防潮性薄膜衣, 增重 2-2.5%。包装, 即得。服用方法: 每次 2-5 片, 每天 2-3 次。

表VI. 三批中试产品测定结果

项目	20170301	20170302	20170303
性状	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定
崩解时限	20min	23min	21min
盐酸小檗碱 (mg/片)	31.4	35.5	34.7
四种生物碱总量 (mg/片)	45.1	50.3	48.0
洛伐他汀 (mg/片)	4.6	4.0	4.4
新橙皮苷 (mg/片)	100.8	102.3	99.8
总黄酮 (mg/片)	158.2	170.7	156.6

实施例 9

处方 9: 按照实施例 5 制备的提取物混合物

表 V

制剂处方	用量/1000 片 (g)	比例 (%)
中药提取物组合物	798.4	99.8
微晶纤维素	0	0
硬脂酸镁	0.8	0.1
二氧化硅	0.8	0.1
薄膜包衣预混剂	20-25	增重 2-2.5

制法同实施例 8, 片重 0.8g。

服用方法: 每次 1-2 片, 每天 3 次。

表VI. 三批中试产品测定结果:

项目	20160401	20160402	20160403
性状	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定
崩解时限	19min	22min	23min
盐酸小檗碱 (mg/片)	60.3	57.4	58.8
四种生物碱总量 (mg/片)	95.6	90.7	91.5
洛伐他汀 (mg/片)	3.9	4.1	4.0
新橙皮苷 (mg/片)	74.3	80.2	83.7
总黄酮 (mg/片)	129.1	139.5	142.4

实施例 10

处方 10: 按照实施例 2 制备的提取物混合物

表VII

制剂处方	用量/1000 粒 (g)	比例 (%)
中药提取物组合物	450	90
碳酸钙	50	10

制法: 取六味中药材提取物混合物 450g, 加入碳酸钙 50g, 用 95%乙醇作为黏合剂, 制备软材, 40℃烘箱干燥装胶囊, 共制得胶囊 1000 粒。

服用方法: 每次 2-3 粒, 每天 3 次。

表VIII. 三批中试产品测定结果:

项目	20160401	20160402	20160403
性状	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定
崩解时限	8min	8min	7min
盐酸小檗碱 (mg/粒)	28.2	27.2	29.3
四种生物碱总量 (mg/粒)	38.7	38.1	39.6
洛伐他汀 (mg/粒)	0.92	0.90	0.86
新橙皮苷 (mg/粒)	78.6	78.0	77.7
总黄酮 (mg/粒)	132.3	131.9	130.1

实施例 11

处方 11: 按照实施例 7 制备的提取物混合物

表IX

制剂处方	用量 g/1000 片
中药提取物组合物	2000g
甘露醇	2000g
阿巴斯甜	100g
95%乙醇	适量

制法: 提取物混合物、按上述处方量计算后混合; 按处方量称取提取物粉, 加入甘露醇、阿斯巴甜, 混合均匀, 加入干法制粒机中制粒, 整粒、包装。每袋装 4.1g, 每袋含提取物 2g。

服用方法: 每次 1-2 袋, 每天 2-3 次。

表 X. 三批中试产品含量测定结果:

项目	20160401	20160402	20160403
性状	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定
盐酸小檗碱 (mg/袋)	51.5	55.7	59.5
四种生物碱总量 (mg/袋)	79.8	76.1	81.2
洛伐他汀 (mg/袋)	4.5	3.9	4.9
新橙皮苷 (mg/袋)	235.3	243.0	246.2
总黄酮 (mg/袋)	379.3	402.3	410.7

一、本发明的中药组合物的稳定性研究

样品来源: 本发明中药提取物组合物: 按实施例 8 制备的提取物。

稳定性研究表明, 本发明的中药组合物片易于吸潮, 对高湿比高温和光照更敏感; 光照对洛伐他汀含量影响明显。在最终包装条件下, 即包衣片剂选用铝塑泡罩作为内包装, 外套铝箔袋, 在温度 $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $75\% \pm 5\%$ 条件下进行 6 个月的加速试验, 本发明的中药组合物片的吸湿增重变化率在 0.5% 以内, 表明在本包装条件下防潮隔湿效果良好。本发明的中药组合物片中盐酸小檗碱和黄连总生物碱, 枳实总黄酮和柚皮苷的含量变化很小; 洛伐他汀的含量略有变化, 含量变化率在 12.23% 以内, 主要为异构体互变所致, 不影响疗效。

本发明的中药组合物片经过稳定性研究确定: 内包材为铝塑泡罩包装, 外加铝塑复合膜袋; 贮藏条件为密封, 置干燥处保存; 有效期暂定两年。

表 XI

项目		标准要求	0 个月	3 个月	6 个月	9 个月	12 个月
性状		应为薄膜包衣片，除去包衣后显深棕色，气微香，味苦	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
鉴别	(1) 半夏应符合规定		符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	(2) 红曲应符合规定		符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	(3) 瓜蒌应符合规定		符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
	(4) 肉桂应符合规定		符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
检查	崩解时限	应在 60 分钟内完全溶散	23min	25min	24min	26min	26min
	重量差异	应符合规定	符合规定	—	—	—	—
	微生物限度	需氧菌总数不得过 10^5 cfu/g，霉菌、酵母菌总数不得过 5×10^2 cfu/g，不得检出大肠埃希菌 (1g)；不得检出沙门菌 (10g)；耐胆盐革兰阴性菌小于 10^2 cfu/g。	符合规定	—	—	—	—
含量测定	生物碱	每片含盐酸小檗碱应为 25-55mg	31.4	31.3	31.4	31.5	31.4
		每片含盐酸药根碱应为 2-6mg	3.1	3.2	3.2	3.1	3.2
		每片含盐酸黄连碱应为 5-12mg	7.7	7.5	7.4	7.6	7.6
		每片含盐酸巴马汀应为 2-8mg	2.9	2.8	2.8	2.9	2.8
		每片含四种生物碱总量应为 40-75mg	45.1	44.8	44.8	45.1	45.0
	洛伐他汀	每片含洛伐他汀应为 2-5mg	4.6	4.6	4.5	4.4	4.5
	黄酮	每片含新橙皮苷应为 60-120mg	100.8	100.9	100.2	101.4	100.9
		每片含柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的总和应为 110-250mg	158.3	158.5	158.1	159.3	158.9

注：— 表示不需要检测。

二、本发明的中药提取物组合物的处方筛选研究

1. 实验动物: Wistar 大鼠来源于北京维通利华实验动物技术有限公司。许可证号: SCXK(京) 2016-0011。

2. 试验方法

2.1 糖脂代谢紊乱动物模型的制备方法

2.1.1 高脂饲料+脂肪乳灌胃造成脂代谢紊乱和胰岛素抵抗

雄性 Wistar 大鼠 160 只, (体重 150-180g), 由维通利华实验动物中心提供, 适应性喂养一周后, 随机分为正常组和高脂组。其中, 正常组 20 只, 采用常规饲料喂养。高脂组 140 只, 给予高脂饲料, 期间高脂组每日灌胃脂肪乳 (1ml/100g 体重/天), 连续 4 周。

正常组和高脂组喂养 4 周后, 眼眶采血测量血脂。高脂组与对照组比较, 体重, 血清甘油三酯和胆固醇明显升高。说明脂代谢紊乱。

正糖钳夹试验, 发现高脂组葡萄糖输注速率 (GIR) 明显低于正常组。说明高脂组大鼠胰岛素敏感性明显下降, 动物出现明显胰岛素抵抗。

2.1.2 腹腔注射小剂量 STZ 造成糖代谢紊乱

1%链尿佐菌素 (Streptozocin, STZ) 溶液的配制: 精密称取链尿佐菌素 1.00g, 用 0.1mol/L 的枸橼酸钠缓冲液 (pH 值 4.2) 定容至 100mL, 摇匀, 即得。临用前配制。

上述高脂组动物禁食 24h, 但不禁水。腹腔注射新配制的 1%链尿佐菌素的枸橼酸钠溶液 30mg/kg/次。正常组腹腔注射等体积的 0.1mol/L 的枸橼酸钠缓冲液。

2.2 血脂测定方法

连续高脂饲养 4 周后, 各组每笼随机抽取 2 只, 大鼠自眼眶采血 0.2mL, 收集于 EP 管中, 凝固后即刻离心, 收集血清, -20℃ 保存; 血清按普利莱试剂盒的方法测定。

2.3 正葡萄糖钳夹实验方法

连续高脂饲养 4 周后, 正常组 (共 4 笼) 每笼随机抽取 1 只, 其中第 4 笼抽取 2 只; 高脂组 (共 28 笼) 由第 4、9、14、19、24 笼各随机抽取 1 只, 进行钳夹实验。

2.4 药物处方的制备方法

实施例制备方法：分别按实施例 1-7 所述方法制备实施例 1-7 的中药提取物组合物；比较例制备方法：分别按实施例 6 所述方法制备比较例 1-5 的中药提取物组合物。

2.5 给药方法

模型组和正常组：灌胃给予生理盐水。0.5mL/100g 体重/天。

上述实施例 1-7、比较例 1-5 的中药提取物组合物的大鼠的实验剂量：0.7g/kg 体重/天。按等效剂量法计算约相当于人剂量：0.11g/kg 体重/天，每人（按 60kg 计算）约相当于每天 20-30g 生药。同比例计算其它处方组的给药量。

灌胃供试品的配制方法：称取羧甲基纤维素钠 10.00g，加入 1000mL 纯水中，溶胀，得 1%的 CMC-Na 水溶液。称取不同处方的提取物，分散于上述 1%的 CMC-Na 水溶液中，搅拌，混合均匀，药物每周配制一次，4℃冰箱保存。按分组方案灌胃给药。

表 1

分组	总生药量 g	总提取物量 g	提取物量 g	1%CMC-Na (mL)
处方 1	1266.6	374.1	14.0	100
处方 2	666.6	213.1	8.0	100
处方 3	1400	347.8	13.0	100
处方 4	933.3	249.5	9.3	100
处方 5	1183.33	176.5	6.6	100
处方 6	1533.3	266.4	9.9	100
处方 7	1533.3	396.5	14.8	100

按分组方案，每天上午 8:30-10:30 灌胃给药，灌胃量为 0.5mL/100g 体重/天。连续给药 4 周后，实验大鼠隔夜禁食 12 小时，血糖仪测定空腹血糖（血糖试纸测定）。随后，股动脉放血处死，采集血样，分离血清，分别测定血脂 5 项。试验中记录个体的体重变化情况。

2.6 数据统计分析方法

所有数据录入 Excel 表格，计算平均值和标准偏差，各组数据均以 mean±SD 表示。并采用 SPSS11.5 软件统计各组数据差异，先进行方差齐性检验，然后对各组进行方差分析。

3. 实施例药效学实验结果

3.1 高脂饲养 4 周后的血脂测定结果

正常组和高脂组（高脂饲料+脂肪乳）喂养 4 周后，每笼随机抽取 2 只，眼眶采血测量血脂，结果见表 2。

表 2.血脂实验结果（mean±SD）

分组	甘油三酯 mM	游离胆固醇 μM	总胆固醇 μM
正常组（n=8）	0.971±0.20	34.83±11.01	101.06±24.98
高脂组（n=56）	1.313±0.30**	224.9±63.4***	479.05±138.02***

（与正常组比较***p<0.001，**p<0.01，*p<0.05）

由表 2 所示，经高脂饲料+脂肪乳灌胃 4 周后，高脂组血脂明显升高，与正常组比较差异明显。这表明，脂代谢紊乱模型建立成功。

3.2 正糖钳夹试验结果

高胰岛素正葡萄糖钳夹实验结果见表 3。

表 3.实验各组高胰岛素正葡萄糖钳夹试验结果（mean±SD）

组别	例数（N）	稳态葡萄糖（mmol/l）	葡萄糖输注速率（mg·kg ⁻¹ ·min ⁻¹ ）
正常组	5	5.17±0.31	21.24±1.05
高脂组	5	5.43±0.24	14.19±0.98***

由表 3 所示，经高脂饲料+脂肪乳灌胃 4 周后，高脂组大鼠葡萄糖输注速率明显降低，胰岛素敏感性明显下降，动物出现明显胰岛素抵抗。

3.3 分组结果

注射 STZ 后 3 天，尾静脉采血测定空腹血糖值（禁食 12h），剔除血糖值高于 26.6mmol/L 和低于 13.3mmol/L 的大鼠，选择血糖值在 13.3-26.6mmol/L 的大鼠入组。入组动物依据血糖值高低分为 4 层，分别为 13.3-16.6，16.7-19.9，20.0-23.3，23.4-26.6mmol/L。各层动物依据体重大小随机分为 8 个组。分组结果见表 5，8 个组为处方 1 组至处方 7 组，和模型组。

表 4.各组大鼠的空腹血糖值和体重（mean±SD）

分组	总动物数	血糖值（mmol/L）	体重（g）
对照组	12	4.94±0.34	358.8±12.1
处方 1 组	13	20.12±3.41	372.3±14.5
处方 2 组	14	19.25±3.81	367.1±17.5
处方 3 组	14	19.12±3.99	366.1±13.5
处方 4 组	13	19.33±3.66	369.6±18.5
处方 5 组	13	19.28±3.87	367.7±17.9
处方 6 组	14	19.32±3.30	371.1±16.4
处方 7 组	14	19.89±3.29	365.7±16.9
模型组	13	20.49±3.61	362.7±18.1

由表 4 所示, 模型组与不同组间各动物体重分布均匀, 各组间体重和血糖值无显著性差异, 说明分组均匀。

对照组为不造模的正常大鼠, 共 12 只, 体重 $358.75 \pm 12.08\text{g}$, 空腹血糖值 4.94 ± 0.34 。与造模后各组比较均有极显著性差异。

3.4 各组一般情况

正常对照组大鼠精神状况良好, 反应灵敏, 动作自如, 皮毛有光泽; 模型组大鼠在注射 STZ 后, 精神萎靡, 反应迟钝, 动作迟缓。各治疗组经过 4 周治疗后, 一般情况均有不同程度改善。

3.5 治疗后各组血糖变化情况

按照表 4 分组, 连续给药 4 周后, 实验大鼠隔夜禁食 12 小时, 测定空腹血糖值 (血糖仪+血糖试纸测定), 结果见表 5。

表 5. 给药后各组空腹血糖值

分组	总动物数	血糖值 (mmol/L)
对照组	12	5.03 ± 0.30
处方 1 组	11	18.07 ± 2.74
处方 2 组	13	17.23 ± 4.10
处方 3 组	13	$16.57 \pm 3.77^*$
处方 4 组	12	$16.22 \pm 3.56^*$
处方 5 组	12	18.03 ± 4.05
处方 6 组	13	$15.26 \pm 3.56^{**}$
处方 7 组	13	$15.77 \pm 3.52^*$
模型组	11	19.65 ± 3.66

(与模型组比较*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

注: 表 5 分组中, 处方 1-7 组分别代表本发明实施例 1-7, 下同。

由表 5 所示, 处方 3, 4, 6 和 7 组与模型组对比, 空腹血糖值下降明显。其中处方 6 组作用最强。

3.6 各组血脂变化情况

测定血糖后, 各组动物股动脉放血处死, 采集血样, 分离血清, 按上述方法分别测定血脂 5 项。结果表 6、表 7。

表 6. 治疗后各组血脂值 (mean±SD)

分组	甘油三酯(μmol/L)	游离胆固醇(μmol/L)	总胆固醇(μmol/L)
对照组	643.58±123.64***	68.62±14.22***	130.99±28.84***
处方 1 组	881.02±265.24	133.42±26.25**	255.89±70.85**
处方 2 组	916.08±226.25	152.32±27.46	305.36±53.70
处方 3 组	851.15±190.33	130.56±24.67**	249.48±58.32**
处方 4 组	865.44±238.45	136.79±26.68*	261.91±59.23*
处方 5 组	823.95±273.67*	142.63±27.06	273.73±58.98*
处方 6 组	783.44±223.13*	137.40±27.59*	261.22±61.17*
处方 7 组	820.07±217.42*	137.58±29.98*	268.00±53.10*
模型组	1012.86±208.78	163.27±32.71	321.53±62.08

(与模型组比较***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05)

表 7. 治疗后各组血脂值 (mean±SD)

分组	高密度脂蛋白(μmol/L)	低密度脂蛋白(μmol/L)
对照组	684.13±137.94*	832.70±162.49**
处方 1 组	645.89±141.38	945.63±209.38
处方 2 组	586.08±155.94	1034.84±311.39
处方 3 组	660.81±115.70	863.15±242.26**
处方 4 组	642.86±179.26	994.80±244.39
处方 5 组	634.92±152.67	982.86±260.33
处方 6 组	638.83±140.53	910.40±231.60*
处方 7 组	631.50±126.79	952.93±225.64
模型组	547.19±127.52	1126.19±219.58

(与模型组比较***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05)

由表 6、表 7 所示,与模型组相比,处方组的血脂 5 项均有显著性差异。对于甘油三酯,处方 5、6 和 7 组与模型组对比有显著性差异;对于游离胆固醇,处方 1、3、4、6 和 7 组与模型组对比有显著性差异;对于总胆固醇,处方 1、3、4、5、6 和 7 组与模型组对比有显著性差异;结合各处方组的处方和用量进行分析,提高红曲用量对降低胆固醇作用明显,但对降低甘油三酯作用不明显;各处方组对甘油三酯均有一定降低作用,推测与黄连用量及其配伍有关;各处方组对高密度脂蛋白均有一定程度的升高作用;各处方组对低密度脂蛋白均有一定降低作用,其中处方 3 和 6 组能显著降低低密度脂蛋白。

综合分析血脂 5 项的结果表明,处方 6 组调节血脂的作用最优。

4、比较例药效学实验结果

4.1 比较例测定方法

高脂饲养 4 周后的血脂测定、正糖钳夹试验、分组结果及各组一般情况按照上述第 2.5, 2.6, 3.1-3.4 项的方法进行。

4.2 比较例治疗后各组血糖变化情况

按照与上述第 3.5 项相同的方法连续给药 4 周后, 实验大鼠隔夜禁食 12 小时, 测定空腹血糖值 (血糖仪+血糖试纸测定), 结果见表 8:

表8. 各组空腹血糖值

分组	总动物数	血糖值(mmol/L)
对照组	12	5.12±0.30***
实施例 6	13	13.51±3.26***
比较例 1	13	19.01±2.95
比较例 2	12	16.02±3.10*
比较例 3	12	15.22±2.88**
比较例 4	13	17.01±3.86
比较例 5	13	18.25±3.77
模型组	11	19.92±3.32

与模型组比较*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

由表 8 所示, 与模型组相比, 实施例 6 (处方 6 组)、比较例 2、3 的空腹血糖值下降明显。其中实施例 6 下降最为显著 ($p < 0.001$), 比较例 1 降糖效果最差, 接近模型组。

4.3 比较例治疗后各组血脂变化情况

按照与上述第 3.6 项相同的方法测定血糖后, 各组动物股动脉放血处死, 采集血样, 分离血清, 按上述方法分别测定血脂 5 项。结果如下表所示:

表9. 治疗后各组血脂值($\mu\text{mol/L}$)

分组	甘油三酯	游离胆固醇	总胆固醇	高密度脂蛋白	低密度脂蛋白
对照组	651.22 $\pm$ 158.30***	71.53 $\pm$ 17.14***	131.58 $\pm$ 29.15***	668.13 $\pm$ 146.16*	838.60 $\pm$ 152.32**
实施例 6	779.32 $\pm$ 216.21**	128.87 $\pm$ 22.66**	197.13 $\pm$ 55.01**	655.43 $\pm$ 121.11*	860.63 $\pm$ 221.51**
比较例 1	885.33 $\pm$ 241.25*	141.23 $\pm$ 25.86*	283.56 $\pm$ 59.88*	552.28 $\pm$ 136.56*	975.32 $\pm$ 312.50*
比较例 2	801.77 $\pm$ 225.32*	138.74 $\pm$ 27.21*	276.23 $\pm$ 56.74*	621.02 $\pm$ 169.15*	920.84 $\pm$ 297.27*
比较例 3	818.54 $\pm$ 232.65*	146.32 $\pm$ 26.22	296.30 $\pm$ 55.13	541.30 $\pm$ 179.21	989.13 $\pm$ 241.55
比较例 4	926.01 $\pm$ 206.43	151.77 $\pm$ 28.56	316.33 $\pm$ 57.22	536.32 $\pm$ 141.32	1012.01 $\pm$ 286.16
比较例 5	919.25 $\pm$ 235.18	153.11 $\pm$ 27.38	302.50 $\pm$ 53.32	530.10 $\pm$ 151.65	996.12 $\pm$ 231.23
模型组	1109.12 $\pm$ 223.76	168.33 $\pm$ 28.07	328.33 $\pm$ 60.12	544.25 $\pm$ 136.12	1181.17 $\pm$ 231.01

与模型组比较*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

由表 9 所示, 与模型组相比, 实施例 6 显著降低了甘油三酯、游离胆固醇、总胆固醇、低密度脂蛋白, 并显著升高了高密度脂蛋白, 该作用显著优于比较例 1-5; 比较例 3 仅能够显著降低甘油三酯, 比较例 4-5 不仅没有显著降低甘油三酯、游离胆固醇、总胆固醇、低密度脂蛋白, 而且还降低了高密度脂蛋白, 其效果最差。

综合分析表 8 和表 9, 比较例 1、4-5 降糖效果较差, 比较例 3-5 降脂效果较差, 比较例 2 降糖降脂效果均差于本申请的实施例 6, 由本申请的实施例 6 证明, 本申请的中药提取物组合物在降糖降脂上均具有优异的效果。

三、本发明的中药提取物组合物的药效学研究

样品来源: 本发明中药提取物组合物: 按实施例 6 制备的提取物。

实验动物: KK_{Ay} 小鼠来源于中国医学科学院医学实验动物研究所, C57BL/6J 小鼠北京华阜康生物科技股份有限公司, SD 大鼠来源于北京维通利华实验动物技术有限公司。

(1) 正常 C57BL/6J 小鼠

正常 C57BL/6J 小鼠, 雌/雄性, 体重 18-20 g, 分别用于自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠 (雌性) 和高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠 (雄性) 的正常动物对照。

(2) 自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠

自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠, 雌性, 每笼 5 只饲养, 喂以 KK_{Ay} 小鼠专用

饲料。待小鼠体重约 40 g 以上时，进行血糖、血脂、胰岛素抗性等多指标预测。根据空腹血糖、胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、血甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）以及体重分为 5 组，每组 12 只。

(3) 高脂饲料喂养 C57/6J 小鼠

C57BL/6J 小鼠，雄性，每笼 5 只饲养，喂以高脂高营养饲料。待小鼠体重约 45 g 以上时，进行血糖、血脂、胰岛素抗性等多指标预测。根据空腹血糖、胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、血 TG 和 TC 及体重分为 5 组，每组 12 只。

实验 1 本发明的中药提取物组合物对自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠胰岛素耐量的影响

自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC 等 4 个指标分为 5 组，分别为模型对照组（Con，以等体积水灌胃）、阳性对照药组（Met，以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃）、本发明的中药提取物组合物三个剂量组，分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃，各剂量组活性成分含量见表 10。

表 10. 中药提取物组合物不同剂量组活性成分含量（g/kg）

剂量	总生物碱	小檗碱	总黄酮	新橙皮苷	洛伐他汀
500mg/kg	23.525	15.79	101.8	54.15	1.295
1000mg/kg	47.05	31.58	203.6	108.3	2.59
1500mg/kg	70.575	47.37	305.4	162.45	3.885

另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组（Nor，以等体积水灌胃，n=10）。每天灌胃 1 次，连续 58 天，KK_{Ay} 小鼠于给药第 14 天进行胰岛素耐量实验。实验当天动物禁食 4 h（自由饮水），尾尖采血（0 min），然后皮下注射常规胰岛素（0.4 U/kg），并于注射后 40 min 及 90 min 采血，用葡萄糖氧化酶法测定血糖水平（以下同），并计算血糖曲线下面积（AUC）。

结果显示（表 11 和表 12），模型对照组（Con）皮下注射胰岛素（0.4 U/kg）后 40 min 血糖几乎没有下降，表明自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠具有明显的胰岛素抵抗特征。与 Con 组相比，本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 三个剂量组小鼠的 0 min 血糖、注射胰岛素后 40 min 血糖均降低，血糖曲线下面积也分别降低了 7.8%、26.1%和 41.8%，且呈一定量效关系。提示本发明的中药提取物组合物能够在一定程度上改善自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠的胰岛素抵抗状态。

表 11. 本发明的中药组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠胰岛素耐量的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dL)		
		0 min	40 min	90 min
Nor	-	91.1±5.7	54.4±12.6	60.6±11.5
Con	-	215.4±71.0	198.1±50.3	210.7±95.9
Met	150	132.6±32.5**	115.3±24.2***	120.1±25.6**
本发明的中 药组合物	500	193.9±44.8	184.9±41.4	194.0±70.9
	1000	153.5±61.3*	151.9±54.0*	150.2±52.8
	1500	120.8±50.6**	117.6±50.1***	122.1±65.2*

(与模型组比较, n = 12, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

表 12. 本发明的中药组合物对 KKAY 小鼠胰岛素耐量血糖曲线下面积 (AUC) 的影响

组别	剂量 (mg/kg)	AUC (mg/dL·h)	AUC 变化 (%)
Nor	-	96.4±14.7	-
Con	-	308.2±95.9	-
Met	150	180.7±36.7***	↓41.4
本发明的中药组合物	500	284.1±69.8	↓7.8
	1000	227.7±80.7*	↓26.1
	1500	179.3±79.4**	↓41.8

(与模型组比较, n = 12, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

实验 2 本发明的中药提取物组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠口服葡萄糖耐量的影响

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组, 分别为模型对照组 (Con, 以等体积水灌胃)、阳性对照药组 (Met, 以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组, 分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 各组动物于给药第 28 天进行口服葡萄糖耐量实验。实验当天各组动物禁食 4 h (自由饮水), 首先尾尖采血 (0 min), 然后灌胃给予葡萄糖溶液 (2.0 g/kg), 并于糖负荷后 30、60 和 120 min 采血, 测定血糖水平, 并计算血糖曲线下面积 (AUC)。

结果表明(表 13 和表 14),与正常对照组(Nor)相比,模型对照组(Con)灌胃给予葡萄糖后血糖水平明显升高,表明自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠的葡萄糖耐量明显异常。与 Con 组相比,本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 三个剂量组在一定程度上使自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠口服糖负荷后血糖降低,血糖曲线下面积(AUC)分别降低了 12%、12.5%和 17.2%,其中 1500 mg/kg 剂量组的血糖降低作用具有统计学差异。提示本发明的中药提取物组合物可以在一定程度上能改善自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠的葡萄糖耐量异常。

表 13.本发明的中药组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠口服葡萄糖耐量的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dL)			
		0 min	30 min	60 min	120 min
Nor	-	98.5±17.3	166.4±21.5	137.1±17.8	114.8±11.6
Con	-	256.0±49.3	434.3±65.3	358.8±102	306.1±83.4
Met	150	174.7±41.5***	292.3±67.3***	275.3±70.5*	271.3±107.1
本发明的中药组合物	500	201.1±73.2*	407.1±49.7	303.5±62.3	274.2±91.3
	1000	209.6±59.7*	368.6±50.3	304.7±60.9	279.7±57.4
	1500	179.6±54.5**	376.5±60.5*	294.0±73.7	257.5±51.8

(与模型组比较, n = 10-12. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

表 14.本发明的中药组合物对 KKAY 小鼠葡萄糖耐量血糖曲线下面积(AUC)的影响

组别	剂量 (mg/kg)	AUC (mg/dL·h)	AUC 变化 (%)
Nor	-	268.0±24.8	-
Con	-	703.2±144.5	-
Met	150	532.0±142.4**	↓24.4
本发明的中药组合物	500	618.5±122.2	↓12.0
	1000	615.2±91.2	↓12.5
	1500	582.4±113.5*	↓17.2

(与模型组比较, n = 10-12. *p<0.05, **p<0.01)

实验 3 本发明的中药提取物组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠空腹血糖、血胰岛素水平及胰岛素敏感指数的影响

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组,分别为模型对照组(Con,以等体积水灌胃)、阳性对照药组(Met,以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组,分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和

1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 各组动物于给药第 28 天进行葡萄糖耐量的同时, 测定空腹血糖和血胰岛素水平 (ELISA 方法), 计算胰岛素敏感指数 (ISI)。ISI=1/(FBG_{mg/dl} × FBI_{ng/ml})。

结果显示 (表 15), 与 Con 组相比, 本发明的中药提取物组合物 500mg/kg 剂量组和 1500mg/kg 剂量组能够显著降低自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠空腹血糖及血胰岛素水平, 从而显著升高其胰岛素敏感指数 (ISI)。

表 15. 本发明的中药组合物对 KKAY 小鼠空腹血糖、胰岛素及胰岛素敏感指数的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dL)	血胰岛素 (ng/mL)	ISI (× 10 ⁻³)
Nor	-	98.5±17.3***	0.73±0.01***	14.2±2.5***
Con	-	258.0±49.3	53.7±33.3	0.11±0.09
Met	150	174.7±41.5***	36.3±27.6	0.26±0.16*
本发明的中药组合物	500	201.1±73.2*	26.5±13.9*	0.24±0.15*
	1000	209.6±59.7*	42.9±26.7	0.17±0.11
	1500	179.6±54.5**	30.7±13.9*	0.25±0.15*

(与模型组比较, n = 10-12. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)。

实验 4 本发明的中药提取物组合物长期给药不同时间对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠空腹血糖的影响

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组, 分别为模型对照组 (Con, 以等体积水灌胃)、阳性对照药组 (Met, 以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组, 分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 各组动物分别在给药第 14、21、28 和 40 天禁食 4 h (自由饮水), 尾尖采血, 测定空腹血糖水平。

结果显示 (表 16), 与 Con 组相比, 本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 三个剂量组在给药过程中均能够不同程度地降低自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠空腹血糖, 其中 1500mg/kg 剂量组在不同时间对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠血糖的降低百分数依次为 43.9%、23.6%、29.8%和 22.4%。提示本发明的中药提取物组合物连续给药能够明显控制自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠的血糖水平。

表 16. 本发明的中药组合物长期给药对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠空腹血糖水平的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dL)			
		给药 14 天	给药 21 天	给药 28 天	给药 40 天
Nor	-	-	125.3±21.5***	98.5±17.3***	91.0±9.6***
Con	-	215.4±71.0	280.6±62.7	256.0±49.3	276.8±66.8
Met	150	132.6±32.5**	176.7±46.2***	174.7±41.5***	178.5±49.0**
本发明的 中药 组合物	500	193.9±44.6	207.4±74.6*	201.1±73.2*	221.7±63.6
	1000	153.5±61.3*	261.4±82.3	209.6±59.7*	232.8±56.8
	1500	120.8±50.1**	214.1±45.9**	179.6±54.5**	214.8±30.5**

(与模型组比较, n = 10-12. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

实验 5 本发明的中药提取物组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠糖化血红蛋白 (HbA1c) 水平的影响

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组, 分别为模型对照组 (Con, 以等体积水灌胃)、阳性对照药组 (Met, 以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组, 分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 于连续给药第 48 天, 尾尖采血, 测定糖化血红蛋白水平。

结果显示 (表 17), 与正常动物对照组相比, 模型对照组的自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠 HbA1c 水平明显升高。本发明的中药提取物组合物 (500、1000 和 1500 mg/kg) 连续给药, 能够使自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠 HbA1c 水平分别降低 0.77、0.87 和 1.03, 中、高剂量组有显著性差异。提示本发明的中药提取物组合物长期给药能够明显控制自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠血糖波动。

表 17. 本发明的中药组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠糖化血红蛋白水平的影响 (48 天)

组别	剂量 (mg/kg)	糖化血红蛋白 (%)
Nor	-	2.95±0.12***
Con	-	5.19±1.04
Met	150	4.34±0.83*
本发明的中药组合物	500	4.42±0.71*
	1000	4.32±1.15
	1500	4.16±0.72*

(与模型组比较, n = 11-12. *p<0.05, ***p<0.001)

实验 6 本发明的中药提取物组合物对 KKAY 小鼠血甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 水平的影响

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组, 分别为模型对照组 (Con, 以等体积水灌胃)、阳性对照药组 (Met, 以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组, 分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 各组动物于给药第 14 天进行胰岛素耐量实验的同时, 采血测定血清甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 水平。

结果显示 (表 18), 与模型对照组 (Con) 相比, 本发明的中药提取物组合物 1500 mg/kg 剂量组能够显著降低自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠血清 TG 水平, 对血清 TC 水平无明显影响。

表 18. 本发明的中药组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠血 TG 和 TC 水平的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血 TG (mg/dL)	血 TC (mg/dL)
Nor	-	125.8±17.6	81.5±47.2
Con	-	381.5±126.5	218.5±38.8
Met	150	253.2±172.6*	243.8±44.0
本发明的中药组合物	500	392.8±120.2	219.4±44.4
	1000	289.4±140.9	204.0±53.7
	1500	196.8±76.5***	182.4±51.3

(与模型组比较, n = 10-12 *p<0.05, ***p<0.001)

实验 7 本发明的中药提取物组合物长期给药对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠胰岛素抗性的影响--高胰岛素正常葡萄糖钳夹技术

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组, 分别为模型对照组 (Con, 以等体积水灌胃)、阳性对照药组 (Met, 以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组, 分别以本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 各组动物于给药 54 天后, 每日随机取不同组小鼠 5~6 只开始进行高胰岛素正常葡萄糖钳夹实验。

结果显示 (表 19), 与正常动物对照组 (Nor) 相比, 在高胰岛素水平条件下,

达到血糖稳态 (6.0 mmol/L) 时, 模型对照组 (Con) 的自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠的葡萄糖输注速率 (GIR) 明显降低, 提示自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠具有明显的胰岛素抵抗。与模型对照组 (Con) 相比, 本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 三个剂量组, 长期给药能使自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠的 GIR 值升高 12.3%、54.3% 和 70.4%。提示本发明的中药提取物组合物长期给药能够改善自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠的胰岛素敏感性。

表 19. 本发明的中药组合物长期给药对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠葡萄糖输注速率的影响

组别	剂量 (mg/kg)	SSBG (mmol/L)	IIR (mU/kg/min)	GIR (mg/kg·min)
Nor	-	6.0±0.3	20.0	27.2±0.8***
Con	-	6.0±0.3	20.0	8.1±2.2
Met	150	6.0±0.3	20.0	14.5±0.6**
本发明的 中药组合 物	500	6.0±0.3	20.0	9.1±0.5
	1000	6.0±0.3	20.0	12.5±4.3
	1500	6.0±0.3	20.0	13.8±4.6*

(与模型组比较, n = 3-5 *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

实验 8 本发明的中药提取物组合物对自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠血压的影响

自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组, 分别为模型对照组 (Con, 以等体积水灌胃)、阳性对照药组 (Met, 以二甲双胍 150 mg/kg 灌胃)、本发明的中药提取物组合物三个剂量组, 分别以本发明的中药组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 灌胃。另取雌性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组 (Nor, 以等体积水灌胃, n=10)。每天灌胃 1 次, 连续 58 天, 各组动物于给药第 53 天, 采用智能无创血压计 (BP98A, 北京软隆生物技术有限公司) 测定血压。

结果显示 (表 20) 本发明的中药提取物组合物 (500、1000 和 1500 mg/kg) 连续给药 53 天, 能够明显降低自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠血压 (注: 正常对照组小鼠因体重较小, 尾巴细, 采用无创血压计无法测出血压)。

表 20. 本发明的中药组合物对自发性 2 型糖尿病 KK_{Ay} 小鼠血压的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血压 (mmHg)
Nor	-	-
Con	-	129.4±11.9
Met	150	118.7±10.6*
本发明的中药组合物	500	119.1±8.5*
	1000	120.3±8.1*
	1500	117.1±6.3**

(与模型组比较, n = 11-12. *p<0.05, **p<0.01)。

实验 9 本发明的中药提取物组合物对高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠胰岛素耐量的影响

选择体重大于 45 g 的高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠进行血糖、血脂、胰岛素抗性等多指标预测试验,并按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组,每组 12 只,分别为模型对照组(Con)、二甲双胍阳性对照组(Met, 150 mg/kg)、本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 组。以雄性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组。阳性药物组和各受试药物组动物每天分别灌胃相应剂量的受试药物,正常对照和模型对照组分别灌胃给予等体积水,每天 1 次,连续 30 天,各组动物于给药第 10 天进行胰岛素耐量实验。实验当天动物禁食 4 h (自由饮水),尾尖采血(0 min),然后皮下注射常规胰岛素(0.4 U/kg),并分别于注射后 40 min 和 90 min 采血,测定血糖水平,并计算 AUC。

结果显示(表 21 和表 22),将注射胰岛素后 40 min 的血糖与注射胰岛素后 0 min 血糖相比,正常动物对照组的 C57BL/6J 小鼠的血糖在注射胰岛素后 40 min 时下降 40.3%,模型对照组的高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠的血糖在注射胰岛素后 40 min 时下降 26.7%,说明肥胖 C57BL/6J 小鼠具有胰岛素抵抗。

与模型对照组(Con)相比,本发明的中药提取物组合物 500 mg/kg 剂量组 和 1500 mg/kg 剂量组能够明显降低高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠注射胰岛素后 40 min 和 90 min 的血糖及 AUC,1000 mg/kg 组能够明显降低高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠注射胰岛素后 90 min 的血糖及 AUC。提示本发明的中药提取物组合物能够明显改善高脂喂养 C57BL/6J 小鼠的胰岛素抵抗。

表 21.本发明的中药组合物对高脂喂养 C57BL/6J 小鼠胰岛素耐量的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dL)		
		0 min	40 min	90 min
Nor	-	91.1±5.7***	54.4±12.6***	60.6±11.5***
Con	-	123.0±11.6	90.2±12.6	91.1±13.9
Met	150	104.5±7.6***	76.3±10.3*	87.5±24.6
本发明的 中药组合 物	500	113.9±13.0	75.1±8.7**	76.3±7.6**
	1000	112.9±15.8	77.9±17.1	75.4±20.4*
	1500	113.3±13.9	79.1±11.0*	74.4±8.1**

(与模型组比较, n = 10-12. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

表 22.本发明的中药组合物对高脂喂养 C57BL/6J 小鼠胰岛素耐量 AUC 的影响

组别	剂量 (mg/kg)	AUC (mg/dL·h)	AUC 变化 (%)
Nor	-	96.4±14.7	-
Con	-	146.6±15.6	-
Met	150	130.0±13.3*	↓11.4
本发明的中药组合 物	500	126.0±12.9**	↓14.0
	1000	127.5±24.8*	↓13.0
	1500	128.1±13.4**	↓12.7

(与模型组比较, n = 10-12. *p<0.05, **p<0.01)

实验 10 本发明的中药提取物组合物对高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠口服葡萄糖耐量的影响

选择体重大于 45 g 的高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠进行血糖、血脂、胰岛素抗性等多指标预测试验,并按胰岛素耐量 40 min 血糖下降百分数、空腹血糖、血 TG 和 TC、体重等 5 个指标分为 5 组,每组 12 只,分别为模型对照组(Con)、二甲双胍阳性对照组(Met, 150 mg/kg)、本发明的中药提取物组合物 500、1000 和 1500 mg/kg 组。以雄性 C57BL/6J 小鼠作为正常动物对照组。阳性药物组和各受试药物组动物每天分别灌胃相应剂量的受试药物,正常对照和模型对照组分别灌胃给予等体积水,每天 1 次,连续 30 天,各组动物于给药第 29 天进行葡萄糖耐量实验。实验当天动物禁食 4 h(自由饮水),首先尾尖采血(0 min),然后灌胃给予葡萄糖溶液(2.0 g/kg),并分别于葡萄糖负荷后 30、60 和 120 min 采血,测定血糖水平,计算 AUC。

结果显示(表 23 和表 24), 本发明的中药组合物 500 剂量组和 1000 mg/kg 剂量组能够明显降低高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠口服葡萄糖负荷后 30、60 和 120 min 的血糖; 1500 mg/kg 剂量组能够明显降低糖负荷后 30 min 血糖; 三个剂量使 AUC 分别降低 10.5%、14.8%和 1.7%。表明本发明的中药提取物组合物能够改善高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠的口服葡萄糖耐量异常状态。

表 23. 本发明的中药组合物对高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠口服葡萄糖耐量的影响

组别	剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dL)			
		0 min	30 min	60 min	120 min
Nor	-	88.0±7.1	151.0±23.5	107.9±17.9	90.4±10.7
Con	-	120.3±13.9	189.2±24.6	148.8±8.2	117.2±18.2
Met	150	107.1±13.9*	162.8±17.3**	140.0±19.5	108.8±16.7
本发明中 中药组 合物	500	120.4±17.3	159.4±19.4**	138.7±14.0*	100.5±15.3*
	1000	114.8±21.1	142.3±22.0***	136.3±19.1*	98.5±22.2*
	1500	119.0±17.1	164.2±18.4*	161.2±19.7	114.4±22.1

(与模型组比较, n=10-12 *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

表 24. 本发明的中药组合物对高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠口服葡萄糖耐量 AUC 的影响

组别	剂量 (mg/kg)	AUC (mg/dl·h)	AUC 变化 (%)
Nor	-	223.6±22.1	-
Con	-	294.9±18.3	-
Met	150	267.6±21.5**	↓9.3
本发明的中药 组合物	500	264.0±23.1**	↓10.5
	1000	251.3±30.7***	↓14.8
	1500	290.0±27.9	↓1.7

(与模型组比较, n=10-12 **p<0.01, ***p<0.001)

药效试验以具有胰岛素抵抗和肥胖特征的自发性 2 型糖尿病 KKAY 小鼠和高脂饲料喂养的 C57/6J 小鼠为实验动物模型, 考察了本发明的中药提取物组合物对胰岛素抵抗、糖脂代谢、血压和体重等代谢综合征相关指标的影响。

药效学试验结果表明有以下作用: (1) 降低血糖; (2) 降低血胰岛素水平; (3) 改善口服葡萄糖耐量异常; (4) 降低糖化血红蛋白 (HbA1c); (5) 增加胰岛素敏感指数, 改善机体胰岛素抵抗; (6) 降低血甘油三酯水平, 对总胆固醇有降低趋势; (7) 降低血压。

四、本发明的中药提取物组合物的安全性

实验动物：C57BL/6J 小鼠来源于北京华阜康生物科技股份有限公司，Beagle 犬来源于北京玛斯生物技术有限公司。

本发明以上所述的中药提取物组合物经口服给药途径小鼠急性毒性试验测定，LD₅₀ 大于 20000mg/kg。

本发明以上所述的中药提取物组合物经口服给药途径 Beagle 犬急性毒性试验测定，致死剂量大于 7500 mg/kg，主要毒性反应为药后呕吐。20000mg/kg 为临床拟用剂量 200 倍，7500 mg/kg 为临床拟用剂量 75 倍。

本发明以上所述的中药提取物组合物经口服大鼠长期毒性试验，试验结果显示：其可以引起大鼠前胃角化过度、角化不全及破坏黏膜等可恢复性胃损伤；可逆性肝细胞肥大、难逆性胆管增生等肝脏的损伤。长期毒性试验剂量为临床拟用剂量的 8、28、98 倍，这种毒性作用与供试品大剂量长期使用及其所使用溶剂密切相关。本发明的中药提取物组合物临床拟用量是安全的。

以上所述，仅为本发明的具体实施方式，但本发明的保护范围并不局限于此，任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内，可轻易想到变化或替换，都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此，本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。

实用性

根据本发明实施例所提供的中药组合物、中药提取物组合物可应用于医药技术领域，尤其适用于治疗代谢综合征。