

桑提取物在制备减轻动物体重的药物中的应用

技术领域

本发明涉及桑提取物在制备减轻动物体重的药物中的应用。

背景技术

- 5 随着生活水平的提高，肥胖和超重现象正在全世界范围内以惊人的速度增长。流行病学研究表明，肥胖和超重是糖尿病、心血管疾病、癌症和过早死亡的重要危险因素。肥胖形成的原因包括脂肪细胞体积的增大和脂肪细胞数目的增多，其中脂肪细胞数量的增加由前体脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞造成的，而前体脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞是在一系列转录因子的激活与表达下完成的。数据显示，糖尿病患者人数居全球首位，
- 10 其中超重人群比例为41.0%，肥胖人群比例为24.3%。与单纯肥胖患者相比，2型糖尿病合并肥胖患者减重并维持体重更加困难（中国2型糖尿病合并肥胖综合管理专家共识，中华内分泌代谢杂志,2016,32(08):623-627.）。

- 桑科植物因具有较高的营养价值和药用价值，自古以来就被认作是药食两用的珍贵材料，在历代中医药典籍、处方中多有用桑枝、桑白皮、桑叶和桑椹等治疗疾病的记载，
- 15 如早在《本草纲目》中便有“桑叶汁煎代茗，能止消渴”，“炙熟煎饮，代茶止渴”的记载。桑科植物的化学成分主要包括黄酮类化合物、多糖类化合物、生物碱等，如今被广泛用于降糖、降脂、抗病毒、免疫调节等药物的制备。

- 现有技术中有一些有关桑提取物减肥降脂的报道，如专利申请 CN1631246A 公开了桑枝提取物的减肥降脂作用，具体表现为桑枝乙醇提取物能够减轻NIH小鼠的体重，降低血液甘油三酯和胆固醇的水平，但是其给药方法、量效关系均不明确；专利申请
- 20 CN102370708A公开了中草药桑叶水提物或醇提物在制备减肥降脂药物中的应用，记载了桑提取物减肥降脂的应用。

KKAy小鼠是在KK小鼠的基础上转入突变基因（ay）而成的一种2型糖尿病动物模型鼠，其发病是在遗传易感的基础上加环境因素而诱发，和人类2型糖尿病的表现极为相似，且其个体差异小，实验重复性好，是一种比较理想的自发性2型糖尿病动物模型。KKAy小鼠临床表现为多饮多食多尿并伴有肥胖，具有高血糖、高度胰岛素抵抗、胰岛功能不足、肝脏病变、肾脏病变等特征。研究表明，KKAy小鼠的体重、肝脏脂肪和附睾脂肪重量明显高于正常小鼠。目前还没有成分明确的桑相关提取物对KKAy小鼠体重影响的研究报道。

发明内容

10 发明人研究发现，本发明的桑提取物对动物的体重减轻具有显著影响，基于此，本发明提供了一种桑提取物在制备减轻动物体重的药物中的应用。

在本发明的一种实施方式中，所述桑提取物含有生物碱，多糖，氨基酸和黄酮。优选地，基于所述桑提取物，各组分重量含量为

15	生物碱	3-99%，
	多糖	0.2-70%，
	黄酮	0-10%，
	氨基酸	0-50%，
	其它组分	0-25%；

更优选地，基于所述桑提取物，各组分重量含量为

20	生物碱	50-99%，
	多糖	0.2-35%，
	黄酮	0-2%，
	氨基酸	0-30%，

其它组分 0-20%;

进一步优选地, 基于所述桑提取物, 各组分重量含量为

生物碱 50-99%,

多糖 0.2-25%,

5 黄酮 0-1%,

氨基酸 0-20%,

其它组分 0-20%。

在一种实施方式中, 所述桑提取物的制备包括以下步骤: 制备粗提液; 任选地, 经阳离子树脂和/或阴离子树脂分离; 任选地, 对树脂流出液进行醇沉处理; 以及任选地, 10 浓缩干燥处理。优选地, 所述桑提取物的制备包括以下步骤: 步骤1): 制备粗提液; 步骤2): 经阳离子树脂和/或任选的阴离子树脂分离; 任选的步骤3): 对步骤2) 的树脂流出液进行醇沉处理; 任选的步骤4) 浓缩干燥处理。

在一种实施方式中, 所述桑提取物按照以下步骤制备: 将桑枝、桑叶或桑白皮粉碎, 用水和/或醇溶液或酸水加热回流提取, 溶剂量为原药材的3-20倍, 重复提取1-3次, 合并 15 提取液, 浓缩, 上阳离子交换树脂, 蒸馏水洗尽不吸附的杂质, 用0.2-3N氨水洗脱, 洗脱液浓缩上阴离子交换树脂, 收集不吸附的部分, 加入乙醇, 沉淀去除杂质, 离心, 清液减压浓缩或喷雾干燥或冷冻干燥, 得提取物。

在一种实施方式中, 所述桑提取物按照以下步骤制备: 将桑枝、桑叶或桑白皮粉碎, 用水和/或醇溶液或酸水加热回流提取, 溶剂量为原药材的3-20倍, 重复提取1-3次, 合并 20 提取液, 浓缩, 上阳离子交换树脂, 蒸馏水洗尽不吸附的杂质, 用0.2-3N氨水洗脱, 洗脱液浓缩上阴离子交换树脂, 收集不吸附的部分, 减压浓缩或喷雾干燥或冷冻干燥, 得提取物。

在一种实施方式中，所述桑提取物按照以下步骤制备：将桑枝、桑叶或桑白皮粉碎，用水和/或醇溶液或酸水加热回流提取，溶剂量为原药材的3-20倍，重复提取1-3次，合并提取液，浓缩，上阳离子交换树脂，蒸馏水洗尽不吸附的杂质，用0.2-3N氨水洗脱，洗脱液减压浓缩或喷雾干燥或冷冻干燥，得提取物。

- 5 本发明所述的“动物”所指的动物种类不受特别限制，可以为任何具有肠道器官的动物，优选哺乳动物，更优选大鼠、小鼠和人，最优选人。

在本发明的一种实施方式中，所述动物为糖尿病动物。优选地，所述糖尿病动物的身体质量指标BMI $\geq$ 28。

优选地，所述动物为健康动物。

- 10 在本发明的一种实施方式中，所述药物通过减少细胞中脂肪累积减轻动物体重。优选地，所述细胞为肝脏细胞和/或附睾脂肪细胞。更优选地，所述细胞为肝脏细胞。

优选地，所述药物还包括药学上可接受的载体。所述载体为符合用药途径或给药方式的对人体无毒害作用的非活性成分。所述载体可以是固体或液体辅料。固体辅料，例如，包括微晶纤维素、甘露醇、乳糖、预胶化淀粉，低取代羟丙基纤维素、交联聚维酮，

- 15 羧甲基淀粉钠、阿斯巴甜、磷酸氢钙、乳酸钠、泊洛沙姆、十二烷基硫酸钠、羧甲基纤维素钠、明胶、黄原胶、聚维酮、淀粉、硬脂酸镁、羧甲基淀粉钠和滑石粉；液体辅料，例如，包括水、乙醇、糖浆和甘油。

优选地，所述药物为口服给药剂型；进一步优选地，所述药物为片剂、胶囊剂、口服溶液剂、口服乳剂、丸剂、颗粒剂、糖浆剂和散剂。

- 20 本发明的桑提取物不仅能够控制自发性糖尿病肥胖模型小鼠的体重增长，同时成分明确、质量可控、无不良反应、安全性高、成本低廉，为糖尿病肥胖人群提供了新的选择，为减肥药的开发和筛选提供了新的品种。

附图说明

图1是实施例9中桑提取物长期给药对KKAY小鼠体重的影响: (A) 给药前及给药后各组体重, (B) 给药前后的体重变化。 **P<0.01,***P<0.001, 与DM组相比。

图2是实施例11中临床给药8周后个体体重变化图。

5 图3是实施例11中临床给药24周后个体体重变化图。

图4是实施例13中灌胃给药高脂喂养C57小鼠体重变化图。

图5是实施例13中注射给药高脂喂养C57小鼠体重变化图。

图6是不同剂量SZ-A对棕榈酸引起的肝脏甘油三酯和胆固醇积累的影响。SZ-A表示桑枝提取物SZ-A处理组, MET为二甲双胍阳性对照组, PA表示棕榈酸刺激胰岛素抵抗模型组, BSA表示HepG2细胞正常对照组(0.25%BSA处理)。**P<0.01,与正常对照组相比。

10

具体实施方式

以下通过附图和实施例对本发明进一步详细说明。通过这些示例性说明, 本发明的特点和优点将变得更为清楚明确。

15

在这里专用的词“示例性”意为“用作例子、实施例或说明性”。这里作为“示例性”所说明的任何实施例不必解释为优于或好于其它实施例。

此外, 下面所描述的本发明不同实施方式中涉及的技术特征只要彼此之间未构成冲突就可以相互结合。

20 本发明涉及的组分含量根据已公开的方法进行检测(参考公开号为CN111077247A和CN110393738A的专利中记载的方法)。

实施例1 桑提取物的制备1

取新鲜桑枝(细齿桑粤桑11号)1000kg, 粉碎后, 加4000L水, 用加热回流法提取2h, 合并提取液, 过滤除去不溶物, 得到粗提液。粗提液热浓缩至固形物质量百分含量达到

4%，保温50℃作为阳离子树脂柱的上样液。

使用D113型大孔弱酸性苯乙烯系阳离子树脂150kg装柱，使用2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5；使用1mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为8.5；2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5；再使用5倍柱体积的去离子水冲洗，完成活化。上样经浓缩处理的提取液，然后使用1000L 2.5mol/L氨水洗脱，洗脱速度为6BV/h，检测阳离子柱流出液的pH>7时收集洗脱液，当收集液达到900L时，停止收集，将收集液直接过阴离子柱纯化。

使用D218型大孔强碱性丙烯酸系阴离子树脂62.5kg装柱，使用1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；使用1.5mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为3.5；1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；完成活化。将收集的阳离子树脂洗脱液上样至阴离子树脂，收集流出液至流出液达到870L结束。

收集液进行离心除杂再进行反离子渗透膜浓缩，浓缩后的液体比重为1.25，将其转移至醇沉罐内，搅拌浆500rpm下加入无水乙醇25L。乙醇加入完毕后停止搅拌，醇沉24h，取上清液，减压浓缩得提取物浸膏。

将流出液减压浓缩得桑枝提取物浸膏，其中，生物碱的含量为52%，多糖的含量为22%，黄酮的含量为0.8%，氨基酸的含量为20%。

实施例2 桑提取物的制备2

取新鲜桑枝(桑特优2号)10kg，粉碎后，加150L水，分2次加入，每次用煎煮法提取3h，合并提取液，过滤除去不溶物。提取液热浓缩至固形物质量百分含量达到8%，将其转移至醇沉罐，搅拌浆300rpm下加入2367.9g无水乙醇(3L)。乙醇加入完毕后停止搅拌，醇沉24h，取上清液作为阳离子树脂柱的上样液。使用002SC型强酸性苯乙烯系阳离子树脂5kg装柱，按照实施例1的方法对阳离子树脂进行活化。上样经浓缩醇沉处理的提取液，然后使用100L 5mol/L氯化钾洗脱，洗脱速度为5BV/h，用20%硅钨酸检

测流出液，当有白色沉淀生成时开始收集，当收集液达到 25L 时，停止收集，将收集液直接过阴离子柱纯化。

使用 711 型强碱性苯乙烯系阴离子树脂 10kg 装柱，按照实施例 3 的方法对阴离子树脂进行活化。将收集的阳离子树脂洗脱液上样至阴离子树脂，收集流出液至流出液达到 5 15L 结束。将收集液重新上样至阳离子树脂，按照上述方法依次用阳离子树脂和阴离子树脂再分离两次。

将经过三次柱分离后得到的收集液进行离心除杂再进行反离子渗透膜浓缩，浓缩后的液体比重为 1.25，将其转移至醇沉罐内，搅拌桨 1000rpm 下加入无水乙醇 125g。乙醇加入完毕后停止搅拌，醇沉 24h，取上清液，减压浓缩得提取物浸膏。另外取新鲜桑白皮 10 和桑叶(桑特优 2 号)进行提取，提取方法和参数与上述方法相同。

得到的桑枝提取物中，生物碱的含量为 98%，多糖的含量为 0.2%，黄酮的含量为 0.05%，氨基酸的含量为 0。

得到的桑白皮提取物中，生物碱的含量为 95%，多糖的含量为 2%，黄酮的含量为 0.1%，氨基酸的含量为 1%。

15 得到的桑叶提取物中，生物碱的含量为 90%，多糖的含量为 4%，黄酮的含量为 0.1%，氨基酸的含量为 3%。

实施例 3 桑提取物的制备 3

取新鲜桑枝(广东桑)1000kg，粉碎后，加 11500L 水，加热回流提取 2h，合并提取液，20 过滤除去不溶物，得到粗提液。粗提液先经离心除杂，再用反离子渗透膜浓缩至固形物质量百分含量达到 1%，作为阳离子树脂柱的上样液。

使用 D001 型大孔强酸性苯乙烯系阳离子树脂 300kg 装柱，按照制备例 1 的方法对阳离子树脂进行活化。上样经浓缩处理的粗提液，使用 5000L 0.04mol/L 硝酸铵洗脱，洗

脱速度为 5BV/h, 用 20% 硅钨酸检测流出液, 当有白色沉淀生成时开始收集, 当收集液达到 1000L 时, 停止收集。

将经过阳离子柱分离后得到的收集液进行纳滤膜浓缩, 减压浓缩得提取物浸膏。

得到的桑枝提取物中, 生物碱的含量为 15%, 多糖的含量为 20%, 黄酮的含量为 7%,

5 氨基酸的含量为 45%。

实施例4 桑提取物的制备4

取干桑枝(粤桑11号) 333kg, 粉碎后, 加4000L水, 加热回流法分两次提取, 每次回流1h, 合并提取液, 过滤, 将提取液浓缩至1kg生药量/L。

10 使用D113型大孔弱酸性苯乙烯系阳离子树脂150kg装柱, 使用2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5; 使用1mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为8.5; 2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5; 再使用5倍柱体积的去离子水冲洗, 完成活化。上样经浓缩处理的提取液, 然后使用1000L 2.5mol/L氨水洗脱, 洗脱速度为6BV/h, 检测阳离子柱流出液的pH>7时收集洗脱液, 当收集液达到900L时, 停止收集, 将收集液直接过阴离子柱纯化。

15 使用D218型大孔强碱性丙烯酸系阴离子树脂125kg装柱, 使用1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0; 使用1.5mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为3.5; 1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0; 完成活化。将收集的阳离子树脂洗脱液上样至阴离子树脂, 收集集pH大于8的流出液至流出液达到870L结束。

将经过阴离子柱分离后得到的收集液进行微滤膜过滤除杂再用反离子渗透膜浓缩, 20 浓缩后的液体比重为1.1, 将其转移至醇沉罐内, 搅拌桨400rpm下加入无水乙醇15kg。乙醇加入完毕后停止搅拌, 醇沉24h, 取上清液, 减压浓缩得桑枝提取物浸膏。样品含量: 生物碱的含量为80%, 多糖的含量为5%, 黄酮的含量为0.1%, 氨基酸的含量为4%。

实施例5 桑提取物的制备5

取干桑枝（粤桑11号）400kg，粉碎后，加4000L水，加热回流法分两次提取，每次回流1h，合并提取液，过滤，将提取液浓缩至1kg生药量/L。

使用D218型大孔强碱性丙烯酸系阴离子树脂62.5kg装柱，使用1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；使用1.5mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为3.5；1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；完成活化。将收集的提取浓缩液上样至阴离子树脂，收集流出液。

将经过阴离子柱分离后得到的收集液进行微滤膜过滤除杂再用反离子渗透膜浓缩，进一步减压浓缩干燥得桑枝提取物浸膏。样品含量：生物碱的含量为3%，多糖的含量为70%，黄酮的含量为10%，氨基酸的含量为10%。

实施例6 桑提取物的制备6

取新鲜桑枝（细齿桑粤桑11号）1500kg，粉碎后，加6000L水，用加热回流法提取2h，合并提取液，过滤除去不溶物，得到粗提液。粗提液热浓缩至固形物质量百分含量达到4%，保温50℃作为阳离子树脂柱的上样液。

使用D113型大孔弱酸性苯乙烯系阳离子树脂100kg装柱，使用2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5；使用1mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为8.5；2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5；再使用5倍柱体积的去离子水冲洗，完成活化。上样经浓缩处理的提取液，然后使用1000L 2.5mol/L氨水洗脱，洗脱速度为6BV/h，检测阳离子柱流出液的pH>7时收集洗脱液，当收集液达到900L时，停止收集，将收集液直接过阴离子柱纯化。

使用D218型大孔强碱性丙烯酸系阴离子树脂62.5kg装柱，使用1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；使用1.5mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为3.5；1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；完成活化。将收集的阳离子树脂洗脱液上样至阴离子树脂，收

集流出液至流出液达到870L结束。将流出液减压浓缩得桑枝提取物浸膏，其中，生物碱的含量为30%，多糖的含量为35%，黄酮的含量为2%，氨基酸的含量为25%。

实施例7 桑提取物的制备7

- 5 取新鲜桑枝（细齿桑粤桑11号）1000kg，粉碎后，加4000L水，用加热回流法提取2h，合并提取液，过滤除去不溶物，得到粗提液。粗提液热浓缩至固形物质量百分含量达到4%，保温50℃作为阳离子树脂柱的上样液。

- 使用D113型大孔弱酸性苯乙烯系阳离子树脂100kg装柱，使用2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5；使用1mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为8.5；2mol/L的盐酸溶液洗至
10 洗出液pH为4.5；再使用5倍柱体积的去离子水冲洗，完成活化。上样经浓缩处理的提取液，然后使用1000L 2.5mol/L氨水洗脱，洗脱速度为6BV/h，检测阳离子柱流出液的pH>7时收集洗脱液，当收集液达到900L时，停止收集，将收集液直接过阴离子柱纯化。

- 使用D218型大孔强碱性丙烯酸系阴离子树脂62.5kg装柱，使用1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；使用1.5mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为3.5；1.5 mol/L氢氧化钠
15 溶液洗至洗出液pH为9.0；完成活化。将收集的阳离子树脂洗脱液上样至阴离子树脂，收集流出液至流出液达到870L结束。将流出液减压浓缩得桑枝提取物浸膏，其中，生物碱的含量为40%，多糖的含量为25%，黄酮的含量为0.5%，氨基酸的含量为25%。

实施例8 桑提取物的制备8

- 20 取干桑枝（粤桑11号）333kg，粉碎后，加4000L水，加热回流法分两次提取，每次回流1h，合并提取液，过滤，将提取液浓缩至1kg生药量/L。

使用D113型大孔弱酸性苯乙烯系阳离子树脂150kg装柱，使用2mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为4.5；使用1mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为8.5；2mol/L的盐酸溶液洗至

洗出液pH为4.5；再使用5倍柱体积的去离子水冲洗，完成活化。上样经浓缩处理的提取液，然后使用1000L 2.5mol/L氨水洗脱，洗脱速度为6BV/h，检测阳离子柱流出液的pH>7时收集洗脱液，当收集液达到900L时，停止收集，将收集液直接过阴离子柱纯化。

使用D218型大孔强碱性丙烯酸系阴离子树脂62.5kg装柱，使用1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；使用1.5mol/L的盐酸溶液洗至洗出液pH为3.5；1.5 mol/L氢氧化钠溶液洗至洗出液pH为9.0；完成活化。将收集的阳离子树脂洗脱液上样至阴离子树脂，收集集pH大于8的流出液至流出液达到870L结束。

将经过阴离子柱分离后得到的收集液进行微滤膜过滤除杂再用反离子渗透膜浓缩，浓缩后的液体比重为1.1，将其转移至醇沉罐内，搅拌桨400rpm下加入无水乙醇15kg。乙醇加入完毕后停止搅拌，醇沉24h，取上清液，减压浓缩得桑枝提取物浸膏。样品含量：生物碱的含量为63%，多糖的含量为23%，黄酮的含量为1%，氨基酸的含量为5%。

实施例9 桑提取物对自发性2型糖尿病KKAy小鼠体重的影响

选择12周龄的雌性KKAy小鼠，高脂饲料喂养3周后，根据随机血糖、空腹血糖及体重等指标，平均分成3组（DM组，SZ-A 160（mg桑提取物/kg），SZ-A 320（mg桑提取物/kg）），每组8只，每日灌胃给予实施例8的桑提取物一次，连续给药约6周，并记录给药前后小鼠体重变化，如表1、表2和图1所示。

表1 自发性2型糖尿病KKAy小鼠分组数据

组别	剂量 (mg 提取物 /kg)	空腹血糖 (mg / dl)	随机血糖 (mg / dl)	体重 (g)
DM	-	276.5 ± 70.6	416.3 ± 81.3	43.7 ± 2.6
SZ-A	160	274.9 ± 82.6	429.0 ± 132.3	43.0 ± 3.1
	320	274.6 ± 66.0	420.2 ± 140.7	43.4 ± 2.1

给予桑提取物之前, 各组小鼠的体重平均值均为 43 g 左右。给予桑提取物约 6 周后, 桑提取物两个剂量组的小鼠体重明显减轻, SZ-A160 剂量组的小鼠体重较 DM 组减轻了 2.0 g, 体重减轻率为 4.2%; SZ-A320 剂量组的小鼠体重较 DM 组减轻了 4.1 g, 体重减轻率为 8.6%。在给药期间, SZ-A 两个剂量组的小鼠体重增长速度也显著降低, DM 组小鼠的体重平均增长了 4.4 g, SZ-A160 剂量组平均增长了 2.6 g, SZ-A320 剂量组平均增长了 0.1 g, 说明桑提取物具有显著的控制 KKAy 小鼠体重增长的作用。

10

表2 自发性2型糖尿病KKAy小鼠体重变化

组别	剂量 (mg 提取物/kg)	给药前体重 (g)	给药后体重 (g)	体重增长 (g)
DM	-	43.7 ± 2.6	47.6 ± 1.4	4.4 ± 1.5
SZ-A	160	43.0 ± 3.1	45.6 ± 1.6**	2.6 ± 1.3**
	320	43.4 ± 2.1	43.5 ± 2.4***	0.1 ± 1.6***

与 DM 比较, 数据以 $\bar{X} \pm SD$ 表示, n = 8; DM 为 KKAy 模型对照组, SZ-A 为给药组。

P<0.01, *P<0.001 与DM组相比

实施例10 临床试验1

15

取实施例1的桑枝提取物, 加入适量辅料, 混合均匀, 加水制软材, 制粒干燥, 加入硬脂酸镁, 混合均匀, 压片, 即得桑枝提取物制剂, 每片含总生物碱50 mg。

临床病例及治疗:

(1) 43 岁, 84.2 公斤, 身高 170 cm 的中国男性, 患有 2 型糖尿病 3 个月, 口服含实施例1 桑提取物的片剂, 一日三次, 一次两片, 口服 24 周, 体重减轻 10.2 公斤。

20

(2) 65 岁, 68.3 公斤, 身高 173 cm 男性, 患有 2 型糖尿病 7 个月, 合并高脂血症, 口

服含实施例1的片剂，一日三次，一次两片，持续24周，体重减轻6.3公斤。

(3) 64岁，75.0公斤，身高168 cm男性，患有2型糖尿病12个月，服药阿卡波糖两个月后停药，8个月后口服含实施例1的片剂，一日三次，一次两片，持续24周，体重减轻7公斤。

- 5 (4) 48岁，81.0公斤，身高164 cm女性，患有2型糖尿病8个月，合并高脂血症，口服含实施例1的片剂，一日三次，一次两片，持续24周，体重减轻7公斤。

实施例11 临床试验2

1、实验目的：

桑枝提取物减轻糖尿病患者体重

10 2、实验方法

2.1 实验分组

- 采用随机、双盲双模拟、阿卡波糖片平行对照、多中心、非劣性研究设计。纳入年龄 18-70 岁、 $19 \text{ kg/m}^2 \leq \text{BMI} \leq 30 \text{ kg/m}^2$ 、 $7\% \leq \text{HbA1C} \leq 10\%$ ，血糖控制不佳的 2 型糖尿病受试者 600 例，随机分成桑枝总生物碱片组(SZ-A, N=360)和阿卡波糖(拜唐苹®) 15 组(CON, N=240)。均签署了知情同意书。

- 主要排除标准为：1) a-glucosidase 抑制剂过敏或不耐受；2) 第一次随访和第二次随访之间的 FBS 水平变化 $>2.5 \text{ mmol/L}$ ($>45 \text{ mg/dL}$)；3) 有严重糖尿病并发症史(糖尿病视网膜病变的增殖阶段，糖尿病肾病 V 期，糖尿病酮症酸中毒，糖尿病高渗昏迷、糖尿病性乳酸酸中毒)；4) 药物联合治疗影响葡萄糖代谢，比如抗糖尿病中药或糖皮质激素；5) 20 高脂血症伴有不规则降脂药物摄入史；6) 慢性胃肠功能障碍，明显消化和吸收障碍或内分泌疾病比如甲状腺机能亢进，高皮质醇症和肢端肥大症；7) 严重心脏病、心肌梗塞、不稳定性心绞痛、慢性心功能不全或者血压控制不佳；8) 肝功能或肾功能受损；9) 怀孕。

2.2 给药方法

实验组口服给药片（药片的制备方法为：实施例 1 提取物，加入适量辅料，混合均匀，加水制软材，制粒干燥，加入硬脂酸镁，混合均匀，压片，即得桑枝提取物制剂，每片含总生物碱 50mg），起始剂量每次 1 片，一日 3 次；4 周后递加至每次 2 片，一日 3 次；对照组口服阿卡波糖，每次给药 1 片，每天 3 次。

3、实验数据检测与处理

3.1 检测指标

(1)给药第 1 周-24 周，每天观察并记录各组的身高、体重及增重。

3.2 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理，组间差异采用 T-检验。

4、实验结果

给药 8 周、24 周后，各组二型糖尿病人的不同 BMI 分组实验数据结果如表 3、4 所示，以及图 2 图和 3 所示。

给药 8 周后，BMI≥28 kg/m² 的患者中，实验组与对照组相比，体重显著减轻，平均变化量分别为-0.503kg 和 0.210 kg (P=0.016)；给药 24 周后，BMI≥28 kg/m² 的患者中，实验组与对照组相比，体重显著减轻，平均变化量分别为-1.228kg 和-0.182 kg (P=0.022)；其他 BMI 分组，体重变化没有统计学意义。

表 3：8 周独立样本检验分析

	BMI≥18 kg/m ²	BMI≥24 kg/m ²	BMI≥28 kg/m ²
P	0.719	0.714	0.016

表 4：24 周独立样本检验分析

	BMI≥18 kg/m ²	BMI≥24 kg/m ²	BMI≥28 kg/m ²
P	0.664	0.84	0.022

说明BMI ≥ 28 kg/m²的糖尿病人使用桑枝提取物后不仅能够治疗2型糖尿病，还能够达到减重目的。

实施例 12 临床试验例 3

5 1、实验目的

桑枝提取物减轻健康人体重

2、实验方法

2.1 实验仪器与材料

体重计。

10 2.2 实验设计

非糖尿病人群，共 17 例，男性为 11 例，女性为 6 例，均为健康人群，服药期间正常饮食，服药周期为 0.7 到 8 个月，剂量为 50 或 100 mg/次，用药次数为 2-3 次/天。

2.3 检测指标

在进行实验前和实验结束时，检测以下身体指标：体重，身高。

15 减重判断标准：（1）优效，体重下降百分数大于等于 10%；（2）显效，体重下降百分数大于等于 5%小于 10%；（3）有效，体重下降百分数大于等于 3%小于 5%；（4）无效，体重下降百分数小于 3%。

3、实验结果

优效的为 2 例，显效的为 9 例，有效的为 5 例，无效的为 1 例，总有效率为 94%。

20 此外各个受试者服药后无不良反应，表明该药对非糖尿病人减重作用的效果显著。受试者信息和实验结果见下表 5。

总有效率=（显效例数+有效例数）/例数*100%。

TID 表示：每日服药三次

BID 表示：每日服药两次

表 5

序号	性别	年龄	身高 (米)	服药周 期 (月)	剂量 (mg/次)	用法	服药前体 重 kg	服药后体 重 kg	体重下降 百分数 (%)
1	男	50	1.70	6	50	TID	70	61	13
2	男	45	1.72	3	100	TID	68	64	6
3	男	42	1.74	3	50	BID	92	84	9
4	男	43	1.71	8	100	TID	76	69.5	9
5	男	33	1.9	1	50	BID	103.4	98.7	5
6	女	43	1.59	6	50	TID	49	46	6
7	女	30	1.68	1	50	TID	66	62	6
8	男	58	1.66	6	50	TID	68	65	4
9	女	56	1.58	2	50	TID	58	56	3
10	男	53	1.76	2	50	BID	90	88.5	2
11	女	40	1.6	2	50	BID	65	62	5
12	男	46	1.75	1	50	TID	77.5	75	3
13	男	34	1.72	4	50	BID	80	73	9
14	男	35	1.7	3	100	BID	77	72	6
15	女	46	1.57	1.5	100	TID	62	59.5	4
16	男	28	1.87	1	50	TID	110	105.3	4
17	女	49	1.6	0.7	100	TID	65	56	14

实施例 13、高脂喂养 C57 小鼠体重减轻实验

5 1、灌胃给药

随机将 30 只 6 周龄健康的雄性 C57 小鼠分为正常组、模型组、SZ-A 组，每组各 10 只。其中正常组小鼠给予基础饲料喂养，模型组和 SZ-A 组给予高脂饮食。饲养 14 周后，每天对各组小鼠给予相应的药物灌胃，连续给药 6 周，SZ-A 组按桑枝总生物碱 400mg/kg/d 灌胃，正常组和模型组灌胃相应剂量的溶剂，药物治疗期间，监测小鼠体重。给药结束 10 后，所有小鼠禁食 12 小时后，称体重。

结果如图 4 所示，模型组小鼠平均体重为 50.3g，给药组小鼠平均体重为 43.7g，SZ-A 可显著降低高脂饮食小鼠的体重。

2、注射给药

(1) 动物建模: 30 只 6 周龄 C57 小鼠随机分为三组, 第一组喂养正常饮食、第二组和第三组喂养高脂饮食, 持续喂养 14 周后。

(2) 给药处理: 第三组根据体重按桑枝总生物碱 200mg/kg 进行腹腔注射, 注射给药的时间为 6 周。第一组和第二组分别按体重注射生理盐水。每天给药一次。

5 (3) 体重测量: 在给药处理后, 用天平测量小鼠体重并记录。

结果如图 5 所示, 模型组平均体重为 50.6g, 给药组平均体重为 42.8g, 注射 SZ-A 可显著降低高脂饮食引起的肥胖。

实施例14 体外细胞试验

1. 处于对数生长期的HepG2细胞消化后, 用含10%FBS的DMEM(高糖)完全培养基
10 调整细胞密度为 2×10^5 个/ml, 2ml/孔转入6孔板。

2. 培养24h后, 将模型细胞随机分为SZ-A组 (50 ug/ml, 25 ug/ml, 12.5 ug/ml 实施例
1的桑枝提取物SZ-A)、二甲双胍组 (200umol/l MET) 和棕榈酸刺激模型组 (PA),
同时设HepG2细胞做为正常对照组 (0.25%BSA)。除正常对照组 (0.25%BSA) 和模
型组外 (PA), 其它各组分别加入相应的药物及棕榈酸, 复制棕榈酸刺激模型, 各组
15 设置3个复孔。

3. 培养24h后, 加入预热PBS洗一次后, 6孔板每孔加入400ul含有1%PMSF Triton
x-100裂解液。置于冰上或4℃裂解1h移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触。裂解
好的液体不离心, 涡旋后, 直接测定10ul甘油三酯和10ul总胆固醇。

试验结果见图6, 肝脏的脂肪积累过多容易形成脂肪肝。用棕榈酸PA刺激HepG2肝脏
20 细胞, 可以模拟脂肪肝形成。加入不同剂量SZ-A, 可以看到SZ-A抑制棕榈酸引起的肝脏
甘油三酯和胆固醇的积累。SZ-A作用效果和MET相当。

参照以上方法, 用实施例2-7中制备的桑提取物 (剂量为25 ug/ml) 处理模型细胞,

分别对细胞中的甘油三酯和总胆固醇进行测定。结果显示，与PA组相比，经桑提取物处理后，棕榈酸引起的肝脏甘油三酯和胆固醇的积累均有一定程度的降低。具体结果见下表3。

表3 由实施例1至7制备的桑提取物对甘油三酯和胆固醇水平的影响

桑提取物	甘油三酯水平（处理组/PA组）	胆固醇水平（处理组/PA组）
实施例1 桑枝提取物	55%	55%
实施例2 桑枝提取物	30%	40%
实施例3 桑枝提取物	80%	75%
实施例4 桑枝提取物	40%	40%
实施例5 桑枝提取物	90%	90%
实施例6 桑枝提取物	60%	65%
实施例7 桑枝提取物	70%	70%

5 上述实施例表明，桑提取物具有良好的体重控制作用。长期给予桑提取物能够抑制小鼠和人体体重增长、抑制2型糖尿病小鼠和糖尿病患者的体重增长；而且对脏器脂肪积累具有抑制作用。

以上结合了优选的实施方式对本发明进行了说明，不过这些实施方式仅是范例性的，仅起到说明性的作用。在此基础上，可以对本发明进行多种替换和改进，这些均落入本

10 发明的保护范围内。

权 利 要 求 书

1、桑提取物在制备减轻动物体重的药物中的应用，其特征在于，所述桑提取物含有生物碱，多糖，氨基酸和黄酮，基于所述桑提取物，各组分重量含量为

生物碱 3-99%，

多糖 0.2-70%，

5 黄酮 0-10%，

氨基酸 0-50%，

其它组分 0-25%；

更优选地，基于所述桑提取物，各组分重量含量为

生物碱 50-99%，

10 多糖 0.2-35%，

黄酮 0-2%，

氨基酸 0-30%，

其它组分 0-20%。

2、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述动物为哺乳动物，包括人和啮
15 齿类动物。

3、根据权利要求1或2所述的应用，其特征在于，所述动物为糖尿病动物。

4、根据权利要求1或2所述的应用，其特征在于，所述动物为健康动物。

5、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述药物还包括药学上可接受的
载体。

20 6、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述药物为口服给药剂型；优选地，所述药物为片剂、胶囊剂、口服溶液剂、口服乳剂、丸剂、颗粒剂、糖浆剂和散剂。

7、根据权利要求3所述的应用，其特征在于，所述糖尿病动物的 BMI $\geq$ 28。