



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101716165 A

(43) 申请公布日 2010.06.02

(21) 申请号 200910200593.5

(22) 申请日 2009.12.23

(71) 申请人 华东理工大学

地址 200237 上海市梅陇路 130 号

(72) 发明人 卢艳花 王菡菁

(74) 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司

31002

代理人 王洁

(51) Int. Cl.

A61K 31/05(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A23L 1/30(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

(54) 发明名称

氧化白藜芦醇的用途

(57) 摘要

本发明涉及一种氧化白藜芦醇在制备抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品中的用途,还涉及一种氧化白藜芦醇在制备降血糖药物、食品或保健品中的用途,还涉及一种氧化白藜芦醇在制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品中的用途,因此,通过本发明,氧化白藜芦醇可用于制备抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品;可用于制备降血糖药物、食品或保健品;还可用于制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品,为糖尿病患者带来福音。

1. 氧化白藜芦醇在制备抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品中的用途。
2. 氧化白藜芦醇在制备降血糖药物、食品或保健品中的用途。
3. 氧化白藜芦醇在制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品中的用途。

## 氧化白藜芦醇的用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及化合物用途技术领域,特别涉及芪类化合物的用途技术领域,具体是指一种氧化白藜芦醇的用途。

### 背景技术

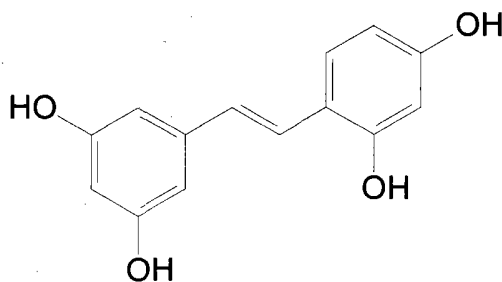
[0002] 糖尿病 (Diabetes mellitus, DM) 是以持续高血糖为基本生化特征的一种综合病症。主要是由于体内胰岛素相对或绝对不足所引起的糖代谢紊乱所致。近年来,糖尿病发病率逐年增多,已成为继肿瘤、心脑血管病后第三位严重的慢性病。糖尿病患者如不及时进行降糖治疗,可导致眼、肾、神经、血管和心脏等组织、器官的慢性并发症,以致最终发生失明、下肢坏疽、尿毒症、脑中风或心肌梗死。

[0003] 目前临床上应用的降血糖药物除胰岛素外,多数为化学合成药物,长期服用化学合成药物给患者带来的毒副作用是比较明显的。中药复方疗效确切、无明显的毒副作用,但疗效慢且加工而成的中成药中少。现今药物市场上缺少单体天然化合物制备而成的降血糖药物,本发明通过研究发现氧化白藜芦醇是具降血糖效果的单体化合物。

[0004]  $\alpha$ -葡萄糖苷酶又叫  $\alpha$ -D-葡萄糖苷水解酶,它是小肠内麦芽糖、蔗糖等寡糖的水解酶。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂是治疗糖尿病的一类药物,其作用特点是在碳水化合物的消化最后一步抑制双糖降解为单糖。研究表明,该酶抑制剂不仅可防治糖尿病、肥胖症,还具有抗肿瘤和 AIDS 病毒的作用,因此研究  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用,具有重要的临床意义。

[0005] 氧化白藜芦醇 (Oxyresveratrol),属于芪类化合物,化学名为 2,4,3',5'-四羟基二苯乙烯 (trans-2,4,3',5'-tetrahydroxystilbene),分子式为  $C_{14}H_{12}O_4$ ,相对分子量为 244,分子结构如下所示。现主要通过桑枝和滇波罗蜜中提取分离及化学合成法得到。

[0006]



### 发明内容

[0007] 本发明的目的是克服了上述现有技术中的缺点,提供一种氧化白藜芦醇的用途,氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性具有良好的抑制作用,可用于制备抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品;具有显著的降血糖功能,为天然降血糖活性单体化合物,可用于制备降血糖药物、食品或保健品;还可用于制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品,为糖尿病患者带来福音。

[0008] 为了实现上述目的,在本发明的第一方面,提供了一种氧化白藜芦醇在制备抑制

$\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品中的用途。

[0009] 在本发明的第二方面,提供了一种氧化白藜芦醇在制备降血糖药物、食品或保健品中的用途。

[0010] 在本发明的第三方面,提供了一种氧化白藜芦醇在制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品中的用途。

[0011] 本发明的有益效果具体如下:

[0012] 1、本发明通过研究发现氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性具有明显的抑制作用,其 IC<sub>50</sub> 为 0.15mM,可用于制备抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品;

[0013] 2、本发明通过研究发现氧化白藜芦醇能降低四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的血糖值,并能缓解糖尿病小鼠体重减轻的症状,为天然降血糖活性单体化合物,可用于制备降血糖药物、食品或保健品;

[0014] 3、本发明通过研究发现氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性具有良好的抑制作用,还能显著降低四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的血糖值,并能缓解糖尿病小鼠体重减轻的症状,可用于制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品,为糖尿病患者带来福音。

## 附图说明

[0015] 图 1 是氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制曲线。

## 具体实施方式

[0016] 为了能够更清楚地理解本发明的技术内容,特举以下实施例详细说明。

[0017] 实施例 1 氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的体外抑制作用实验

[0018] 药物:

[0019]  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.20, from yeast), 日本 Wako 和光纯药;

[0020] 4-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG)、还原型谷胱甘肽, 上海西宝生物科技有限公司。磷酸二氢钾、氢氧化钠均为分析纯;

[0021] 氧化白藜芦醇, 按文献 (傅大煦, 陈蕾, 侯爱君, 姚青, 张文字. 黑桑的化学成分研究. 中草药, 2005, 36 (9): 1296-1299) 的方法实验室自制, 纯度 > 98% (HPLC)。

[0022] 试剂:

[0023] 缓冲液: 0.1mol/l PH 7 磷酸盐缓冲液 (磷酸二氢钾-氢氧化钠);

[0024] 酶溶液: 酶 -20℃ 保存。0.01mol/l 缓冲液 (含 0.2% BSA) 配成 0.2U/ml 溶液, 酶溶液 -80℃ 保存;

[0025] 抑制剂: 提取液离心取上清, 对半稀释成不同浓度;

[0026] 底物溶液: 4-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 缓冲液配成 2.5mmol/l, 反应当天现配;

[0027] 酶反应保护剂: 还原型谷胱甘肽配成 1mg/ml 水溶液;

[0028] 反应终止液: 0.2mol/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液。

[0029] 实验方法与结果:

[0030] 按表 1 所示按不同组别在 96 孔板中分别加入磷酸钾缓冲液、不同浓度氧化白藜

芦醇、葡萄糖苷酶、谷胱甘肽、蒸馏水，混匀，再加入 PNPg 溶液，37℃ 水浴反应 15min。加入  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  终止反应。中止反应后用酶标仪测定各反应体系在 405nm 处的光吸收值，并计算抑制效果。

[0031] 表 1 反应体系

[0032]

试剂 组别	缓冲液 ( $\mu\text{l}$ )	抑制剂 ( $\mu\text{l}$ )	酶溶液 ( $\mu\text{l}$ )	保护剂 ( $\mu\text{l}$ )	底物溶液 ( $\mu\text{l}$ )	蒸馏水 ( $\mu\text{l}$ )	终止液 ( $\mu\text{l}$ )
抑制剂组	20	20	20	20	20	0	80
对照组	20	20	0	20	20	20	80
酶活组	20	0	20	20	20	20	80
空白组	20	0	0	20	20	40	80

[0033] 抑制效果 = (原始酶活力 - 抑制后的酶活力) / 原始酶活力  $\times 100\%$

[0034]  $= (A_1 - A_2) / A_1 \times 100\%$  ( $A_1 = A_{\text{酶}} - A_{\text{空白}}$ ;  $A_2 = A_{\text{抑制剂}} - A_{\text{对照}}$ )

[0035] 绘制氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制曲线 (图 1)，通过软件计算得  $\text{IC}_{50}$  为 0.15mM，表明氧化白藜芦醇对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶有较佳的抑制效果，可用于糖尿病治疗。

[0036] 实施例 2 氧化白藜芦醇对四氧嘧啶糖尿病小鼠的降糖作用实验

[0037] 药物：

[0038] 四氧嘧啶，sigma 公司，临用现配，生理盐水配成浓度 1%，剂量：200mg/kg；

[0039] 葡萄糖试剂盒，上海荣盛生物医药有限公司；

[0040] 优降糖，2.5mg/片，上海医药（集团）有限公司；

[0041] 氧化白藜芦醇，按文献（傅大煦，陈蕾，侯爱君，姚青，张文字．黑桑的化学成分研究．中草药，2005，36(9)：1296-1299）的方法实验室自制，纯度  $> 98\%$  (HPLC)。

[0042] 动物：

[0043] 昆明小鼠，体重 22-25g，上海斯莱克实验动物有限公司

[0044] 实验方法与结果：

[0045] 随机取正常雄性昆明小鼠 (22-25g) 10 只作为正常组，其余小鼠禁食 16h，腹腔注射四氧嘧啶 200mg/kg，正常饲养，72h (禁食 12h) 后，断尾取血，测空腹血糖值。选取血糖值  $> 16.67\text{mmol/L}$  的小鼠 40 只，随机分为 4 组，分别按按 0.2ml/10g 腹腔注射 3mg/Kg 氧化白藜芦醇、9mg/Kg 氧化白藜芦醇、15mg/Kg 优降糖以及等体积的生理盐水，每日一次，连续给药 7 天。末次给药前 2h 禁食，给药后 2h 按葡萄糖氧化酶法测血糖值。

[0046] 如表 2 所示，与正常组相比，四氧嘧啶糖尿病小鼠的空腹血糖水平极显著升高。与模型组相比，氧化白藜芦醇 9mg/Kg 在给药后第 7 天显著降低了糖尿病小鼠的空腹血糖。给药前后，分别测定小鼠体重，如表 3 所示，正常组小鼠体重上升较快，糖尿病模型组体重下降，阳性药物对照组和氧化白藜芦醇药物组小鼠的体重在给药后均上升。可见氧化白藜芦醇可缓解糖尿病小鼠体重减轻的症状。

[0047] 表 2 氧化白藜芦醇对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠血糖的作用 ( $n = 10$ ,  $\bar{X} \pm S$ )

组别	剂量 (mg/kg)	血糖值(mmol/L)	
		给药前	给药后
正常组	/	6.67±0.71	6.53±0.67
模型组	/	24.94±1.93	24.56±2.15 <sup>##</sup>
优降糖	15	24.48±2.03	20.68±3.78
低剂量组	3	24.75±1.78	22.43±2.74
高剂量组	9	26.62±2.23	20.65±3.09*

[0049] <sup>##</sup>P < 0.01vs 正常组 ; \*P < 0.05vs 模型组

[0050] 表 3 氧化白藜芦醇对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠体重的影响 (n = 10, X±S)

组别	剂量(mg/kg)	体重 (g)	
		给药前	给药后
正常组	/	24.3±1.3	32.4±1.4
模型组	/	18.1±1.9	15.3±2.6 <sup>##</sup>
优降糖	15	17.8±2.1	21.5±3.7 <sup>**</sup>
低剂量组	3	17.7±1.8	19.3±2.8 <sup>*</sup>
高剂量组	9	17.5±1.9	22.3±3.2 <sup>**</sup>

[0052] <sup>##</sup>P < 0.01vs 正常组 ; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01vs 模型组

[0053] 从以上实施例可以看出,氧化白藜芦醇对 α-葡萄糖苷酶活性具有良好的抑制作用,可用于制备抑制 α-葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品;氧化白藜芦醇在体内、外实验中,均表明具有显著的降血糖功能,为天然降血糖活性单体化合物,可用于制备降血糖药物、食品或保健品;可用于制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品,为糖尿病患者带来福音。

[0054] 综上,本发明的氧化白藜芦醇对 α-葡萄糖苷酶活性具有良好的抑制作用,可用于制备抑制 α-葡萄糖苷酶活性的药物、食品或保健品;具有显著的降血糖功能,为天然降血糖活性单体化合物,可用于制备降血糖药物、食品或保健品;还可用于制备治疗或预防糖尿病及其并发症的药物、食品或保健品,为糖尿病患者带来福音。

[0055] 在此说明书中,本发明已参照其特定的实施例作了描述。但是,很显然仍可以作出各种修改和变换而不背离本发明的精神和范围。因此,说明书和附图应被认为是说明性的而非限制性的。

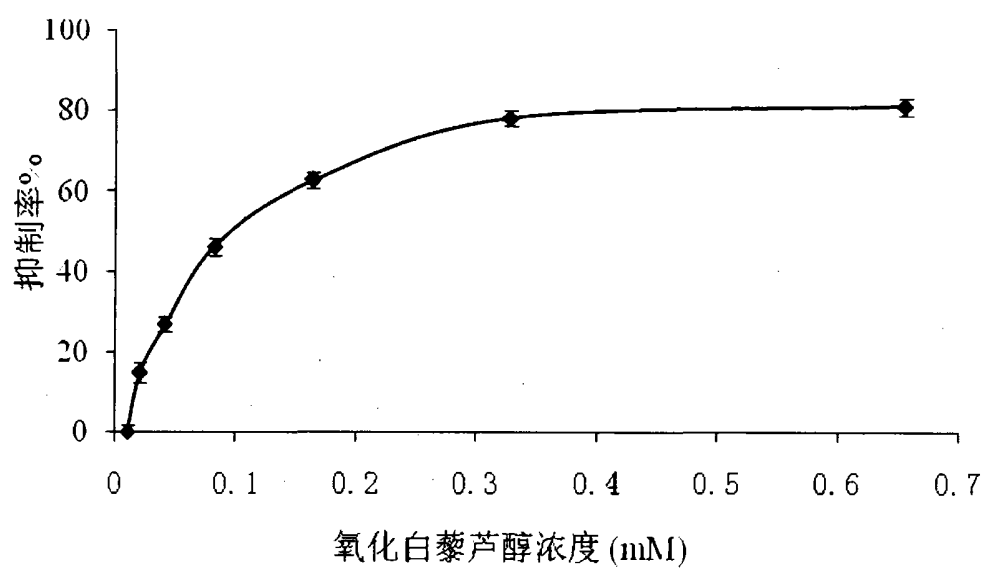


图 1