

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2016 年 9 月 22 日 (22.09.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/145982 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/192 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) *A61P 13/12* (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01) *A61P 5/50* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2016/074780

(22) 国际申请日: 2016 年 2 月 28 日 (28.02.2016)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201510120789.9 2015 年 3 月 17 日 (17.03.2015) CN
201510120866.0 2015 年 3 月 17 日 (17.03.2015) CN
201510540350.1 2015 年 8 月 27 日 (27.08.2015) CN
201510942960.4 2015 年 12 月 17 日 (17.12.2015) CN

(71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号李萍, Jiangsu 210009 (CN)。

(72) 发明人: 李萍 (LI, Ping); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。 徐晓军 (XU, Xiaojun); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 210009 (CN)。

(74) 代理人: 北京科亿知识产权代理事务所 (普通合伙) (BEIJING KEYI INTELLECTUAL PROPERTY FIRM); 中国北京市北京海淀区蓟门里和景园 1-2-502 号汤东风, Beijing 100088 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

- 关于发明人身份(细则 4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
- 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: MEDICAL USE OF CARNOSIC ACID

(54) 发明名称: 鼠尾草酸的医药用途

(57) Abstract: Disclosed is a use of carnosic acid in preparing a composition used to prevent or treat diabetes, diabetic nephropathy, hyperlipidemia, or non-alcoholic fatty liver, and a use of a rosemary petroleum ether extract in preparing a composition used to prevent or treat hyperlipidemia, hyperglycemia, non-alcoholic fatty liver, diabetic nephropathy, and/or type 2 diabetes.

(57) 摘要: 本发明公开了鼠尾草酸在制备用于预防或治疗糖尿病、糖尿病肾病、高脂血症、非酒精性脂肪肝的组合物中的用途, 以及迷迭香石油醚提取物在制备用于预防或治疗高脂血症、高血糖、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病和/或 2 型糖尿病的组合物中的用途。



WO 2016/145982 A1

鼠尾草酸的医药用途

技术领域

本发明公开了天然药物领域，公开了一种鼠尾草酸医药用途，本发明公开了鼠尾草酸预防或治疗 I 型糖尿病和/或糖尿病肾病的用途，迷迭香石油醚提取物预防或治疗高脂血症、高血糖、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病和/或 2 型糖尿病的用途。

背景技术

糖尿病是一种由于胰岛素分泌缺陷及（或）其生物学作用障碍引起的以高血糖为特征的代谢疾病，是在遗传基础上，有环境因素参与的遗传易感性疾病，是一种慢性全身性代谢疾病，严重危害人类健康，积极开展糖尿病的防治工作已成为主要的社会公共卫生问题。

I 型糖尿病的发病原因主要是由于胰岛损伤胰岛素分泌绝对缺少，II 型糖尿病是从胰岛素抵抗为主伴胰岛素相对不足到胰岛素分泌不足为主伴胰岛素抵抗的病理过程。目前公认 II 型糖尿病是一种在环境因素、生活方式的改变的作用下由多个基因分别或相互作用所导致的复杂遗传病，但是 II 型糖尿病的病因尚未完全阐明。

西医目前常采用饮食、运动疗法磺酰脲类、双胍类、噻唑烷二酮类、 α -葡萄糖苷酶抑制剂、瑞格列奈、胰岛素等来治疗 II 型糖尿病，仅噻唑烷二酮类可改善胰岛素抵抗。病人在用西药治疗的同时，又不断地出现动脉硬化、冠心病和高血压等并发症，II 型糖尿病的复杂机制及其导致的全身病变是西药治疗的薄弱环节。不论是磺脲类的促泌剂还是噻唑烷二酮类的增敏剂在实验和临床研究中都不具备明显的减肥功效，而肥胖是 2 型糖尿病乃至代谢综合征的重要病理基础。

II 型糖尿病不仅是糖代谢紊乱疾病，还是脂肪代谢紊乱疾病。肥胖引起的 II 型糖尿病患者通常都有高糖和高脂饮食，并常伴有高脂血症。有研究表明提示血糖“正常”的肥胖患者已有 β 细胞分泌功能的异常。但是，大部分的肥胖者并不发展为糖尿病，说明机体的自身状况起重要作用。在同样的毒性作用下，易感人群很容易发展成 II 型糖尿病，而不敏感人群可能终身不发病，或者延迟发病。现代医学并不能够改变机体的易感性，但可以通过改变生活方式，减肥等手段来尽可能地减少早期的诱因，尽可能的延长代偿期，从而延迟 2 型糖尿病的发生，甚至避免发病。

现代 II 型糖尿病的治疗观点已从已往的单纯控制血糖转为降糖、降脂、降

压、改善胰岛素抵抗等多环节治疗。但是，对于 II 型糖尿病患者，药量需逐渐增加，投药种类也常由单一用药逐渐变为联合用药，这不可避免地要考虑药物代谢对肝肾的副作用。故从传统中药中寻找低毒、疗效肯定的天然药物来治疗是目前研糖尿病究热点之一。

卫生部制定颁布的《中药新药治疗消渴病(糖尿病)的临床研究指导原则》中所制定的分类标准是目前采用最广泛的分类方法,即阴虚热盛证、气阴两虚证、阴阳两虚证和血瘀气滞证四型。

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最重要的并发症之一,我国的发病率亦呈上升趋势,目前已成为终末期肾病的第二位,仅次于肾小球肾炎,由于存在复杂的代谢紊乱,糖尿病发生肾脏损害,特别是一旦进入临床蛋白尿期,病情一般不可逆转,往往呈进行性发展直至终末期肾病,往往比其他肾脏疾病的治疗更加困难,是引起糖尿病患者死亡的主要原因之一, DN 的发病机制和治疗药物的研制受到了医学界极大的重视。现代医学上多从饮食控制、血糖控制、降压、调整脂代谢等方面着手,或是采用透析、肾移植等治疗手段,尚无疗效确切的西药能阻止 DN 肾功能损害的进程。临床其主要诊断的特征为白蛋白排泄率,和白蛋白肌酐比值。

糖尿病肾病是现代医学病名,在古医籍中未有与之对应的确切病名,但文献记载的消渴病日久失治、误治后所出现尿独、水肿、肾消、关格等与糖尿病肾病的临床表现十分相似。如《圣济总录》曰:“消渴病久,肾气受伤,肾主水,肾气虚衰,气化失常,开阖不利,发为水肿。”，《杂病源流犀烛·三消源流》记载:“有消渴后身肿者,有消渴面目足膝肿小便少者。”，因而本病当属中医学中的“消渴”、“水肿”、“虚劳”等范畴。

对糖尿病肾病病机的认识,中医各家认识较为一致,多立足本虚标实、虚实夹杂,公开了肝脾肺肾诸脏,糖尿病肾病的病机特点是:以肾、脾、肝及气血阴阳之虚为本;标实以瘀血、水湿、痰浊最多。中医药在防治糖尿病肾病方面显示出独特的优势,从中药中发现改善临床症状、减轻蛋白尿、降低血糖、保护肾功能的天然产物是国内外研究的热点。

鼠尾草酸来源于唇形科鼠尾草、迷迭香、快乐鼠尾草、三叶鼠尾草等中,具有抗氧化、改善心血管疾病、减肥降脂等的功效。

至今未见有关鼠尾草酸治疗 I 型糖尿病治疗或预防作用的报道。

至今未见有关鼠尾草酸的糖尿病肾病治疗或预防作用的报道。

至今未见有关迷迭香石油醚提取物治疗或预防高脂血症、高血糖、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病、2 型糖尿病的报道。

发明内容

本发明公开了鼠尾草酸用于制备治疗或预防糖尿病的组合。

本发明公开了鼠尾草酸用于制备治疗或预防糖尿病肾病的组合物。

本发明公开了鼠尾草酸用于制备治疗或预防 I 型或 II 型糖尿病的组合物。

本发明公开了鼠尾草酸用于制备保护胰岛细胞、修复受损的胰岛细胞的组合物。

本发明公开了鼠尾草酸用于制备保护糖尿病肾病患者的肾脏组织、或、修复糖尿病肾病患者的受损的肾脏组织的组合物。

本发明公开了鼠尾草酸用于制备治疗或预防高脂血症的组合物。

本发明公开了鼠尾草酸用于制备治疗或预防非酒精性脂肪肝的组合物。

本发明公开了的鼠尾草酸组合物,为:

为市售或按已知方法制备的鼠尾草酸或其药用盐、水合物或无水物;

其中鼠尾草酸药用盐包括碱式盐如钠盐、钾盐和钙盐;

组合物制成: 药物、保健品、或功能性食品, 赋形剂或载体为制药或食品领域中常用的赋形剂或载体, 如稀释剂, 崩解剂, 润滑剂等。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备治疗或预防高脂血症、高血糖、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病和/或 2 型糖尿病中任意一种或多种的组合物。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物,为:

用于制备治疗或预防 I 型或 II 型糖尿病的组合物; 或;

用于制备保护胰岛细胞、修复受损的胰岛细胞的组合物; 或;

用于制备保护糖尿病肾病患者的肾脏组织、或、修复糖尿病肾病患者的受损的肾脏组织的组合物。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物, 迷迭香石油醚提取物的组分是: 鼠尾草酸、鼠尾草酚、迷迭香酚、表迷迭香酚、表异迷迭香酚、鼠尾酸甲酯、Salviol、1-Phenanthrenecarboxylic acid、2-Phenanthrenemethanol。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物, 迷迭香石油醚提取物的组分是: 迷迭香酚, 鼠尾草酚, 鼠尾草酸, 鼠尾酸甲酯, Salvio; 其相对质谱峰面积比值为: 2.23: 10.12: 39.64: 2.93: 32.32。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物, 用于制备防治高脂血症、防治高血糖、或、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病、2 型糖尿病的组合物, 迷迭香石油醚提取物的含量范围是 1 毫克-2 克。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物, 迷迭香石油醚提取物的制备方法是:

醇提取迷迭香药材, 用水溶解醇提取物, 用石油醚萃取水溶液, 合并石油醚层, 回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物，迷迭香石油醚提取物的制备方法是：

迷迭香药材用乙醇提取，合并 95%乙醇提取液，回收乙醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液萃取多次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

迷迭香药材用甲醇提取，合并甲醇提取液，回收甲醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液按照萃取多次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

迷迭香药材用正丁醇提取，合并正丁醇提取液，回收正丁醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液萃取多次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

本发明公开了迷迭香石油醚提取物用于制备的组合物，组合物制成：药物、保健品、或功能性食品，赋形剂或载体为制药或食品领域中常用的赋形剂或载体，如稀释剂，崩解剂，润滑剂等。

本发明公开了用于防治高脂血症的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的范围是 1 毫克-2 克；

本发明公开了用于防治高血糖的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的范围是 1 毫克-2 克；

本发明公开了用于防治 2 型糖尿病的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的范围是 1 毫克-2 克；

本发明公开了用于防治非酒精性脂肪肝的组合物，迷迭香石油醚提取物的范围是 1 毫克-2 克。

本发明公开了用于防治高脂血症的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的用量范围是 1 毫克/天-1 克/天；

本发明公开了用于防治高血糖的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的用量范围是 1 毫克/天-1 克/天；

本发明公开了用于防治 2 型糖尿病的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的用量范围是 1 毫克/天-1 克/天；

本发明公开了用于防治非酒精性脂肪肝的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的用量范围是 1 毫克/天-1 克/天。

本发明公开了用于制备防治糖尿病肾病的迷迭香石油醚提取物，迷迭香石油醚提取物的含量范围是 1 毫克-2 克。

为了便于理解，下面通过附图和具体实施例对本发明的用途进行详细的描述。需要特别指出的是，具体实施例和附图仅是为了说明，显然本领域的技术人员可以根据本文说明，对本发明进行各种修正或改变，这些修正和改变也将

纳入本发明范围之内。

附图说明

图 1. 鼠尾草酸对胰岛细胞的修复

图 2: 肾脏组织 HE 染色图

图 3: 肾组织 PAS 染色

图 4. 迷迭香石油醚部位 HPLC-ESI-Q-TOF-MS 总离子流图

图 5. 迷迭香石油醚部位对高脂诱导的小鼠糖尿病模型口服糖耐量曲线 (OGTT)

图 6. 迷迭香石油醚部位对高脂诱导的小鼠糖尿病模型胰岛素耐受曲线 (ITT)

图 7. 迷迭香石油醚部位对高脂诱导的小鼠糖尿病模型肝脏病理切片 PAS 染色

图 8. 迷迭香石油醚部位对高脂诱导的小鼠糖尿病模型肝脏病理切片 HE 染色

图 9. C57BL/6 组、STZ+VEHICLE 组、STZ+Irbesartan 组和 STZ+PFR 组对 DN 小鼠血糖的影响

图 10. C57BL/6 组、STZ+VEHICLE 组、STZ+Irbesartan 组和 STZ+PFR 组对 DN 小鼠尿白蛋白排泄率的影响

图 11. C57BL/6 组、STZ+VEHICLE 组、STZ+Irbesartan 组和 STZ+PFR 组对 DN 小鼠 UA1b/UCr 的影响

图 1 的详细说明

图 1 通过上中下三个部分展示鼠尾草酸对 I 型糖尿病小鼠胰腺组织的影响;

图 1 的上部展示正常组小鼠胰腺组织;

图 1 的中部展示 STZ 组小鼠胰腺组织;

图 1 的下部展示 STZ+鼠尾草酸组小鼠胰腺组织

图 2 (肾脏组织 HE 染色图) 的详细说明

图 1 通过上中下三个部分展示肾脏 HE 染色;

图 1 的上部展示正常组小鼠肾脏组织;

图 1 的中部展示 STZ 组小鼠肾脏组织;

图 1 的下部展示 STZ+鼠尾草酸小鼠肾脏组织。

图 3 (肾组织 PAS 染色) 的详细说明

图 2 通过上中下三个部分展示肾脏 PAS 染色;

图 2 的上部展示正常组小鼠肾脏组织;

图 2 的中部展示 STZ 组小鼠肾脏组织;

图 2 的下部展示 STZ+鼠尾草酸组小鼠肾脏组织。

本发明的数据记载于如下表格中:

表 1. 鼠尾草酸对 STZ 造模的 I 型糖尿病的 10 周后血糖的影响.

表 2. 胰岛数目统计分析

表 3. 每个视野下胰岛总面积统计分析

表 4: 鼠尾草酸对 STZ 造模的糖尿病肾病小鼠的血糖的影响;

表 5: 鼠尾草酸对糖尿病肾病小鼠的尿量的影响;

表 6: 鼠尾草酸对糖尿病肾病小鼠的 UAE 的影响;

表 7: 鼠尾草酸对糖尿病肾病小鼠的白蛋白肌酐比值的影响。

表 8. 迷迭香石油醚部位质谱表征

表 9. 血浆中甘油三酯含量

表 10. 血浆中总胆固醇含量

表 11. 血浆中高密度脂蛋白含量

表 12. 血浆中低密度脂蛋白含量

表 13. 禁食血糖水平

表 14. 口服糖耐量线下面积值

表 15. 胰岛素耐受线下面积值

表 16. 血浆中 ALT 含量

表 17. 肝脏重量

表 18. 肝脏中总胆固醇含量

表 19. 肝脏中甘油三酯含量

表 20. 实验 C56BL/6 小鼠空腹血糖

表 21 实验 C56BL/6 小鼠尿白蛋白排泄率

表 22. 实验 C56BL/6 小鼠尿微量白蛋白与肌酐比值

具体实施方式**实施例 1**

为了研究鼠尾草酸对 I 型糖尿病血糖影响, 本实验采用经典的 I 型糖尿病模型, 使用 C57BL 小鼠随机分为 3 组, 正常对照组 (10 只), STZ 组 (20 只)。STZ 组连续腹腔注射 STZ (50mg/Kg) 5 天, 两周后测定禁食血糖, 血糖大于等于 13.8mmol/L 为造模成功, 将 STZ 组随机分为模型组和鼠尾草酸治疗组, 鼠尾草酸治疗组采用口服灌胃 (15mg/kg), STZ 模型组、正常对照组采用口服灌胃等体积的 0.5% 的 CMCNa 溶液, 10 周后, 小鼠禁食 4h 后测定血糖, 结果如表 1 所示, 具有显著的统计学差异。

鼠尾草酸的配置方法: 用 0.5% 的 CMCNa 溶液溶解。

动物的一般情况:

动物毛发, 活动, 精神状态等均无差别

表 1. 鼠尾草酸对 STZ 造模的 I 型糖尿病的 10 周后血糖的影响.

组别	空腹血糖 (mmol/L)	P 值
正常组	7.35±1.17	1.70E-12 ***
STZ 组	23.00±2.68	
STZ+鼠尾草酸	15.39±4.98	0.00048 ***

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 STZ 组相比。

如表 1. 所示 STZ 组相比正常组血糖升高了 3 倍多, 提示造模很成功, 鼠尾治疗 10 周后血糖显著降低

表 2. 胰岛数目统计分析

胰岛数目	对照	STZ	STZ+鼠尾草酸
	5	1	2
	6	1	1
	4	2	2
	6	1	1
	6	0	2
	3	1	2
	4	0	2
	6	0	3
	6	1	0
mean	5.1	0.8	1.67
sd	1.2	0.7	0.87
p 值	4E-08		2.5E-06
	***		**

表 3. 每个视野下胰岛总面积统计分析

胰岛数目	对照	STZ	STZ+鼠尾草酸
	34337.3	10913.9	16314.7
	78388.6	7080.0	9445.6
	68220.5	9702.0	6567.2
	41555.9	4790.1	10972.6
	55346.5	0	17333.0

	21000.8	19414.9	11943.7
	117296.1	0	10712.0
	72861.1	0	21270.9
	53276.5	8838.0	9347.3
mean	60253.7	6748.8	12656.3
sd	28372.4	6436.7	4676.1
p 值	5E-05		0.04
	***		*

胰腺病理结果如**图 1**所示，模型组相比正常对照组胰岛数目明显减少，给药组胰岛数目相比模型组一定程度增加，胰岛组织形态在一定程度恢复，为了更好的评估鼠尾草酸对胰腺的修复作用，在胰腺 HE 染色病理切片中随机选取 9 个视野观察每个视野下胰岛数目结果如**表 2**，测定相应视野下总的胰岛面积结果如**表 3**所示，给药组能够在一定程度上修复 STZ 对胰腺的损伤，胰岛数目显著增加，每个视野下胰岛总面积显著增加。总之鼠尾草酸能够有效的修复胰岛损伤，有效的降低 STZ 引起的血糖降低。由此可以推测，鼠尾草酸治疗 I 型糖尿病的机制可能是有效的修复受损胰岛细胞。

实施例 2

为了研究鼠尾草酸对糖尿病肾病血糖影响，使用 C57BL 小鼠随机分为 3 组，正常对照组（10 只），STZ 组（20 只）。STZ 组连续腹腔注射 STZ（50mg/Kg）5 天，两周后测定禁食血糖，血糖大于等于 13.8mM 为造模成功，将 STZ 组随机分为 STZ 组和鼠尾草酸治疗组，每组 10 只，STZ 组给予和正常鼠尾草酸治疗组采用口服灌胃（30mg/kg），STZ 组和正常组给予等体积的 CMCNa，12 周后，将小鼠放入小鼠代谢笼中，自由饮食饮水，将尿液用于分析，所测指标均评估肾功能的经典指标。

表 4、5、6所示 STZ 组相比空白对照组，显著升高均在 10 倍以上，说明糖尿病小鼠肾功能出现严重损伤，如**图 2、3**所示 STZ 组相比正常组器官损伤明显。综合以上表图可以得出糖尿病肾病造模成功。

表 4.结果表明鼠尾草酸能够有效的降低 STZ 造成的血糖升高，逆转由糖尿病肾病引起的尿量增加（**表 5**），有效的降低糖尿病肾病引起的 24h 蛋白排泄率升高（**表 6**）。临床上常用尿液中白蛋白和肌酐的比值评估肾功能，鼠尾草酸有效的降低糖尿肾病引起的白蛋白和肌酐的比值升高（**表 7**）。尿量、24h 蛋白排泄率白蛋白和肌酐的比值的结果表明鼠尾草酸治疗后很好的改善肾功能。

为了更进一步的评估肾脏器官性损伤的改变，本发明对肾脏进行 PAS 染色

和 HE 染色。图 2, 3 显示: 鼠尾草酸能够有效的修复糖尿病肾病的器官性损伤逆转, 如图所示 STZ 组肾小球系膜区增宽, 基质增加, 肾小球基膜增厚, 肾小管基膜增厚及分裂, 呈现出极为典型的糖尿病肾病特征, 显示造模良好, 而鼠尾草酸在一定程度上修复, 系膜区相对缩小, 改善了基质增生以及肾小管基膜增厚, 说明治疗作用明显效果显著。

表 4.鼠尾草酸对 STZ 造模的糖尿病肾病的血糖的影响.

组别	空腹血糖 (mmol/L)	P 值
正常对照组	8.7 ± 1.58	1.69E-09 ***
STZ 组	23.73 ± 3.96	
STZ+鼠尾草酸	12.87 ± 1.87	3.37E-07 ***

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 STZ 组相比。

表 5.鼠尾草酸对 STZ 造模的糖尿病肾病的尿量的影响.

组别	尿量 (g)	P 值
正常对照组	0.386 ± 0.496	5.26E-05 ***
STZ 组	9.852 ± 5.66	
STZ+鼠尾草酸	2.091 ± 3.36	0.00155 **

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 STZ 组相比。

表 6.鼠尾草酸对 STZ 造模的糖尿病肾病的 UAE(尿白蛋白排泄率)的影响.

组别	24h 尿白蛋白排泄率 (μ g)	P 值
正常对照组	3.26 ± 4.48	3.2E-05 ***
STZ 组	220.49 ± 124.94	
STZ+鼠尾草酸	54.05 ± 76.76	0.0021 **

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 STZ 组相比。

表 7.鼠尾草酸对 STZ 造模的糖尿病肾病的 UACR(尿白蛋白/肌酐比值)的影响.

组别	尿白蛋白/肌酐比值 (μ g 白蛋白/mg 肌酐)	P 值
正常对照组	17.48 ± 17.04	4.1E-06 ***

STZ 组	401.43±186.01		
STZ+鼠尾草酸	117.83±71.93	0.0002	***

注：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ，与 STZ 组相比。

实施例 3

迷迭香石油醚部位提取工艺

迷迭香药材 10 倍量 95%乙醇提取 3 次，1h/次，合并 95%乙醇提取液，回收乙醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液按照 1：1 萃取三次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

实施例 4

迷迭香石油部位成分鉴定

95%乙醇溶解迷迭香石油醚部位 10mg/ml，12,000 rpm 离心 10 min，取上清进行液相分析，

采用 Agilent 1290 UPLC-6520 QTOF MS，
流动相为 (A) 0.1% 甲酸水溶液 和 (B) 乙腈。

流动相洗脱程序为：

- 10% B (0 min)，
- 30% B (5 min)，
- 50% B (10 min)，
- 80% B (15 min)，
- 100% B (25-30 min)。

流速为 0.8ml/min。

质谱干燥气温度 350℃，干燥气体流速 10L/h，雾化气压 35psig，ESI 离子源，电喷雾电压 3500v，裂解电压 120v，skimmer 65v，OCTIRF Vgp750v，扫描离子范围 100-1100。二级碰撞电压 20v；40v；70v。

质谱鉴定结果如下表

能确定本发明公开了迷迭香石油醚提取物的组分是：鼠尾草酸、鼠尾草酚、迷迭香酚、表迷迭香酚、表异迷迭香酚、鼠尾酸甲酯、Salviol、1-Phenanthrenecarboxylic acid、2-Phenanthrenemethanol 等化合物。

表 8. 迷迭香石油醚部位质谱表征

序 号	名称	保留时 间(min)	分子式	分子离子 峰 m/z	碎片离子 (m/z)
--------	----	---------------	-----	-----------------	----------------

					301.1820 ,
					283.1704 ,
1	迷迭香酚	15.937	C20H26O5	345.1714	267.1391 ,
					251.1073 ,
					217.0877
					301.1805 ,
					283.1698 ,
2		16.551	C20H28O4	331.1925	267.1388 ,
					227.1093 ,
					217.0880
					268.0370 ,
					239.0341 ,
					211.0393,
4	芫花素	17.348	C16H12O5	283.0619	195.0445,
					171.0441,
					151.0039,
					117.0348,
					107.0140
					301.1818 ,
5	表迷迭香酚	17.613	C20H26O5	345.1772	285.1474 ,
					241.0807 ,
					229.0896 ,

					215.1042 ,
					201.0520
					327.1592 ,
					301.1795 ,
					283.1670 ,
6	表异迷迭 香酚	18.99	C20H26O5	345.1712	271.1697 ,
					227.1090 ,
					217.0501
					285.1858 ,
					269.1565 ,
7		19.604	C20H26O4	329.1767	229.1214 ,
					201.0898
					285.1863 ,
					269.1545 ,
8	鼠尾草酚	20.318	C20H26O4	329.1772	255.1392 ,
					229.1233 ,
					201.0921
					285.1863 ,
					269.1531 ,
9	迷迭香二酚	21.28	C20H28O3	315.1971	255.1396 ,
					229.1222 ,
					201.0917

				315.1600 ,
				289.1803 ,
				271.1701 ,
				245.1893 ,
				231.1043 ,
10		21.463	C19H26O5	333.1720
				207.0662 ,
				195.0655 ,
				177.1275 ,
				153.0555 ,
				125.0948
				287.2043 ,
				271.1711 , 243 ,
				1395 , 215.1080 ,
11	鼠尾草酸	22.11	C20H28O4	331.1949
				201.0918 ,
				187.0761 ,
				173.0605
				301.2184 ,
				286.1944 ,
				271.1707 ,
12	鼠尾酸甲酯	23.487	C21H30O5	345.2097
				257.1547 ,
				243.1398 ,
				229.1231 ,

					215.1078
					299.2027 ,
					243.1399 ,
13	Salviol	24.018	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	317.2122	179.1072 ,
					163.0745 ,
					109.0655
					287.2026 ,
					271.1706 ,
					243.1410 ,
14		24.898	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	317.2138	227.1081 ,
					215.1077 ,
					203.1070 ,
					187.0768
					283.1730 ,
	1-				269.1504 ,
15	Phenanthrenecarboxyl	25.843	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	299.2022	255.1364 ,
	ic acid				243.1401 ,
					227.1088
					271.1768 ,
	2-				253.1359 ,
16	Phenanthrenemethanol	26.192	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	287.2020	239.1010 ,
					215.1069 ,

迷迭香酚，鼠尾草酚，鼠尾草酸，鼠尾酸甲酯，Salviol。其质谱相对峰面积比值为：2.23：10.12：39.64：2.93：32.32（图谱如图 1. 所示）。

实施例 5

迷迭香石油醚部位对于高脂血动物模型的作用

1、实验动物及方法：

C57BL 小鼠，SPF 级，雄性，体重(20±2)g，随机分成两组，第一组 10 只，为正常组，给与正常饲料，其余小鼠(40 只)分为三组组，给与高脂饲料(基础饲料加入 20%猪油，1.25%胆固醇，0.5%的胆酸钠)自由摄食、饮水。分别给予基质、洛伐他汀组(60mg/kg)，**实施例 3** 石油醚部位低浓度药物(75mg/kg)、**实施例 3** 石油醚部位高浓度组(150mg/kg)。连续喂养 7 周后，采血、处死、取肝脏组织。

观察指标：

a 动物的一般情况

实验动物在 SPF 动物房中饲养，12h 光照 12h 黑夜，自由饮食饮水，实验期间动物状态正常。

c 血脂相关指标：TC、TG、HDL、LDL

3、实验结果：

结果表明：**实施例 3** 迷迭香石油醚部位均可明显降低血浆中的总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)，升高高密度脂蛋白(HDL-C)，降低低密度脂蛋白(LDL-C)给药结束后测定小鼠、血脂水平。使用 t 检验进行统计学分析。结果显示，迷迭香石油醚部位对高脂改善作用效果明显，具有显著统计学差异。

表 9. 血浆中甘油三酯含量，单位：mM

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位高浓度组
平均值	1.31	1.82	1.09	1.12	1.03
SD	0.13	0.42	0.13	0.17	0.24
P 值	0.001740937		5.09764E-05	0.00012029	0.000061
统计差异	**		***	***	***

与高脂组比较，**P*<0.05,***P*<0.01,****P*<0.001

表 10. 血浆中总胆固醇含量，单位：mM

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位高浓度组
平均值	2.78	5.50	4.67	4.87	4.74
SD	0.11	0.27	0.33	0.48	0.36
P 值	7.99534E-17		0.000008	0.002136	0.000044
统计差异	***		***	**	***

* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

表 11. 血浆中高密度脂蛋白含量，单位：mM

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位高浓度组
平均值	1.93	2.63	3.08	3.06	3.10
SD	0.08	0.37	0.14	0.33	0.28
P 值	1.81392E-05		0.002032793	0.01294944	0.004688176
统计差异	***		**		**

与高脂组比较，* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

表 12. 血浆中低密度脂蛋白含量，单位：mM

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位高浓度组
平均值	0.20	0.50	0.39	0.45	0.42
SD	0.02	0.07	0.05	0.04	0.03
P 值	6.01888E-11		0.000521534	0.049374957	0.003240746
统计差异	***		***	*	**

与高脂组比较，* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

造模后小鼠的血液中总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG），高密度脂蛋白（HDL-C）、低密度脂蛋白（LDL-C）均显著升高，且具有显著的统计学差异，表明造模成功，给药 TC，TG，LDL-C 均显著性浓度依赖性的降低，具有显著的

统计学差异，说明治疗效果显著。

HDL-C 主要作用为将胆固醇从血液运输至肝脏中代谢，因此被称为“好”胆固醇，抗动脉粥样硬化的胆固醇，由于 TC 的升高造模组 HDL-C 显著升高，洛伐他汀组和给药组均能显著性的升高这一“好胆固醇”的含量，说明治疗效果显著。总之迷迭香石油醚部位能够有效的改善高脂血症，降低 TG, TC, LDL-C，升高“好胆固醇” HDL-C 的含量。

实施例 6

迷迭香石油醚部位对于高血糖动物模型的作用

为了研究迷迭香石油醚部位对糖尿病的影响，本实验采用经典高脂诱导小鼠糖尿病模型，使用 C57BL 小鼠随机分为 5 组，每组各 10 只，正常对照组(10)，模型组(10)，迷迭香石油醚部位低浓度组(10)，实施例 3 迷迭香石油醚部位高浓度组，实施例 3 迷迭香石油醚部位低浓度药物(75mg/kg)、实施例 3 石油醚部位高浓度组(150mg/kg)其中除正常对照外，其他组均采用高脂饮食(基础饲料加入 20%猪油，1.25%胆固醇，0.5%的胆酸钠)造模 6 周，给药结束后禁食过夜测定、空腹血糖、葡萄糖耐量和胰岛素耐量。糖耐量实验方法：小鼠禁食过夜，小鼠口服血糖 2g/kg 后分别在 0， 15， 30， 60， 90， 120 min 时，尾尖采血测定相应血糖，使用 GraphPad Prism 软件计算相应线下面积(AUC)。

胰岛素耐受实验方法：小鼠禁食过夜，小鼠腹腔注射胰岛素 0.75IU/kg 后分别在 0， 30， 60， 90， 120， 150 min 时，尾尖采血测定相应血糖，使用 GraphPad Prism 软件计算相应线下面积(AUC)。

所示，模型组相比正常对照组血糖约升高 1 倍，说明造模良好，给药后血糖有所降低，且高浓度相比低浓度具有更好的降血糖作用，且具有统计学差异。由于 II 型糖尿病主要特征为胰岛素抵抗，即机体对胰岛素不敏感，常用糖耐量和胰岛素耐量实验评估。糖耐量试验是一种口服葡萄糖负荷试验，用于了解机体对进食葡萄糖后的血糖调节能力。通过糖耐量试验，可以早期发现糖代谢异常，是目前公认的诊断糖尿病的金标准，在血糖增高但尚未达到糖尿病诊断标准时，为明确是否患糖尿病，可以采用 OGTT 进行鉴别诊断。正常情况下，机体有一套维持血糖的机制，口服葡萄糖，血糖短暂升高后迅速恢复正常，即糖耐量正常，相应的口服糖耐量曲线线下面积较小，糖尿病患者糖的利用障碍，口服葡萄糖后血糖迅速升高，血糖下降速度较慢，即糖耐量减退相应的线下面积较大，该实验中糖耐量减退，模拟禁食后机体血糖状态，所示，模型组在各个时间点的血糖均高于正常组，说明造模很成功，模型组呈现迷迭香石油醚部位治疗组和正常组的糖耐量曲线均在模型组曲线下，为了更好的定量这一现象使用 GraphPad Prism 软件计算相应线下面积(AUC)，，相应的线下面积也均低于模型组，且具有统计意义。说明了迷迭香石油醚部位整体降糖效果明显。

胰岛素耐量试验是反映机体对胰岛素敏感性的实验，主要模拟的是机体分泌胰岛素后糖水平的变化，高脂造模后，注射相同量的胰岛素后各个点的血糖值均高于正常组，其相应的线下面积也高于正常组，迷迭香石油醚部位治疗后各个时间点的血糖数值低于模型组，相应线下面积(表 8.)低于高脂诱导的模型组，说明降糖效果明显。结果表明迷迭香石油醚部位能够有效的增加胰岛素敏感性改善糖尿病。

为了初步探讨迷迭香石油醚部位除改善胰岛素抵抗外是否有其他的改善糖尿病的机制，我们进行了肝脏 PAS 染色的病理分析，PAS 主要针对糖原染色，结果显示，造模后糖原减少即紫红色减少，给药后紫红色逐渐增加，说明糖原储备增加。由于肝脏中的糖原是由血中的葡萄糖合成而来。由此推测迷迭香石油醚部位可能通过增加血液中葡萄糖合成肝糖原而产生降糖作用。

以上数据表明迷迭香石油醚部位能够显著降低血液中葡萄糖含量(表 13)显著提高糖耐受(表 14)显著增加胰岛素敏感性(表 15)。

表 13. 禁食血糖水平，单位：mM

组别	正常组	高脂组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位低浓度组
平均值	5.43	9.54	9.08	8.03
SD	0.621914606	1.336829	0.61427464	1.2953335
P 值	5.99339E-08		0.335893334	0.01946952
统计差异	***			*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

表 14.口服糖耐量线下面积值

组别	正常组	高脂组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位低浓度组
平均值	1042	1735	1629	1534
SD	242	187	155	215
P 值	1.14E-06		0.182590808	0.038302072
统计差异	***			*

与高脂组，* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

表 15. 胰岛素耐受线下面积

组别	正常组	高脂组	高脂组+石油	高脂组+石油醚
----	-----	-----	--------	---------

	醚		部位低浓度组	
	部位低浓度组			
平均值	540.9	848.0	771.6	567.9
SD	115.6	78.6	138.1	94.3
P 值	4.76785E-07		0.126731016	
统计差异	***		***	

与高脂组，* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

实施例 7

迷迭香石油醚部位对高脂血症和非酒精性脂肪肝的治疗作用

实验动物及方法:

C57BL 小鼠，SPF 级，雄性，体重(20±2)g，随机分成两组，第一组 10 只，为正常组，给与正常饲料，其余小鼠(40 只)分别给予给与高脂饲料(基础饲料加入 20%猪油，1.25%胆固醇，0.5%的胆酸钠)自由摄食、饮水。分为高脂组，高脂+洛伐他汀组（60mg/kg）、高脂+实施例 1 迷迭香石油醚部位低浓度组(75mg/kg)、高脂+实施例 1 迷迭香石油醚部位高浓度组(150mg/kg)。给药 7 周观察指标:

a 动物的一般情况

实验动物，12h 光照 12h 黑夜，自由饮食饮水，实验期间动物状态正常。

b 肝功能相关指标：血浆 ALT

c 血脂相关指标：TC、TG、HDL、LDL

d 病理学检查：HE 染色

e 肝脏脂类蓄积相关指标：肝脏重量、肝脏中 TG、肝脏中 TC

给药结束后测定小鼠、血脂水平。使用 t 检验进行统计分析。

2.结果分析

造模后小鼠的血液中 TC，TG，HDL-C，LDL-C 均显著升高，且具有显著的统计学差异，表明造模成功，给药 TC，TG，LDL-C 均显著性浓度依赖性的降低，具有显著的统计学差异，说明治疗效果显著。

HDL-C 主要作用为将胆固醇从血液运输至肝脏中代谢，因此被称为“好”胆固醇，抗动脉粥样硬化的胆固醇，由于 TC 的升高造模组 HDL-C 显著升高，洛伐他汀组和给药组均能显著性的升高这一“好胆固醇”的含量，说明治疗效果显著。

丙氨酸转氨酶又称谷丙转氨酶，简称 GPT、ALT，丙氨酸转氨酶主要存在于肝细胞浆内，其细胞内浓度高于血清中 1000-3000 倍。肝细胞会使血液中的丙氨酸转氨酶升高。1%的肝细胞损伤可以使血液中的丙氨酸转氨酶浓度升高一倍。因此，丙氨酸转氨酶是反映肝细胞受损程度最灵敏的指标，临床上是最为

常用的肝功能检查指标。小鼠造模后 ALT 约升高 1.5 倍，给药 ALT 基本恢复正常，如病理结果显示，造模后小鼠肝脏中脂肪蓄积显著，肝细胞脂肪变性明显，纤维化增加，说明非酒精性脂肪肝造模成立，给予洛伐他汀和迷迭香石油醚部位，病理损伤显著逆转。此外高脂造模后肝脏重量显著增加，给药后一定程度逆转）结合血液中 ALT 和 TC，TG，LDL 指标说明肝脏向硬化趋势发展，高剂量组肝脏重量逐渐恢复，且具有统计学差异。

数据显示肝脏中甘油三酯和胆固醇含量的结果显示，造模后肝脏中甘油三酯升高约 1.7 倍，胆固醇约升高 3 倍，说明肝脏中甘油三酯胆固醇蓄积显著，给予洛伐他汀和，迷迭香石油醚部位基本恢复正常。综上所述，数据显示非酒精性脂肪肝造模成立，给药后治疗效果显著，具有统计学差异。

表 16. 血浆中 ALT 含量，单位：IU/L

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位低浓度组
平均值	22.00	33.00	28.30	31.80	27.60
SD	2.67	3.92	4.99	8.02	6.17
P 值	8.13088E-07		0.03080588	0.67589325	0.031176888
统计差异	***		*		*

与高脂组，* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

表 17. 肝脏重量，单位：g

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位低浓度组
平均值	1.07	1.31	1.20	1.22	1.16
SD	0.15	0.13	0.12	0.10	0.18
P 值	0.001588442		0.053810226	0.089060833	0.042820819
统计差异	**				*

表 18. 肝脏中总胆固醇含量，单位：mg 胆固醇/g 新鲜肝脏组织

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位低浓度组
----	-----	-----	----------	---------------	---------------

	组				
平均值	3.118	10.024	6.700	5.970	6.270
SD	0.505	2.279	1.955	1.048	1.268
P 值	2.46316E-08		0.002550749	7.298E-05	0.000246688
统计差异	***		*	***	***

与高脂组，* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

表 19.肝脏中甘油三酯含量，单位：mg 胆固醇/g 新鲜肝脏组织

组别	正常组	高脂组	高脂+洛伐他汀组	高脂组+石油醚部位低浓度组	高脂组+石油醚部位低浓度组
平均值	33.562	54.522	44.485	35.208	32.644
SD	7.467	10.689	7.650	10.470	5.221
P 值	7.75425E-05		0.026616374	0.000699856	1.64653E-05
统计差异	***		*	***	***

与高脂组，* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

实施例 8

提取物对 C57BL/6 小鼠实验性糖尿病肾病的治疗作用实验研究

本实验所用英文缩写词如下。

英文缩写词表

英文缩写	英文全称	中文全称
PFR	Petroleum ethPFR fraction of rosemary	迷迭香石油醚提取物
DN	Diabetic nephropathy	糖尿病肾病
ESRD	End-stage renal diseases	终末期肾病
FBG	Fasting blood glucose	空腹血糖
STZ	Streptozocin	链脲佐菌素
UAER	Urinary albumin excretion rate	尿白蛋白排泄率
UAlb	Urinary albumin	尿微量白蛋白
UCr	Urinary creatinine	尿肌酐

本发明的实验方法及实验结果如下

实验材料

实验动物

C57BL/6 小鼠，雄性，体重 $20\pm 2\text{g}$ ，由扬州大学动物医学实验教学中心提供，质量合格证号：SCXK-(苏)2012-0004。

药品与试剂

迷迭香	产地：安徽（由生药学李会军教授鉴定）	
厄贝沙坦（Irbesartan）	日本 TCI 公司	批号：UIGAD-QM
链脲佐菌素(STZ)	美国阿拉丁工业公司	批号：G1324033
肌酐测定试剂盒	南京建成生物研究所	批号：20150814
微量白蛋白（m-Alb）测试盒(ELISA 方法)	南京建成生物研究所	批号：20150526

以下将实施例 3 的迷迭香石油醚提取物简称为 PFR。

实验仪器

HEA-230 血糖仪	欧姆龙集团
Centrifuge 5427R 离心机	艾本德（Eppendorf）公司
BioTek SynPFRgy2 酶标仪	美国伯腾仪器有限公司
QL-901 Vortex 混悬器	海门市其林贝尔仪器制造

实验方法

药物配制

饮食配方：正常小鼠饲料。

链脲佐菌素(STZ)溶液的配制：STZ-20℃以下保存。临用时以柠檬酸 2.1g 加入双蒸水 100mL 中配成 A 液。柠檬酸钠 2.94g 加入双蒸水 100mL 中配成 B 液。用时将 A、B 液按 1: 1.32 混合，pH 计测定 pH 值，调节 pH=4.2-4.5，即是所需配置 STZ 的柠檬酸缓冲液。临用时将 STZ 用缓冲液配制成 3mg/ml 的链脲佐菌素溶液，避光，30min 内注射完毕。

药物配制：将 PFR 用 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配成 7.72mg/ml 的溶液。Irbesartan 用 0.5%的 CMC-Na 配成 0.75mg/ml 的溶液。

实验模型的建立及给药方法

将 38 只 C57BL/6 小鼠适应性喂养 7d 后随机分为正常组(12 只)和模型组(26 只),每日喂食正常饮食。7d 后，模型组腹腔注射 STZ(60mg/kg)。连续给予 STZ 5d 后小鼠尾尖取血用血糖仪检测空腹血糖。将空腹血糖值 $> 16\text{mmol/L}$ 的小鼠列入糖尿病肾病动物。

将成模的糖尿病小鼠按血糖和体重随机分为 3 组，即：STZ+Vehicle 组(10

只)、STZ+PFR(154.4mg/kg)组(5只)、STZ+Irbesartan 组(9只)。另选 12 只正常组小鼠作为 C57BL/6 组。具体的给药方案为:

- C57BL/6 组: 灌胃 0.5%CMC-Na 20mL/kg
- STZ+Vehicle 组: 灌胃 0.5%CMC-Na 20mL/kg
- STZ+Irbesartan 组: 灌胃 Irbesartan 15mg/kg
- STZ+PFR 组: 灌胃 PFR 154.4mg/kg

各组动物每日按照上述方案灌胃给药, 连续 24w。实验前一周, 收集尿液。将小鼠放入代谢笼中 24h, 不禁食不禁水, 收集 24h 尿液。实验结束前 12h 禁食不禁水, 用血糖仪测空腹血糖。

观察指标及标本采集

一般指标的观察

监测实验过程中各组小鼠的一般状态、空腹血糖、体重、摄食及摄水量等变化。

尿蛋白的测定

实验前一周收集各组小鼠 24h 尿样, 留尿期间不禁食, 不禁水, 将小鼠放入洗净的代谢笼内, 记录尿量后取 2ml, 5000rpm 离心 1min, 去除沉渣, 分装于 EP 管中, -80℃冰箱保存。用 ELISA 试剂盒检测尿白蛋白浓度。

尿肌酐的测定

实验前一周收集各组小鼠 24h 尿样, 用试剂盒检测尿肌酐浓度。

统计方法

实验数据, 计量资料进行组间 t 检验, $P<0.05$ 为具有显著性统计学意义。(* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$)

实验结果

一般状态观察

模型组小鼠腹腔注射 STZ 14d 后, 一般状态表现为: 活动减少; 多饮, 平均饮水量是 C57BL/6 组的三倍; 多尿, 垫料明显潮湿, 每日需更换 1-2 次, 体重逐渐下降, 精神萎靡, 毛色灰暗, 粗糙。与 STZ+Vehicle 组比较, STZ+PFR 组, STZ+Irbesartan 组小鼠的饮水量、尿量增多, 体重下降及精神状态等均有所改善。

PFR 对的影响

与 C57BL/6 组比较, 24 周后, STZ+Vehicle 组小鼠血糖值均显著升高($P<0.001$)。与 STZ+VEHICLE 组比较, STZ+PFR 组血糖值均显著降低($P<0.05$), STZ+Irbesartan 组血糖值无统计学意义($P>0.05$)。

表 20. 实验 C56BL/6 小鼠空腹血糖

血糖 (mM)

C57BL/6	STZ+Vehicle	STZ+Irbesartan	STZ+PFR
6.8	10.7	20.9	11.2
6.7	32.9	19.4	20.8
10.7	32.5	26.9	12.5
7.3	32.7	24.5	17.8
7.4	15.2	20	20.1
4.8	23.6	24.9	
4.8	23.6	25	
5.7	33	27.6	
4.9	29.4	26.3	
8.3	24.2	29.7	
4.9		27.4	
5.5			

PFR 对 DN 小鼠尿白蛋白排泄率的影响

与 C57BL/6 组比较 STZ+VEHICLE 组尿白蛋白排泄率(UAER)均显著升高 ($P < 0.001$)。与 STZ+VEHICLE 组比较, STZ+PFR 组 UAER 显著降低($P < 0.01$)。STZ+Irbesartan 组 UAER 无统计学意义($P > 0.05$)。

表 21 实验 C56BL/6 小鼠尿白蛋白排泄率

UAER (μ g/24h)			
C57BL/6	STZ+Vehicle	STZ+Irbesartan	STZ+PFR
8.663376	277.8493	415.2588	43.99423
14.33176	458.4606	352.5354	53.40906
8.04357	249.5452	459.6711	149.4795
12.61191	324.7328	218.884	110.7969
19.08346	309.6378	71.50131	252.6087
31.71454	171.8667	582.1586	
1.951969	254.3039	489.9827	
5.879921	464.9175	522.3213	
5.909711	403.7885	131.2703	
8.21759	690.1205	181.6496	
9.795013	482.7056	390.1572	
4.082678	528.7449	116.0958	

PFR 对 DN 小鼠尿微量白蛋白与肌酐比值的影响

与 C57BL/6 组比较，STZ+VEHICLE 组尿微量白蛋白与肌酐比值（UAlb/UCr）均显著升高（ $P<0.001$ ）。与 STZ+VEHICLE 组比较，STZ+PFR 组 UAlb/UCr 值显著降低（ $P<0.01$ ）。STZ+Irbesartanl 组 UAlb/UCr 值无统计学意义（ $P>0.05$ ）。

表 22. 实验 C56BL/6 小鼠尿微量白蛋白与肌酐比值

Ualb/Ucr (μ g/mg)			
C57BL/6	STZ+Vehicle	STZ+Irbesartan	STZ+PFR
6.392535	732.059	915.3993	336.532
13.07968	1249.867	353.7937	562.3029
5.635812	452.6228	1384.179	510.8245
9.429643	1391.64	1032.566	334.6079
10.69843	724.1642	296.6638	874.8048
18.04914	1294.041	1487.19	
3.211685	1445.769	1248.915	
6.94333	1108.463	1172.029	
4.691013	979.7431	447.9765	
4.421208	1836.08	934.7686	
31.16232	1966.547	1296.921	
24.60439	1501.869	755.2438	

实施例 9

迷迭香石油醚部位提取工艺

迷迭香药材 10 倍量甲醇提取 3 次，1h/次，合并甲醇提取液，回收甲醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和水溶液按照 1；1 萃取三次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

实施例 10

迷迭香石油醚部位提取工艺

迷迭香药材 10 倍量正丁醇提取 3 次，1h/次，合并正丁醇提取液，回收正丁醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和水溶液按照 1；1 萃取三次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

实施例 11

鼠尾草酸的制剂

鼠尾草酸片剂

鼠尾草酸 10mg, 淀粉 88g, 硬脂酸镁 3g

制备工艺: 取鼠尾草酸过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 压片, 即得。

鼠尾草酸胶囊

鼠尾草酸 10mg, 淀粉 88g, 硬脂酸镁 3g

制备工艺: 取鼠尾草酸过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 装胶囊, 即得。

实施例 12

鼠尾草酸的食品制剂

干酵母 5g、温水 90ml、水少许、面粉 150g、鼠尾草酸 5mg、植物油 10g、低钠盐少许

饼干做法: 把酵母撒在温水里搅拌溶解, 放鼠尾草酸。加入面粉搅拌, 再加入植物油, 揉成光滑的面团; 面团制成 0.2cm 厚的薄片。压出造型, 刺洞, 表面撒上水, 撒上少许低钠盐, 室温 发酵 10 分钟; 烤箱预热 120 度, 放在上层, 烤约 10 分钟, 得到含鼠尾草酸的食品。

实施例 13

迷迭香石油醚部位的制剂

迷迭香石油醚部位的片剂: 迷迭香石油醚部位 10mg, 淀粉 88g, 硬脂酸镁 3g

制备工艺: 取实施例 3 的迷迭香石油醚部位过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 压片, 即得。

迷迭香石油醚部位的胶囊

迷迭香石油醚部位 10mg, 淀粉 88g, 硬脂酸镁 3g

制备工艺: 取实施例 3 的迷迭香石油醚部位过 100 目筛, 加淀粉、硬脂酸镁混合均匀, 制成颗粒, 干燥, 装胶囊, 即得。

迷迭香石油醚部位的软胶囊

迷迭香石油醚部位 10mg, 大豆卵磷脂 100g

制备工艺: 取实施例 3 的迷迭香石油醚部位, 加大豆软磷脂, 胶体磨混合, 抽真空, 压制, 即得软胶囊。

迷迭香石油醚部位的冻干粉:

迷迭香石油醚部位 2.0g, 亚硫酸钠 4.0g, 乙醇 50ml, 加水定容至 1000mL;

制备工艺: 取实施例 3 的迷迭香石油醚部位分散在乙醇中, 亚硫酸钠溶

于水中，在超声或搅拌条件下将拿硫酸钠溶液逐渐加入，使成澄清透明溶液；补加水定容至足量；经 0.22 μ M 微孔滤膜过滤，冷冻干燥得到。

实施例 14

迷迭香石油醚部位的食品制剂

干酵母 5g、温水 90ml、水少许、面粉 150g、迷迭香石油醚部位 5mg，植物油 10g、低钠盐少许

饼干做法：把酵母撒在温水里搅拌溶解，加入实施例 3 的迷迭香石油醚部位。加入面粉搅拌，再加入植物油，揉成光滑的面团；面团制成 0.2cm 厚的薄片；压出造型，刺洞，表面撒上水，撒上一点低钠盐，室温发酵 10 分钟；烤箱预热 120 度，放在上层，烤约 10 分钟，得含迷迭香石油醚部位的食品。

权 利 要 求 书

1. 鼠尾草酸用于制备治疗或预防糖尿病的组合。
2. 鼠尾草酸用于制备治疗或预防糖尿病肾病的组合。
3. 根据权利要求 1-2 中的组合，其特征为：用于制备治疗或预防 I 型或 II 型糖尿病的组合或，用于制备保护胰岛细胞、修复受损的胰岛细胞的组合，或，用于制备保护糖尿病肾病人的肾脏组织、或、修复糖尿病肾病人的受损的肾脏组织的组合。
4. 鼠尾草酸用于制备治疗或预防高脂血症的组合。
5. 鼠尾草酸用于制备治疗或预防非酒精性脂肪肝的组合。
6. 根据权利要求 1-2 中的组合，其特征为：
为市售或按已知方法制备的鼠尾草酸或其药用盐、水合物或无水物；
其中鼠尾草酸药用盐包括碱式盐如钠盐、钾盐和钙盐；
组合物制成：药物、保健品、或功能性食品，赋形剂或载体为制药或食品领域中常用的赋形剂或载体，如稀释剂，崩解剂，润滑剂等。
7. 迷迭香石油醚提取物用于制备治疗或预防高脂血症、高血糖、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病、2 型糖尿病中任意一种或多种的组合。
8. 根据权利要求 7 中的组合，其特征为：
用于制备治疗或预防 I 型或 II 型糖尿病的组合；或；
用于制备保护胰岛细胞、修复受损的胰岛细胞的组合；或；
用于制备保护糖尿病肾病人的肾脏组织、或、修复糖尿病肾病人的受损的肾脏组织的组合。
9. 根据权利要求 7 中的组合，其特征为：迷迭香石油醚提取物的组分是：鼠尾草酸、鼠尾草酚、迷迭香酚、表迷迭香酚、表异迷迭香酚、鼠尾酸甲酯、Salviol、1-Phenanthrenecarboxylic acid、2-Phenanthrenemethanol。
10. 根据权利要求 7 中的组合，其特征为：迷迭香石油醚提取物的组分是：迷迭香酚，鼠尾草酚，鼠尾草酸，鼠尾酸甲酯，Salviol；其相对质谱峰面积比值为：2.23: 10.12: 39.64: 2.93: 32.32。
11. 根据权利要求 7 中的组合，其特征为：
用于制备防治高脂血症、防治高血糖、或、非酒精性脂肪肝、糖尿病肾病、2 型糖尿病的组合，迷迭香石油醚提取物的含量范围是 1 毫克-2 克。
12. 根据权利要求 7 中的组合，其特征为：
迷迭香石油醚提取物的制备方法是：醇提取迷迭香药材，用水溶解醇提取物，用石油醚

萃取水溶液，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

13. 根据权利要求 7 中的组合物，其特征为：

迷迭香石油醚提取物的制备方法是：

迷迭香药材用乙醇提取，合并 95%乙醇提取液，回收乙醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液萃取多次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位；

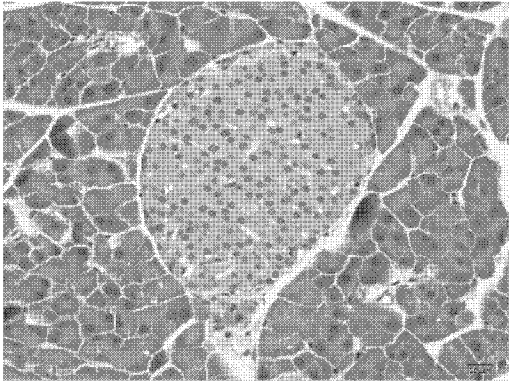
迷迭香药材用甲醇提取，合并甲醇提取液，回收甲醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液按照萃取多次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位；

迷迭香药材用正丁醇提取，合并正丁醇提取液，回收正丁醇，浸膏加水使溶，加入石油醚，石油醚和溶液萃取多次，合并石油醚层，回收石油醚得迷迭香石油醚部位。

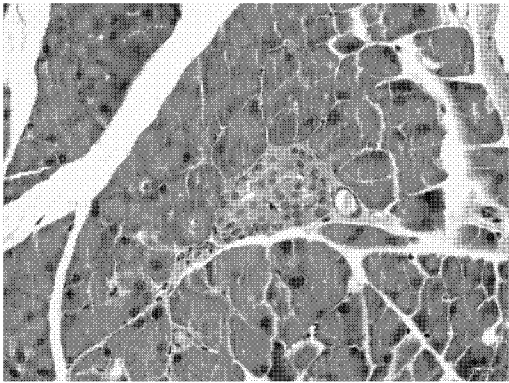
14. 根据权利要求 7 中的组合物，其特征为：

组合物制成：药物、保健品、或功能性食品，赋形剂或载体为制药或食品领域中常用的赋形剂或载体，如稀释剂，崩解剂，润滑剂等。

正常组



STZ 组



STZ+鼠尾草酸

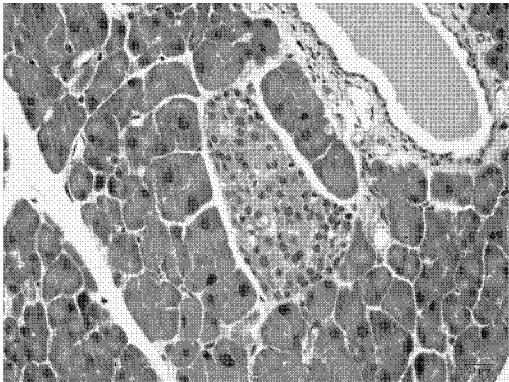
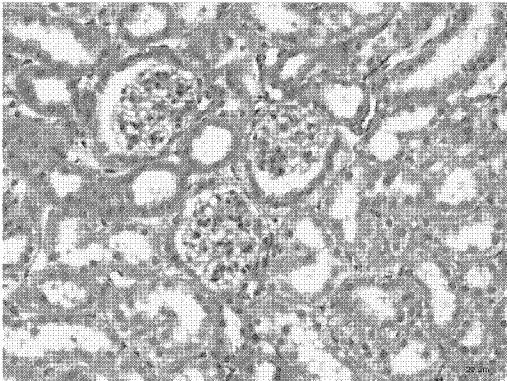
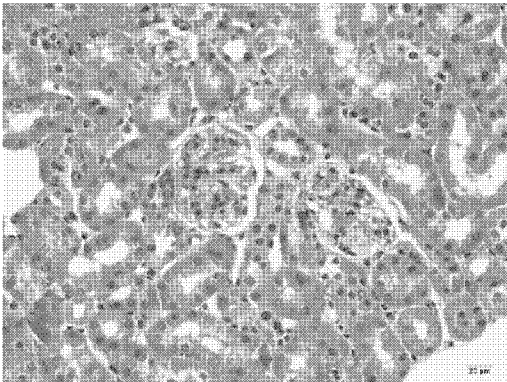


图 1

正常



STZ



STZ+鼠尾草酸

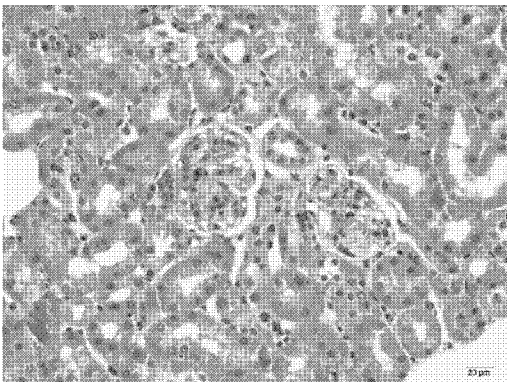


图 2

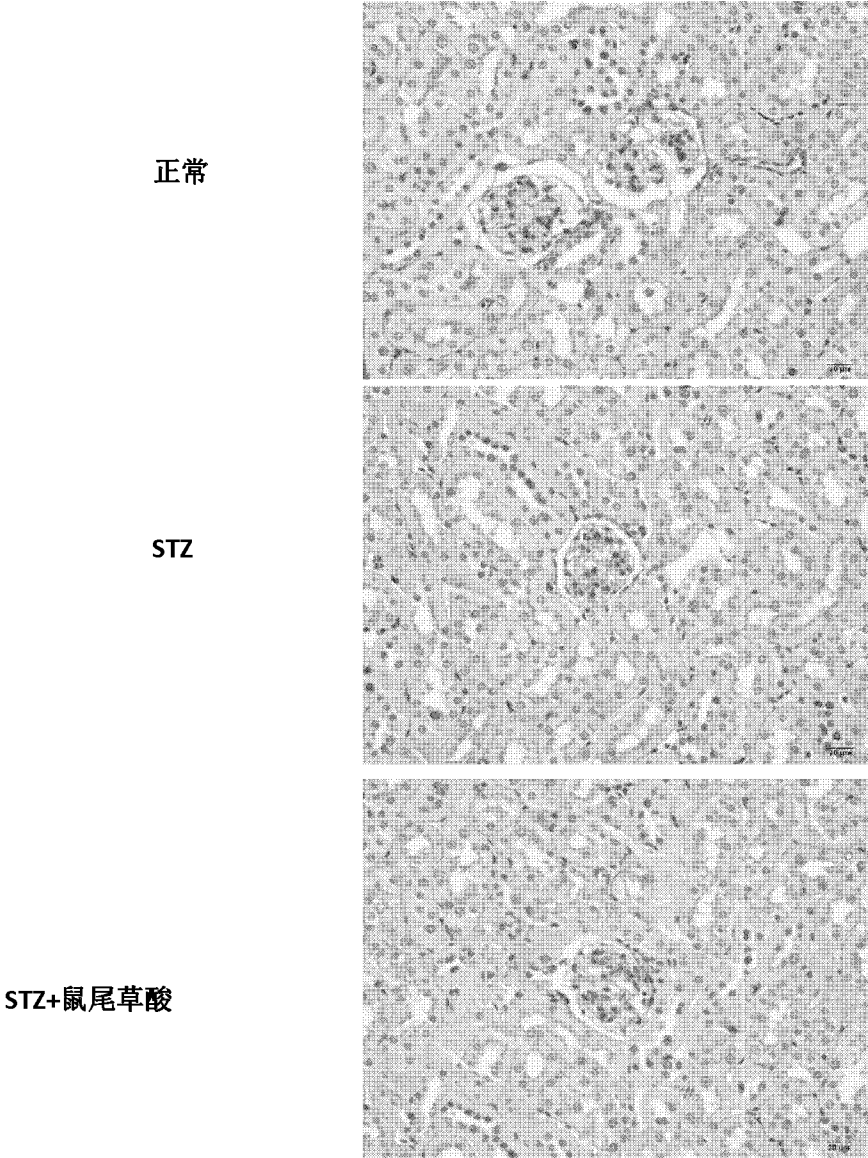


图 3

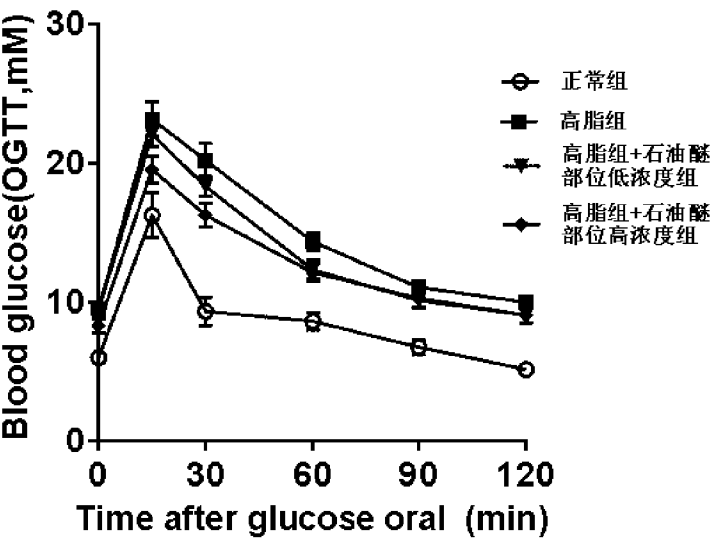
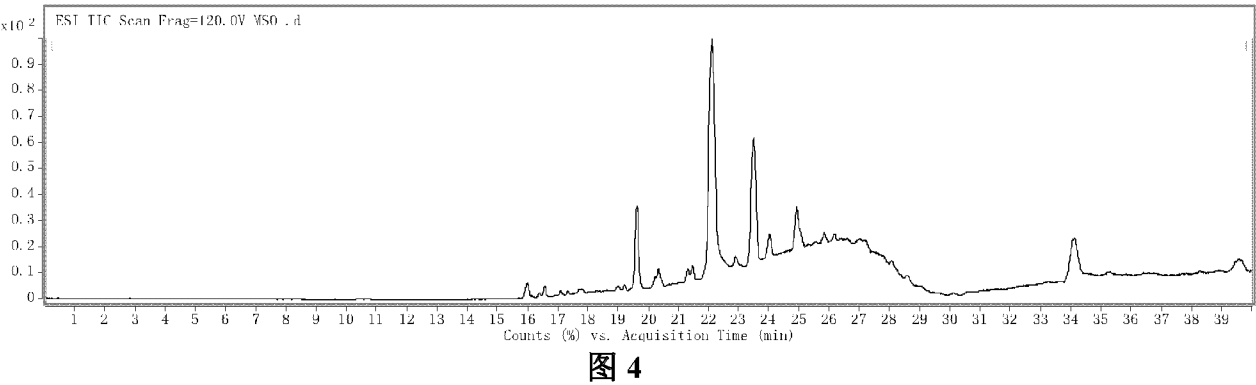


图 5

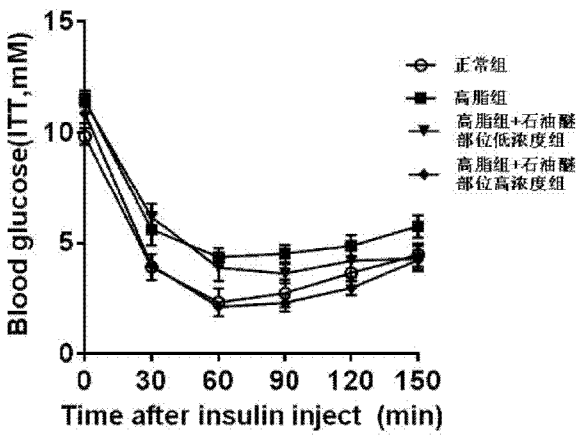


图 6

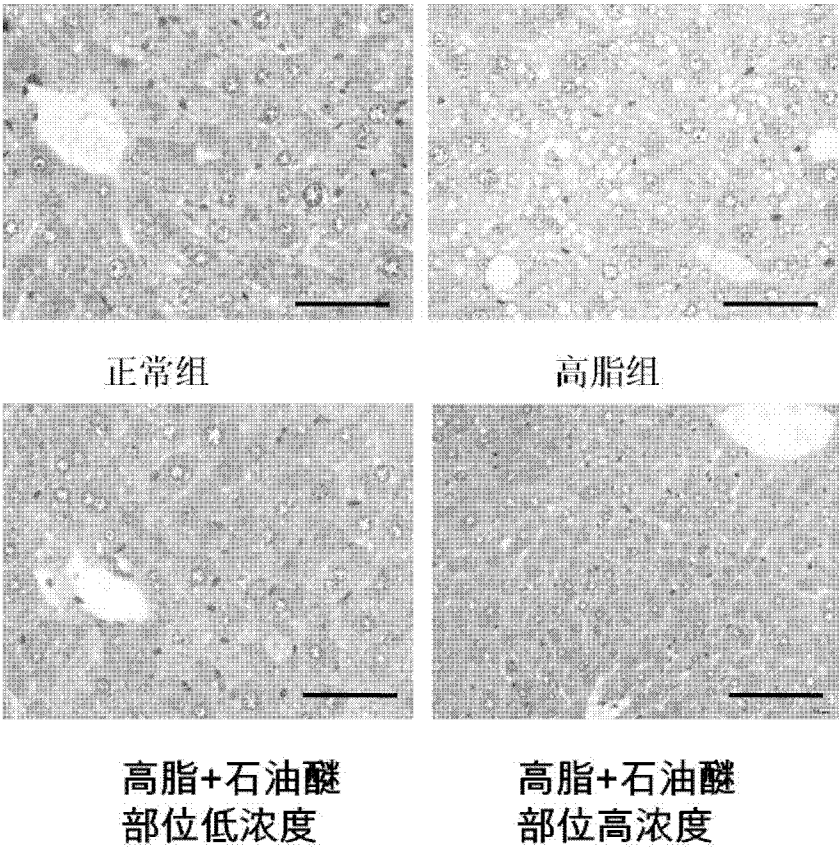


图 7

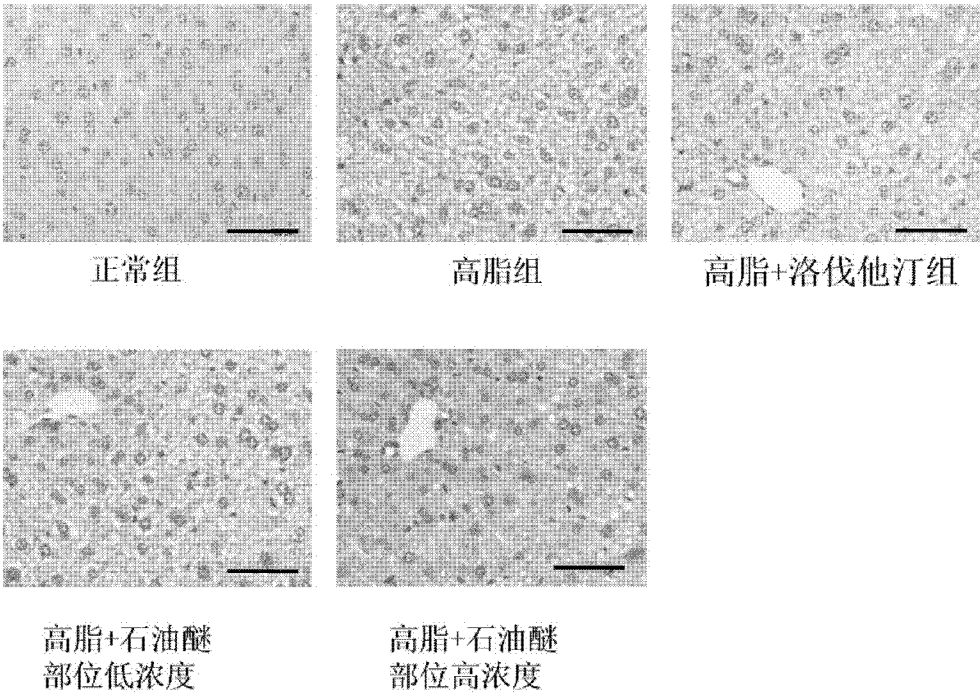


图 8

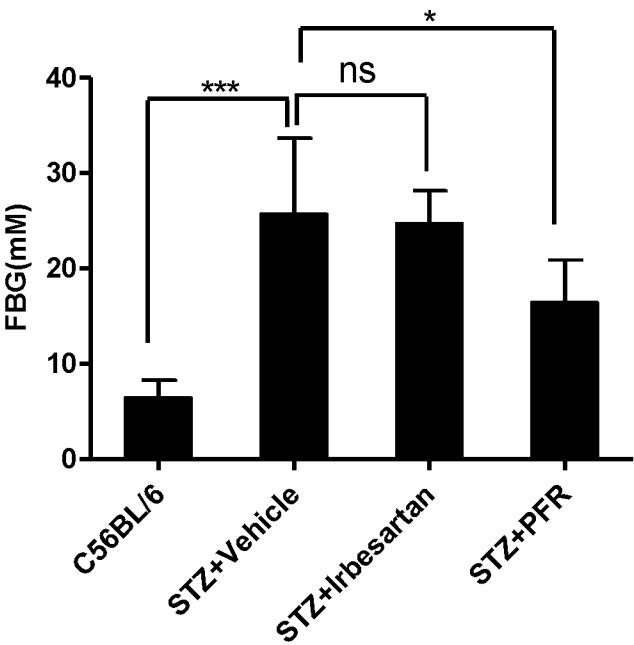


图 9

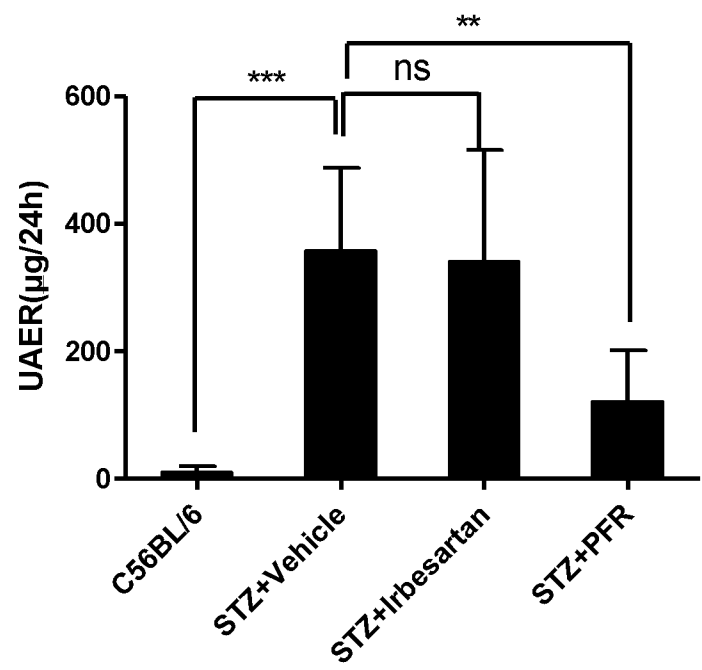


图 10

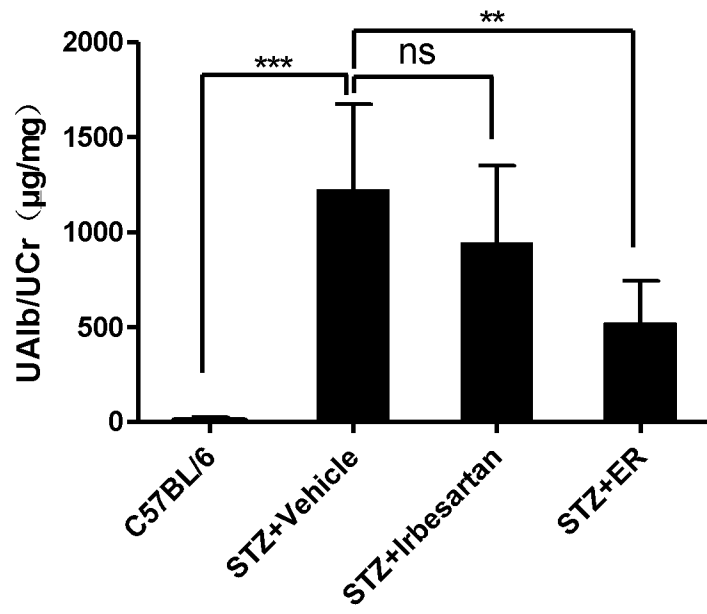


图 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/074780

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/192 (2006.01) i; A61P 1/16 (2006.01) i; A61P 3/06 (2006.01) i; A61P 3/10 (2006.01) i; A61P 13/12 (2006.01) i; A61P 5/50 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, REGISTRY, CAPLUS, EMBASE: Carnosic acid, Rosmarinus officinalis, diabetes, diabetic nephropathy, hyperlipidemia, fatty liver, etc.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CAPLUS AN: 1992: 462750 & TASHMUKHAMEDOVA, M.A. et al. "Hypoglycemic activity of bicyclic diterpenoids of the clerodane series as compared to adegbit and maninil." Problemy Endokrinologii, vol. 38, no. 01, 31 December 1992 (31.12.1992), ISSN: 0375-9660, pages 48-50, see CAPLUS abstract	1, 3 and 6
X	LIPINA, C. et al. "Carnosic acid stimulates glucose uptake in skeletal muscle cells via a PME-1/PP2A/PKB signalling axis." Cellular Signalling, vol. 26, no. 11, 17 July 2014 (17.07.2014), ISSN: 0898-6568, pages 2343-2349, see abstract	1, 3 and 6
X	JP 2013032316 A (UNIV. TSUKUBA), 14 February 2013 (14.02.2013) see claims 1-14	2, 3 and 6
X	WANG, Ting et al. "Carnosic acid prevents obesity and hepatic steatosis in ob/ob mice." Hepatology Research, vol. 41, no. 01, 31 December 2011 (31.12.2011), ISSN: 1386-6346, pages 87-92, especially THE abstract	4 and 5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 24 May 2016 (24.05.2016)	Date of mailing of the international search report 01 June 2016 (01.06.2016)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer XIAO, Ying Telephone No.: (86-10) 62089320

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2016/074780

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KANG, Haixuan. "Study on Hypolipidemic and Hypoglycemic Effects of Rosemary Extracts." Master's Degree Thesis of Tianjin University of Science and Technology, vol. /, no. /, 15 July 2014 (15.07.2014), see abstract, page 13 and 24-44	7-14
X	WO 2011047321 A1 (NATUREX, S.A. et al.), 21 April 2011 (21.04.2011) see the whole document, especially claims 1-11, and description, paragraphs [0001] and [0011]	7-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/074780

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Group 1: claims 1-3 and 6 set forth use of carnosic acid for preparing a composition for treating or preventing diabetes and diabetic nephropathy;
- [2] Group 2: claims 4 and 5 set forth use of carnosic acid for preparing a composition for treating or preventing hyperlipoidemia and non-alcoholic fatty liver.
- [3] Group 3: claims 7, 9-14 (some) and claims 8 set forth use of Rosemary petroleum ether extracts for preparing a composition for treating or preventing diabetes and diabetic nephropathy; and
- [4] Group 4: claims 7 and 9-14 (some) set forth use of Rosemary petroleum ether extracts for preparing a composition for treating or preventing hyperlipoidemia and non-alcoholic fatty liver.
- [5] The above-mentioned four groups respectively relate to use of carnosic acid or Rosemary petroleum ether extracts for preparing compositions for treating or preventing different diseases, wherein carnosic acid or the Rosemary petroleum ether extracts are known. Therefore, the four groups of claims do not have same or corresponding specific technical features and do not fall within a single general inventive concept, and therefore lack unity of invention and do not comply with the requirements of PCT Rule 13.1, 13.2 and 13.3.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2016/074780

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2013032316 A	14 February 2013	None	
WO 2011047321 A1	21 April 2011	US 2011091580 A1	21 April 2011
		US 9011936 B2	21 April 2015

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/074780

A. 主题的分类

A61K 31/192(2006.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i; A61P 5/50(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, REGISTRY, CAPLUS, EMBASE: 鼠尾草酸、糖尿病、糖尿病肾病、高脂血、脂肪肝、迷迭香、Carnosic acid, Rosmarinus officinalis, diabetes, diabetic nephropathy, hyperlipoidemia, fatty liver等

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CAPLUS AN:1992:462750 & Tashmukhamedova, M.A. 等. "Hypoglycemic activity of bicyclic diterpenoids of the clerodane series as compared to adefit and maninil." Problemy Endokrinologii, 第38卷, 第01期, 1992年 12月 31日 (1992 - 12 - 31), ISSN: 0375-9660, 第48-50页, 见CAPLUS摘要	1, 3和6
X	Lipina, Christopher 等. "Carnosic acid stimulates glucose uptake in skeletal muscle cells via a PME-1/PP2A/PKB signalling axis." Cellular Signalling, 第26卷, 第11期, 2014年 7月 17日 (2014 - 07 - 17), ISSN: 0898-6568, 第2343-2349页, 见摘要	1, 3和6
X	JP 2013032316 A (UNIV TSUKUBA) 2013年 2月 14日 (2013 - 02 - 14) 见权利要求1-14	2, 3和6
X	Wang, Ting 等. "Carnosic acid prevents obesity and hepatic steatosis in ob/ob mice." Hepatology Research, 第41卷, 第01期, 2011年 12月 31日 (2011 - 12 - 31), ISSN: 1386-6346, 第87-92页, 尤其是摘要	4和5

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2016年 5月 24日

国际检索报告邮寄日期

2016年 6月 1日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10) 62019451

受权官员

肖瑛

电话号码 (86-10) 62089320

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	康海轩. “迷迭香提取物降血脂及降血糖作用的研究.” 天津科技大学研究生学位论文, 第/卷, 第/期, 2014年 7月 15日 (2014 - 07 - 15), 见摘要, 第13、24-44页	7-14
X	WO 2011047321 A1 (NATUREX SA等) 2011年 4月 21日 (2011 - 04 - 21) 见全文, 尤其是权利要求1-11, 说明书第[0001]和[0011]段	7-14

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

- [1] 第1组：权利要求1-3、6请求保护鼠尾草酸用于制备治疗或预防糖尿病、糖尿病肾病的组合物；
- [2] 第2组：权利要求4和5请求保护鼠尾草酸用于制备治疗或预防高脂血症、非酒精性脂肪肝的组合物。
- [3] 第3组：权利要求7、9-14（部分）和权利要求8请求保护迷迭香石油醚提取物用于制备治疗或预防糖尿病、糖尿病肾病的组合物；
- [4] 第4组：权利要求7、9-14（部分）请求保护迷迭香石油醚提取物用于制备治疗或预防高脂血症、非酒精性脂肪肝的组合物。
- [5] 以上4组分别涉及鼠尾草酸或迷迭香石油醚提取物用于制备治疗或预防不同疾病的组合物。鼠尾草酸或迷迭香石油醚提取物是已知的。因此，这4组权利要求之间不具有相同或相应的特定技术特征，不属于一个总的发明构思，因而不具备单一性，不符合专利合作条约实施细则13.1、13.2和13.3的规定。

- 1. ☒ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
- 2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
- 3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
- 4. ☐ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：

对异议的意见

- ☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- ☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- ☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/074780

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
JP	2013032316	A	2013年 2月 14日	无			
WO	2011047321	A1	2011年 4月 21日	US	2011091580	A1	2011年 4月 21日
				US	9011936	B2	2015年 4月 21日