

## (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 4 月 7 日 (07.04.2016)



(10) 国际公布号  
**WO 2016/049883 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
*C12N 1/20* (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)  
*A61K 35/74* (2015.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/087994
- (22) 国际申请日: 2014 年 9 月 30 日 (30.09.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (71) 申请人: 上海交通大学医学院附属瑞金医院 (RUIJIN HOSPITAL AFFILIATED TO SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE) [CN/CN]; 中国上海市瑞金二路 197 号, Shanghai 200025 (CN)。
- (72) 发明人: 宁光 (NING, Guang); 中国上海市瑞金二路 197 号, Shanghai 200025 (CN)。 洪洁 (HONG, Jie); 中国上海市瑞金二路 197 号, Shanghai 200025 (CN)。 王卫庆 (WANG, Weiqing); 中国上海市瑞金二路 197 号, Shanghai 200025 (CN)。 刘瑞欣 (LIU, Ruixin); 中国上海市瑞金二路 197 号, Shanghai 200025 (CN)。 王计秋 (WANG, Jiqiu); 中国上海市瑞金二路 197 号, Shanghai 200025 (CN)。
- (74) 代理人: 北京清亦华知识产权代理事务所 (普通合伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROP-

ERTY LLC); 中国北京市海淀区清华园清华大学照澜院商业楼 301 室, Beijing 100084 (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)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。

(54) Title: USES OF BACTEROIDES IN TREATMENT OR PREVENTION OF OBESITY-RELATED DISEASES

(54) 发明名称: 拟杆菌在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途

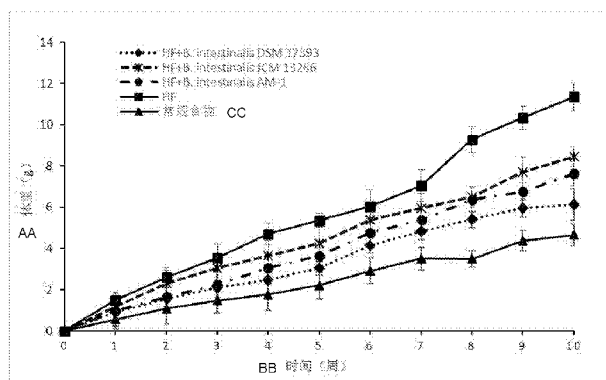


图 2 / Fig. 2

AA: BODY WEIGHT (G)  
BB: TIME (WEEKS)  
CC: CONVENTIONAL FOOD

(57) Abstract: Provided are uses of Bacteroides in preparation of a medicament. The medicament is for use in treatment or prevention of obesity-related diseases. Also provided are a pharmaceutical composition, a medicament, a food product, and an animal feed that comprise Bacteroides, uses thereof in treatment or prevention of obesity-related diseases, and a method for treatment or prevention of obesity-related diseases.

(57) 摘要: 提供了拟杆菌(Bacteroides)在制备药物中的用途, 所述药物用于治疗或预防肥胖相关疾病, 还提供了包含拟杆菌的药物组合物、药物、食品、饲料及其在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途, 以及治疗或预防肥胖相关疾病的方法。

WO 2016/049883 A1

## 拟杆菌在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途

### 技术领域

5 本发明涉及微生物学领域，具体地，涉及拟杆菌（*Bacteroides*）在制备药物中的用途，也涉及包含拟杆菌的药物组合物、药物、食品及其在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途。

### 背景技术

肥胖症是一种慢性疾病，许多因素都会导致肥胖，其发病起源至今未研究清楚。肥胖  
10 同时也是一系列疾病的诱导因子，如高血压、糖尿病、冠心病、胆囊病、骨关节炎、睡眠中呼吸窒息、呼吸失调、子宫瘤、前列腺癌、乳腺癌和结肠癌等。根据 NHI 的报告，目前约有 9700 万美国人超重和过度肥胖，其中与过度肥胖相关的 II 型糖尿病人数达到约 1510 万人，每年约有 20 万人死于与肥胖症相关的疾病。

肥胖通常是由于生理或生物化学功能改变而导致的体脂肪过剩。脂肪通常包括中性脂、  
15 磷脂和胆固醇。脂肪的增加是由于能量摄入大于能量的消耗。从发病原理上讲，肥胖有两种类型：(a) 单纯性肥胖(simple obesity) 和 (b)继发性肥胖(second obesity)。单纯性肥胖可划分为先天性肥胖(idiopamic obesity)和后天性肥胖(acquired obesity)，单纯性肥胖患者数量可占 95% 以上的总肥胖数目。先天性肥胖是由大量的脂肪细胞所致，且常见于儿童期肥胖。后天性肥胖是由更大尺寸的脂肪细胞所致，且常见于成年期肥胖。继发性肥胖又被称为症  
20 状性肥胖，其通常是由内分泌或新陈代谢疾病所致。

目前有五种治疗肥胖的策略：节食、锻炼、行为治疗、药物治疗和康复手术(therapetltic  
operation)。采取哪种策略主要视病人的健康危险因子和体重减轻的速度和效果而定，可选择或组合这些策略对肥胖病人进行治疗。其体重减轻的速度和效果受诸如年龄、身高、家族史和危险因子等多个因素的影响。饮食—锻炼疗法，即吃低热量、低脂肪食物和进行有  
25 氧锻炼，但这种方法一般认为对普通大众不成功，且需要长期经常性地坚持；去除体内脂肪手术能达到立竿见影的效果，但存在诸多限制，如手术风险、除脂效果难以持久和花费过于昂贵等。

药物治疗是目前主要的临床治疗肥胖及其肥胖相关疾病（如糖尿病）的方法。药物治疗的机制包括抑制食欲、增加能量消耗、刺激脂肪移动、降低甘油三酯合成和抑制脂肪吸  
30 收。目前主要的药物为：苯丙醇胺(phenylpropanolamine, PPA)、罗氏鲜(orlistat, XenicalIII)和诺美婷(sibutramine, ReductilTM)。某些糖尿病人的高血糖通过饮食和/或锻炼疗法或使用上述治疗化合物仍然不能得到适当控制。对于这些病人，应使用外源胰岛素。对病人来说，

使用外源胰岛素是很昂贵和痛苦的方法，还会给病人带来多种并发症。例如，由于没有吃饭或不正常锻炼，胰岛素剂量的计算错误会导致胰岛素响应(低血糖)。此外，使用药物还可能发生对药物的局部或全身过敏或免疫抗性。

目前本领域还没有一种有效的、副作用小的治疗或预防肥胖及其相关疾病的方法和药物，因此本领域迫切需要开发一种新的，无毒副作用的，用于治疗或预防肥胖及其相关疾病的药物。

## 发明内容

本发明旨在至少在一定程度上解决相关技术中的技术问题之一。为此，本发明的一个目的在于提出拟杆菌在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途。

在本发明的第一方面，本发明提供了拟杆菌在制备药物中的用途，所属药物用于治疗或预防肥胖相关疾病。发明人发现，通过给动物提供该药物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病，如糖尿病等。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

根据本发明的实施例，所述肥胖相关疾病为选自肥胖症或糖尿病。

根据本发明的实施例，所述药物用于降低动物体重或血糖。

根据本发明的实施例，所述动物为哺乳动物，优选人、鼠类和兔类。

在本发明的第二方面，本发明提供了一种药物组合物。根据本发明的实施例，该药物组合物包括：拟杆菌和/或其代谢产物；以及药学上可接受的辅料。发明人惊喜地发现，通过给动物提供本发明的药物组合物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

根据本发明的实施例，所述药物组合物呈固态，并且所述药物组合物包括  $1 \times 10^{-1}$  至  $1 \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者，所述药物组合物呈液态，并且所述

药物组合物包括  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果理想，如果拟杆菌含量过低，降低动物体重和血糖的效果不理想，如果拟杆菌含量过高，则降低动物体重和血糖的效果无明显提高，造成浪费。

需要说明的是，本文中所使用的表达方式“ $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g 或  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物”是指浓度为  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g 或  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/mL 的细菌和/或该浓度的细菌所产生的代谢产物。

所述药物组合物呈固态，并且所述药物组合物包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述药物组合物呈液态，并且所述药物组合物包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，  
10 优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果较佳。

根据本发明的实施例，所述药学上可接受的辅料为选自载体、赋形剂、稀释剂、润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂以及香料中的至少一种。

根据本发明的实施例，所述药学上可接受的辅料为选自乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖  
15 醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁和矿物油中的至少一种。

根据本发明的实施例，所述药物组合物进一步包括：加氏乳杆菌，鼠李糖乳杆菌 GM-020 和鼠李糖乳杆菌 PL60 中的至少一种。由此，有利于提高降低动物体重和血糖的效果。

在本发明的第三方面，本发明提供了一种药物。根据本发明的实施例，所述药物包括：  
20 前面所述的药物组合物。本发明的药物能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病，如糖尿病等。

根据本发明的实施例，所述药物呈选自颗粒剂、胶囊、片剂、粉末剂、口服液、混悬液和乳剂中的至少一种制剂形式。由此，易于给药。

在本发明的第四方面，本发明提供了一种食品。根据本发明的实施例，所述食品包括：  
25 拟杆菌和/或其代谢产物；以及食品学上可接受的辅料。发明人发现，服用本发明的该食品，动物的体重和血糖明显降低，进而能够治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

根据本发明的实施例，所述食品呈固态，并且所述食品包括  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述食品呈液态，并且所述食品包括  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果理想，如果拟杆菌含量过低，降低动物体重和血糖的效果不理想，如果拟杆菌含量过高，则降低动物体重和血糖的效果无明显提高，造成浪费。

根据本发明的实施例，所述食品呈固态，并且所述食品包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述食品呈液态，并且所述食品包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果较佳。

根据本发明的实施例，所述食品学上可接受的辅料为选自载体、赋形剂、稀释剂、润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂以及香料中的至少一种。

根据本发明的实施例，所述食品学上可接受的辅料为选自乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁和矿物油中的至少一种。

根据本发明的实施例，所述食品进一步包括：加氏乳杆菌，鼠李糖乳杆菌 GM-020 和鼠李糖乳杆菌 PL60 中的至少一种。由此，有利于提高降低动物体重和血糖的效果。

根据本发明的实施例，所述食品呈选自固体、乳品、溶液制品、粉末制品和悬浮液制品中的至少一种制剂形式。由此，服用方便。

在本发明的第五方面，本发明提供了一种饲料。根据本发明的实施例，该饲料包括拟杆菌和/或其代谢产物。对动物提供本发明的饲料，可以有效降低动物的体重和血糖。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

根据本发明的实施例，所述饲料呈固态，并且所述饲料包括  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述饲料呈液态，并且所述饲料包括  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果理想，如果拟杆菌含量过低，降低动物体重和血糖的效果不理想，如果拟杆菌含量过高，则降低动物体重和血糖的效果无明显提高，造成浪费。

根据本发明的实施例，所述饲料呈固态，并且所述饲料包括不低于  $1 \times 10^6 \text{cfu/g}$  的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11} \text{cfu/g}$  及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述饲料呈液态，并且所述饲料包括不低于  $1 \times 10^6 \text{cfu/mL}$  的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11} \text{cfu/mL}$  及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果较佳。

在本发明的第六方面，本发明提供了前面所述的药物组合物、前面所述的药物、前面所述的食物在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途。发明人发现，通过对动物提供前面所述的药物组合物、前面所述的药物、前面所述的食物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够发挥治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病的功效。

根据本发明的实施例，所述肥胖相关疾病为肥胖症或糖尿病。

在本发明的第七方面，本发明提供了一种治疗或预防肥胖相关疾病的方法。根据本发明的实施例，该方法包括：对动物提供前面所述的药物组合物、前面的药物或前面所述的食物。对动物提供前面所述的药物组合物、前面所述的药物、前面所述的食物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病的功效。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

## 附图说明

图 1 显示了根据本发明一个实施例，实验小鼠分组信息和处理步骤；

图 2 显示了根据本发明一个实施例，饲喂 10 周内 3 组小鼠体重增加趋势；

图 3 显示了根据本发明一个实施例，饲喂 10 周内 3 组小鼠体重增长差异 P 值比较结果；

图 4 显示了根据本发明一个实施例，饲喂第 10 周小鼠血糖变化曲线；以及

图 5 显示了根据本发明一个实施例，饲喂第 10 周鼠血糖耐受情况（喂食葡萄糖溶液后 120 分钟血糖值比较）。

## 具体实施方式

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件如 Sambrook 等人，分子克隆：实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件，或按照《微生物：实验手册》(James Cappuccino 和 Natalie Sherman 编，Pearson Education 出版社)中所述的条件，或按照制造厂商所建议的条件。

拟杆菌具有如下生理特性：杆状，菌体大小约  $0.8\mu\text{m}\times 1\sim 5.0\mu\text{m}$ ，不产芽孢，不运动，分散存在。能够发酵几种碳水化合物产酸，包括葡萄糖、乳糖、蔗糖、麦芽糖、木糖、阿拉伯糖、纤维二糖、甘露糖、棉子糖和鼠李糖。培养条件：改良 PYG 培养基中(DSMZ Medium 104)， $37^{\circ}\text{C}$  厌氧培养 1-2 天。发明人经过广泛而深入的研究和实验，意外地发现，拟杆菌

5 (Bacteroides) 具有治疗或预防肥胖相关疾病的作用，将含有拟杆菌的活性组合物饲喂食实验对象，发现该组合物能够抑制体重增加，降低血糖，有效减轻糖尿病及肥胖等病症。

因而，在本发明的第一方面，本发明提供了拟杆菌在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或预防肥胖相关疾病。发明人发现，通过给动物提供该药物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病，如糖尿病等。

10 根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393 (DSM 17393)、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 (JCM 13266) 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 (AM-1) 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

15 根据本发明的实施例，所述肥胖相关疾病为选自肥胖症或糖尿病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌用于降低动物体重或血糖。

根据本发明的实施例，所述动物为哺乳动物，优选人、鼠类和兔类。

根据本发明的实施例，受试者摄入高脂肪的食物，菌株 DSM 17393、JCM 13266 和 AM-1 均具有抑制该受试者体重增加的能力。根据本发明的实施例，分别经菌株 DSM 17393、JCM

20 13266 和 AM-1 来治疗的被喂以可导致肥胖的高脂肪的食物的 CF57BL/6J 小鼠，与未接受治疗的对照组相比，其可保持体重无明显增加，且有助于血糖下降。由此，表明所述菌株能够用以治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病，如糖尿病等。

在本发明的第二方面，本发明提供了一种药物组合物。根据本发明的实施例，该药物组合物包括：拟杆菌和/或其代谢产物；以及药学上可接受的辅料。发明人惊喜地发现，通

25 过给动物提供本发明的药物组合物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、

30 *Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

根据本发明的实施例，所述药物组合物呈固态，并且所述药物组合物包括

$1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 或者所述药物组合物呈液态, 并且所述药物组合物包括  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此, 降低动物体重和血糖的效果理想, 如果拟杆菌含量过低, 降低动物体重和血糖的效果不理想, 如果拟杆菌含量过高, 则降低动物体重和血糖的效果无明显提高, 造成浪费。

5 根据本发明的实施例, 所述药物组合物呈固态, 并且所述药物组合物包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 或者所述药物组合物呈液态, 并且所述药物组合物包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此, 降低动物体重和血糖的效果较佳。

10 根据本发明的实施例, 所述药学上可接受的辅料为选自载体、赋形剂、稀释剂、润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂以及香料中的至少一种。

根据本发明的实施例, 所述药学上可接受的辅料为选自乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、

15 硬脂酸镁和矿物油中的至少一种。

根据本发明的实施例, 所述药物组合物进一步包括: 加氏乳杆菌, 鼠李糖乳杆菌 GM-020 和鼠李糖乳杆菌 PL60 中的至少一种。由此, 有利于提高降低动物体重和血糖的效果。

在本发明的第三方面, 本发明提供了一种药物。根据本发明的实施例, 所述药物包括: 前面所述的药物组合物。本发明的药物能够有效降低动物的体重和血糖, 进而能够治疗或  
20 预防肥胖和肥胖相关疾病, 如糖尿病等。

根据本发明的实施例, 所述药物呈选自颗粒剂、胶囊、片剂、粉末剂、口服液、混悬液和乳剂中的至少一种制剂形式。由此, 易于给药。

根据本发明的实施例, 本发明的药物也可以以药物片剂, 针剂或胶囊的任一种形式给药, 所述药物可以包括赋形剂、药物允许的媒介和载体, 这些物质可根据给药途径进行选择。  
25 择。

根据本发明的一些实施例, 本发明的药物可通过多种公知的方法以肠衣制剂生产, 以便于药物的活性成分即微生物(拟杆菌)能顺利通过胃而不被胃酸所破坏。

根据本发明的另一些实施例, 本发明的微生物可以常规方法制备的胶囊形式使用。例如, 标准赋形剂和本发明的冷干微生物混合制成小球药丸, 然后将药丸装填入明胶胶囊中。  
30 此外, 本发明的微生物可以和药物允许使用的赋形剂如液体胶、纤维素、硅酸盐或矿物油等混合制作悬浮液或分散液, 这种悬浮液或分散液可装入软的明胶胶囊中。

根据本发明的另一些实施例, 本发明的药物可制成肠衣片供口服使用。本文中的术语

“肠衣”，包括所有常规药物允许使用的包衣，这些包衣不被胃酸降解，但在小肠中能充分分解并快速释放出本发明的微生物。本发明的肠衣能在合成胃酸如 pH=1 的 HCl 溶液中在 36-38℃ 条件下维持 2 小时以上，并优选在合成肠液如 pH=7.0 的缓冲液中在 1.0 小时内分解。

本发明的肠衣为以每片约 16-30mg 进行包衣，较佳地每片约 16-25mg，更佳地每片约 16-20mg 进行包衣。本发明中肠衣厚度为 5-100μm，理想的厚度为 20-80μm。肠衣成分选自己公开知晓的常规聚合物。本发明优选的肠衣由纤维素乙酸邻苯二甲酸酯聚合物或偏苯三酸酯聚合物以及异丁烯酸的共聚物(例如，含有 40%以上异丁烯酸和含有甲基纤维素邻苯二甲酸羟丙酯或其酯类衍生物的异丁烯酸的共聚物)制备。

本发明中肠衣所使用的纤维素乙酸邻苯二甲酸酯的粘度为约 45-90cp，乙酰含量 17-26%，邻苯二甲酸含量 30-40%。用于肠衣中的纤维素乙酸偏苯三酸酯粘度为约 5-21cs，乙酰含量 17-26%。纤维素乙酸偏苯三酸酯由 Eastman 科达公司生产，可用作本发明中的肠衣材料。

用于本发明肠衣中的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯，分子量一般为 20,000-130,000 道尔顿，理想分子量为 80,000-100,000 道尔顿，羟丙基含量为 5-10%，甲氧基含量为 18-24%，邻苯二甲酰基含量为 21-35%。

用于本发明肠衣中的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯为 HP50，由日本 Shin-Etsu Chemidnl Co. Ltd. 生产。HP50 含有 6-10%羟丙基，20-24%甲氧基，21-27%的丙基，其分子量为 84,000 道尔顿。另一种肠衣物质为 HP55，HP55 含有 5-9%的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯，18-22%甲氧基，27-35%的邻苯二甲酸，其分子量为 78,000 道尔顿。

本发明肠衣可以通过如下步骤进行制备：使用常规方法将肠衣溶液喷雾到核心上。该肠包衣方法中所有溶剂为醇类（如乙醇）、酮类（如丙酮）、卤代烃化合物（如二氯甲烷）、或其组合物。将软化剂如二-正丁基邻苯二甲酸酯和三乙酸甘油酯加入到肠衣溶液中，其比例为 1 份包衣物加约 0.05 份或约 0.3 份软化剂。喷雾方法优选连续执行，所喷雾的料量可根据包衣所采用的条件进行控制。喷雾压力可随意调节，一般而言，能在平均 1-1.5 巴压力下获得理想的结果。

需要说明的是，本文中所使用的表达方式“药物有效量”是指可对人和/或动物产生功能或活性的且可被人或/或动物所接受的量。比如，在本发明中，可制备含有  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/ml 或  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g（特别的，可含有  $1 \times 10^4 - 1 \times 10^{15}$  cfu/mL 或  $1 \times 10^4 - 1 \times 10^{15}$  cfu/g；更特别地，可含有  $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{11}$  cfu/ml 或  $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{11}$  cfu/g）的拟杆菌和/或其代谢产物的药物制剂。

当用于制备药物时，所用的拟杆菌或其代谢产物的有效剂量可随施用的模式和待治疗的疾病的严重程度而变化。适用于内服的剂量形式，包含与固态或液态药学上可接受的载体密切混合的约  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/g 或  $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$  cfu/ml（特别的，可含有  $1 \times 10^4 - 1 \times 10^{15}$  cfu/g

或  $1 \times 10^4$ - $1 \times 10^{15}$ cfu/mL; 更特别地, 可含有  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^{11}$ cfu/g 或  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^{11}$ cfu/ml) 的活性拟杆菌或发酵产生的活性成分。根据需要, 可调节此剂量方案以提供最佳治疗应答。例如, 由治疗状况的迫切要求, 可每天给予若干次分开的剂量, 或将剂量按比例地减少。

本发明所述的拟杆菌或其代谢产物可通过口服等途径给予。固态载体包括: 淀粉、乳糖、磷酸二钙、微晶纤维素、蔗糖和白陶土, 而液态载体包括: 培养基、聚乙二醇、非离子型表面活性剂和食用油(如玉米油、花生油和芝麻油), 只要适合拟杆菌或其代谢产物特性和所需的特定给药方式。在制备药物中通常使用的佐剂也可有利地被包括, 例如调味剂、色素、防腐剂和抗氧化剂如维生素 E、维生素 C、BHT 和 BHA。

从易于制备和给药的立场看, 优选的药物呈固态形式, 尤其是片剂和固体填充或液体填充的胶囊。口服给药是优选的给药方式。

将本发明的药物施用给所述个体, 可以每天给药 1 次或多次。给药剂量单位表示其形式上能分开且适用于人类或其他所有哺乳动物个体的剂量。每一单位含有药物允许的载体和有效治疗量的本发明微生物。给药量随病人的体重和肥胖严重程度、所包括的补充活性组份和所使用的微生物而变化。此外如可能, 可分开给药, 并且如需要可连续给药。因此, 所述给药量不会对本发明造成限制。

在本发明的第四方面, 本发明提供了一种食品。根据本发明的实施例, 所述食品包括: 拟杆菌和/或其代谢产物; 以及食品学上可接受的辅料。发明人发现, 服用本发明的该食品, 动物的体重和血糖明显降低, 进而能够治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病。

根据本发明的实施例, 所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此, 能够有效降低动物的体重和血糖, 进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例, 所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此, 降低动物体重和血糖的效果显著。

根据本发明的实施例, 所述食品呈固态, 并且所述食品包括  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^{20}$ cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 或者所述食品呈液态, 并且所述食品包括  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^{20}$ cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此, 降低动物体重和血糖的效果理想, 如果拟杆菌含量过低, 降低动物体重和血糖的效果不理想, 如果拟杆菌含量过高, 则降低动物体重和血糖的效果无明显提高, 造成浪费。

根据本发明的实施例, 所述食品呈固态, 并且所述食品包括不低于  $1 \times 10^6$ cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 优选  $1 \times 10^{11}$ cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 或者所述食品呈液态, 并且所述食品包括不低于  $1 \times 10^6$ cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物, 优选  $1 \times 10^{11}$ cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此, 降低动物体重和血糖的效果

较佳。

根据本发明的实施例，所述食品学上可接受的辅料为选自载体、赋形剂、稀释剂、润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂以及香料中的至少一种。

5 根据本发明的实施例，所述食品学上可接受的辅料为选自乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁和矿物油中的至少一种。

根据本发明的实施例，所述食品进一步包括：加氏乳杆菌，鼠李糖乳杆菌 GM-020 和鼠李糖乳杆菌 PL60 中的至少一种。由此，有利于提高降低动物体重和血糖的效果。

10 根据本发明的实施例，所述食品呈选自固体、乳品、溶液制品、粉末制品和悬浮液制品中的至少一种制剂形式。由此，服用方便。

在本发明的第五方面，本发明提供了一种饲料。根据本发明的实施例，该饲料包括拟杆菌和/或其代谢产物。对动物提供本发明的饲料，可以有效降低动物的体重和血糖。

15 根据本发明的实施例，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。由此，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效用于治疗或预防肥胖及由肥胖引起的疾病。

根据本发明的实施例，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。由此，降低动物体重和血糖的效果显著。

20 根据本发明的实施例，所述饲料呈固态，并且所述饲料包括  $1 \times 10^1 - 1 \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述饲料呈液态，并且所述饲料包括  $1 \times 10^1 - 1 \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果理想，如果拟杆菌含量过低，降低动物体重和血糖的效果不理想，如果拟杆菌含量过高，则降低动物体重和血糖的效果无明显提高，造成浪费。

25 根据本发明的实施例，所述饲料呈固态，并且所述饲料包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者所述饲料呈液态，并且所述饲料包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。由此，降低动物体重和血糖的效果较佳。

30 在本发明的第六方面，本发明提供了前面所述的药物组合物、前面所述的药物、前面所述的食物在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途。发明人发现，通过对动物提供前面所述的药物组合物、前面所述的药物、前面所述的食物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够发挥治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病的功效。

根据本发明的实施例，所述肥胖相关疾病为肥胖症或糖尿病。

在本发明的第七方面，本发明提供了一种治疗或预防肥胖相关疾病的方法。根据本发明的实施例，该方法包括：对动物提供前面所述的药物组合物、前面的药物或前面所述的食物。对动物提供前面所述的药物组合物、前面所述的药物、前面所述的食物，能够有效降低动物的体重和血糖，进而能够有效治疗或预防肥胖和肥胖相关疾病的功效。

## 实施例 1

### 1、实验材料

小鼠：小鼠 C57BL/6J（购自南方医科大学实验动物中心），为正常饲养小鼠，6 周龄，一共 25 只，小鼠生长过程处于同一环境，且喂养同样的食物。

菌株：*Bacteroides intestinalis* DSM 17393，购自 DSMZ（Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH）；*Bacteroides intestinalis* JCM 13266，购自 JCM（Japan Collection of Microorganisms）；*Bacteroides intestinalis* AM-1，来自日本北海道大学农业学院微生物生理实验室（Laboratory of Microbial Physiology, Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University）。

高脂肪食物（HF）：含 58%猪油、25.6%的碳水化合物、16.4%的蛋白，购自北京华阜康生物科技股份有限公司。

常规老鼠食物：购自南方医科大学动物实验中心。

### 2、小鼠分组和诱导处理

本实施例共设置 5 个实验组，将小鼠随机分为 5 组，每组各 5 只。

选取正常喂养（无需无菌）的 6 周龄 C57BL/6J 小鼠进行实验。通过喂食法为小鼠肠道分别引入待检验的拟杆菌 DSM 17393、JCM 13266 和 AM-1，通过葡萄糖耐量（OGGT）测试，鉴定小鼠的胰岛素耐受能力。具体实验分组信息和处理步骤见图 1。实验步骤具体如下：

将 25 只小鼠置于同一环境正常饲养至 6 周龄（食物无需消毒），记录喂食量并定期监控小鼠体重变化与身体状况。

25 只小鼠均分为 5 个实验组（每实验组 5 只重复），分别置于超净工作台中，正式进入实验期。根据实验设计进行第一次喂食改变处理。

在实验期中小鼠必须生活在对应的培养箱中，不可对换任意培养箱中的小鼠。保持培养箱中的清洁等问题。喂食方法采取灌喂（gavage）法，喂食定时定量，对所有小鼠统一

标准。

灌喂菌量定为 0.15mL/10g 体重，菌浓度为  $1 \times 10^7$  cfu/mL，浓缩后浓度为  $1 \times 10^8$  cfu/mL，频率为隔天一次。菌液需提前培养，每周活化保证新鲜，并分别测定浓度。

- 实验期中，每周记录小鼠体重、体长、进食量等数据，用血糖仪检测小鼠血糖含量，
- 5 记录各组小鼠出现糖尿病症状及时间点。血糖耐受能力测定方法：先饥饿 10 小时测定空腹血糖，再于喂食葡萄糖溶液后 60 分钟和 120 分钟测定餐后血糖。

### 3、实验结果

(1) 饲喂10周，各组小鼠体重增长结果见表1和图2。

表 1

| 分组                           | 时间(周) |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |
|------------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
|                              | 0     | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9     | 10    |
| HF+B. intestinalis DSM 17393 | 0.00  | 0.90 | 1.55 | 2.10 | 2.48 | 3.04 | 4.13 | 4.82 | 5.40 | 5.96  | 6.12  |
| HF+B. intestinalis JCM 13266 | 0.00  | 1.18 | 2.31 | 3.04 | 3.62 | 4.26 | 5.37 | 5.97 | 6.49 | 7.72  | 8.44  |
| HF+B. intestinalis AM-1      | 0.00  | 0.96 | 1.66 | 2.25 | 3.05 | 3.63 | 4.76 | 5.36 | 6.37 | 6.75  | 7.62  |
| 对照组 (HF)                     | 0.00  | 1.50 | 2.60 | 3.54 | 4.70 | 5.36 | 6.04 | 7.04 | 9.28 | 10.33 | 11.35 |
| 空白组 (常规食物)                   | 0.00  | 0.55 | 1.08 | 1.47 | 1.76 | 2.21 | 2.91 | 3.50 | 3.49 | 4.37  | 4.66  |

- 10 (2) 饲喂 10 周，各组小鼠体重增长差异显著性分析结果见图 3。

由表 1 和图 2、图 3 的结果可知，饲喂 10 周后，饲喂检验菌能显著降低肥胖鼠体重。

(3) 饲喂第 10 周，各组小鼠血糖含量测定结果见表 2、图 4 和图 5。

表 2

| 分组                           | 血糖浓度(mmol/L) |              |              |
|------------------------------|--------------|--------------|--------------|
|                              | 空腹           | 60 分钟        | 120 分钟       |
| HF+B. intestinalis DSM 17393 | 6.59 ± 1.97  | 13.99 ± 1.07 | 8.08 ± 1.05  |
| HF+B. intestinalis JCM 13266 | 6.43 ± 1.72  | 16.02 ± 0.62 | 8.77 ± 0.68  |
| HF+B. intestinalis AM-1      | 6.21 ± 1.72  | 17.15 ± 1.83 | 9.83 ± 0.54  |
| 对照组 (HF)                     | 6.72 ± 1.39  | 15.07 ± 1.72 | 11.74 ± 1.36 |
| 空白组 (常规食物)                   | 6.25 ± 0.99  | 11.00 ± 1.20 | 6.78 ± 0.75  |

- 15 由表 2 和图 4 的结果可知，饲喂检验菌可以显著降低肥胖鼠的血糖。由图 5 的结果可知，饲喂检验菌可以显著改善肥胖鼠的血糖耐受能力。由此，表明拟杆菌能够有效用于降低体重和血糖。

## 实施例 2：食品的制备

在本实施例中，制备分别含有拟杆菌 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 的食品，具体如下：

1、食品的原料配比如表 3 所示。

表 3

| 原料                                                                                                                                 | 质量百分比(%) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <i>Bacteroides intestinalis</i> DSM 17393 或<br><i>Bacteroides intestinalis</i> JCM 13266<br>或 <i>Bacteroides intestinalis</i> AM-1 | 0.5      |
| 牛奶                                                                                                                                 | 90.0     |
| 白糖                                                                                                                                 | 9.5      |

按照表 3 所示的配方和比例，将牛奶和白糖混合，然后搅拌至完全混匀，预热后，于 20 Mpa 压力下均质，接着于 90℃ 左右杀菌 5-10 分钟，随后冷却至 40-43℃，然后接种拟杆菌，接种数量为：每 1g 上述混合物接种 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 或 *Bacteroides intestinalis* AM-1 菌  $1-100 \times 10^6$  cfu，即得。

## 实施例 3：药物的制备

在本实施例中，制备分别含有拟杆菌 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 或 *Bacteroides intestinalis* AM-1 的药物组合物，具体如下：

药物组合物的原料配比见表 4。

表 4

| 原料                                                                                                                                 | 质量百分比(%) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <i>Bacteroides intestinalis</i> DSM 17393 或<br><i>Bacteroides intestinalis</i> JCM 13266<br>或 <i>Bacteroides intestinalis</i> AM-1 | 1.0      |
| 乳糖                                                                                                                                 | 2.0      |
| 酵母粉                                                                                                                                | 2.0      |
| 蛋白胨                                                                                                                                | 1.0      |
| 纯净水                                                                                                                                | =94.0    |

按照表 4 所示的比例将乳糖、酵母粉、蛋白胨以纯净水混合均匀，预热到 60-65℃，于

20Mpa 压力下均质, 然后于 90℃左右杀菌 20-30 分钟, 随后冷却至 36-38℃, 然后接入 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393 或 *Bacteroides intestinalis* JCM 13266 或 *Bacteroides intestinalis* AM-1 活菌接种量为 $(1-50 \times 10^6 \text{cfu/mL})$ , 接着于 36-38℃发酵至 pH 值为 6.0, 离心后, 冷冻干燥至水份含量小于 3%, 即得 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393 或 *Bacteroides intestinalis* JCM 13266 或 *Bacteroides intestinalis* AM-1 菌冷冻干燥物。然后, 称取 0.5 克冷冻干燥物与麦芽糊精等量混合后装入胶囊中, 即制成含 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393 或 *Bacteroides intestinalis* JCM 13266 或 *Bacteroides intestinalis* AM-1 菌的胶囊。

#### 实施例 4: 饲料的制备

设备:

- 10 1、种子罐 (GYS-500C);
- 2、发酵罐 (GYS-1500C);
- 3、发酵培养箱 (SPX-1500);
- 4、搅拌粉碎机 (SWFL82D);
- 5、卧式压力蒸汽灭菌器 (ZY.01.001);
- 15 6、高速离心喷雾干燥机 (LPG1000);
- 7、热收缩包装机 (SM-4525L);
- 8、定量粉剂灌装机 (DXDCF2000A);
- 9、造粒机

首先, 按照固体发酵方法, 分别制备 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266、*Bacteroides intestinalis* AM-1 的活菌干粉制剂, 具体步骤如下:

##### 1、菌种准备

###### (1) 菌种活化

室温放置菌种甘油冻藏管, 待该冻藏管内液体全部融化, 在火焰旁边将其打开, 并用 200 微升的移液器将菌种甘油冻藏管内液体吹吸均匀。然后, 用移液器从已吹吸均匀的冻藏管内吸取 200 微升液体, 接种至 50ml 体积的新鲜的改良 PYG 液体培养基中, 并于 37℃、160r/min 摇床上进行活化培养 24h, 以便获得经过活化的菌种。

###### (2) 扩大培养

将上述经过活化的菌种按照 3% 的比例接种到新鲜的改良 PYG 培养基内, 并于 37℃、160r/min 摇床上进行扩大培养 24h, 以便获得经过扩大培养的菌种。

##### 2、固体发酵

###### (1) 固体发酵培养基配制及分装

称取适量麦麸, 并按照 1 : 1-2 的质量比加入水将其搅拌均匀, 然后将混合物于 115℃

高温下灭菌 15-20 分钟，以便获得固体发酵培养基。接着，于操作台上，将不低于 70℃ 的固体发酵培养基分装于经过灭菌的干净发酵盘中，并将固体发酵培养基中聚集成团的麦麸捏散。

## (2) 接种

- 5 将上述经过扩大培养的菌种按照 1-5% 的接种量，接种到各发酵盘中，并将菌种与固体发酵培养基充分搅拌混匀，自然铺平，然后于 37℃ 下进行发酵 48 小时，以便获得发酵麦麸。

## 3、发酵麦麸粉碎

- 10 将上述获得的发酵麦麸置于干燥箱中，60℃ 恒温烘干 12-16h，然后，利用 100 目筛将经过烘干的发酵麦麸进行粉碎，以便获得活菌干粉制剂，装袋保存。其中，留取部分样品进行活菌计数，选取每克活菌数为 10 亿 -200 亿的活菌干粉制剂备用。

- 由此，分别制备获得 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266、*Bacteroides intestinalis* AM-1 的活菌干粉制剂，得到饲料添加剂。最后，将上述饲料添加剂分别以 0.1% 添加量加入到动物饲料的饲料原料中，再通过造粒机进行挤压造粒，  
15 分别制得含 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266、*Bacteroides intestinalis* AM-1 饲料添加剂的饲料。

- 在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者  
20 特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必须针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

- 25 尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

## 权利要求书

1、拟杆菌在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或预防肥胖相关疾病。

2、根据权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。

3、根据权利要求 2 所述的用途，其特征在于，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。

4、根据权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述肥胖相关疾病为肥胖症或糖尿病。

5、根据权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述药物用于降低动物体重或血糖。

6、根据权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述动物为哺乳动物，优选人、鼠类和兔类。

7、一种药物组合物，其特征在于，包括：

拟杆菌和/或其代谢产物；以及

药学上可接受的辅料。

8、根据权利要求 7 所述的药物组合物，其特征在于，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。

9、根据权利要求 8 所述的药物组合物，其特征在于，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。

10、根据权利要求 7 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物呈固态，并且所述药物组合物包括  $1 \times 10^{-1}$  至  $1 \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者

所述药物组合物呈液态，并且所述药物组合物包括  $1 \times 10^{-1}$  至  $1 \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。

11、根据权利要求 10 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物呈固态，并且所述药物组合物包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者

所述药物组合物呈液态，并且所述药物组合物包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。

12、根据权利要求 7 所述的药物组合物，其特征在于，所述药学上可接受的辅料为选自载体、赋形剂、稀释剂、润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂以及香料中的至少一种。

13、根据权利要求 7 所述的药物组合物，其特征在于，所述药学上可接受的辅料为选自乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、

硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羧基苯甲酸甲酯、羧基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁和矿物油中的至少一种。

14、根据权利要求 7 所述的药物组合物，其特征在于，进一步包括：加氏乳杆菌，鼠李糖乳杆菌 GM-020 和鼠李糖乳杆菌 PL60 中的至少一种。

5 15、一种药物，其特征在于，包括：

权利要求 7-14 中任一项所述的药物组合物。

16、根据权利要求 15 所述的药物，其特征在于，所述药物呈选自颗粒剂、胶囊、片剂、粉末剂、口服液、混悬液和乳剂中的至少一种制剂形式。

17、一种食品，其特征在于，包括：

10 拟杆菌和/或其代谢产物；以及

食品学上可接受的辅料。

18、根据权利要求 17 所述的食品，其特征在于，所述拟杆菌为 *Bacteroides intestinalis*。

19、根据权利要求 18 所述的食品，其特征在于，所述拟杆菌为选自 *Bacteroides intestinalis* DSM 17393、*Bacteroides intestinalis* JCM 13266 和 *Bacteroides intestinalis* AM-1 中的至少一种。

20、根据权利要求 17 所述的食品，其特征在于，所述食品呈固态，并且所述食品包括  $1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{20}$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者

所述食品呈液态，并且所述食品包括  $1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{20}$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物。

20 21、根据权利要求 20 所述的食品，其特征在于，所述食品呈固态，并且所述食品包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/g 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/g 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物，或者

所述食品呈液态，并且所述食品包括不低于  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的所述拟杆菌和/或其代谢产物，优选  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL 及以上的所述拟杆菌和/或其代谢产物。

25 22、根据权利要求 17 所述的食品，其特征在于，所述食品学上可接受的辅料为选自载体、赋形剂、稀释剂、润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂以及香料中的至少一种。

23、根据权利要求 17 所述的药物组合物，其特征在于，所述食品学上可接受的辅料为选自乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、30 硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羧基苯甲酸甲酯、羧基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁和矿物油中的至少一种。

24、根据权利要求 17 所述的食品，其特征在于，进一步包括：加氏乳杆菌，鼠李糖乳

杆菌 GM-020 和鼠李糖乳杆菌 PL60 中的至少一种。

25、根据权利要求 17 所述的食物，其特征在于，所述食物呈选自固体、乳品、溶液制品、粉末制品和悬浮液制品中的至少一种制剂形式。

26、一种饲料，其特征在于，包括：拟杆菌和/或其代谢产物。

5        27、权利要求 7-14 中任一项所述的药物组合物、权利要求 15 或 16 所述的药物、权利要求 17-25 中任一项所述的食物或权利要求 26 所述的饲料在治疗或预防肥胖相关疾病中的用途。

28、根据权利要求 27 所述的用途，其特征在于，所述肥胖相关疾病为选自肥胖症或糖尿病。

10       29、一种治疗或预防肥胖相关疾病的方法，其特征在于，对动物提供权利要求 7-14 中任一项所述的药物组合物、权利要求 15 或 16 所述的药物、权利要求 17-25 中任一项所述的食物或权利要求 26 所述的饲料。

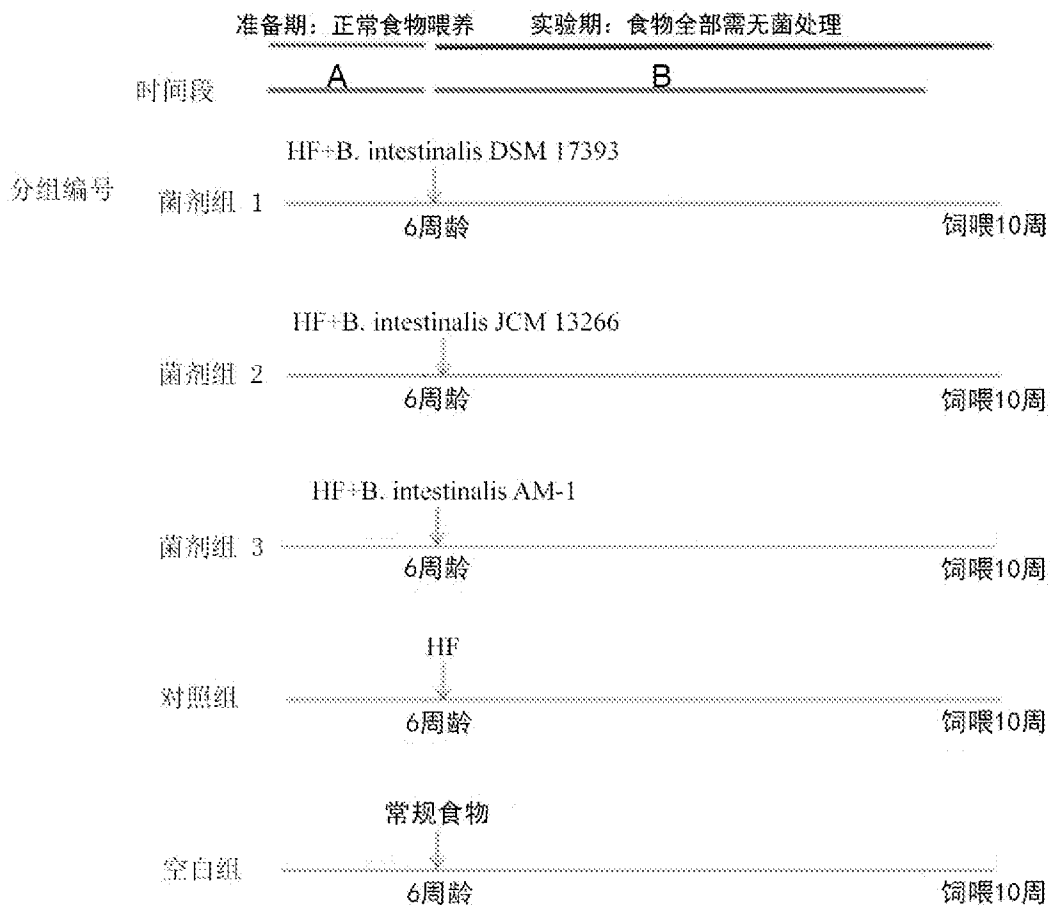


图 1

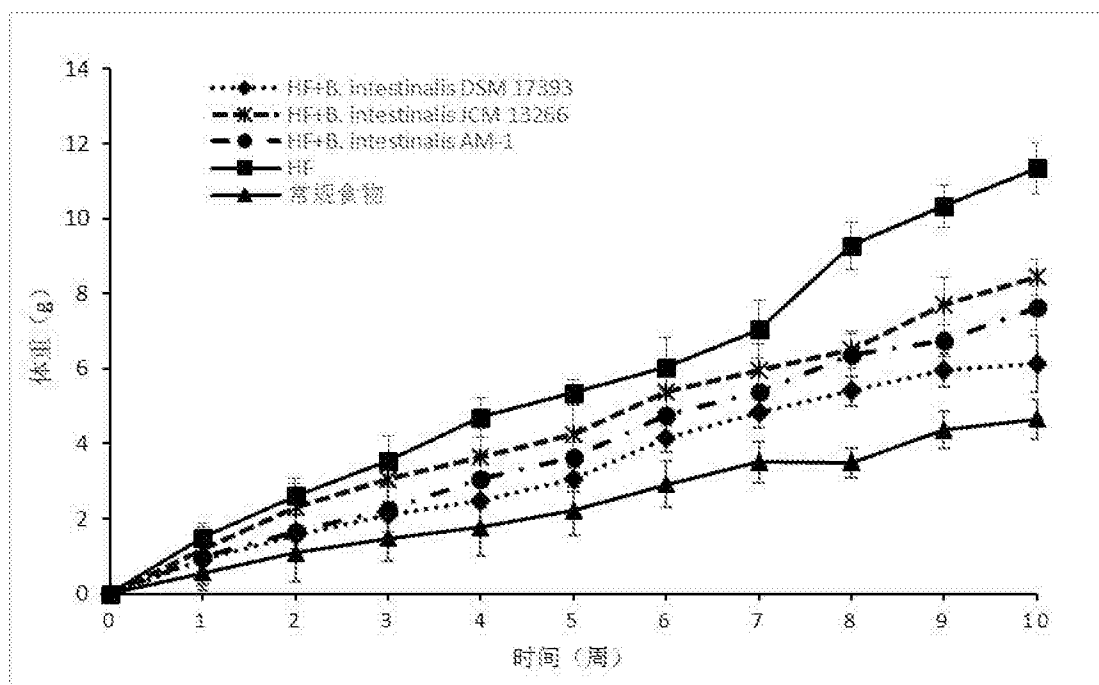


图 2

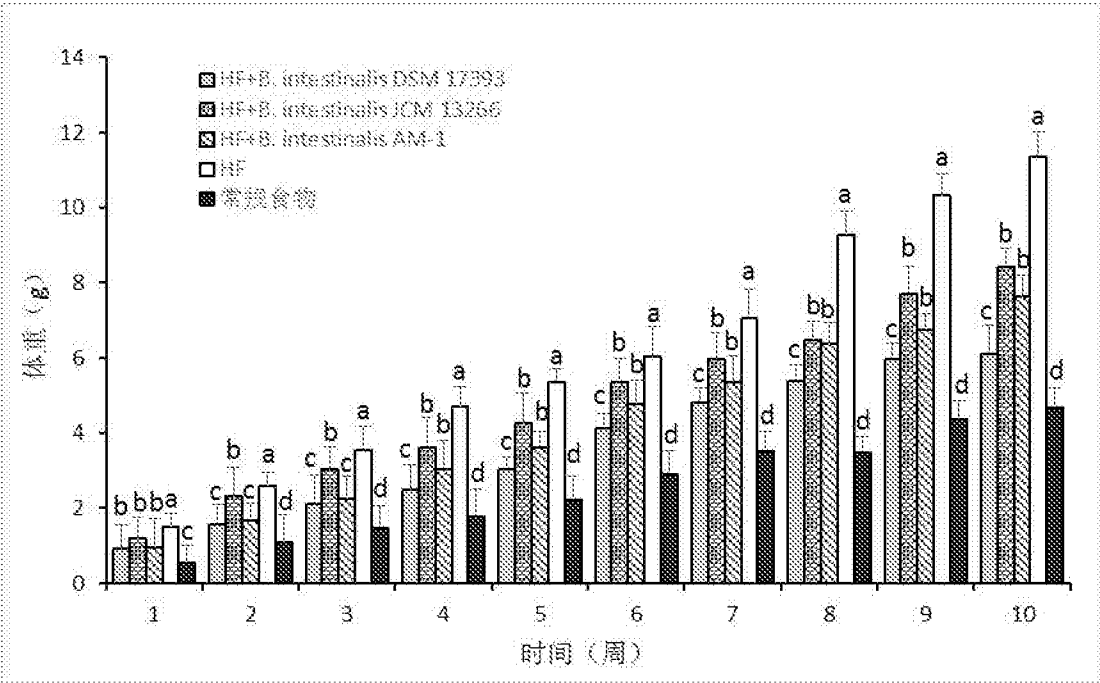


图 3

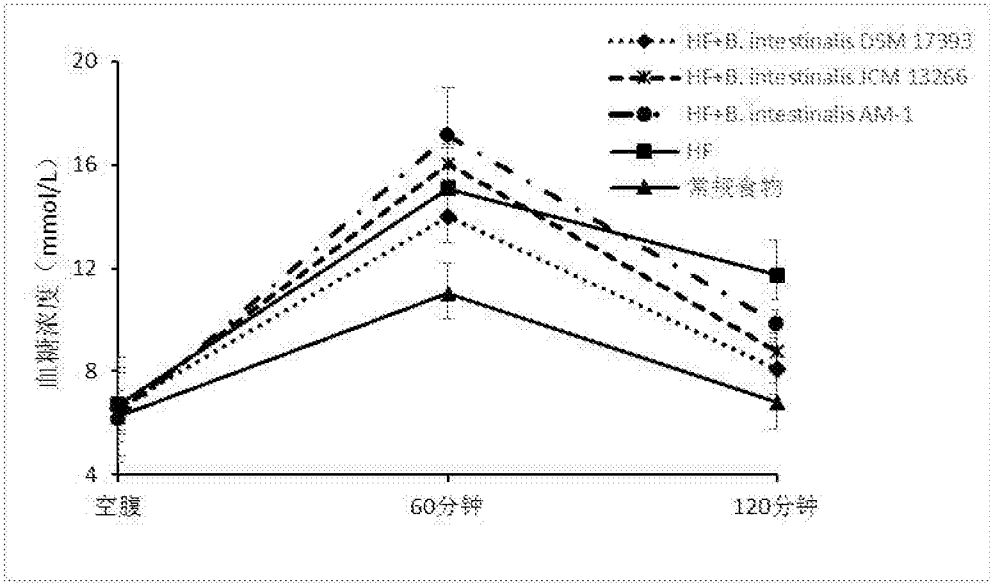


图 4

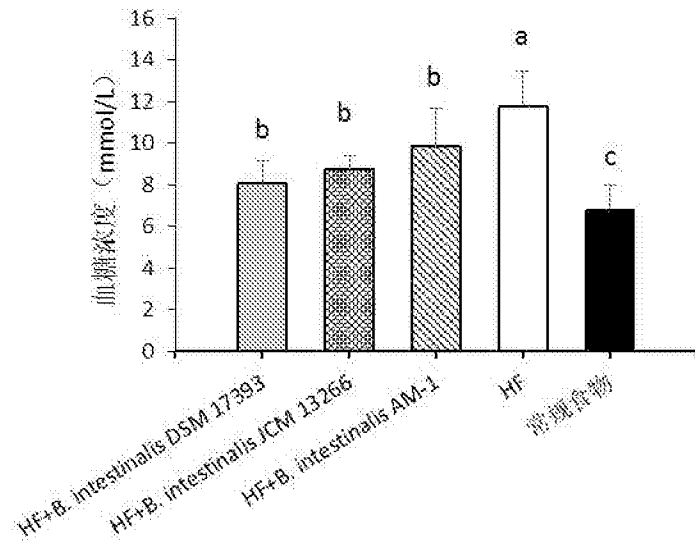


图 5

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2014/087994**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 1/20 (2006.01) i; A61K 35/74 (2015.01) i; A61P 3/04 (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)

C12N; A61K

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)

CNABS, CNTXT, CNKI, WPI, EPODOC, WOTXT, CAplus: bacteroides, intestinalis, DSM 17393, JCM 13266, AM-1, obesity, diabetes

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                   | Relevant to claim No.  |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| X         | WO 2014019271 A1 (BGI SHENZHEN et al.), 06 February 2014 (06.02.2014), claims 1 and 19               | 1-2, 4-8, 10-18, 20-29 |
| X         | WO 2012142605 A1 (SAMARITAN HEALTH SERVICES), 18 October 2012 (18.10.2012), claims 1 and 6           | 7-8, 10-18, 20-29      |
| X         | WO 2013175038 A1 (CONSEJO SUPERIOR INVESTIGACIONES CIENTIF), 28 November 2013 (28.11.2013), abstract | 1, 4-7, 10-18, 20-29   |
| A         | WO 2008076696 A2 (WASHINGTON UNIVERSITY IN ST. LOUIS), 26 June 2008 (26.06.2008), the whole document | 1-29                   |

☐ 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<br>18 May 2015 (18.05.2015)                                                                                                                              | Date of mailing of the international search report<br><b>23 June 2015 (23.06.2015)</b> |
| Name and mailing address of the ISA/CN:<br>State Intellectual Property Office of the P. R. China<br>No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao<br>Haidian District, Beijing 100088, China<br>Facsimile No.: (86-10) 62019451 | Authorized officer<br><b>BIAN, Zhijia</b><br>Telephone No.: (86-10) <b>62413763</b>    |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2014/087994**

### **Box No. II    Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 29

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1]claim 29 relates to a method for treating or preventing obesity-related diseases, which relates to treating a disease of a human body or animal, and does not comply with the requirements of PCT Article 39.1(iv). The present search report is made based on assuming that the subject matter of claim 29 is “use of a pharmaceutical composition, a drug or fodder for treating or preventing obesity-related diseases”.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

**PCT/CN2014/087994**

| Patent Documents referred<br>in the Report | Publication Date | Patent Family    | Publication Date  |
|--------------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| WO 2014019271 A1                           | 06 February 2014 | None             |                   |
| WO 2012142605 A1                           | 18 October 2012  | None             |                   |
| WO 2013175038 A1                           | 28 November 2013 | ES 2436251 A1    | 27 December 2013  |
|                                            |                  | ES 2436251 B1    | 08 October 2014   |
| WO 2008076696 A2                           | 26 June 2008     | US 2010172874 A1 | 08 July 2010      |
|                                            |                  | EP 2102350 A4    | 08 August 2012    |
|                                            |                  | WO 2008076696 A3 | 04 December 2008  |
|                                            |                  | EP 2102350 A2    | 23 September 2009 |
|                                            |                  | US 2014093478 A1 | 03 April 2014     |

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2014/087994

## A. 主题的分类

C12N 1/20(2006.01)i; A61K 35/74(2015.01)i; A61P 3/04(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)

C12N; A61K

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))

CNABS, CNTXT, CNKI, WPI, EPODOC, WOTXT, CAPlus: bacteroides, intestinalis, DSM 17393, JCM 13266, AM-1, obesity, diabetes; 拟杆菌、肥胖、糖尿病

## 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    | WO 2014019271 A1 (BGI SHENZHEN等) 2014年 2月 6日 (2014 - 02 - 06)<br>权利要求1和19                           | 1-2、4-8、<br>10-18、20-29 |
| X    | WO 2012142605 A1 (SAMARITAN HEALTH SERVICES) 2012年 10月 18日 (2012 - 10 - 18)<br>权利要求1和6              | 7-8、10-18、20-29         |
| X    | WO 2013175038 A1 (CONSEJO SUPERIOR INVESTIGACIONES CIENTIF) 2013年 11月 28日<br>(2013 - 11 - 28)<br>摘要 | 1、4-7、10-<br>18、20-29   |
| A    | WO 2008076696 A2 (WASHINGTON UNIVERSITY IN ST. LOUIS) 2008年 6月 26日<br>(2008 - 06 - 26)<br>全文        | 1-29                    |

☐ 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

“&amp;” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 5月 18日

国际检索报告邮寄日期

2015年 6月 23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)  
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号  
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

授权官员

卞志家

电话号码 (86-10)62413763

## 第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 29  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
[1] 权利要求29涉及一种治疗或预防肥胖相关疾病的方法，涉及人体或动物的疾病的治疗，不符合PCT条约39.1(iv)的规定。本检索报告是假设权利要求29主题为“在制备治疗或预防肥胖相关疾病的药物组合物、药物或饲料的用途”的基础上作出的。
2. ☐ 权利要求：  
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. ☐ 权利要求：  
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

|                   |
|-------------------|
| 国际申请号             |
| PCT/CN2014/087994 |

| 检索报告引用的专利文件 |            |    | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 |            |    | 公布日<br>(年/月/日) |
|-------------|------------|----|----------------|------|------------|----|----------------|
| WO          | 2014019271 | A1 | 2014年 2月 6日    | 无    |            |    |                |
| WO          | 2012142605 | A1 | 2012年 10月 18日  | 无    |            |    |                |
| WO          | 2013175038 | A1 | 2013年 11月 28日  | ES   | 2436251    | A1 | 2013年 12月 27日  |
|             |            |    |                | ES   | 2436251    | B1 | 2014年 10月 8日   |
| WO          | 2008076696 | A2 | 2008年 6月 26日   | US   | 2010172874 | A1 | 2010年 7月 8日    |
|             |            |    |                | EP   | 2102350    | A4 | 2012年 8月 8日    |
|             |            |    |                | WO   | 2008076696 | A3 | 2008年 12月 4日   |
|             |            |    |                | EP   | 2102350    | A2 | 2009年 9月 23日   |
|             |            |    |                | US   | 2014093478 | A1 | 2014年 4月 3日    |

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)