



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101977596 A

(43) 申请公布日 2011.02.16

(21) 申请号 200980110347.9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009.01.21

A61K 31/05 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 3/06 (2006.01)

0801051.4 2008.01.21 GB

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.09.21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/GB2009/000159 2009.01.21

(87) PCT申请的公布数据

W02009/093018 EN 2009.07.30

(71) 申请人 GW 药品有限公司

地址 英国韦特郡

(72) 发明人 G·盖伊 S·赖特 M·A·考索恩

S·奥萨利文

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 谭明胜 刘健

权利要求书 2 页 说明书 21 页 附图 15 页

(54) 发明名称

大麻素类的新用途

(57) 摘要

本发明涉及 CBD 单独或与另一大麻素组合在制备用于控制受试者胆固醇水平的药物或营养制剂中的用途。还涉及 THCV 单独或与另一大麻素组合在制备用于增加受试者能量消耗的药物或营养制剂中的用途。此外, CBD 单独或与另一大麻素组合或者 THCV 单独或与另一大麻素组合是用作处理或治疗 I 型或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍、相关代谢性障碍和心血管疾病的部分方法。

1. CBD 单独或与另一大麻素组合在制备用于控制受试者胆固醇水平的药物或营养制剂中的用途。

2. 权利要求 1 的用途,其中所述药物或营养制剂是用于降低血浆胆固醇总量。

3. 权利要求 1 的用途,其中所述药物或营养制剂是用于增加 HDL 胆固醇相对于总胆固醇的百分数。

4. 前述权利要求任一项的用途,其中所述其它大麻素是 THCv。

5. 前述权利要求任一项的用途,其中所述 CBD 是呈得自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物的形式。

6. 权利要求 5 的用途,其中所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物是植物药品。

7. 权利要求 5 或权利要求 6 的用途,其中所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物包括存在于植物中的天然存在的大麻素类的全部或部分。

8. 权利要求 7 的用途,其中存在于含大麻的植物提取物中的全部或显著量的任意 THC 已被除去。

9. 权利要求 1 的用途,其中所述 CBD 或任何其它大麻素是基本上纯净的或分离的形式。

10. 权利要求 1 的用途,其中所述 CBD 或任何其它大麻素是合成的形式。

11. 权利要求 2 的用途,其中所述 CBD 是以有效产生血浆胆固醇总量减少的剂量存在的。

12. 权利要求 11 的用途,其中所述 CBD 的有效剂量是 0.1mg/kg 至 5.0mg/kg。

13. 当从属于权利要求 4 时权利要求 12 的用途,其中所述 THCv 是以 0.3mg/kg 至 30.0mg/kg 的量存在的。

14. 前述权利要求任一项的用途,其中所述胆固醇水平是以处理或治疗 I 或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样硬化性血脂障碍)、相关代谢性障碍和心血管疾病的部分方法控制的。

15. 权利要求 4 的用途,其中所述 CBD 和 THCv 是呈预定的重量比。

16. 权利要求 1 的用途,其中所述药物或营养制剂是与一种或多种用于治疗下列疾病的其它药物组合使用的:糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样硬化性血脂障碍)、相关代谢性障碍或心血管疾病。

17. 权利要求 16 的用途,其中所述一种或其它药物是减少胰岛素耐受性或增加分泌或此二者组合的药物。

18. THCv 单独或与另一大麻素组合在制备用于增加受试者能量消耗的药物或营养制剂中的用途。

19. 权利要求 18 的用途,其中所述药物或营养制剂被包装成供长期使用。

20. 权利要求 19 的用途,其中所述长期是至少 10 天。

21. 权利要求 18 至 20 任一项的用途,其中所述其它大麻素是 CBD。

22. 权利要求 18 至 21 任一项的用途,其中所述 THCv 是呈得自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物的形式。

23. 权利要求 22 的用途,其中所述得自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物是植物药品。

24. 权利要求 22 或权利要求 23 的用途,其中所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物包含全部或部分植物中天然存在的大麻素类。

25. 权利要求 24 的用途,其中存在于含大麻的植物提取物中的全部或显著量的任意 THC 已被除去。

26. 权利要求 18 的用途,其中所述 THCV 或任何其它大麻素是基本上纯净的或分离的形式。

27. 权利要求 18 的用途,其中所述 THCV 或任何其它大麻素是合成的形式。

28. 权利要求 18 的用途,其中所述 THCV 是以有效产生受试者的能量消耗增加的剂量存在的。

29. 权利要求 18 的用途,其中所述 THCV 的有效剂量为 0.3mg/kg 至 30.0mg/kg。

30. 当从属于权利要求 21 时权利要求 29 的用途,其中所述 CBD 的剂量为 0.1mg/kg 至 5.0mg/kg。

31. 权利要求 18 至 30 任一项的用途,其中所述能量消耗增加形成处理或治疗 I 型或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样硬化性血脂障碍)、相关代谢性障碍和心血管疾病的部分方法。

32. 权利要求 31 的用途,其中所述药物或营养制剂调节瘦蛋白和 / 或脂肪连接蛋白的一种或多种的水平。

33. 权利要求 21 的用途,其中所述 CBD 和 THCV 是呈预定的重量比。

34. 权利要求 18 的用途,其中药物或营养制剂是与一种或多种用于治疗下列疾病的其它药物组合使用的:糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样硬化性血脂障碍)、相关代谢性障碍或心血管疾病。

35. 权利要求 34 的用途,其中所述 THCV 是用于治疗肥胖症并且所述其它药物是用于减少食物摄取或改变代谢。

36. 控制受试者胆固醇水平的方法,其包括给有需要的受试者施用有效量的单独或与另一大麻素组合的 CBD。

37. 增加受试者能量消耗的方法,其包括给有需要的受试者施用有效量的单独或与另一大麻素组合的 THCV。

大麻素类的新用途

技术领域

[0001] 本发明涉及 CBD 单独或与另一大麻素 (cannabinoid) 组合在制备用于控制受试者胆固醇水平的药物或营养制剂中的用途。还涉及 THCv 单独或与另一大麻素组合在制备用于增加受试者能量消耗的药物或营养制剂中的用途。此外, CBD 单独或与另一大麻素组合或者 THCv 单独或与另一大麻素组合可用作处理或治疗 I 型或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍、相关代谢性障碍和心血管疾病的部分方法。

背景技术

[0002] 代谢性障碍影响世界范围内数百万的受害者,并且造成对整个社会的健康的负面影响增加。

[0003] 糖尿病是一种血液糖(葡萄糖)代谢的疾病。血中葡萄糖水平正常由激素胰岛素来控制。摄糖餐后血糖水平增加刺激胰岛产生胰岛素。胰岛素结合肌肉、脂肪和肝细胞,并刺激它们活化摄取葡萄糖,这样减少了血液的水平。胰岛素还通过肝脏减少葡萄糖生成。

[0004] 糖尿病显著引起血液中高水平的糖。糖尿病是根据禁食血浆葡萄糖试验或口服葡萄糖耐量试验基于血糖水平鉴别的。高血糖本身可引起症状,并且经过更长的时间会造成对眼、肾、神经的损伤。这会导致一系列的严重并发症,例如失明、肾衰竭、心血管疾病、脚溃疡和坏疽,其会迫使人截肢。

[0005] 存在有两种主要类型的糖尿病:

[0006] • I 型:胰岛素依赖型(又称为幼发型)糖尿病;和

[0007] • II 型:非胰岛素依赖型(又称为成年型)糖尿病

[0008] 患 I 型糖尿病的个体具有一种自身免疫反应,它会破坏产生胰岛素的胰脏 β 细胞,从而身体中存在的胰岛素不足。这种形式的糖尿病通常是 40 岁以前发生,通过每天注射胰岛素并结合控制食物摄取来治疗。

[0009] I 型糖尿病的起因是自然界中的环境和遗传,尽管尚不十分清楚是什么环境因素。

[0010] 在 II 型糖尿病中,胰岛素由身体产生,但是细胞不能对胰岛素产生应答,并且不能从血液中摄取足够的葡萄糖。这种形式的糖尿病有时称为“胰岛素-耐受型”糖尿病。

[0011] II 型糖尿病通常可通过控制饮食来成功的治疗,但是在有些情况下药物或胰岛素亦是需要的。II 型糖尿病患者最初产生足够量的胰岛素,但是由于他们持续有高血糖水平,胰脏逐渐地不能应答并且胰岛素产生减少。当其发生时患者需要用高剂量注射胰岛素来治疗。

[0012] 在英国和其它发达国家,II 型糖尿病的发生率逐渐增加,并且这与这些国家肥胖症发生率逐渐增加有关。

[0013] 在英国目前 II 型糖尿病的发病率为约 1 百万,而 I 型糖尿病的发病率为约 400,000。

[0014] 世界范围内 II 型糖尿病的发病率到 2010 年估计达到 215 百万。

[0015] II 型糖尿病通常在 40 岁以后发生,但是在肥胖的青少年和年轻成人中有逐渐增

加的向更早发病的倾向。

[0016] 肥胖症定义为具有 30 或更大的体重指数 (BMI)。正常 BMI 认为在 18 至 24.9 的范围内。

[0017] 据估计,在英国有一半的妇女和三分之二的男人具有大于 25 的 BMI,这使得他们超重或肥胖。

[0018] 已知超重或肥胖会增加其它疾病包括 II 型糖尿病、心脏病、高血压和骨关节炎的风险。

[0019] 有许多与糖尿病和肥胖症有关的代谢性障碍,并且它们通常称为“代谢综合征”。代谢综合征亦称为胰岛素耐受综合征或 X 综合征,并且这些术语指通常一起发生于患者中的一群障碍。

[0020] 发生的这些障碍包括如下:高或升高的血压;腹部肥胖症,其中脂肪有存于腹部周围的倾向;胰岛素耐受糖尿病或葡萄糖不耐受、心血管疾病;动脉粥样化性血脂障碍,其中高甘油三酯、低 HDL 胆固醇和高 LDL 胆固醇导致动脉壁中斑块形成;促炎症反应状态,例如血中 C-反应性蛋白升高;以及血栓前 (pro-thrombic) 状态,其中在血中有高纤维蛋白素原或纤溶酶原活化因子抑制剂。

[0021] 已知患有代谢综合征的人冠心病和其它与动脉壁中斑块形成相关的疾病的风险增加。此类疾病包括中风和外周血管性疾病。患有代谢综合征的人还有高的罹患 II 型糖尿病的风险。

[0022] 代谢综合征的发生率总的来说逐渐增加,并且目前估计超过 50 百万美国患有代谢综合征。

[0023] 代谢综合征的潜在风险因子似乎是腹部肥胖症和胰岛素耐受或 II 型糖尿病,其中身体不能有效使用胰岛素。

[0024] 其它一般性的风险因子包括身体不活动、衰老、激素失衡和遗传倾向。获得性因子例如过量体脂肪可引起代谢性障碍例如胰岛素耐受。

[0025] 代谢综合征通常诊断为其中存在下列标准中的三种或更多种的个体:腰围增加(男性等于或大于 102cm,女性等于或大于 88cm);甘油三酯升高(等于或大于 150mg/dL);HDL “优良”胆固醇减少(男性低于 40mg/dL,女性低于 50mg/dL);血压升高(等于或大于 135/85mm Hg);禁食葡萄糖升高(等于或大于 100mg/dL)。

[0026] 临床治疗代谢综合征的主要目标是降低心血管疾病和 II 型糖尿病的风险。这些疾病的风险通过降低 LDL 胆固醇、降低血压和降低血糖水平而大大减小。此外,HDL 胆固醇水平增加会减小代谢综合征的风险。

[0027] 目前,没有能够减少或治疗代谢综合征的有用治疗法。因为大多数疾病的临床治疗是通过生活方式的治疗处置。

[0028] 大麻作为医药的应用早已知晓,并且在 19 世纪大麻制品被推荐作为催眠镇静剂,其可用于治疗癔症、精神错乱、癫痫症、神经性失眠症、偏头痛、疼痛和痛经。

[0029] 大麻素类是一组已知在细胞中激活大麻素受体的化学物质。这些在大麻植物中发现的化学物质还在人类和其它动物中内源性生成,并且称为内源性大麻素类。合成大麻素类是与植物大麻素类或内源性大麻素类具有相同结构的人工制备的化学物质。

[0030] 申请人在其共同未决申请 W02006/054057 中已发现,大麻素四氢次大麻酚

(Tetrahydrocannabivarin, THCV) 对 CB₁ 和 CB₂ 大麻素受体充当中性拮抗剂作用。这暗示此大麻素在治疗已知与 CB₁ 受体的激动作用有关的疾病中的用途。这些疾病和病症包括如下：肥胖症；精神分裂症；癫痫症或认知障碍例如阿耳茨海默病；骨障碍；食欲过盛；与 II 型糖尿病（非胰岛素依赖性糖尿病）有关的肥胖症；以及在药物、酒精或尼古丁滥用或依赖性的治疗中。

[0031] 最近，申请人在其共同未决申请 GB2438682 中公开了大麻素大麻二酚 (cannabidiol, CBD) 大麻素受体拮抗剂的性质。该大麻素 CBD 充当 CB₁ 和 CB₂ 大麻素受体的反相激动剂的作用。

[0032] 另外，申请 WO 05/077348 中描述了大麻二酚在预防或治疗糖尿病和 / 或胰岛炎中的用途。

[0033] 申请人通过直接试验已经发现，某些大麻素类能够增加能量消耗；降低总胆固醇水平以及增加 HDL 胆固醇水平。此外，这些来自各种糖尿病模型的数据显示出对血浆胰岛素、瘦蛋白 (leptin) 和脂肪连接蛋白水平的期望的效果。这些激素是糖尿病的发展和治理特别相关的，特别是在肥胖个体中。因此这些大麻素类在治疗糖尿病、肥胖症和相关代谢性障碍的应用中可能是非常有用的。

[0034] 大麻素 THCV 是一种经典的植物大麻素，其结构上与 THC 相关性在于不是 THC 的 3- 戊基侧链，该 THCV 分子具有 3- 丙基侧链。大麻素 CBD 是再另一种经典的植物大麻素，已知其是非神经活性的。以前 CBD 已显示在治疗炎症、恶心和焦虑中是有用的。

[0035] 申请人早先提出了两种大麻素类 THCV 和 CBD 的配方，如在申请人的共同未决申请 GB0713175.8 (未公开) 中描述的。据信 THCV 和 CBD 的组合将提供更好的治疗选项，原因是两种大麻素类在具有对大麻素受体的作用方面不同。在此申请中，公开了以下的比例混合物：(i) 一种或多种用作 CB₁ 和 / 或 CB₂ 受体的反相激动剂的化合物；和 (ii) 一种或多种用作 CB₁ 和 / 或 CB₂ 受体的中性拮抗剂的化合物。

[0036] 据认为 THCV 直接对大麻素受体起作用，并且结合引起中性拮抗剂作用。这意味着，该受体本身阻断与激动剂例如内源性大麻素的结合；当然，该受体的背景张力效应增强子 (tone) 仍然未受到影响。当提供 THCV 作为单独的药物治疗时，该未受影响的背景张力效应增强子意味着拮抗剂可用于治疗的一些疾病和病症可能不能完全缓解，因为该背景张力效应增强子可能仍然会引起对身体的影响。

[0037] 相反，据认为 CBD 作为反相激动剂，其表示该受体的背景张力效应增强子是关闭的。然而，据认为 CBD 在与大麻素受体本身分离的位置结合，并由此使激动剂与受体结合。

[0038] 在另一份申请人的共同未决申请 GB0800390.7 (未公开) 中，申请人描述了一种或多种大麻素类与抗精神病药物组合的应用。许多抗精神病药物的用户经历的副作用包括糖尿病和其它相关代谢性障碍。与大麻素类如何能够预防或治疗这些副作用的一部分相关的数据使得申请人相信，一种或多种大麻素类可用于与抗精神病药物组合以缓解代谢相关的副作用。

[0039] 用于治疗肥胖症的药物可分为三类：减少食物摄取的那些；改变代谢的那些；和增加产热作用的那些。作用于去甲肾上腺素能受体、血清素受体、多巴胺受体和组胺受体的单胺类可减少食物摄取。许多肽类亦影响食物摄取。去甲肾上腺素能药物芬特明、安非拉酮、马吲哚、苄非他明和苯甲曲秦仅被批准用于短期使用。西布曲明（一种去甲肾上腺

素-血清素重吸收抑制剂)被批准用于长期使用。奥利司他抑制胰脂肪酶并且可阻断食入30%脂肪饮食的受试者中30%的三酰基甘油水解。已经测试的仅有产热性药物组合是麻黄碱和咖啡因,但是这种治疗法未被管理机构批准。在临床试验中,可调节肽摄取系统的其它药物正在开发。药物利莫那班通过降低食欲产生其主要作用。

[0040] 发明概述

[0041] 根据本发明第一方面,提供了 CBD 单独或与另一大麻素组合在制备用于控制受试者胆固醇水平的药物或营养制剂中的用途。

[0042] 优选地,所述药物或营养制剂是用于降低血浆胆固醇总量。

[0043] 优选地,所述药物或营养制剂是用于增加 HDL 胆固醇相对于总胆固醇的百分数。

[0044] 更优选地,所述其它大麻素是 THCv。

[0045] 提及 THCv 和 CBD、THCv- 和 CBD- 类化合物或其衍生物,特别是关于治疗用途时,应理解还包括此类化合物的药学可接受的盐。术语“药学可接受的盐”是指从药学可接受的非毒性碱或酸(包括无机碱或酸以及有机碱或酸)制备的盐或酯,这是本领域技术人员充分理解的。许多适宜的无机或有机碱式盐是本领域已知的。

[0046] 本发明范围还延及保持期望活性的 THCv 或 CBD 的衍生物。保持与起始物质基本上相同的活性或者更优选地显示出改善的活性的衍生物可以根据医药化学标准原理来制备,它们是本领域公知的。此类衍生物可显示出比起始物质更低程度的活性,只为它们保持有治疗有效的足够活性。衍生物可以在其它药物活性剂期望的性质方面显示出改善,例如,溶解度改善、毒性降低、吸收增加。

[0047] 优选地,所述 CBD 是呈得自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物的形式。

[0048] 在一个实施方案中,所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物是通过用超临界或亚临界 CO₂ 萃取制备的。

[0049] 或者,所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物是通过如下制备的:使植物材料与热气体在一定温度下接触,该温度大于 100℃ 足以使该植物材料中的一种或多种大麻素类挥发以形成蒸气,再使该蒸气浓缩以形成提取物。

[0050] 优选地,所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物是植物药品。

[0051] 更优选地,所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物包括存在于植物中的天然存在的大麻素类的全部或部分。

[0052] 更优选地,存在于含大麻的植物提取物中的全部或显著量的任意 THC 已被除去。

[0053] 或者所述 CBD 或任意其它大麻素是基本上纯净的或分离的形式。

[0054] 或者所述 CBD 或任意其它大麻素是呈合成的形式。

[0055] 优选地,所述 CBD 是以有效产生血浆胆固醇总量减少的剂量存在的。

[0056] 优选地,所述 CBD 的有效剂量是 0.1mg/kg 至 5.0mg/kg。

[0057] 更优选地,当 THCv 存在时,其存在量为 0.3mg/kg 至 30.0mg/kg。

[0058] 优选地,所述胆固醇水平是以处理或治疗 I 或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样硬化性血脂障碍)、相关代谢性障碍和心血管疾病的部分方法控制的。

[0059] 优选地,所述 CBD 和 THCv 是呈预定的重量比。

[0060] 优选地,所述药物或营养制剂是与一种或多种用于治疗下列疾病的其它药物组合使用的:糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样硬化性血脂障碍)、相关代谢性障碍或心血

管疾病。

[0061] 更优选地,所述一种或其它药物是减少胰岛素耐受性或增加分泌或此二者组合的药物。

[0062] 根据本发明第二方面,提供了 THCV 单独或与另一大麻素组合在制备用于增加受试者能量消耗的药物或营养制剂中的用途。

[0063] 优选地,所述药物或营养制剂被包装成供长期使用。

[0064] 更优选地,所述长期是至少 10 天。

[0065] 优选地,所述其它大麻素是 CBD。

[0066] 优选地,所述 THCV 是呈得自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物的形式。

[0067] 更优选地,所述得自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物是植物药品。

[0068] 更优选地,所述来自至少一种大麻植物的含大麻素的植物提取物包含全部或部分植物中天然存在的大麻素类。

[0069] 再更优选地,存在于含大麻的植物提取物中的全部或显著量的任意 THC 已被除去。

[0070] 或者,所述 THCV 或任意其它大麻素是基本上纯净的或分离的形式。

[0071] 大麻素的“基本上纯净的”的制品定义为具有色谱纯度(期望的大麻素的)大于 90%,更优选大于 95%,更优选大于 96%,更优选大于 97%,更优选大于 98%,更优选大于 99%和最优选大于 99.5%的制品,其由 HPLC 图的面积归一化确定。

[0072] 优选地,用于本发明的所述基本上纯净的大麻素基本上无任何其它天然存在的或合成的大麻素类,包括天然存在于大麻植物中的大麻素类。在此上下文中,“基本上无”表示除了目标大麻素没有大麻素类可通过 HPLC 检测到。

[0073] 特别是在 THCV 的情况下,已知大麻素 THCV 是在大麻植物中与 THC 一起产生。THC 的精神活性副作用是不希望的,特别是当该 THCV 用于药物制剂中时,并且当此植物提取物用于本发明制剂时可选择处理以除去其它大麻素类例如 THC。

[0074] 或者,所述 THCV 或任意其它大麻素是合成的形式。

[0075] 优选地,所述 THCV 是以有效产生受试者的能量消耗增加的剂量存在的。

[0076] 优选地,所述 THCV 的有效剂量为 0.3mg/kg 至 30.0mg/kg。

[0077] 优选地,当存在 CBD 时,所述 CBD 的剂量为 0.1mg/kg 至 5.0mg/kg。

[0078] 优选地,所述能量消耗增加形成处理或治疗 I 型或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样化性血脂障碍)、相关代谢性障碍和心血管疾病的部分方法。

[0079] 更优选地,所述药物或营养制剂调节瘦蛋白和/或脂肪连接蛋白的一种或多种的水平。

[0080] 优选地,所述 CBD 和 THCV 是呈预定的重量比。

[0081] 优选地,所述药物或营养制剂是与一种或多种用于治疗下列疾病的其它药物组合使用的:糖尿病、肥胖症、血脂障碍(包括动脉粥样化性血脂障碍)、相关代谢性障碍或心血管疾病。

[0082] 更优选地,所述 THCV 是用于治疗肥胖症并且所述其它药物是用于减少食物摄取或改变代谢。

[0083] 本发明第三方面,提供了控制受试者胆固醇水平的方法,其包括给有需要的受试

者施用有效量的单独或与另一大麻素组合的 CBD。

[0084] 本发明第四方面,提供了增加受试者能量消耗的方法,其包括给有需要的受试者施用有效量的单独或与另一大麻素组合的 THCv。

[0085] 本文公开的是描述大麻素类 THCv 和 / 或 CBD 单独或者与各种糖尿病模型组合的应用的数据。这些数据显示了体脂肪百分数减少、能量消耗增加、总胆固醇水平减少以及 HDL(“优良”)胆固醇水平增加。此外,这些数据显示对血浆胰岛素、瘦蛋白和脂肪连接蛋白水平的期望的作用。

[0086] 此外,本文首次公开了 CBD 用作 PPAR γ 配体。因此,这种作用机制支持了 CBD 单独用于预防或治疗糖尿病、肥胖症和相关代谢性障碍的数据。

[0087] 仅通过实施例的方式进一步描述了本发明的某些方面,参见附图,其中:

[0088] 图 1(a 至 e) 显示了供试品与对照相比的 24 小时能量消耗;

[0089] 图 2(a 至 e) 显示了对食物的产热应答 -3 小时能量消耗;

[0090] 图 3 显示了对食物的产热应答;

[0091] 图 4 显示了血浆胆固醇水平;

[0092] 图 5 显示了 HDL 胆固醇水平;

[0093] 图 6 显示了 HDL 胆固醇水平百分数;和

[0094] 图 7 显示了肝脏甘油三酯浓度。

[0095] 具体说明

[0096] 以下实施例 1 和 2 描述了大麻素类 THCv 和 CBD 在一系列试验模型中的用途。实施例 3 描述了使用大麻素类 THCv 和 CBD 的组合以及不同动物模型进行类似试验得到的数据。实施例 4 公开了 CBD 作为 PPAR γ 配体的作用机制。

[0097] 下面是用于引起药物对包括 I 型或 II 型糖尿病、肥胖症、血脂障碍、相关代谢性障碍和心血管疾病的疾病作用的试验组 (battery)。

[0098] a) 体重:在研究期间所有小鼠的体重每周测定两次。

[0099] b) 食物摄取:食物摄取是考虑笼子底部食物浪费通过重量差别测定的。

[0100] c) 耗水量的测定:在治疗期间,通过水瓶的重量差别,对每只动物每天计算水摄取量。

[0101] d) 口服葡萄糖耐量试验 (OGTT):使葡萄糖溶解于水中 (3g/10ml),再以 3g/kg 的速率口服给予小鼠。在施用葡萄糖之后的 -30、0、30、60、90、120 和 180 分钟取血样 (20 μ l) 用于葡萄糖浓度的分析。还在 -30 分钟时取血样用于胰岛素分析。

[0102] e) 血糖分析:对于各单个样品取双份 20 μ l 血样并置于 96-孔分析板中。向每孔中加入 180 μ l 份的葡萄糖氧化酶试剂。将样品混合,然后放置约 30 分钟。然后使用 SpectraMax-250 和 SoftMax Pro 软件对样品进行自动分析。

[0103] f) 血浆制备:收集血液以用于测定:i) 血浆胰岛素、ii) 胆固醇、iii) 游离脂肪酸或 iv) 甘油三酯浓度。

[0104] i. 血浆胰岛素分析:使用 96-孔微量分析板,与小鼠胰岛素标准相比较用 5 μ l 的血浆测定血浆胰岛素。

[0105] ii. 血浆胆固醇分析:向各样品中加入 200 μ l 无限胆固醇液体稳定试剂。将样品混合,孵育 5 分钟,然后在 500 和 660nm 的双波长处读数。

[0106] iii. 血浆游离脂肪酸 : 在 96- 孔分析板中测定 5 μ l 血浆样品, 向其中加入 0.2ml 的试剂 NEFA C。

[0107] iv. 血浆甘油三酯 s 分析 : 向各孔中分入 200 μ l 份的甘油三酯试剂。将样品混合, 然后放置约 45 分钟, 然后测定。

[0108] g) 体脂肪的测定 : 利用双能 X 线吸收法 (DEXA) 测定全身体脂肪, 该方法在两个 X 线能处测定身体组织吸收的差异。与标准校正比较通过它们的密度分辨组织类型。使用专用软件以对骨和脂肪定量。使小鼠轻轻麻醉, 在此非侵袭性技术期间足够使它们保持安静。

[0109] h) 能量消耗测定 :

[0110] 能量消耗是用小鼠在它们的住笼中通过开路间接测热法测定的。对于 24h 能量消耗研究, 小鼠给予其分配的治疗物, 然后开始测定。对于食物的产热效应的测定, 小鼠口服给予 complan (Complan Foods Ltd., 能量为 18% 蛋白质、53% 碳水化合物、29% 脂肪) 10g $\text{kg}^{-1} = 185\text{kJ kg}^{-1}$,

[0111] i) 血浆瘦蛋白 : 瘦蛋白在调节能量摄取和能量消耗中发挥关键作用, 包括降低食欲和增加代谢。血浆瘦蛋白是在饲食小鼠中使用 CrystalChem Elisa 分析法测定的,

[0112] j) 血浆脂肪连接蛋白 : 脂肪连接蛋白通过脑部分发挥一些它的体重减轻的作用。这类似于瘦蛋白的作用, 但是两种激素实现互补作用, 并且可具有累加效应。血浆脂肪连接蛋白是在过夜禁食小鼠中使用 96- 孔 B-Bridge Elisa 分析法测定的。

[0113] k) 血浆 HDL- 胆固醇 : 血浆 HDL- 胆固醇是在禁食小鼠中使用来自 Trinity Biotech 的试剂盒测定的。

[0114] l) 24h 血糖特征 : 测定它是为了保证检测血糖白天控制的变化。由此在整个连续 24h 期间在三个每小时的间隔获得血样。

[0115] m) 血浆血红蛋白 A_{1c} : 使用 A_{1c} 分析样品 (10 μ l)。其使用微光学检测方法, 该方法在自含式单一应用监测器中结合有微电子学、光学和干燥试剂化学法 : HbA_{1c} 与结合于蓝色微粒的抗 HbA_{1c} 抗体结合, 并通过 618nm 处的蓝色反射测定浓度。对于总血红蛋白, 铁氰化物使血红蛋白转化成高铁血红蛋白, 并从 565nm 的橙 - 棕色反射测定浓度。

[0116] n) 胰脏胰岛素 : 将冷冻的胰脏称重, 并在液氮中在小容量 pecel 中捣碎。然后在 4°C 下将该匀浆物提取过夜, 再在 2000g 下离心 5min。

[0117] o) 胰岛组织学 : 使用 Leica RM2125 旋转切片机切取 4 μ M 切片, 转移到荷正电的载玻片中, 再在 42°C 下干燥过夜。使用苏木精 - 伊红染料评价形态学。

[0118] p) 肝糖原 : 离心 (3000xg 达 15min) 之后, 使用葡萄糖氧化酶方法分析等份上清液 (10 μ l)。结果表示为葡萄糖基单位 /g 肝脏。

[0119] q) 肝脏甘油三酯 : 在 4°C 下, 使 15-30mg 肝脏样品在 500 μ l 甲醇中使用 Ribolyser 细胞破碎器匀浆。加入 1ml 氯仿, 使试管涡旋, 再在 4°C 下放置 2h, 每 30min 涡旋。加入 200 μ l 的 0.9% 氯化钠, 在彻底涡旋后, 使该混合物以 300xg 离心 5min。取 500 μ l 份的氯仿相, 通过蒸发除去氯仿。使残余物溶解于 200 μ l 乙醇中, 再测定甘油三酯含量。

[0120] 对照动物和治疗动物之间任何差异的统计学显著性是使用 ANOVA 检验确定的。与单独给予溶媒组所得数据比较的统计学显著性表示为 : *p < 0.05、**p < 0.01 或 ***p < 0.001。

[0121] 这些试验的关键结果在以下实施例 1 至 3 中加以突出。

[0122] 实施例 1:糖尿病、肥胖症和相关代谢性障碍中四氢次大麻酚的作用

[0123] CB₁ 受体拮抗剂被检测为潜在的抗肥胖剂,并且化合物利莫那班在许多欧洲国家上市。

[0124] 利莫那班在人和啮齿动物模型中显示出抗肥胖症作用。在啮齿动物模型中,利莫那班在开始的几天减少食物摄取,但是长期的抗肥胖症作用似乎大大与食物摄取减少无关。看来长期抗肥胖症作用更加与能量消耗增加有关,其可能通过增加从脂肪组织中释放脂肪连接蛋白来介导。

[0125] 四氢次大麻酚 (THCV) 是一种具有 3- 丙基而非 3- 戊基侧链的 Δ^9 - 四氢大麻酚的类似物,四氢次大麻酚是对 CB₁ 受体具有显著活性的天然产物。设计本文描述的实施例,以在饮食诱导的肥胖 (DIO) 小鼠模型中检测以植物的 (亦称为基于大麻的植物提取物,其还含有 THC) 以及以纯物质的 THCV 的潜能。

[0126] 以高脂肪饮食喂养约 12 周的 C57B1/6 小鼠是一种标准模型,用于评价有可能影响代谢性疾病包括肥胖症、II 型糖尿病和血脂障碍的药物。因此将测定潜在的抗肥胖效果和对糖尿病和血脂障碍参数的效果。

[0127] 方法:

[0128] 动物给予 SDS 饮食 829100,其特别地含有 0.2%胆固醇,以及 12 小时光循环 (在 07:00 灯亮)。

[0129] 选择 70 只小鼠,它们对该饮食显示出良好的体重增加,并将它们置于笼子中,每笼 4 只小鼠。

[0130] 在几天休息并适应新环境和住笼以后,按如下进行急性食物摄取研究:

[0131] A 对照

[0132] B 1mg. kg⁻¹ p. o. THCV (植物的)

[0133] C 3mg. kg⁻¹ p. o. THCV (植物的)

[0134] D 10mg. kg⁻¹ p. o. THCV (植物的)

[0135] E 30mg. kg⁻¹ p. o. THCV (植物的)

[0136] 将小鼠分成三组,每个研究组 4 只小鼠。

[0137] 在临熄灯前 (19:00) 给药化合物 (19:00),并在 2h、4h 和 24h 测定食物摄取。

[0138] 然后按如下进行慢性给药研究:

[0139] A 对照

[0140] B 利莫那班 (10mg. kg⁻¹ p. o.)

[0141] C AM 251 (10mg. kg⁻¹ p. o.)

[0142] D 植物的 THCV (0.3mg. kg⁻¹ p. o.)

[0143] E 植物的 THCV (3mg. kg⁻¹ p. o.)

[0144] F 植物的 THCV (30mg. kg⁻¹ p. o.)

[0145] G 纯 THCV (0.3mg. kg⁻¹ p. o.)

[0146] 一旦急性研究完毕,将小鼠分组成 5 只小鼠的两组,用于慢性给药研究。通过口服强饲法每天于 09:00-10:00 给药。

[0147] 在整个研究中进行如下测定:

[0148] 每天: 摄取食物和水

- [0149] 每周两次： 体重
- [0150] 第 3、4 和 5 天： 24 小时能量消耗, 给药后立即开始
- [0151] 第 7 或 8 天： 口服葡萄糖耐量 (葡萄糖负荷 $\text{Sg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 在 5h- 禁
- [0152] 食小鼠中于 -30、0、30、60、90、120 测定葡萄
- [0153] 糖, 并于 -30 测定胰岛素
- [0154] 第 10、11 和 12 天 24 小时能量消耗, 给药后立即开始。
- [0155] 第 15、16 和 17 天 对混合饮食的产热应答, 小鼠禁食 2h, 然后给药
- [0156] 小鼠在 60min 之后给予 $10\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ **Complan**[®] 饮食 (口
- [0157] 服), 给予 Complan 饮食 4h 之后测定能量消耗
- [0158] 第 21 天： 5h- 禁食小鼠的口服葡萄糖耐量 (重复第 7 天研究
- [0159] 第 28 天： 麻醉小鼠通过 DEXA 扫描 (DEXAScan) 的身体组成,
- [0160] 测定鼻 - 肛门长度, 来自饲食小鼠的血样用于葡
- [0161] 萄糖、乳酸盐、胰岛素、甘油三酯、总胆固醇、
- [0162] HDL- 胆固醇、瘦蛋白
- [0163] 第 29 天： 禁食过夜
- [0164] 第 30 天： 用于葡萄糖、游离脂肪酸、胰岛素和脂肪连接蛋
- [0165] 白的血样小鼠给药, 给药后 2-3h 取血样用于药
- [0166] 物水平
- [0167] 第 30 天： 结束
- [0168] 关键结果：
- [0169] 对 24h 能量消耗的影响 (第 10-12 天)
- [0170] 在给药后最初 12h, 与对照相比, 利莫那班显示出在能量消耗方面的少量增加。在整个 24 小时期间高剂量 $30\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 THCV-BDS 增加能量消耗, 但是 0.3 和 $3.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的较低剂量效果较小。纯 THCV (0.3mgkg^{-1}) 具有相似水平的对利莫那班的作用。表 1 与图 1a) 至 e) 一起描述了这些结果。
- [0171] 表 1 : 在第 10-12 天的能量消耗
- [0172]

天	对照			利莫那班 (10 mg.kg-1 p.o.)			AM 251 (10 mg.kg-1 p.o.)			植物的 THCV (0.3 mg.kg-1 p.o.)		
0.30	0.29	0.85	0.73	0.43	1.01	0.86	0.46	1.15	0.91	0.58	1.06	0.96
0.60	1.13	1.96	1.96	1.50	2.16	2.05	1.68	2.61	2.56	1.66	2.30	2.10
0.90	1.98	2.53	2.49	2.34	2.69	2.86	2.77	3.22	3.55	2.57	2.86	2.82
1.21	2.21	2.81	2.66	2.55	3.15	3.18	3.29	3.88	3.91	2.98	3.33	3.30
1.51	2.50	2.91	2.85	2.90	3.26	3.38	3.67	4.02	4.18	3.26	3.53	3.80
1.81	2.47	3.29	3.01	3.06	3.48	3.45	3.81	4.34	4.27	3.50	3.73	3.67
2.11	2.42	3.23	3.03	2.87	3.53	3.60	3.85	4.27	4.44	3.91	3.53	3.67
2.41	2.41	3.24	3.19	2.98	3.43	3.65	3.94	4.06	4.44	4.25	3.38	3.67
2.71	2.46	3.06	3.05	3.09	3.41	3.44	4.06	4.01	4.48	4.13	3.19	3.70
3.01	2.25	3.07	2.72	3.24	3.33	3.41	3.96	4.47	4.45	3.86	3.06	3.68
3.31	2.42	3.16	2.79	3.34	3.35	3.34	3.98	4.15	4.56	3.70	2.86	3.44
3.62	2.66	2.96	2.66	3.33	3.31	3.18	3.91	4.32	4.14	3.63	2.78	3.14
3.92	2.57	2.99	3.10	3.08	3.33	3.48	4.35	4.36	4.08	3.49	2.80	3.10
4.22	2.67	3.34	3.25	3.02	3.37	3.70	4.05	4.42	4.28	3.48	2.84	3.60
4.52	2.36	3.39	3.47	2.85	3.41	3.75	3.74	4.25	4.40	3.72	2.72	3.38
4.82	2.21	3.58	3.19	2.88	3.45	3.59	3.65	4.30	3.98	3.82	2.76	3.19
5.12	2.24	3.57	2.88	2.97	3.76	3.58	3.69	4.52	4.22	3.77	3.05	3.17
5.42	2.52	3.39	2.91	3.03	3.75	3.61	3.60	4.73	4.27	3.93	3.05	3.07
5.72	2.65	3.40	3.02	3.32	3.63	3.50	3.83	4.96	4.35	3.94	3.38	3.18
6.03	2.64	3.28	2.83	3.62	3.74	3.69	4.03	4.79	4.38	3.94	3.57	3.79
6.33	2.74	3.43	2.81	3.76	3.90	3.61	4.12	5.25	4.59	4.56	4.05	4.09
6.63	3.00	3.58	3.12	4.03	3.86	3.82	4.56	5.68	4.78	5.13	4.19	4.32
6.93	3.19	3.80	3.25	4.04	4.09	3.79	5.04	5.65	4.82	5.03	3.93	4.37
7.23	3.20	3.91	3.37	4.05	4.06	3.92	5.21	5.39	4.70	5.11	4.15	4.43
7.53	3.10	3.69	3.07	3.95	4.21	3.78	5.22	5.41	4.78	5.33	4.14	4.68
7.83	3.29	3.96	3.38	3.97	4.19	3.77	5.06	5.22	4.94	5.15	3.96	4.50
8.13	3.31	3.95	3.51	4.00	4.15	3.95	5.16	5.06	4.98	5.41	3.92	4.37
8.44	3.29	3.90	3.10	4.13	4.10	3.80	5.06	4.75	4.99	5.30	3.87	3.92
8.74	3.08	3.86	3.27	4.18	3.90	3.81	4.90	4.69	5.23	4.97	3.83	3.91
9.04	3.01	3.52	3.30	4.18	3.88	3.75	5.02	4.79	4.82	5.06	3.81	4.10
9.34	2.83	3.52	2.94	4.19	3.88	3.47	5.18	4.85	4.77	5.04	3.49	3.90
9.64	2.73	3.41	2.87	4.06	3.86	3.40	5.14	4.83	4.56	5.07	3.22	3.99

[0173]

9.94	2.91	3.17	2.85	3.98	3.64	3.38	5.14	5.26	4.60	4.92	3.26	3.67
10.24	2.83	3.44	2.89	3.50	3.63	3.43	4.93	5.56	4.70	4.53	3.25	3.85
10.54	2.84	3.45	3.08	3.48	3.64	3.36	4.66	5.03	4.50	4.14	3.10	3.88
10.85	2.64	3.06	3.26	3.31	3.77	3.33	4.42	4.95	4.31	3.94	3.19	3.42
11.15	2.48	2.87	3.10	3.23	3.71	3.31	4.42	4.66	4.09	3.86	3.04	3.77
11.45	2.24	2.69	2.96	3.40	3.53	3.38	4.74	4.50	4.11	3.86	2.83	4.09
11.75	2.22	3.02	2.61	3.44	3.54	3.28	4.76	4.64	4.02	3.88	3.16	4.09
12.05	2.51	3.05	2.55	3.57	3.83	3.49	4.75	4.69	4.20	3.87	3.49	3.99
12.35	2.56	3.27	2.65	3.56	3.65	3.58	5.12	4.53	4.25	4.25	3.39	4.00
12.65	2.24	3.81	2.87	3.49	3.85	3.36	5.07	4.50	4.08	4.52	3.22	4.01
12.96	2.20	3.57	3.25	3.39	3.60	3.28	4.95	4.27	4.11	4.31	3.06	3.87
13.26	1.97	3.69	3.39	3.08	3.40	3.11	4.48	4.01	4.08	3.91	2.94	3.85
13.56	2.24	3.50	3.21	2.96	3.64	3.28	4.40	3.97	4.09	3.91	2.83	4.03
13.86	2.27	3.33	3.22	2.77	3.52	3.38	4.53	3.93	4.02	4.05	2.67	4.18
14.16	2.07	3.16	3.04	2.74	3.74	3.41	4.42	3.75	3.99	3.85	2.65	3.73
14.46	2.13	3.16	2.85	2.80	3.83	3.22	4.48	3.91	4.15	3.91	2.67	3.65
14.76	2.01	3.20	3.09	2.85	3.56	3.38	4.38	4.21	4.39	3.97	2.96	3.64
15.06	2.06	3.39	2.95	2.89	3.38	3.16	4.41	4.19	4.09	4.00	3.00	3.43
15.37	2.33	3.33	2.98	2.85	3.20	3.04	4.37	4.38	4.38	4.12	2.85	3.44
15.67	2.43	3.35	2.71	2.79	3.05	2.99	4.15	4.19	4.35	4.06	2.85	3.53
15.97	2.20	3.28	2.72	2.92	3.33	2.92	3.97	4.34	5.14	4.03	2.87	3.38
16.27	2.11	3.45	2.74	3.27	3.49	3.11	3.99	4.10	5.17	4.21	2.95	3.38
16.57	2.28	3.32	2.71	3.77	3.80	3.14	4.32	4.08	4.57	4.53	2.93	3.67
16.87	2.68	3.24	2.70	3.98	3.76	3.23	4.58	3.82	4.59	4.65	3.05	3.67
17.17	2.88	3.27	3.00	3.56	3.84	3.33	4.74	3.92	4.39	4.66	3.29	3.64
17.47	2.86	3.18	3.54	3.87	3.54	3.35	4.88	3.95	4.35	4.35	3.20	3.62
17.78	2.70	3.35	3.56	3.54	3.38	3.16	4.89	4.42	4.28	4.32	3.16	3.57
18.08	2.42	3.50	3.32	3.30	3.20	3.21	4.86	4.63	4.62	4.13	3.15	3.64
18.38	2.12	3.33	3.35	3.44	3.32	3.08	4.79	4.51	4.67	4.06	3.30	3.83
18.68	2.00	3.32	3.39	3.39	3.31	3.42	4.66	4.52	4.72	3.77	3.42	4.27
18.98	1.99	3.53	3.20	3.30	3.52	3.25	4.49	4.62	4.83	3.92	3.30	4.32
19.28	2.20	3.49	3.57	3.52	3.69	3.05	4.55	4.38	4.63	4.14	3.30	3.97
19.58	2.67	3.65	3.17	3.75	3.85	2.88	4.61	4.16	4.63	4.21	3.16	3.81
19.88	2.92	3.53	2.97	3.43	3.89	2.68	4.62	4.21	4.57	4.21	3.03	3.61
20.19	2.77	3.22	2.62	3.27	3.79	2.82	4.57	4.20	4.53	4.07	2.85	3.74
20.49	2.20	3.04	2.71	2.78	3.44	2.91	4.33	4.66	4.67	3.64	2.85	3.82
20.79	2.15	2.84	2.70	2.78	3.36	2.74	4.02	4.69	4.58	3.44	3.14	3.47
21.09	2.02	2.64	2.71	2.69	3.48	2.92	4.05	5.03	4.45	3.18	3.10	3.34
21.39	1.83	2.77	2.38	2.65	3.45	2.90	3.74	4.96	4.42	3.12	3.07	3.35
21.69	1.88	3.15	2.39	2.86	3.49	2.92	3.84	4.82	4.21	3.49	3.28	3.20
21.99	1.90	3.13	2.37	3.05	3.17	2.89	3.73	4.45	4.40	3.68	3.10	3.06
22.29	2.06	3.16	2.44	3.22	3.19	2.96	3.75	4.38	4.27	3.52	2.98	2.92
22.60	2.16	3.15	2.75	3.15	3.02	2.95	3.88	4.36	4.25	3.31	2.96	3.07
22.90	2.30	3.15	3.23	2.96	3.34	2.98	3.53	4.59	4.25	3.10	2.96	3.23
23.20	2.18	3.70	3.28	2.84	3.17	3.06	3.42	4.82	4.07	3.29	2.96	2.97
23.50	1.99	3.08	3.12	2.65	3.10	3.00	3.34	4.62	3.64	3.12	2.89	2.80

[0174] 表 1 : 在第 10-12 天的能量消耗 - 续

[0175]

天	植物的 THCv (3 mg.kg-1 p.o.)			植物的 THCv (3 mg.kg-1 p.o.)			纯 THCv (0.3 mg.kg- 1 p.o.)		
0.30	0.61	1.34	0.89	0.61	1.34	0.89	0.61	1.34	0.89
0.60	1.65	2.60	2.44	1.65	2.60	2.44	1.65	2.60	2.44

[0176]

0.90	2.50	3.12	3.24	2.50	3.12	3.24	2.50	3.12	3.24
1.21	2.83	3.56	3.91	2.83	3.56	3.91	2.83	3.56	3.91
1.51	2.98	3.66	3.98	2.98	3.66	3.98	2.98	3.66	3.98
1.81	2.94	3.58	4.07	2.94	3.58	4.07	2.94	3.58	4.07
2.11	2.93	3.66	4.25	2.93	3.66	4.25	2.93	3.66	4.25
2.41	2.99	3.52	4.01	2.99	3.52	4.01	2.99	3.52	4.01
2.71	3.15	3.33	4.06	3.15	3.33	4.06	3.15	3.33	4.06
3.01	3.20	3.20	3.79	3.20	3.20	3.79	3.20	3.20	3.79
3.31	3.38	2.95	3.69	3.38	2.95	3.69	3.38	2.95	3.69
3.62	3.48	2.92	3.63	3.48	2.92	3.63	3.48	2.92	3.63
3.92	3.48	3.10	3.65	3.48	3.10	3.65	3.48	3.10	3.65
4.22	3.46	3.45	3.62	3.46	3.45	3.62	3.46	3.45	3.62
4.52	3.19	3.34	3.51	3.19	3.34	3.51	3.19	3.34	3.51
4.82	3.16	2.90	3.54	3.16	2.90	3.54	3.16	2.90	3.54
5.12	3.10	2.89	3.56	3.10	2.89	3.56	3.10	2.89	3.56
5.42	2.99	3.02	3.84	2.99	3.02	3.84	2.99	3.02	3.84
5.72	3.28	3.19	3.92	3.28	3.19	3.92	3.28	3.19	3.92
6.03	3.59	3.22	4.17	3.59	3.22	4.17	3.59	3.22	4.17
6.33	3.85	3.71	4.40	3.85	3.71	4.40	3.85	3.71	4.40
6.63	3.97	3.84	4.40	3.97	3.84	4.40	3.97	3.84	4.40
6.93	4.14	3.90	4.33	4.14	3.90	4.33	4.14	3.90	4.33
7.23	4.15	3.95	4.51	4.15	3.95	4.51	4.15	3.95	4.51
7.53	4.08	3.87	4.77	4.08	3.87	4.77	4.08	3.87	4.77
7.83	3.92	3.92	4.52	3.92	3.92	4.52	3.92	3.92	4.52
8.13	3.94	3.72	4.56	3.94	3.72	4.56	3.94	3.72	4.56
8.44	3.70	3.84	4.55	3.70	3.84	4.55	3.70	3.84	4.55
8.74	3.32	3.49	4.59	3.32	3.49	4.59	3.32	3.49	4.59
9.04	3.66	3.70	4.63	3.66	3.70	4.63	3.66	3.70	4.63
9.34	3.81	3.31	4.58	3.81	3.31	4.58	3.81	3.31	4.58
9.64	3.76	3.18	4.47	3.76	3.18	4.47	3.76	3.18	4.47
9.94	3.45	3.08	3.98	3.45	3.08	3.98	3.45	3.08	3.98
10.24	3.21	3.54	3.81	3.21	3.54	3.81	3.21	3.54	3.81
10.54	3.26	3.24	3.74	3.26	3.24	3.74	3.26	3.24	3.74
10.85	3.17	3.17	3.76	3.17	3.17	3.76	3.17	3.17	3.76
11.15	3.15	3.70	3.65	3.15	3.70	3.65	3.15	3.70	3.65
11.45	3.20	3.44	4.09	3.20	3.44	4.09	3.20	3.44	4.09
11.75	3.22	3.29	4.06	3.22	3.29	4.06	3.22	3.29	4.06
12.05	3.21	3.47	3.96	3.21	3.47	3.96	3.21	3.47	3.96
12.35	3.27	3.05	4.17	3.27	3.05	4.17	3.27	3.05	4.17
12.65	3.29	2.73	4.04	3.29	2.73	4.04	3.29	2.73	4.04
12.96	3.21	2.56	4.08	3.21	2.56	4.08	3.21	2.56	4.08
13.26	3.09	2.65	3.97	3.09	2.65	3.97	3.09	2.65	3.97
13.56	3.09	2.94	4.07	3.09	2.94	4.07	3.09	2.94	4.07
13.86	3.06	2.80	4.05	3.06	2.80	4.05	3.06	2.80	4.05
14.16	2.87	2.63	3.80	2.87	2.63	3.80	2.87	2.63	3.80
14.46	2.93	2.64	4.15	2.93	2.64	4.15	2.93	2.64	4.15
14.76	2.98	2.68	4.23	2.98	2.68	4.23	2.98	2.68	4.23
15.06	3.18	3.14	3.89	3.18	3.14	3.89	3.18	3.14	3.89
15.37	2.98	3.28	3.95	2.98	3.28	3.95	2.98	3.28	3.95
15.67	3.08	3.14	3.92	3.08	3.14	3.92	3.08	3.14	3.92
15.97	3.37	3.25	4.02	3.37	3.25	4.02	3.37	3.25	4.02
16.27	3.55	3.40	4.31	3.55	3.40	4.31	3.55	3.40	4.31
16.57	3.80	3.11	4.24	3.80	3.11	4.24	3.80	3.11	4.24
16.87	3.86	3.03	4.23	3.86	3.03	4.23	3.86	3.03	4.23
17.17	3.35	3.42	4.27	3.35	3.42	4.27	3.35	3.42	4.27

[0177]

17.47	3.17	3.45	4.40	3.17	3.45	4.40	3.17	3.45	4.40
17.78	3.01	3.30	4.09	3.01	3.30	4.09	3.01	3.30	4.09
18.08	2.94	3.28	4.20	2.94	3.28	4.20	2.94	3.28	4.20
18.38	2.76	3.28	4.01	2.76	3.28	4.01	2.76	3.28	4.01
18.68	2.79	3.39	4.08	2.79	3.39	4.08	2.79	3.39	4.08
18.98	2.77	3.12	4.02	2.77	3.12	4.02	2.77	3.12	4.02
19.28	2.69	2.80	3.73	2.69	2.80	3.73	2.69	2.80	3.73
19.58	3.07	2.64	3.69	3.07	2.64	3.69	3.07	2.64	3.69
19.88	2.91	2.68	3.45	2.91	2.68	3.45	2.91	2.68	3.45
20.19	2.76	2.83	3.41	2.76	2.83	3.41	2.76	2.83	3.41
20.49	2.64	3.15	3.54	2.64	3.15	3.54	2.64	3.15	3.54
20.79	2.50	3.12	3.46	2.50	3.12	3.46	2.50	3.12	3.46
21.09	2.50	2.92	3.55	2.50	2.92	3.55	2.50	2.92	3.55
21.39	2.79	2.73	3.76	2.79	2.73	3.76	2.79	2.73	3.76
21.69	2.99	2.94	3.55	2.99	2.94	3.55	2.99	2.94	3.55
21.99	3.18	2.76	3.51	3.18	2.76	3.51	3.18	2.76	3.51
22.29	3.02	2.69	3.37	3.02	2.69	3.37	3.02	2.69	3.37
22.60	2.99	2.87	3.36	2.99	2.87	3.36	2.99	2.87	3.36
22.90	2.93	3.41	3.26	2.93	3.41	3.26	2.93	3.41	3.26
23.20	2.88	3.26	3.43	2.88	3.26	3.43	2.88	3.26	3.43
23.50	2.94	3.03	3.43	2.94	3.03	3.43	2.94	3.03	3.43

[0178] 对食物的产热应答 (第 15-17 天)

[0179] 能量消耗由基础代谢率、运动 - 诱发的能量消耗和非运动产热组成。后者是由抗肥胖剂影响的最有可能的领域。非运动产热包括对食物的产热应答,其在啮齿类动物中可通过检测对食物应答的能量消耗来测定。这是在口服 complan 之后测定的 (参见方法)。

[0180] 该数据显示利莫那班没有效果,而 3mg kg^{-1} 和 30mg kg^{-1} 剂量的 THCV-BDS 具有超过 2h 的作用,纯 THCV 也如此,如表 2 和图 2a) 至 e) 中所示。

[0181] 表 2:对食物的产热应答

[0182]

小时	对照			利莫那班 (10 mg.kg-1 p.o.)			AM 251 (10 mg.kg-1 p.o.)			植物的 THCV (0.3 mg.kg-1 p.o.)		
0.22	0.84	0.41	0.98	0.67	0.41	1.08	0.45	0.50	1.00	0.50	0.59	1.25
0.44	1.45	0.79	1.49	1.11	1.21	2.21	1.11	1.31	1.97	1.46	1.36	1.98
0.67	1.63	1.34	1.82	1.38	1.56	2.67	1.81	1.97	2.49	1.81	1.56	2.50
0.89	1.85	1.59	1.69	1.43	1.86	2.87	2.19	2.38	2.78	2.20	1.76	2.53
1.11	1.89	1.91	1.91	1.51	2.14	3.26	2.52	2.78	3.40	2.36	1.91	2.61
1.33	2.08	2.00	2.26	1.48	2.32	3.28	2.86	2.85	3.64	2.53	2.00	2.78
1.56	2.35	2.31	2.19	1.53	2.63	3.20	3.05	3.14	3.53	2.81	2.15	2.86
1.78	2.71	2.34	2.05	1.54	2.67	3.11	3.30	3.25	3.50	2.73	2.17	2.88
2.00	2.73	2.46	2.04	1.36	2.63	2.97	3.30	3.44	3.44	2.72	2.28	2.80
2.22	2.61	2.41	1.98	1.33	2.91	2.98	3.30	4.10	3.46	2.81	2.53	2.64
2.44	2.44	2.66	2.12	1.42	2.74	2.96	3.38	4.00	3.68	2.97	2.41	2.80
2.67	2.40	2.99	2.25	1.40	2.83	2.91	3.42	4.24	3.78	2.82	2.38	3.27
2.89	2.56	3.01	2.53	1.30	2.75	3.07	3.56	4.26	3.99	3.09	2.59	3.42
3.11	2.42	3.24	2.72	1.20	2.82	3.09	3.69	4.26	3.78	3.43	2.99	3.37
3.33	2.28	3.51	2.87	1.28	2.74	3.22	3.63	4.23	3.80	3.31	3.01	3.21
3.56	2.43	3.49	2.85	1.50	2.83	3.25	3.79	4.24	3.62	3.30	2.99	2.98
3.78	2.33	3.58	2.53	1.56	2.96	3.02	3.79	4.21	3.54	3.13	2.97	2.87
4.00	2.52	3.66	2.52	1.56	2.90	3.09	4.05	4.24	3.79	3.27	2.99	2.98

[0183] 表 2:对食物的产热应答 - 续

[0184]

小时	植物的 THCV (3 mg.kg-1 p.o.)			植物的 THCV (3 mg.kg-1 p.o.)			纯 THCV (0.3 mg.kg-1 p.o.)		
0.22	0.67	0.91	1.26	0.67	0.91	1.26	0.67	0.91	1.26
0.44	1.78	1.70	1.98	1.78	1.70	1.98	1.78	1.70	1.98
0.67	2.30	2.06	2.49	2.30	2.06	2.49	2.30	2.06	2.49
0.89	2.51	2.42	2.51	2.51	2.42	2.51	2.51	2.42	2.51
1.11	2.51	2.74	2.64	2.51	2.74	2.64	2.51	2.74	2.64
1.33	2.50	2.82	2.67	2.50	2.82	2.67	2.50	2.82	2.67
1.56	2.53	2.81	3.13	2.53	2.81	3.13	2.53	2.81	3.13
1.78	2.54	2.76	3.31	2.54	2.76	3.31	2.54	2.76	3.31
2.00	2.45	2.62	3.18	2.45	2.62	3.18	2.45	2.62	3.18
2.22	2.61	2.74	3.44	2.61	2.74	3.44	2.61	2.74	3.44
2.44	2.71	2.74	3.18	2.71	2.74	3.18	2.71	2.74	3.18
2.67	2.66	2.83	3.10	2.66	2.83	3.10	2.66	2.83	3.10
2.89	2.71	3.01	3.09	2.71	3.01	3.09	2.71	3.01	3.09
3.11	2.68	3.16	3.02	2.68	3.16	3.02	2.68	3.16	3.02
3.33	2.68	3.34	3.04	2.68	3.34	3.04	2.68	3.34	3.04
3.56	2.61	3.49	3.02	2.61	3.49	3.02	2.61	3.49	3.02
3.78	2.43	3.48	3.03	2.43	3.48	3.03	2.43	3.48	3.03
4.00	2.70	3.49	3.13	2.70	3.49	3.13	2.70	3.49	3.13

[0185] 讨论：

[0186] 在能量消耗方面，基于纯 THCV 的剂量比利莫那班至少有 10 倍并且可能有 30 倍的

效果。高剂量的 THCV-BDS 和纯 THCV (0.3mg kg^{-1}) 显示比利莫那班更有效。对能量消耗的效果在 10-12 天治疗后比 3-5 天时更高,表明有一些产热效果。

[0187] 在当前研究中,在第 15-17 天测定了对食物的产热应答。除了利莫那班以外,所有治疗得到增加但此增加不充分,因为在 24h 能量消耗增加。

[0188] 该治疗导致体脂肪百分数变化,尽管这些变化使用方差分析无统计学显著性。特别感兴趣的发现是,纯 THCV 在 30 倍低剂量水平下至少有利莫那班的效果而且没有任何对生长的影响。瘦蛋白水平下降反映了体脂肪百分数的效果,但使用方差分析仅 AM251 得到显著效果。

[0189] 实施例 2:大麻二酚对糖尿病、肥胖症和相关代谢性障碍的效果

[0190] Mechoulam 和同事们显示,大麻二酚治疗显著降低 NOD 小鼠中糖尿病的发生率,该 NOD 小鼠是 I 型自身免疫介导的糖尿病模型,该发生率从未治疗对照的 86%降低到大麻二酚治疗小鼠的 30%。CBD 治疗还导致血浆 IFN- γ 和 TNF- α 水平的显著降低。胰岛的组织学检查显示 insulinitis 降低。

[0191] 炎症是 II 型糖尿病性动物和人的特征。因此当前研究检查了大麻二酚在 II 型糖尿病模型即 C57B1/Ks db/db 小鼠中是否有类似作用。此动物缺乏功能瘦蛋白受体,并且最初显示严重的肥胖症和胰岛素耐受。当然,作为 C57B1/KS 遗传背景而非 C57B1/6 的结果,小鼠在约 6/7 周龄开始显示胰腺功能丧失,并且到 10 周时显示明显的糖尿病。

[0192] 方法:

[0193] 小鼠随意给予中国狗 (chow) 饮食 (Bantin and Kingman, 1 号饮食) 和水。小鼠维持在控制光照条件 (08.00h 点亮, 12h 亮 / 12h 暗) 和 (08.00h 亮, 12h 亮 / 12h 暗) 和 $21^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的室温下。

[0194] A 对照

[0195] B 纯 CBD (5mg/kg 口服)

[0196] C 纯 CBD (1mg/kg 口服)

[0197] D 纯 CBD (5mg/kg i. p.)

[0198] 测定:

[0199] 每天: 摄取食物和水

[0200] 每周两次: 体重和葡萄糖

[0201] 第 1 天: 小鼠称重, 给予化合物, 提供测定量的食物,

[0202] 提供测定量的水

[0203] 第 2、5 和 8 天: 饲食血糖浓度

[0204] 第 9 天: 口服葡萄糖耐量

[0205] 第 12 和 16 天: 饲食血糖浓度

[0206] 第 19 天: 24hr 血糖 (glycaemic) 分析

[0207] 第 22、26 和 29 天: 饲食血糖浓度

[0208] 第 33: 24hr 血糖分析

[0209] 第 38: 饲食血糖浓度

[0210] 第 39: 麻醉小鼠通过 DEXA 扫描的身体组成

[0211] 第 41: 结束。取血样用于葡萄糖、游离脂肪酸、甘

[0212] 油三酯、胆固醇、胰岛素和 HbA

[0213] 关键结果：

[0214] 大麻二酚对血浆胰岛素浓度的效果

[0215] 糖尿病在 db/db 小鼠模型中出现发展，这是胰岛素耐受和缺乏免疫力的 (compromised) 胰岛素分泌组合的结果。因此，当不充足的胰岛素释放到循环中以克服耐受性时，随之发生糖尿病。自然地，该糖尿病可通过减少胰岛素耐受或增加分泌或者此二者结合来克服。

[0216] 对血浆胰岛素浓度治疗的效果有可能是复杂的。因此，改善胰岛素耐受可通过减少需求来降低血浆胰岛素浓度。通过抑制小岛炎症而改善小岛细胞功能可望增加血浆胰岛素浓度。在当前研究中，血浆胰岛素在治疗过程中测定若干次。

[0217] 在第 9 天，在葡萄糖耐量试验之前测定 5h- 禁食小鼠的胰岛素。没有显著效果，但是两个 5mg kg^{-1} 治疗容易得到更高的血浆胰岛素浓度。

[0218] 在 24h 期间还测定了血浆胰岛素，表征葡萄糖并且未见有一致的效果。

[0219] 讨论：

[0220] 在此小鼠模型中，在接受大麻二酚的小鼠与对照之间，当前试验未显示出血糖控制的显著差异。在小岛细胞功能和细胞质量方面可能有一些改善。

[0221] 因此，大麻二酚可预防糖尿病的发展，并且可用作单一疗法以及与胰岛素敏化剂例如罗格列酮组合。

[0222] 实施例 3：四氢次大麻酚和 / 或大麻二酚对糖尿病、肥胖症和相关代谢性障碍的效果

[0223] 四氢次大麻酚 (THCV) 是大麻素类 WIN55212-2 以及小鼠分离的输精管标本中花生四烯乙醇胺 (anandamide) 的有效拮抗剂。以前在 DIO 小鼠中的研究表明，其具有某些 CB₁ 拮抗性质，并且比 CB-1 拮抗剂利莫那班和 AM251 更有效。

[0224] 已报道大麻二酚在 I 型糖尿病模型的 NOD 小鼠中对胰岛具有一些保护作用。

[0225] 因此，在 C57B1/6 ob/ob 小鼠中，针对两种药物以及组合进行进一步的研究，所述小鼠是胰岛素耐受、肥胖症和代谢综合征的模型。

[0226] 进行慢性给药、28 天研究，其中 ob/ob 小鼠在每天 09:00 通过口服强饲法给予下列之一：

[0227] A 对照

[0228] B AM 251 10mg/kg

[0229] C 纯 THCV 0.3mg/kg

[0230] D 纯 THCV 3.0mg/kg

[0231] E 纯 THCV 0.3mg/kg+CBD BDS 含 CBD 为 0.3mg/kg

[0232] F 纯 THCV 3.0mg/kg+CBD BDS 含 3.0mg/kg

[0233] G 纯 CBD 3.0mg/kg

[0234] 在研究的第 1-2 天使动物适应环境，并在第 3 天开始给药。

[0235] 进行测定以提供下列数据：

[0236] 每天： 摄取食物和水

[0237] 每周两次： 体重

- [0238] 第-1天： 整个研究在中在 17:00 每天测定食物和水
- [0239] 第7天： 口服葡萄糖耐量（葡萄糖负荷 3g/kg），在 5h- 禁食
- [0240] 小鼠中于 -30、0、30、60、90、120min 测定葡萄糖
- [0241] 糖，并于 -30min 测定胰岛素
- [0242] 第10天： 24h 能量消耗，通过间接测热法
- [0243] 第17天： 对混合饮食的产热应答，然后小鼠禁食 2h，然后
- [0244] 给药小鼠在 60min 之后给予 complan 饮食（口服），
- [0245] 给予 Complan 饮食 4h 之后测定能量消耗
- [0246] 第22天： 5h- 禁食小鼠的口服葡萄糖耐量（重复第7天研究）
- [0247] 第28天： 麻醉小鼠通过 Dexa 扫描的身体组成，测定鼻-肛
- [0248] 门长度；针对葡萄糖、乳酸盐、胰岛素、甘油三
- [0249] 酯、总胆固醇、HDL- 胆固醇的血样来自饲食小鼠
- [0250] 第35天： 禁食过夜（17h 禁食）
- [0251] 第36天： 用于葡萄糖、游离脂肪酸、胰岛素和脂肪连接蛋
- [0252] 白的血样小鼠给药，给药后 2-3h 取血样用于药物
- [0253] 水平和内源性大麻素血浆水平。使用计划表 1 的
- [0254] 方法杀死小鼠-移除脑以用于内源性大麻素水
- [0255] 平。测定分离的脂肪垫的重量。冷冻夹紧的肝脏，
- [0256] 称重，取样用于肝脏脂质和糖原的测定
- [0257] 关键结果：
- [0258] 治疗对能量消耗和呼吸商数的影响
- [0259] 小鼠显示正常的白日能量消耗的模式，在光循环较早的暗期比亮期具有明显更大的总能量消耗。当在第10天测定时所有治疗增加 24h 能量消耗，单独给予大麻二酚的例外。此外，白日模式类似于各治疗的对照。
- [0260] 为了获得这些大麻素类对能量消耗作用的进一步观察，对食物的产热应答使用口服给予的**Complan**[®]饮食来评价。所有治疗增加了餐后的能量消耗。应答模式类似于 4h 模式，AM251 (10mg kg⁻¹)、纯 THCV (3mgkg⁻¹) 以及低剂量和高剂量组合具有显著作用（表 3、图 3）。

[0261] 表 3:进餐的产热效应:每只动物 3- 小时能量消耗

[0262]

对 照		AM251 10mg/kg		THCV 0.3mg/kg		THCV 3.0mg/kg		THCV+CBD BDS 二者 0.3mg/kg		THCV+CBD BDS 二者 3.0mg/kg		CBD 3.0mg/kg	
6.20	5.91	9.00	9.38	8.18	7.04	8.94	8.79	10.20	9.45	12.03	10.28	7.84	8.34

[0263] 有趣的是，尽管纯 CBD 与对照相比不能显著增加能量消耗，植物药品 CBD 确实显示促进了 HCV 的能量消耗作用。

[0264] 任意饲食小鼠血浆分析的作用

[0265] 对胆固醇和 HDL- 胆固醇的作用提供最令人惊讶的结果。纯 CBD 减少了血浆胆固

醇总量 (表 4、图 4), 但同时增加了血浆 HDL-胆固醇浓度 (表 5、图 5), HDL-胆固醇占总胆固醇的百分数从 40% 升高到大于 80% (表 6、图 6)。

[0266] THCV-CBD BDS 组合亦显著增加 HDL-胆固醇浓度, 但仅有高剂量组合有减少总胆固醇的倾向并因此影响该比率。

[0267] 表 4: 第 28 天饲养血浆胆固醇

[0268]

对 照	AM 251 10 mg.kg ⁻¹	THCV 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV 3.0 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 3.0 mg.kg ⁻¹	CBD 3.0 mg.kg ⁻¹
4.94	6.01	6.45	6.46	9.45	5.42	2.90
4.55	6.43	5.93	7.66	9.49	5.12	5.38
5.24	5.75	5.62	7.05	8.11	4.21	3.50
4.04	5.82	7.12	6.30	7.05	5.02	3.64
6.27	7.85	8.60	6.94	7.29	3.23	4.22
5.99	6.66	6.43	6.59	7.71	5.38	3.77
7.62	6.15	5.99	6.20	5.33	4.18	5.02
6.24	-	6.21	7.22	5.86	3.72	-

[0269] 表 5: 第 28 天饲养 HDL 胆固醇

[0270]

对 照	AM 251 10 mg.kg ⁻¹	THCV 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV 3.0 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 3.0 mg.kg ⁻¹	CBD 3.0 mg.kg ⁻¹
2.07	1.97	2.21	2.94	3.43	3.37	2.98
2.03	2.24	2.25	2.57	3.19	3.02	3.38
2.14	2.00	2.14	2.28	3.03	2.90	3.18
1.88	2.03	2.16	2.17	3.06	3.09	3.31
2.06	2.26	2.16	2.16	3.00	2.87	3.00
2.10	2.04	2.16	2.24	3.17	3.22	3.36
2.18	2.19	2.35	2.51	3.16	3.17	3.63
2.36	-	2.33	2.98	3.65	3.17	-

[0271] 表 6: 第 28 天 HDL 胆固醇百分数

[0272]

对 照	AM 251 10 mg.kg ⁻¹	THCV 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV 3.0 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 3.0 mg.kg ⁻¹	CBD 3.0 mg.kg ⁻¹
41.9	32.8	34.3	45.6	36.3	62.1	102.9
44.6	34.9	37.9	33.6	33.6	58.8	62.7
40.8	34.8	38.0	32.4	37.3	68.9	90.8
46.6	34.8	30.4	34.5	43.4	61.6	90.9
32.8	28.8	25.1	31.1	41.1	88.8	71.1
35.0	30.6	33.6	34.0	41.1	59.7	88.9
28.6	35.6	39.3	40.4	59.3	75.9	72.3
37.8	-	37.5	41.3	62.3	85.2	-

[0273] 血浆胰岛素未受治疗影响。

[0274] 对肝糖原和甘油三酯的作用

[0275] 肝脏甘油三酯含量明显受该治疗的影响。CBD 单独和与 THCv 组合明显减少肝脏甘油三酯含量。相反,肝脏甘油三酯含量因 AM251 和低剂量纯 THCv 而增加(表 7、图 7)。

[0276] 表 7:肝脏甘油三酯浓度

[0277]

对 照	AM 251 10 mg.kg ⁻¹	THCV 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV 3.0 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 0.3 mg.kg ⁻¹	THCV + CBD 二者 3.0 mg.kg ⁻¹	CBD 3.0 mg.kg ⁻¹
9.68	10.36	16.72	13.92	9.44	6.13	5.47
8.04	13.65	9.33	18.27	8.50	5.54	4.78
9.21	17.44	14.97	14.09	5.92	6.50	5.46
5.87	13.87	17.16	8.70	7.04	4.14	4.02
11.11	16.47	11.16	15.20	5.69	3.78	4.64
12.53	17.40	14.94	10.77	6.45	4.51	4.58
10.69	11.05	15.48	9.78	7.62	3.20	5.42
14.35	-	9.10	12.06	4.10	3.30	-

[0278] 讨论:

[0279] 本研究最惊人的发现是得自大麻素 CBD。假定是其本身的,其减少了血浆总胆固醇浓度,同时增加了 HDL-胆固醇的量和百分数。其对血浆甘油三酯无影响,但减少了肝脏的甘油三酯。

[0280] CBD 显示具有作为增加 HDL-胆固醇同时降低总胆固醇和肝脏脂质的药物的用途。

[0281] THCv 和 CBD 的低剂量组合对 HDL-胆固醇的作用以及纯 THCv 显示的作用的缺乏表明,较低剂量的 CBD 会升高 HDL-胆固醇,但是可能降低总胆固醇。

[0282] THCv 单独和与大麻二酚 BDS 对能量消耗的作用是非常令人惊奇的。24h 能量消耗的增加和对食物的产热应答的是显著的。

[0283] 尚不知晓为什么大麻素类的组合比之于 THCv 或 CBD 显示具有更大的对能量消耗的影响。可能是 THCv 和 CBD 之间存在有协同作用。

[0284] 实施例 4:

[0285] 下文所述实施例研究了大麻素类、大麻二酚 (CBD) 和四氢次大麻酚 (THCv) 是否通过过氧化物酶体增殖子激活受体 γ (PPAR γ) 起效,已知该过氧化物酶体增殖子激活受体 γ 是通过 Δ^9 -四氢大麻酚活化的。

[0286] PPAR γ 异型的激动剂改善了胰岛素敏感性,并且通常用于治疗 II 型糖尿病。此外,PPAR γ 激动剂已显示具有积极的心血管作用,其包括一氧化氮 (NO) 利用率增加的体外证据,以及体内血压降低和动脉粥样硬化减弱。

[0287] PPAR γ 配体的一些有益作用是由 PPAR γ 活化的抗炎作用引起的,包括抑制促炎症反应细胞因子、增加抗炎细胞因子、和抑制诱生型一氧化氮合酶 (iNOS) 表达。因此据认为 PPAR γ 配体的应用可能是代谢综合征或者与代谢综合征风险增加有关的疾病或病症的药物治疗的有用治疗选项。

[0288] 体外血管研究是在大鼠分离的主动脉中通过金属丝肌动描记法进行的。PPAR γ 活

化是使用受体基因分析法、PPAR γ 竞争结合分析法和脂肪形成分析法进行研究的。

[0289] 使 THCv 和 CBD 均溶解于乙醇中得到 10mM 的贮备浓度,再进一步使用蒸馏水进行稀释。

[0290] 结果:

[0291] 主动脉中 CBD 和 THCv 的时间依从性作用

[0292] 在 2h 的所有时间点,与溶媒对照相比,CBD (10 μ M) 显著引起大鼠主动脉的时间依从性舒张 (2h,溶媒 $19.7 \pm 2.4\%$ 对比于 CBD $69.7 \pm 4.0\%$ 舒张, $n = 13, P < 0.001$)。2h 之后,后遗舒张 (CBD 的血管舒张作用减去溶媒的血管舒张作用和时间) 为 $50.1 \pm 3.3\%$ 舒张。

[0293] CBD 对基础张力经时间没有影响 (2h,溶媒 -0.02 ± 0.01 g 对比于 CBD -0.03 ± 0.01 g, $n = 7$)。

[0294] 在预收缩主动脉中,THCv (10 μ M) 直到 105 分钟之后对张力效应增强子仍无作用,而 120min 之后,针对 THCv 的血管舒张为 $28.7 \pm 4.6\%$ 舒张 ($n = 10$),相比之下在对照动脉中为 $15.1 \pm 4.6\%$ ($P < 0.01$)。

[0295] 在 PPAR γ 受体拮抗剂 GW9662 (1 μ M) 存在下,CBD 的后遗血管舒张作用在孵育 1h 之后显著减少。CBD 的血管舒张作用类似于内皮裸露的和对照的主动脉。类似地,一氧化氮合酶抑制剂 L-NAME (300 μ M) 存在时,CBD 的后遗血管舒张作用与对照条件下观察到的无差别。

[0296] CB₁ 受体拮抗剂 AM251 (1 μ M) 不会显著影响对 CBD 的时间依从性血管应答。CB₂ 受体拮抗剂 SR144528 (1 μ M) 在 45min 至 90min 之间显著抑制 CBD 的后遗血管舒张作用。用 PTX (200ng ml^{-1} , 2h) 或用辣椒碱 (capsaicin, 10 μ M, 1h) 预处理的动脉对 CBD 经时血管应答无作用。

[0297] 当动脉用高钾缓冲溶液收缩时,与对照相比在 CBD 的血管舒张作用方面无差异。相反,在张力效应增强子用 U46619 的无钙缓冲溶液诱导的血管中,与对照相比,CBD 的血管舒张作用显著的钝 (blunt)。

[0298] 在 CBD 以 1 μ M 至 30 μ M 存在时,对无钙、高钾 Krebs-Hensleit 溶液中钙的重新引入的效能和最大收缩应答以浓度依赖性方式显著降低。如 CBD 那样,钙通道阻滞剂维拉帕米引起显著的预收缩血管的血管舒张作用,尽管有更快的起效。

[0299] 在离体动脉中大鼠用 CBD 慢性治疗对血管应答的作用

[0300] 动物用溶媒或 CBD 治疗 2 周,进行动脉功能的观察。

[0301] 在小阻抗肠系膜血管中,CBD- 治疗动物中的对甲氧明的最大收缩反应比在溶媒 - 治疗动物显著更低 ($R_{\max}$ 1.56 ± 0.13 g 对比于 CBD 2.20 ± 0.13 g 张力增加, $n = 7, P < 0.001$)。CBD 治疗引起甲氧明效能的额外降低 (pEC_{50} veh 5.94 ± 0.08 对比于 CBD $5.79 \pm 0.10, P < 0.05$)。

[0302] 主动脉中对甲氧明的最大应答亦显著高于溶媒 - 治疗动物 (2.32 ± 0.20 g 张力增加, $n = 6$),其是与 CBD- 治疗动物 (1.63 ± 0.21 g 张力增加, $n = 7, P < 0.001$) 相比。

[0303] 在小阻抗肠系膜动脉中,用 CBD 反复治疗不会影响对乙酰胆碱的血管舒张应答。然而,在主动脉中,CBD 治疗显著降低乙酰胆碱的效能 (pEC_{50} , 对照 6.17 ± 0.31 对比于 CBD- 治疗的 $5.37 \pm 0.40, n = 6, P < 0.01$)。

[0304] 转录性转活化分析

[0305] 为了测定 CBD 是否刺激 PPAR γ ,在与萤光素酶报告基因 (3xPPRETK 1uc) 组合短暂表达 PPAR γ 和 RXR α 的同源染色体细胞中进行转活化分析。

[0306] 在这些分析中,与转染全部 DNA 的溶媒 - 处理的细胞相比,合成的 PPAR γ 激动剂罗格列酮 (10 μ M) 显著刺激了 PPAR γ 的转录活性 (148 $\pm$ 7 相比于 319 $\pm$ 7 相对萤光素酶活性 (每 ng ml⁻¹ 蛋白), $P < 0.01$)。

[0307] 类似地,在 10 μ M (305 $\pm$ 18 相对萤光素酶活性, $P < 0.01$) 和 20 μ M (470 $\pm$ 37 相对萤光素酶活性, $P < 0.01$) 下,与未处理的细胞相比, CBD 还以浓度依赖性方式显著刺激 PPAR γ 的转录活性。

[0308] 在任何测试浓度下, THCV 对 PPAR γ 转录活性无作用。

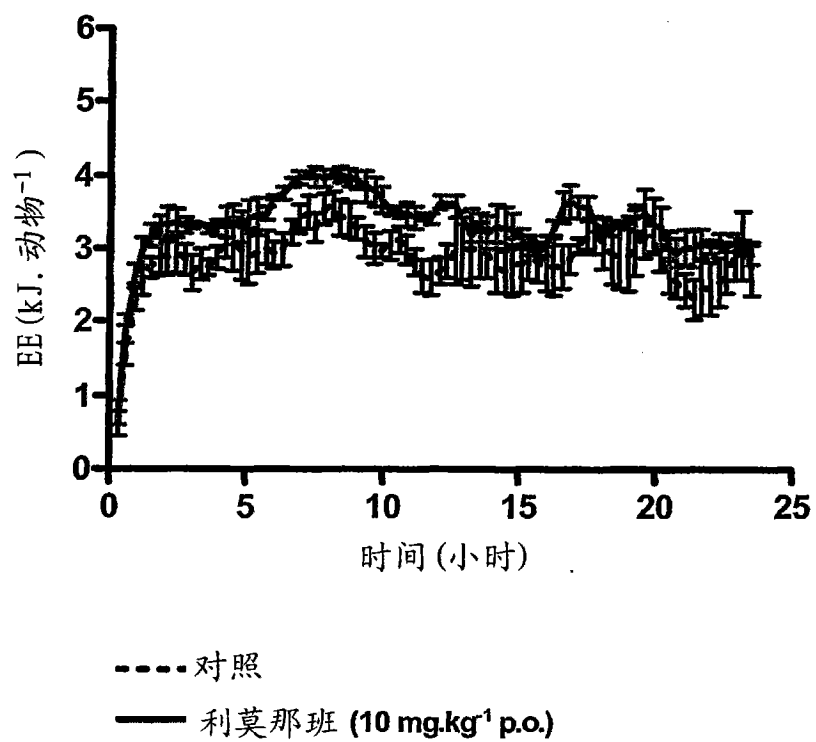
[0309] 脂肪细胞分化的诱导

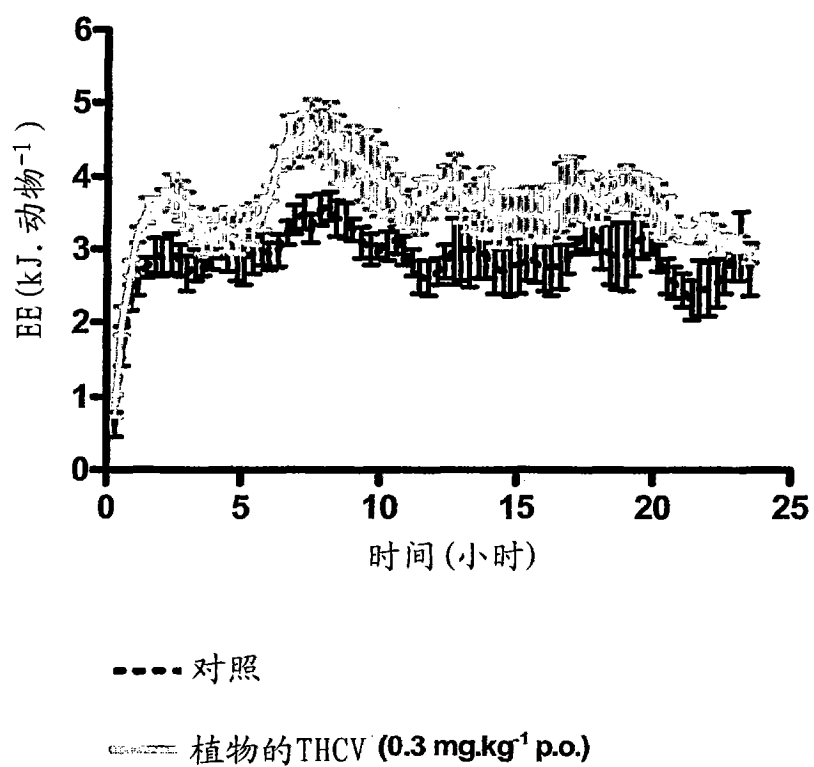
[0310] 培养 3T3L1 细胞直到融合,然后用 CBD 或罗格列酮处理 8 天。使细胞固定,再用油红 O 染色以鉴别脂肪滴,其存在表明成纤维细胞分化成脂肪细胞。未处理细胞显示部分分化的征兆,但是用少许油红 O 染色大多数细胞保持它们的纺锤体形状。罗格列酮诱导 3T3L1 细胞分化成脂肪细胞,这是由大量油红 O 染色显示脂肪滴蓄积在细胞浆中所证实。在 CBD 存在下,脂肪滴蓄积的征兆在所有测试浓度下以浓度依赖性方式显示出来。

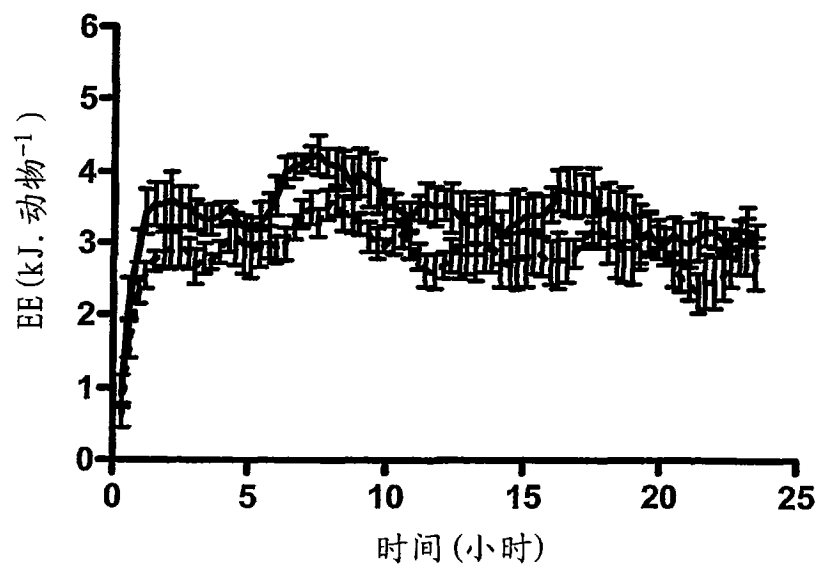
[0311] 结论:

[0312] 这些数据提供了强烈的证据,即 CBD 是 PPAR γ 激动剂,并且显示出一种新颖的方式,以此方式可产生 CBD 的作用。根据显示的证据,PPAR γ 配体在 II 型糖尿病、心血管系统和对包括癌症、胃炎障碍和许多皮肤疾病的许多其它障碍的潜在作用中具有有益的作用,这些数据提供了这样的证据: CBD 和与 THCV 组合的潜在 CBD 可用于预防或治疗糖尿病、肥胖症和相关代谢性障碍。

a) 利莫那班与对照比较

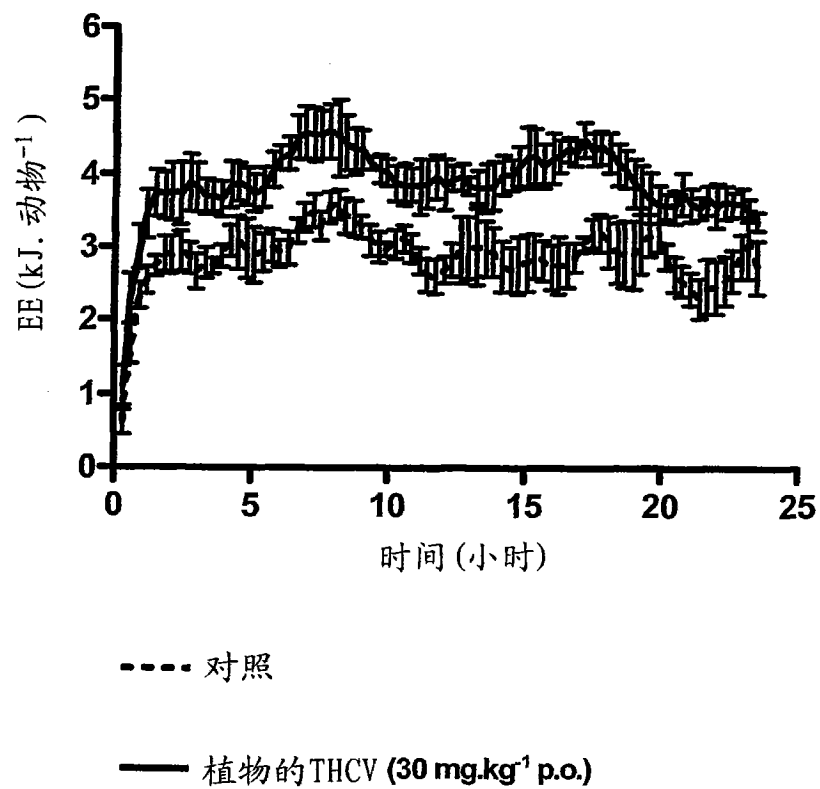


b) 0.3mg/kg THC_V提取物与对照比较

c) 3.0mg/kg THC_V提取物与对照比较

---- 对照

— 植物的THCV (3 mg.kg⁻¹ p.o.)

d) 30.0mg/kg THC_{CV}提取物与对照比较

e) 0.3mg/kg纯THCV与对照比较

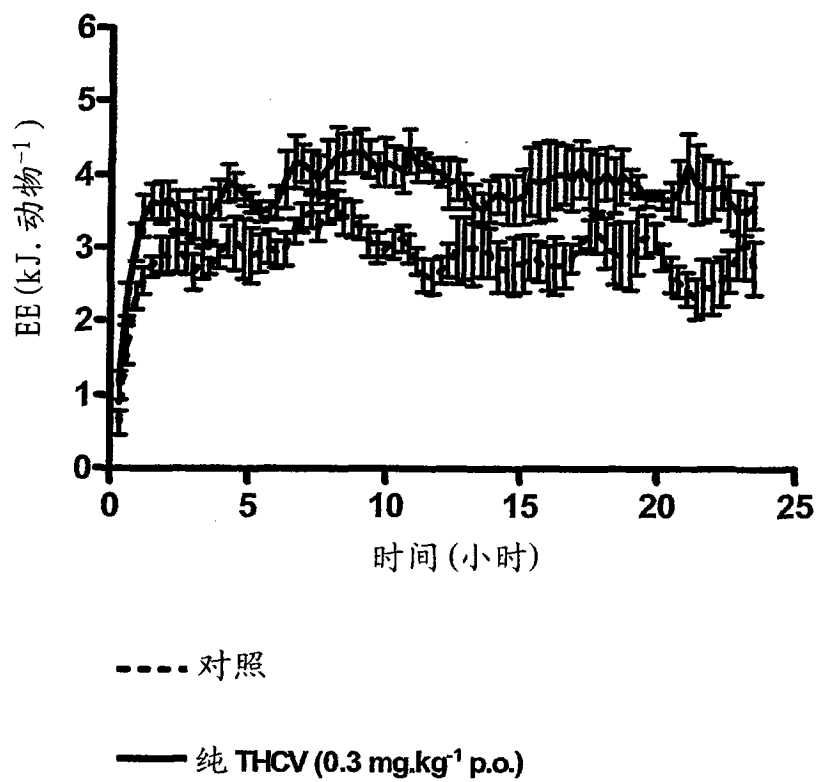
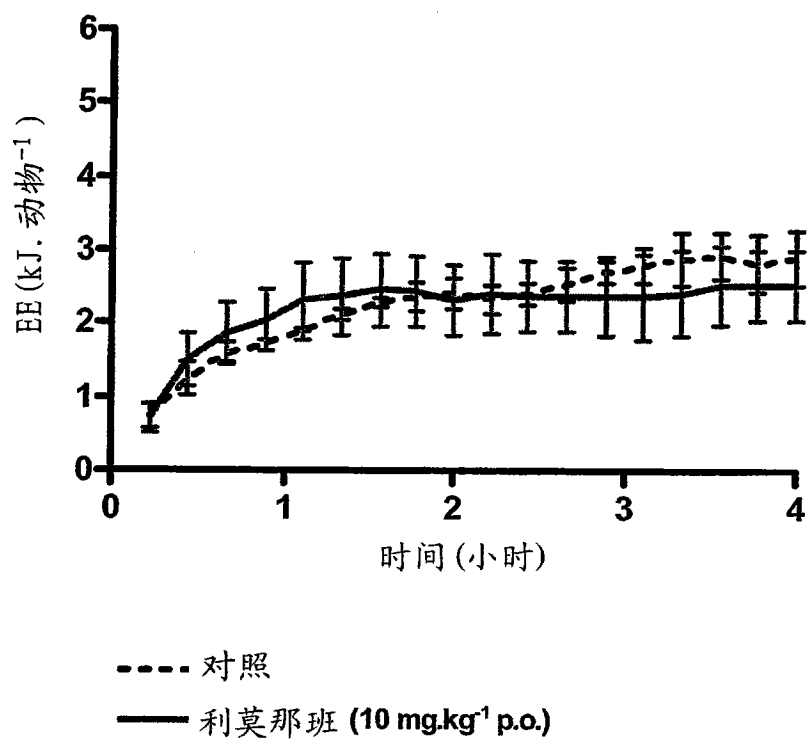
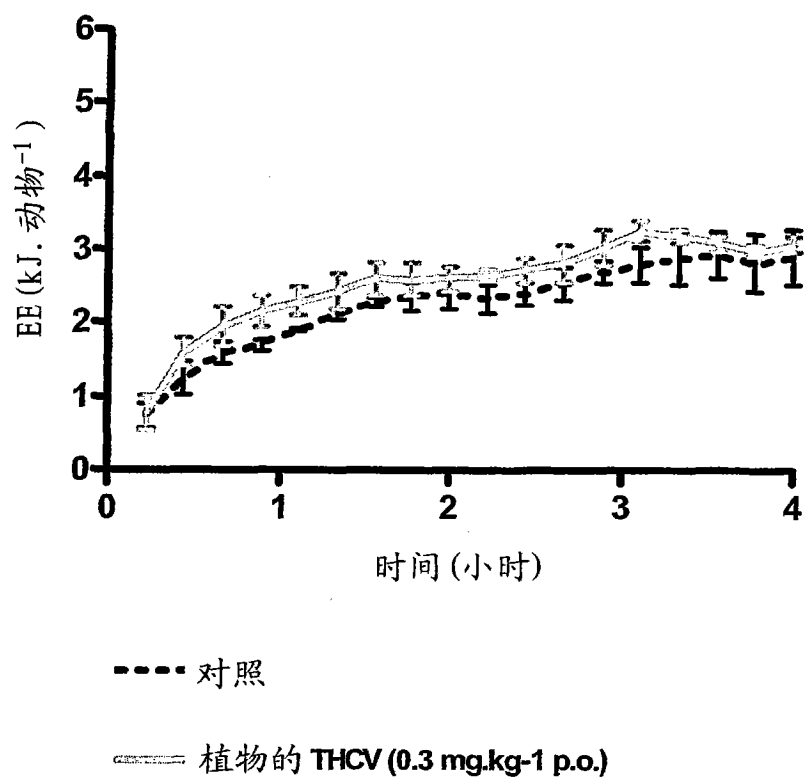
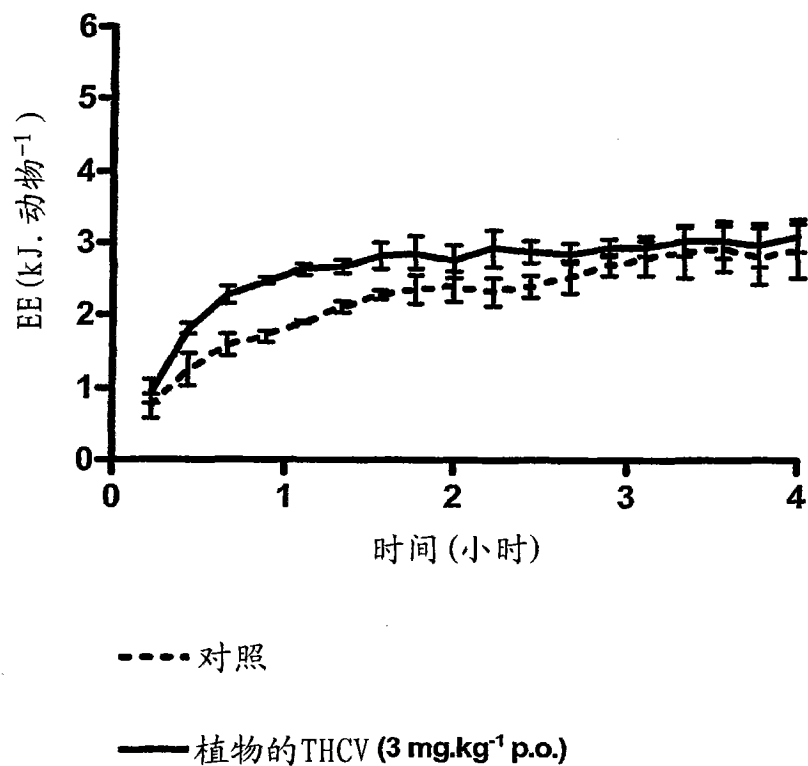


图 1. 24 小时能量消耗

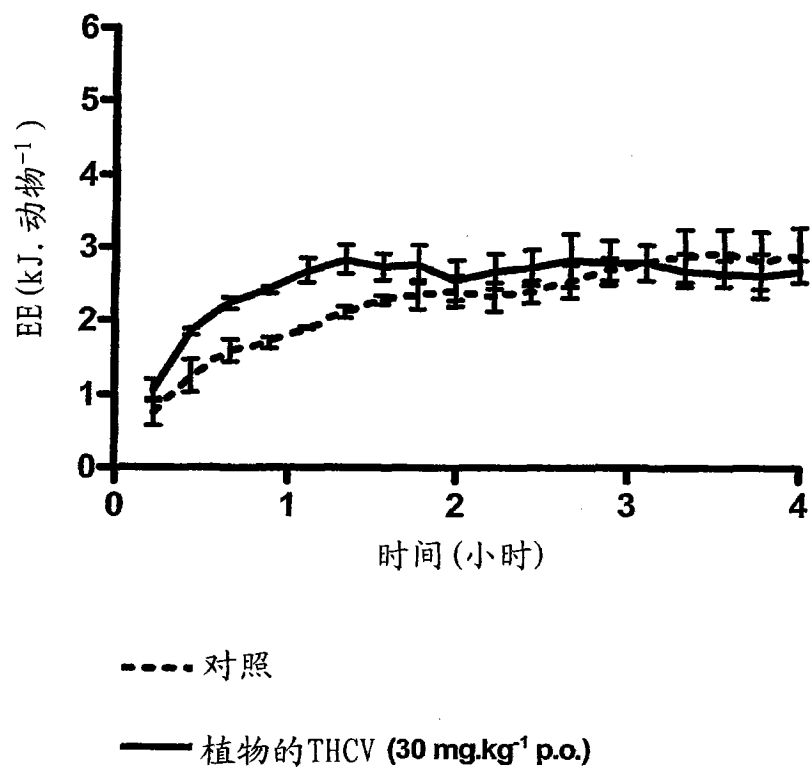
a) 利莫那班与对照比较



b) 0.3mg/kg THC₂提取物与对照比较

c) 3.0mg/kg THC_{CV}提取物与对照比较

d) 30.0mg/kg THCv提取物与对照比较



e) 0.3mg/kg纯THCV与对照比较

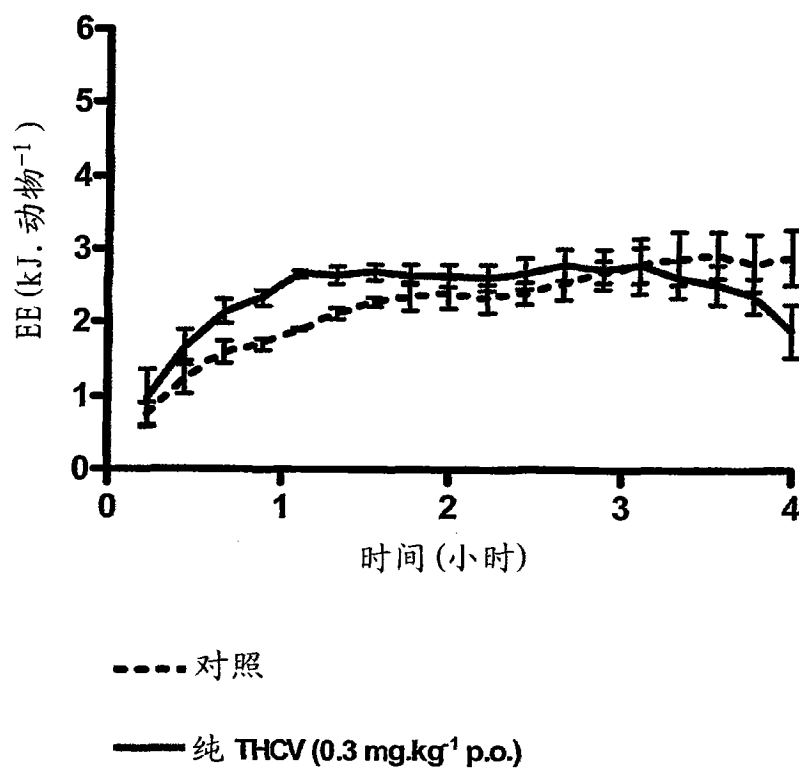


图 2. 对食物的产热应答

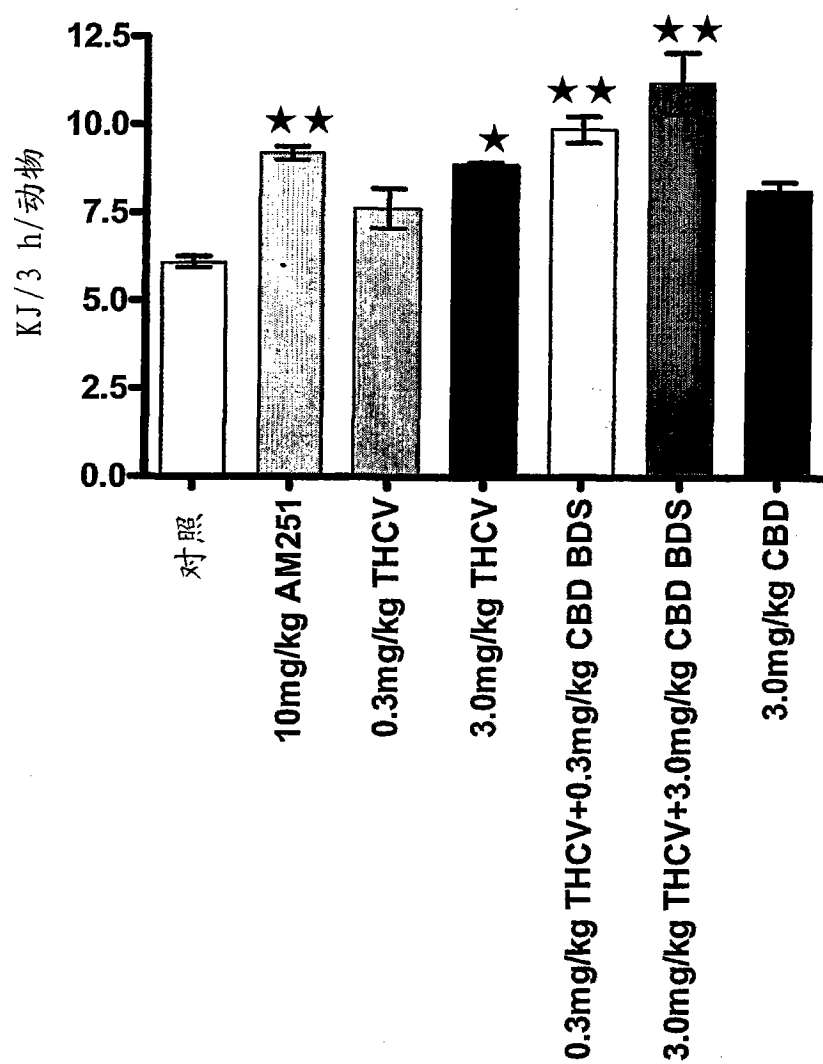


图 3. 对食物的产热应答 - 每只动物 3 小时能量消耗

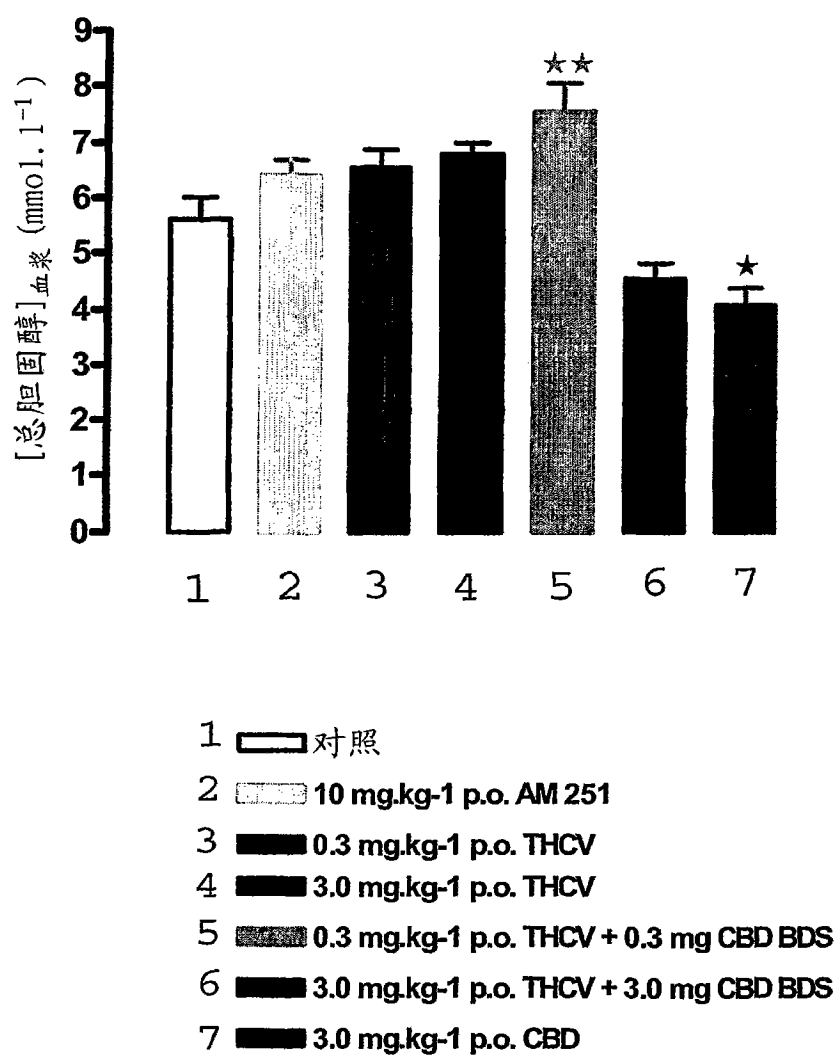


图 4. 血浆胆固醇

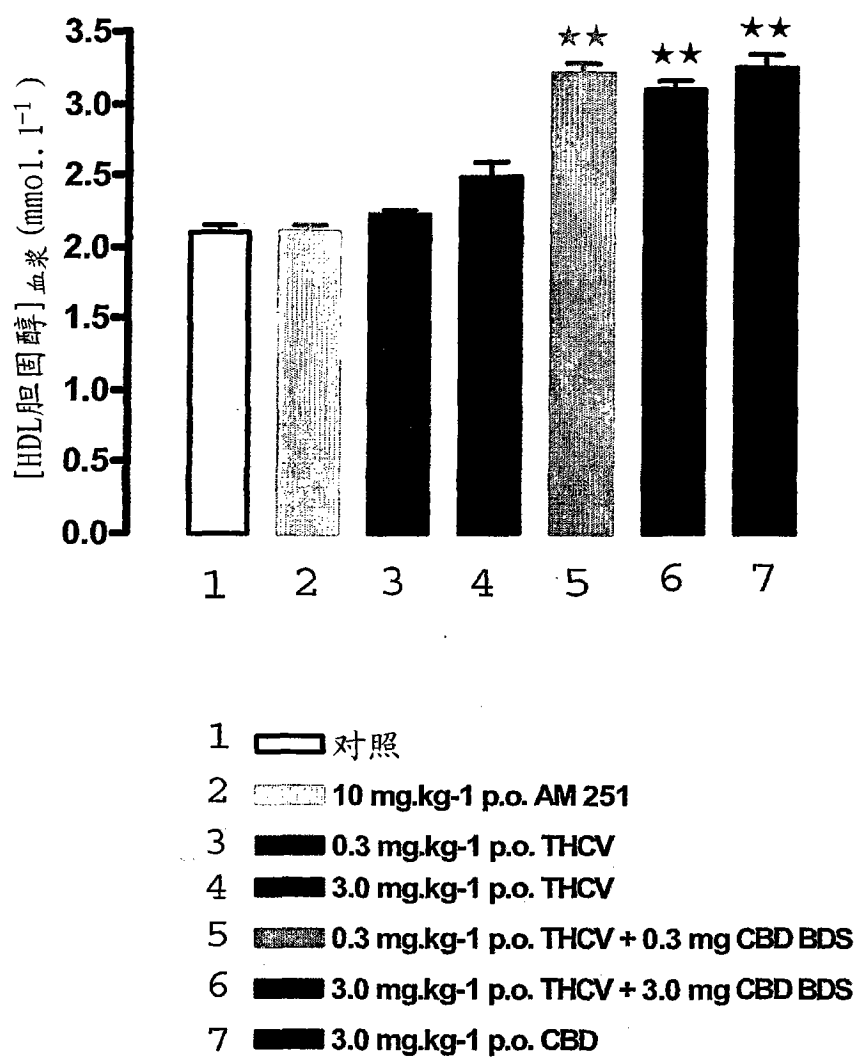


图 5. HDL 胆固醇

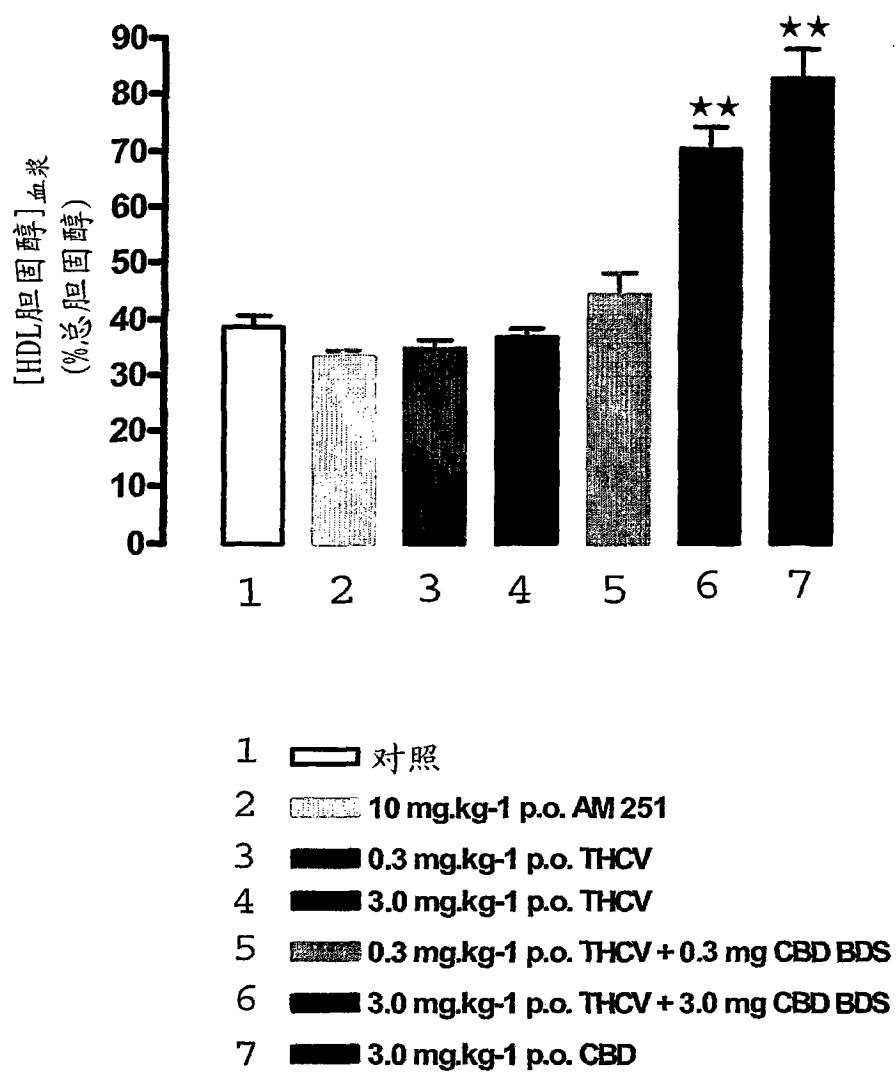


图 6. HDL 胆固醇百分数

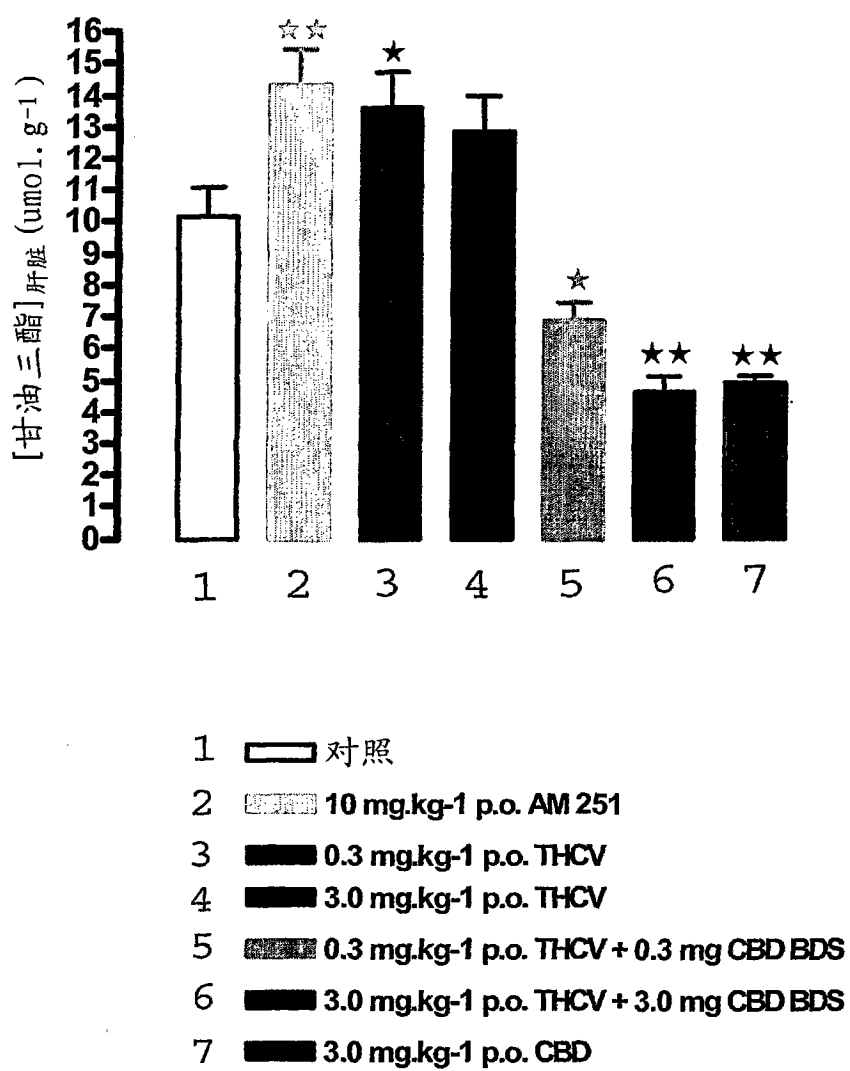


图 7. 肝脏甘油三酯浓度