



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118453592 A

(43) 申请公布日 2024. 08. 09

(21) 申请号 202410499223.0

(22) 申请日 2013.05.15

(30) 优先权数据

61/648,110 2012.05.17 US

(62) 分案原申请数据

201380024802.X 2013.05.15

(71) 申请人 VTV治疗有限责任公司

地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 M·C·瓦尔卡尔斯洛佩兹 T·方

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

专利代理师 徐爱文 武晶晶

(51) Int.Cl.

A61K 31/426 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 3/08 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

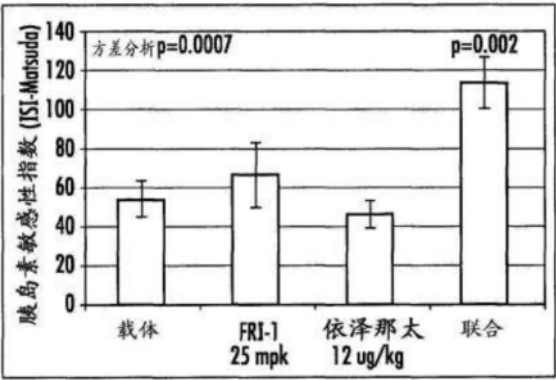
权利要求书1页 说明书13页 附图6页

(54) 发明名称

用于治疗糖尿病的葡萄糖激酶活化剂组合物

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗糖尿病的葡萄糖激酶活化剂组合物。具体地,本发明涉及药物组合物,其包含{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸(FRI-1)联合选自二甲双胍、西格列汀或依泽那太的抗糖尿病药物。本发明还涉及使用所述药物组合物恢复胰岛素敏感性和治疗II型糖尿病,包括降低正在接受II型糖尿病治疗的患者的体重。



1. 药物组合物, 包含:
  - i) 葡萄糖激酶活化剂, 或其可药用盐,
  - ii) 抗糖尿病药物, 选自DPP-IV抑制剂, GLP-1类似物, 或其可药用盐; 和
  - iii) 至少一种可药用载体、赋形剂、稀释剂或其混合物。
2. 权利要求1的组合物, 其中所述葡萄糖激酶活化剂、抗糖尿病药物, 或这两者以亚最佳剂量存在。
3. 权利要求1的组合物, 其中所述葡萄糖激酶活化剂是肝选择性葡萄糖激酶活化剂。
4. 权利要求3的组合物, 其中所述葡萄糖激酶活化剂是 {2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸或其可药用盐。
5. 一种药物组合物在制备用于治疗II型糖尿病的药物中的用途, 所述药物组合物包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。
6. 一种药物组合物在制备用于改善血糖控制的药物中的用途, 所述药物组合物包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。
7. 一种药物组合物在制备用于治疗患者病况的药物中的用途, 所述药物组合物包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物, 其中所述病症选自代谢紊乱、葡萄糖耐受不良、糖尿病前期、胰岛素耐药、高血糖症、葡萄糖耐量不良 (IGT)、X综合症、空腹葡萄糖不良 (IFG)、I型糖尿病、血脂异常、高脂血症、高脂蛋白血症、高血压、骨质疏松、非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)、糖尿病导致的或与糖尿病相关的并发症、心血管疾病和肥胖。
8. 一种药物组合物在制备用于正常化或降低血浆葡萄糖、延迟IGT-II型糖尿病、延迟非胰岛素依赖型II型糖尿病向胰岛素依赖型II型糖尿病的转化、降低食物摄取、调节食欲、调解进食行为、增强肠促胰岛素分泌、改善葡萄糖耐受、降低空腹血糖、降低餐后血糖、降低糖基化血红蛋白HbA1c、减缓糖尿病并发症的进展、延迟或治疗糖尿病并发症、降低体重或预防体重增加、或促进体重减轻、治疗胰腺 $\beta$ 细胞退化、改善和/或恢复胰腺 $\beta$ 细胞功能、刺激和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能、增强葡萄糖的磷酸化、维持胰岛素敏感性、改善胰岛素敏感性、治疗高胰岛素血症、或治疗胰岛素耐受的用途, 所述药物组合物包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。
9. 一种药物组合物在制备用于治疗II型糖尿病的药物中的用途, 所述药物组合物由葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自西格列汀和依泽那太或其可药用盐的抗糖尿病药物组成。
10. 一种药物组合物在制备用于改善血糖控制的药物中的用途, 所述药物组合物由葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自西格列汀和依泽那太或其可药用盐的抗糖尿病药物组成。

## 用于治疗糖尿病的葡萄糖激酶活化剂组合物

[0001] 本申请是申请日为2013年05月15日、申请号为201380024802.X、发明名称为“用于治疗糖尿病的葡萄糖激酶活化剂组合物”的中国专利申请(其对应PCT申请的申请日为2013年05月15日、申请号为(PCT/US2013/041076)的分案申请。

### 发明领域

[0002] 本发明涉及包含{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸(FRI-1)与选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太组合的药物组合物。本发明还涉及使用该药物组合物来恢复胰岛素分泌性,并治疗II型糖尿病,包括降低正接受II型糖尿病治疗的患者的体重。

### 发明背景

[0004] 糖尿病是特征在于以患者的血糖水平升高为表现的受损的葡萄糖代谢紊乱。基于疾病潜在的缺陷,可以将糖尿病分为两种类型。I型糖尿病源于当患者缺乏产生胰岛素的胰岛 $\beta$ 细胞,胰岛素是调节葡萄糖利用的激素。II型糖尿病源于患者的 $\beta$ 细胞功能受损,包括其他异常。在II型糖尿病患者中,血浆胰岛素水平与非糖尿病患者相比相同甚至升高。这样的血浆胰岛素水平在升高时,导致肌肉中胰岛素刺激的葡萄糖社区受损。同样,胰岛素抵抗的脂肪细胞降低了移动脂质和甘油三酯的能力。结果,出现循环中葡萄糖和脂质升高,导致通常与II型糖尿病相关的代谢异常。

[0005] 通常用胰岛素治疗I型患者。而大多数II型患者用磺酰脲或二甲双胍治疗,这些患者逐渐丧失对单一治疗的反映,因此需要多种药物治疗。

[0006] 使血糖水平正常化的一个选择是使用联合治疗。例如,FDA获准的II型糖尿病的联合治疗是使用二肽基肽酶-IV(DPP-IV)抑制剂联合二甲双胍。目前正在研发的另一联合治疗是使用葡萄糖激酶(“CK”)活化剂联合二甲双胍,其公开于W011/149945。

[0007] 对于II型糖尿病的治疗的长期效力受限于所形成的副作用,例如低血糖和治疗中的患者的体重增加。因此,需要有一种治疗II型糖尿病的更好的选择,其包括恢复胰岛素敏感性和/或控制这种治疗中的患者的体重增加。

### 发明概述

[0009] 本发明提供了一种药物组合物,其包含一种或多种葡萄糖激酶活化剂和一种或多种抗糖尿病药物,以及它们在治疗II型糖尿病及其相关症状中的用途。

[0010] 在一个方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含葡萄糖激酶活化剂,或其可药用盐,和选自DPP-IV抑制剂、GLP-1类似物或其可药用盐的抗糖尿病药;和至少一种可药用载体、复兴剂、稀释剂或其混合物。在一些实施方式中,葡萄糖激酶活化剂、抗糖尿病药或这两者以亚最佳剂量存在。

[0011] 所述葡萄糖激酶活化剂可以是肝选择性葡萄糖激酶活化剂。在一些实施方式中,所述葡萄糖激酶活化剂可以是{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-

基硫烷基}-乙酸或其可药用盐。在其他实施方式中,所述抗糖尿病药是西格列汀西格列汀、依泽那太、或其可药用盐。

[0012] 在另一方面,本发明提供了用于治疗II型糖尿病的方法,包括给所述患者给药这样的药物组合物,其包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐。在一些实施方式中,所述葡萄糖激酶活化剂,抗糖尿病药物,或这两者以亚最佳剂量存在。所述葡萄糖激酶活化剂可以是肝选择性葡萄糖激酶活化剂。在一些实施方式中,所述葡萄糖激酶活化剂可以是{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸或其可药用盐。在其他实施方式中,抗糖尿病药物是西格列汀、依泽那太,或其可药用盐。

[0013] 在另一方面,本发明提供了用于改善血糖控制的方法,其包括向患者给药一种药物组合物,其包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐。

[0014] 在另一方面,本发明提供了用于治疗患者病症的方法,包括向患者给药一种药物组合物,其包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐,其中所述病症选自代谢紊乱、葡萄糖耐受不良、糖尿病前期、胰岛素耐药、高血糖症、葡萄糖耐量不良(IGT)、X综合症、空腹葡萄糖降低(IFG)、I型糖尿病、血脂异常、高脂血症、高脂蛋白血症、高血压、骨质疏松、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、糖尿病相关的并发症、心血管疾病和肥胖。

[0015] 在另一方面,本发明提供了用于正常化或降低血糖、延迟IGT发展为II型糖尿病、延迟非胰岛素依赖型II型糖尿病发展为胰岛素依赖型II型糖尿病、降低食物摄取、调节食欲、调解进食行为、增强肠促胰岛素分泌、改善葡萄糖耐受、降低空腹血糖、降低餐后血糖、降低糖基化血红蛋白HbA1c、减缓、延迟或治疗糖尿病并发症、降低体重或预防体重增加、或促进体重减轻、治疗胰腺 $\beta$ 细胞退化、改善和/或恢复胰腺 $\beta$ 细胞功能、刺激和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能、增强葡萄糖的磷酸化、维持胰岛素敏感性、改善胰岛素敏感性、治疗高胰岛素血症、或治疗胰岛素耐受,包括给药患者其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐。

[0016] 下面将描述本发明的其它特征和方面。

## 附图简述

[0018] 图1示出了FRI-1联合二甲双胍对雄性ob/ob小鼠体重降低的协同作用。

[0019] 图2示出了FRI-1联合二甲双胍对雄性ob/ob小鼠血糖和胰岛素的药理学作用。

[0020] 图3示出了通过胰岛素敏感性指数(ISI)测量的FRI-1联合二甲双胍对胰岛素敏感性增加的协同作用。

[0021] 图4示出了FRI-1联合西格列汀对雌性膳食有道德肥胖大鼠体重降低的协同作用。

[0022] 图5示出了FRI-1联合依泽那太对雄性ob/ob小鼠的血浆葡萄糖和胰岛素的药理学作用。

[0023] 图6示出了通过胰岛素敏感性指数(ISI)测量的FRI-1联合依泽那太对胰岛素敏感性增加的协同作用。

## 发明详述

[0025] I定义

[0026] 术语“GK活化剂”指的是敏化葡萄糖激酶(GK)传感系统的一类化合物。GK是属于己糖激酶家族的酶,其催化葡萄糖代谢的第一步,即将葡萄糖转化为葡萄糖-6-磷酸盐。GK用作胰腺和肝脏中的葡萄糖传感器。在一个实施方式中,GK活化剂是肝选择性活化剂,其在葡萄糖存在下不增加胰腺的胰岛素分泌。示例性的GK活化剂包括FRI-1或W005/066145中公开的那些。在一个实施方式中,GK活化剂是FRI-1。

[0027] 术语“FRI-1”代表化学名{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸。如在本文中所用的,FRI-1不限于游离酸,而且还包括FRI-1的可药用盐。在一个实施方式中,FRI-1游离酸。

[0028] 术语“抗糖尿病药物”指的是在文献中提到的药物。如在本文中所用的,抗糖尿病药物包括其可药用盐、前药和抗糖尿病药的前药的可药用盐。落入本发明范围的抗糖尿病药的实例包括:胰岛素、胰岛素敏化剂、增强胰岛素产量的活化剂,磺胺类,双胍类衍生物和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂。胰岛素,例如,是通过重组技术制备的人类胰岛素。胰岛素敏化剂增强胰岛素的作用,包括,例如,PPAR(过氧化物酶体增殖子-活化的受体) $\gamma$ -激动剂,包括噻唑烷二酮衍生物,诸如吡格列酮,曲格列酮,环格列酮,利格列酮,罗格列酮或其他2,4-噻唑烷二酮衍生物。增加胰岛素产量的活化剂包括,例如,DPP-IV抑制剂,诸如西格列汀,维格列, saxagliptin,利格列汀,度格列汀, gemigliptin或阿格列汀;GLP-1类似物,诸如依泽那太, liraglutide,他泊鲁肽,阿比鲁肽,或利司那肽;和ATP-敏感钾通道调节剂,诸如米格列奈,瑞格列奈或那格列胺。磺胺类包括,例如,磺酰脲衍生物,诸如甲苯磺丁脲,氯磺丙脲,妥拉磺脲,醋酸己脲,格列吡嗪,格列齐特,格列美脲,格列喹酮,格列波脲,格列派特,格列本脲,格列生脲,格列索脲,格列丁唑,或格列吡脲。双胍衍生物包括,例如,二甲双胍,丁福明,或苯乙双胍。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂包括,例如,米格列醇,阿卡波糖或伏格列波糖。在一个实施方式中,抗糖尿病药物可包括任何剂型,例如,口服、吸入的或可注射剂型。在另一种实施方式中,抗糖尿病药物是口服剂型。

[0029] 术语“二甲双胍”代表化学名N,N-二甲基酰亚胺二碳亚胺二酰胺。如在本文中所用的,二甲双胍不限于游离碱,还包括二甲双胍的可药用盐。在一个实施方式中,二甲双胍是盐酸二甲双胍。

[0030] 术语“DPP-IV抑制剂”是指抑制二肽基肽酶IV裂解位于蛋白质的N末端部分的二肽的作用的化合物,所述蛋白质具有N末端脯氨酸或丙氨酸残基。在一个实施方式中,DPP-IV抑制剂是西格列汀。

[0031] 术语“西格列汀”代表如下化学名:(3R)-3-氨基-1-[3-(三氟甲基)-5,6,7,8-四氢-5H-[1,2,4-]三唑[4,3-a]吡嗪-7-基]-4-(2,4,5-三氟苯基)丁-1-酮。如在本文中所用的,西格列汀不限于其游离碱,还包括西格列汀的可药用盐,和西格列汀的同分异构体。在一个实施方式中,西格列汀是磷酸西格列汀。

[0032] 术语“GLP-1类似物”是指具有与胰高血糖素样肽-1大约30%-90%,或大约40%-75%的序列相似度的胰高血糖素样肽-1化合物(也称为前胰高血糖素)。GLP-1具有促胰岛素作用,刺激胰岛素从胰腺 $\beta$ 细胞分泌。在一个实施方式中,GLP-1类似物是依泽那太。

[0033] 术语“依泽那太”代表39个氨基酸的肽,其具有如下序列:H-His-Gly-Glu-Gly-

Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser-NH<sub>2</sub> (SEQ. ID.No:1)。如在本文中所用的,依泽那太不限于其游离碱,还包括依泽那太的可药用盐。在一个实施方式中,依泽那太是游离碱。

[0034] 术语“可药用盐”代表那些适合与人体和低等动物组织相接触的盐,其没有过度的毒性、刺激、过敏反应等,并具有相称的合理的利益/风险比。可药用盐包括通过使主要化合物用作碱,与无机或有机酸反应而获得的那些,包括例如:盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、樟脑磺酸、草酸、马来酸、琥珀酸、柠檬酸、加酸、氢溴酸、苯甲酸、酒石酸、马来酸、水杨酸、扁桃酸和碳酸的盐。可药用盐还包括其中所述主要化合物用作酸并与适当的碱反应,以形成例如钠、钾、钙、镁、铵和胆碱盐的那些。本领域技术人员会进一步理解,通过使所述化合物与适当的无机或有机酸通过任意已知的方法反应,可以制备所述化合物的酸加成盐。或者,可以通过使本发明的化合物与适当的碱反应,通过任意已知的多种方法制备碱盐和碱土金属盐。

[0035] 下面是可以通过与无机或有机酸反应获得的酸加成盐的进一步示例:乙酸盐、DIPEAtes、藻酸盐、柠檬酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、二葡萄糖酸盐、环戊丙酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、葡庚酸盐类、甘油磷酸酯类、半硫酸盐、庚酸盐类、己酸盐类、延胡索酸盐类、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、加磺酸盐、烟酸盐、2-萘磺酸盐类、草酸盐、棕榈酸盐、果酸盐、过硫酸盐、3-苯丙酸盐、苦味酸盐类、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐类、甲苯磺酸盐、甲磺酸盐和十一酸盐。在一个实施方式中,所述可药用盐可以是盐酸盐、氢溴酸盐、氢氟酸盐或马来酸盐。

[0036] 术语“联合”指的是在给药一种化合物联合另一种化合物时,该药物组合物不限于,即方法、形式等。例如,在一些实施方式中,FRI-1和抗糖尿病药物以单剂量形式,例如固定剂量组合,共同给药。在其他实施方式中,FRI-1和抗糖尿病药物是分别、离散剂量给药,例如,其一可以是口服剂型而另一个可以是吸入剂型,或相同剂型,或在不同的容器内,例如泡罩包装内。在另一种实施方式中,FRI-1和抗糖尿病药物两者同时给药或间隔大约5分钟、大约15分钟、大约30分钟、大约1小时、大约2小时、大约4小时、大约8小时、大约12小时或大约24小时给药,其中FRI-1的给药早于抗糖尿病药的给药,或反之亦然。

[0037] 术语“治疗”意思是管理或控制疾病、病况或紊乱。这包括缓解、减轻、减缓、改善、延迟、降低、减少、逆转或治愈疾病、紊乱或病况,或其至少一种症状;延迟疾病、病况或紊乱的发作;或延迟疾病、病况或紊乱或其特征性症状的复发,这取决于疾病、紊乱或病况或其特征性症状的性质。

[0038] 术语“患者”是指动物,包括雄性和雌性。在一个实施方式中,患者是哺乳动物。在另一种实施方式中,患者是人。

[0039] 术语“治疗有效”是指活性成分(例如GK活化剂或抗糖尿病药物)引起被研究者、兽医、医生、患者或其他临床医生寻找的组织、系统或受试者的生物或医学反应的量,其包括减轻或缓解被治疗疾病的症状。

[0040] 术语“胰高血糖素控制”是指通过诊断参数或HbA1c和/或FPG测定的糖尿病的管理。患者不充分或不足的血糖控制包括患者的HbA1c基线值大约7.5%-大约15%,约8%-13%,和约9%-12%。在一个实施方式中,无论用还是没有用二甲双胍治疗,患者血糖控制

不充分包括患者的HbA1c基线值为大约7.5%-10%。

[0041] 如在本文中所用的,术语“由……组成”不是一个绝对限制,其包括未引述的成分。典型地,未引述的成分包括通常相关的杂质或与本发明不相关的成分。

[0042] II. 药物组合物

[0043] 在一个实施方式中,本发明提供了包括GK活化剂联合抗糖尿病药物,何至少一种可药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。在一个实施方式中,可药用载体以两种离散形式存在,一个剂型包含GK活化剂而另一剂型包含抗糖尿病药物。在另一种实施方式中,组合的活性成分以单剂型形式组合。在另一实施方式中,所述剂型用于口服使用。在另一种实施方式中,所述药物组合物由GK活化剂和抗糖尿病药物组成。

[0044] 可以根据已知方法制备用于口服使用的组合物,并且这种组合物可包含一种或多种选自如下的药剂:甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂,以便提供药物学上美观并适口的制剂。片剂可以包含与非毒性的、适合用于制备片剂的可药用赋形剂混合的活性成分。这些赋形剂可以是,例如,惰性稀释剂,诸如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;造粒剂和崩解剂,例如,玉米淀粉或海藻酸;粘合剂,例如,淀粉,明胶或阿拉伯胶;和润滑剂,例如,硬脂酸镁,硬脂酸或滑石。

[0045] 在另一种实施方式中,本发明提供了包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太,或其可药用盐。

[0046] 在另一种实施方式中,本发明提供了包含FRI-1或其可药用盐联合二甲双胍或其可药用盐的药物组合物。

[0047] 在另一种实施方式中,本发明提供了包含FRI-1或其可药用盐联合西格列汀或其可药用盐的药物组合物。

[0048] 在另一种实施方式中,本发明提供了包含FRI-1或其可药用盐联合依泽那太或其可药用盐的药物组合物。

[0049] 我们出人意料地发现给药FRI-1联合二甲双胍、西格列汀或依泽那太在有此需要的患者中改善葡萄糖代谢方面发挥了协同作用。在另一种实施方式中,我们出人意料地发现给药FRI-1联合西格列汀在葡萄糖代谢受损的患者控制体重方面具有协同作用。此外,我们出人意料地发现给药FRI-1联合依泽那太在葡萄糖代谢受损的患者中改善胰岛素敏感性方面具有协同作用。另外,我们还出人意料地发现,FRI-1联合二甲双胍在患有葡萄糖代谢受损的患者中控制体重方面和在具有改善的葡萄糖代谢的患者中改善胰岛素敏感性方面都具有协同作用。在一个实施方式中,本发明提供了小剂量的FRI-1或抗糖尿病药物或两者,其中小剂量是指无论FRI-1或抗糖尿病药物对其治疗效果来说都少于最佳剂量的量。在另一种实施方式中,以同时或顺序给药的方式给药小剂量的本发明任一活性成分。

[0050] 药物组合物可以通过本领域技术人员已知的任何方法制备,包括对可药用成分的选择。

[0051] 在一个实施方式中,本发明提供了作为离散固体单位给药的口服剂型的药物组合物,例如,胶囊、片剂、丸剂、粉末剂、颗粒剂等。口服剂型可包括任何可药用载体、稀释剂(诸如蔗糖、甘露醇,乳糖、淀粉)或本领域已知的赋形剂,包括但不限于悬浮剂、增溶剂、缓冲剂、粘合剂、崩解剂、防腐剂、着色剂、矫味剂、润滑剂都可以使用。在一些实施方式中,本发明提供了用于GK活化剂和抗糖尿病药物各自或两者的口服剂型。

[0052] 在另一种实施方式中,本发明提供了液体形式给药的药物组合物口服剂型。示例性的液体口服剂型是水性或非水性溶液、乳液、悬浮液、糖浆和酏剂。这样的剂型可包含本领域已知的合适的惰性稀释剂,诸如水,和本领域已知的合适的赋形剂,诸如防腐剂、湿润剂、甜味剂、矫味剂以及用于乳化和/或悬浮本发明化合物的试剂。

[0053] 在另一实施方式中,本发明提供了药物组合物的可注射剂型,例如,静脉内注射,为等渗无菌溶液形式。在另一实施方式中,本发明提供了GK活化剂和抗糖尿病药物之一或两者的可注射剂型。

[0054] 在另一种实施方式中,本发明提供了药物组合物的可吸入剂型,例如为粉末形式(例如微粉化)或原子化溶液或悬浮液形式。在另一实施方式中,本发明提供了GK活化剂和抗糖尿病药物之一或两者的可吸入剂型。

[0055] 在一些实施方式中,所述药物组合物为包含一种或多种GK活化剂和一种或多种抗糖尿病药的单一剂型。在其他实施方式中,提供了两个或多个剂型,其中至少一个剂型包含一种或多种GK活化剂,而至少另一种剂型包含一种或多种抗糖尿病药物。

[0056] III. 剂量

[0057] 本发明药物组合物的剂量将取决于患者的症状、治疗的期望、年龄和体重,待治疗疾病的性质和严重程度,活性成分的给药途径和药代动力学。给药的频率也将随着治疗期望和所治疗的紊乱而不同。

[0058] 在一个实施方式中,以足以获得治疗效果的量给药GK活化剂联合抗糖尿病药物。GK活化剂的剂量范围在大约1mg-大约1000mg/天。在其他实施方式中,GK活化剂的剂量范围在大约5mg-大约900mg/天,或大约10mg-大约800mg/天,或大约50mg-大约700mg/天,或大约150mg-大约500mg/天,或大约200mg-大约400mg/天。抗糖尿病药的剂量范围在大约0.1 $\mu$ g-大约2000mg/天。在其他实施方式中,抗糖尿病药量的范围从大约0.5 $\mu$ g-大约1000mg/天,或大约1 $\mu$ g-大约750mg/天,或大约5 $\mu$ g-大约500mg/天,或大约20 $\mu$ g-大约250mg/天,或大约100 $\mu$ g-大约100mg/天,或大约500 $\mu$ g-大约10mg/天,或大约1mg-大约5mg/天。

[0059] 在另一个实施方式中,FRI-1的剂量是大约0.05mg/kg体重/天,或大约0.1mg/kg体重/天,或大约0.3mg/kg体重/天,或大约1mg/kg体重/天或大约5mg/kg体重/天,或大约25mg/kg体重/天,或大约100mg/kg体重/天,或大约200mg/kg体重/天或大约500mg/kg体重/天;关于抗糖尿病药物地剂量,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太,是大约0.005mg/kg体重/天,或大约0.01mg/kg体重/天,或大约0.05mg/kg体重/天,或大约0.1mg/kg体重/天,或大约0.3mg/kg体重/天,或大约1mg/kg体重/天或大约5mg/kg体重/天,或大约25mg/kg体重/天,或大约100mg/kg体重/天,或大约200mg/kg体重/天或大约500mg/kg体重/天。本领域技术人员会理解给药剂量可以是可转换的-人等效剂量。

[0060] 二甲双胍是本领域技术人员已知的,可以以单一疗法剂量给药:500mg/天-2550mg/天,典型地以500mg、850mg和1000mg片剂形式。在小剂量的情况下,以亚最佳剂量给药,该亚最佳剂量在二甲双胍作为单一疗法给药时不能提供或仅提供忽略不计的治疗益处。二甲双胍可以是亚最佳剂量,联合GK活化剂,可以提供治疗益处(例如,少于500mg/天)。二甲双胍也可以以最佳剂量给药,联合GK活化剂,提供协同治疗益处。在一些实施方式中,二甲双胍的给药剂量可以是大约100mg-大约2600mg/天,或从大约250mg-大约2500mg/天,或从大约500mg-大约1500mg/天,或从大约250mg-大约1000mg/天,或从大约350mg-大约



850mg/天,或从大约400mg-大约750mg/天。在其他实施方式中,给药剂量二甲双胍是少于500mg/天,例如,100mg,125mg,150mg,175mg,200mg,225mg,250mg,275mg,300mg,325mg,350mg,375mg,400mg,425mg,450mg或475mg/天。

[0061] 西格列汀是本领域技术人员已知的,单一疗法的量可以以100mg/天给药,当患者是中度、重度或终末期肾病患者时,其给药量可以是25mg或50mg/天。在小的、亚最佳剂量,单一疗法情况下西格列汀不能或仅提供忽略不计的治疗益处。西格列汀可以联合GK活化剂以亚最佳剂量给药,提供治疗益处(例如,少于100mg/天是没有肾病的患者的亚最佳剂量,少于25mg/天是肾病患者的亚最佳剂量)。西格列汀还可以联合GK活化剂以最佳剂量给药,一提供协同治疗效果。在一些实施方式中,给药剂量西格列汀的范围从大约0.1mg-大约500mg/天,口服给药。在其他实施方式中,西格列汀的量范围从大约0.25mg-大约400mg/天,或从大约0.5mg-大约250mg/天,或从大约1mg-大约100mg/天,或从大约5mg-大约50mg/天,或从大约10mg-大约25mg/天。在其他实施方式中,西格列汀的量是少于100mg/天,例如,25mg,30mg,35mg,40mg,45mg,50mg,55mg,60mg,65mg,70mg,75mg,80mg,85mg,90mg或95mg/天。在另一个实施方式中,西格列汀的量是少于大约25mg/天,例如,大约0.1mg,0.5mg,1mg,2mg,3mg,4mg,5mg,7.5mg,10mg,12.5mg,15mg,17.5mg,20mg或22.5mg/天。

[0062] 依泽那太是本领域技术人员已知的,单一疗法给药的量可以是10 $\mu$ g-20 $\mu$ g/天或2mg/周。在小的、亚最佳剂量时,单一疗法的依泽那太不能或只能提供忽略不计的治疗益处。依泽那太可以是联合GK活化剂以亚最佳剂量给药,以提供治疗益处(例如,少于500mg/天)。依泽那太也可以联合GK活化剂以最佳剂量给药,以提供协同治疗益处。在一个实施方式中,依泽那太的量是0.1 $\mu$ g-大约100 $\mu$ g/天,皮下给药。在其他实施方式中,依泽那太的量的范围从大约0.25 $\mu$ g-大约75 $\mu$ g/天,从大约0.5 $\mu$ g-大约50 $\mu$ g/天,从大约1 $\mu$ g-大约25 $\mu$ g/天,或从5 $\mu$ g-大约10 $\mu$ g/天。在其他实施方式中,依泽那太的量是少于大约10 $\mu$ g/天,例如,大约0.25 $\mu$ g,0.5 $\mu$ g,1 $\mu$ g,1.5 $\mu$ g,2 $\mu$ g,2.5 $\mu$ g,3 $\mu$ g,3.5 $\mu$ g,4 $\mu$ g,4.5 $\mu$ g,5 $\mu$ g,5.5 $\mu$ g,6 $\mu$ g,6.5 $\mu$ g,7 $\mu$ g,7.5 $\mu$ g,8 $\mu$ g,8.5 $\mu$ g,9 $\mu$ g或9.5 $\mu$ g/天。

#### [0063] IV. 治疗方法

[0064] 在一个实施方式中,本发明提供了治疗患者的方法,包括给有此需要的患者给药包含GK活化剂联合抗糖尿病药的药物组合物用于如下方法:

[0065] (a) 治疗I型和/或II型糖尿病;

[0066] (b) 正常化或降低血糖水平;

[0067] (c) 改善葡萄糖耐量;

[0068] (d) 改善血糖控制;

[0069] (e) 降低空腹血糖;

[0070] (f) 降低餐后血糖;

[0071] (g) 降低糖基化血红蛋白HbA1c;

[0072] (h) 减慢进展、延迟或治疗糖尿病并发症,例如,糖尿病肾病、视网膜病变、神经病或心血管疾病;

[0073] (i) 降低体重或预防体重增加或促进体重减轻;

[0074] (j) 治疗胰腺 $\beta$ 细胞退化;

[0075] (k) 改善和/或恢复胰腺 $\beta$ 细胞功能;

[0076] (l) 刺激和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能;

[0077] (m) 增强葡萄糖磷酸化;或

[0078] (n) 维持和/或改善胰岛素敏感性;和/或治疗高胰岛素血症和/或胰岛素抵抗。

[0079] 在一个实施方式中,本发明提供了用于在患者中正常化血糖水平和改善葡萄糖耐受的方法,包括给药包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。

[0080] 在另一种实施方式中,本发明提供了在患者中改善血糖控制,和/或降低空腹血糖、降低餐后血糖和/或降低糖基化血红蛋白HbA1c的方法,包括给药有此需要的患者包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。在一个实施方式中,该方法在有此需要的患者中降低HbA1c的量至少0.1百分点,或0.2百分点,或0.3百分点,或0.4百分点,或0.5百分点,或0.6百分点,或0.7百分点,或0.8百分点,或0.9百分点,或一个百分点。在另一个实施方式中,该方法在有此需要的患者中降低HbA1c到少于7%。在其他实施方式中,HbA1c水平可以降低到5和6.5%。

[0081] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于在患者中减缓进展、延迟或治疗并发症(例如糖尿病肾病、视网膜病变、神经病或心血管疾病),通过给患者给药包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。

[0082] 在另一实施方式中,本发明提供了在患者中降低体重或预防体重增加或促进体重减轻的方法,包括对患者给药包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。

[0083] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于治疗患者中胰腺 $\beta$ 细胞退化,和/或改善和/或恢复胰腺 $\beta$ 细胞功能,和/或刺激和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能的方法,包括对患者给药包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。

[0084] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于在患者中维持和/或改善胰岛素敏感性;和/或治疗高胰岛素血症和/或胰岛素抵抗的方法,包括对患者给药包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。在另一实施方式中,本发明提供了用于降低胰岛素每天的给药剂量的方法,包括对患者给药包含FRI-1或其可药用盐联合抗糖尿病药物的药物组合物,其中抗糖尿病药物选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太或其可药用盐。

[0085] 在另一实施方式中,本发明提供了用于治疗患者的病况的方法,包括对患者给药GK活化剂联合抗糖尿病药物,其中所述病况是selected:代谢性疾病(包括代谢综合征),葡萄糖耐受不良,糖尿病前期,胰岛素抵抗,血糖降低,高血糖,葡萄糖耐量受损(IGT),X综合征,空腹血糖不良(IFG),II型糖尿病,I型糖尿病,延迟IGT-II型糖尿病,延迟非胰岛素依赖型糖尿病向胰岛素依赖型II型糖尿病进展,血脂异常,高脂血症,高脂蛋白血症,高血压,骨质疏松,非酒精型脂肪肝病(NAFD),糖尿病导致或相关并发症,(包括肾病、视网膜病变、神经病、伤口愈合不良)、心血管疾病(包括动脉硬化,动脉粥样硬化),降低食物摄取,调节食欲、肥胖、调解进食行为、和增强肠促胰岛素的分泌。

[0086] 在另一实施方式中,II型糖尿病的治疗包括给药小剂量,即,少于GK活化剂或抗糖尿病药物之一或both的最佳剂量,直到获得治疗效果。当单独给药时GK活化剂或抗糖尿病药物任一都只能提供忽略不计的治疗益处。在另一实施方式中,GK活化剂联合抗糖尿病药物是同时或顺序给药,以获得所需的治疗效果。

[0087] 在其他实施方式中,本发明提供了用于本文所述治疗的方法,作为II型糖尿病或I型糖尿病患者的饮食和运动的辅助。

[0088] 本发明将参考以下非限制性实施例进行详细描述。

[0089] 本发明提供了包括但不限于以下实施方式:

[0090] 1. 药物组合物,包含:

[0091] i) 葡萄糖激酶活化剂,或其可药用盐,

[0092] ii) 抗糖尿病药物,选自DPP-IV抑制剂,GLP-1类似物,或其可药用盐;和

[0093] iii) 至少一种可药用载体、赋形剂、稀释剂或其混合物。

[0094] 2. 实施方式1的组合物,其中所述葡萄糖激酶活化剂、抗糖尿病药物,或这两者以亚最佳剂量存在。

[0095] 3. 实施方式1的组合物,其中所述葡萄糖激酶活化剂是肝选择性葡萄糖激酶活化剂。

[0096] 4. 实施方式3的组合物,其中所述葡萄糖激酶活化剂是{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸或其可药用盐。

[0097] 5. 实施方式1的组合物,其中抗糖尿病药物是西格列汀或其可药用盐。

[0098] 6. 实施方式1的组合物,其中抗糖尿病药物是依泽那太或其可药用盐。

[0099] 7. 治疗II型糖尿病的方法,包括向患者给药一种药物组合物,其包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐。

[0100] 8. 实施方式7的方法,其中所述葡萄糖激酶活化剂、抗糖尿病药物,或这两者以亚最佳剂量存在。

[0101] 9. 实施方式7的方法,其中所述葡萄糖激酶活化剂是肝选择性葡萄糖激酶活化剂。

[0102] 10. 实施方式9的方法,其中所述葡萄糖激酶活化剂是{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸或其可药用盐。

[0103] 11. 实施方式7的方法,其中抗糖尿病药物是西格列汀或其可药用盐。

[0104] 12. 实施方式7的方法,其中抗糖尿病药物是依泽那太或其可药用盐。

[0105] 13. 改善血糖控制的方法,包括向患者给药一种药物组合物,其包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐。

[0106] 14. 实施方式13的方法,其中所述葡萄糖激酶活化剂、抗糖尿病药物,或这两者以亚最佳剂量存在。

[0107] 15. 实施方式13的方法,其中所述葡萄糖激酶活化剂是肝选择性葡萄糖激酶活化剂。

[0108] 16. 实施方式15的方法,其中所述葡萄糖激酶活化剂是{2-[3-环己基-3-(反式-4-丙氧基-环己基)-脲基]-噻唑-5-基硫烷基}-乙酸或其可药用盐。

[0109] 17. 实施方式13的方法,其中抗糖尿病药物是西格列汀或其可药用盐。

[0110] 18. 实施方式13的方法,其中抗糖尿病药物是依泽那太或其可药用盐。

[0111] 19. 治疗患者病况的方法, 包括向患者给药一种药物组合物, 其包含葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐, 其中所述病症选自代谢紊乱、葡萄糖耐受不良、糖尿病前期、胰岛素耐药、高血糖症、葡萄糖耐量不良(IGT)、X综合症、空腹葡萄糖降低(IFG)、I型糖尿病、血脂异常、高脂血症、高脂蛋白血症、高血压、骨质疏松、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、糖尿病相关的并发症、心血管疾病和肥胖、血脂异常、高脂血症、高血压、骨质疏松症、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、糖尿病导致的或与糖尿病相关的并发症、心血管疾病和肥胖。

[0112] 20. 实施方式19的方法, 其中i) 糖尿病导致的或与糖尿病相关的并发症选自肾病、视网膜病变、神经病和伤口愈合不良或ii) 心血管疾病, 选自动脉硬化和动脉粥样硬化。

[0113] 21. 一种方法, 用于正常化或降低血浆葡萄糖、延迟IGT-II型糖尿病、延迟非胰岛素依赖型II型糖尿病向胰岛素依赖型II型糖尿病的转化、降低食物摄取、调节食欲、调解进食行为、增强肠促胰岛素分泌、改善葡萄糖耐受、降低空腹血糖、降低餐后血糖、降低糖基化血红蛋白HbA1c、减缓、延迟或治疗糖尿病并发症、降低体重或预防体重增加、或促进体重减轻、治疗胰腺 $\beta$ 细胞退化、改善和/或恢复胰腺 $\beta$ 细胞功能、刺激和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能、增强葡萄糖的磷酸化、维持胰岛素敏感性、改善胰岛素敏感性、治疗高胰岛素血症、或治疗胰岛素耐受, 包括给药患者其可药用盐和选自DPP-IV抑制剂和GLP-1类似物的抗糖尿病药物或其可药用盐。

[0114] 22. 治疗II型糖尿病的方法, 包括向患者给药药物组合物, 其由葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自西格列汀和依泽那太或其可药用盐的抗糖尿病药物组成。

[0115] 23. 改善血糖控制的方法, 其由如下步骤组成: 向患者给药一种药物组合物, 其由葡萄糖激酶活化剂或其可药用盐和选自西格列汀和依泽那太或其可药用盐的抗糖尿病药物组成。

#### [0116] 药理学

[0117] 研究了GK活化剂联合二甲双胍、西格列汀或依泽那太对体内模型, 例如ob/ob小鼠的不同功能性终点, 例如, 体重、食物摄取、葡萄糖耐量、空腹或进食血浆葡萄糖、血浆胰岛素或胰岛素敏感度指数, II型糖尿病的相关遗传机制。

[0118] 50只雄性ob/ob小鼠(约6周龄)获自Charles River, 意大利。小鼠单独饲养在聚丙烯笼子内, 全部时间可以自由获取标准膳食(Harlan Teklad Global 2018膳食)和自来水。所有动物保持在 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 和 $55 \pm 20\%$ 湿度, 反向16h/8h明暗周期(光照期约从17:30-9:30h)。

[0119] 让动物适应动物设施两周。接下来的一周(即第3周)开始每天的动物处理方案(处理动物好像它们被给药一样, 但实际上并没有被称重或给药)。接下来的一周, 开始长处理方案, 在基线期(第-6-0天), 口服给予动物载体, 每天一次, 共7天, 即, 在将动物收集到动物设施后3周开始给药。给药开始于每天的08:45, 从而大约一半的动物在关灯之前给药, 而另一半在关灯之后(09:30)给药。记录每天的体重、食物和水的摄取。在基线期(第6天), 从动物的侧尾静脉抽取血液(20 $\mu\text{L}$ ), 将样本放入涂敷锂肝素的试管(Sarstedt CB300LH), 即, 从自由进食的动物抽取样本。在大约16:00-定时方案, 开始抽血, 在每只动物抽取样本后立即移走食物。接下来的早晨, 之前的抽样后16小时, 再从侧尾静脉抽取血样(禁食)(20 $\mu\text{L}$ ), 放入涂敷有锂肝素的收集管中(Sarstedt CB300LH)。在抽去血样和给药后立即将食物放回给

动物。在收集后立即离心旋转所有血样,并在使用商购试剂盒和试剂:Alpco小鼠超敏胰岛素试剂盒80-INSMU-E10;Thermo Scientific Infinity葡萄糖reagent TR15421测定血浆葡萄糖(双份重复)和胰岛素(单份重复)之前,将血浆部分冻存(-80℃),

[0120] 之后,继续基线治疗。在基线期结束时,根据基础体重、基线食物uhe水的摄取、空腹血糖和胰岛素来将动物分配到六个治疗组。小鼠每天口服给药,(在第一次给药时约10周龄)共14天,分别以载体或或测试药物,详见下表1。

[0121] 表1:

[0122]	组别	治疗 (po; qd)	n
	A	载体	8
	B	FRI-1 (25 mg/kg, 口服)	8
	C	FRI-1 (75 mg/kg, 口服)	8
	D	二甲双胍 (100 mg/kg, 口服)	9
	E	FRI-1 (25 mg/kg, 口服) + 二甲双胍 (100 mg/kg, 口服)	8
	F	FRI-1 (75 mg/kg, 口服) + 二甲双胍 (100 mg/kg, 口服)	8

[0123] 所有治疗都是通过强伺法经口服给药,一天一次。在治疗期间,记录给药期间每天的食物摄取,水摄取和体重。在完成给药后,检查动物,并记录任何明显的行为。所有组每天都是在大约08:45开始给药。在第6和7天,如前面所述基线期一样收集血样。因此,在第6天16:00喂食状态下抽取动物血样。之后从每只动物处取走食物。次日早晨,再抽取血样(空腹)。这次血样的抽取定时在前次抽取后的16小时。再将食物拿回给动物并给药。在每一情况下,抽取约20μL放入到涂敷锂肝素的试管中(Sarstedt Microvette CB300LH)。每个样本立即离心并将血浆分配到等份试管中。所有血浆样本冷冻在-80℃,之后用于使用商购试剂盒和试剂:Alpco小鼠超敏胰岛素试剂盒80-INSMU-E10;Thermo Scientific Infinity葡萄糖reagent TR15421进行葡萄糖(n=2)和胰岛素(n=1)含量分析。

[0124] 在第13天,如前所述,在自由进食的状态(在16:00)抽取动物血样,并在取样后立即取走食物。在第14天,对小鼠进行OGTT。给每只动物给药载体或测试化合物,并在60分钟后给药D-葡萄糖(2g/kg,口服)。在给药化合物之前即刻(B1)和给葡萄糖负荷之前即刻(B2)抽取基线血样。在给药葡萄糖之后的10、20、30、45、60和120分钟再抽取血样。所有血样(均大约20μL)均从尾静脉抽取。抽取的血样放入锂肝素化(Sarstedt Microvette CB300LH)并通过离心分离血浆。所有血浆样品冷冻在-80℃,之后用于使用商购试剂盒和试剂:Alpco小鼠超敏胰岛素试剂盒80-INSMU-E10;Thermo Scientific Infinity葡萄糖reagent TR15421分析葡萄糖(n=2)和胰岛素(n=1)含量。在完成OGTT之后处死动物。

[0125] 与评估二甲双胍类似的方法评估依泽那太。

[0126] 在雌性膳食诱导的肥胖大鼠中进行有或没有西格列汀的FRI-1评价。68只膳食诱

导的肥胖雌性Wistar大鼠(重量范围250-300g)获自Charles River(Margate,Kent),并成对圈养在具有实体地板和锯末铺垫的聚丙烯笼子内,温度 $21 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ,湿度 $55 \pm 20\%$ 。动物保持在反向光-暗周期(从9:30-17:30关灯8小时),在这段时间用红光照明房间。动物在所有时间都可以自由获取粉末化的高脂膳食(VRF1加20%猪油)、碎巧克力、碎花生和自来水。在具有铝盖的分别的玻璃喂食罐(Solmedia Laboratory Suppliers,Romford,Essex)中包含不同的三种膳食。每个盖子具有切开的孔,允许自由获取食物。动物成对圈养14周,用于诱导肥胖。用于大鼠的其他实验程序与ob/ob小鼠类似。

[0127] 药物和给药

[0128] 基线期前5天给动物给予1%羧甲基纤维素载体。在基线期的最后两天给动物20%在蒸馏水中的月桂酸聚乙二醇甘油酯(gelucire)

[0129] (Gattefosse;批次103201)。拿到FRI-1后立即在干燥剂存在下冷冻保存直到使用。二甲双胍获自Sigma(目录#D150959;批次BCBF1484V)。依泽那太获自American Peptide(目录#46-3-12B;批次Y10049A1)。磷酸西格列汀获自Tocris Cookson,UK(批次TCS9133B)。将适当提及的载体(20%蒸馏水中的月桂酸聚乙二醇甘油酯)直接加到含有称重的药物材料的小瓶中。将化合物涡旋10秒并在室温下给药。作为单剂大丸剂给予药物混合物(即,组E和F)。将适当体积的载体(20%蒸馏水中的月桂酸聚乙二醇甘油酯)直接加入包含称重量的FRI-1和二甲双胍的小瓶中。将所得配方涡旋10秒并在室温下给药。每天在每次给药前即刻配制药剂,并使用2.5mL/kg的剂量体积给药。以2.5mL/kg给药D-葡萄糖。

[0130] 数据分析

[0131] 通过协方差分析来确定整个体重增加和每周体重增加(g),以第1天的体重作为协变量。通过协方差分析来确定食物和累积食物摄取(g),以基线期(第-6至0天)的平均食物摄取/天作为协变量。使用相同的方法确定平均食物摄取。通过稳健回归模型,使用M估计和Huber加权,使用缺省参数 $c=1.345$ 来确定水的摄取(g)。处理模型作为因素,将基线期(第-6至0天)平均每天的水摄取量作为协变量。使用相同的方法分析平均水摄取量。对载体组的多重比较通过:对FRI-1用Williams' 试验,对二甲双胍用多重试验,和对联合FRI-1和二甲双胍用Dunnett's 检验。通过Williams' 检验来进行FRI-1联合二甲双胍与二甲双胍单独的比较,通过多重检验来分析FRI-1单独的情况。血浆葡萄糖和胰岛素数据通过稳健回归来分析,以治疗作为因素和出血命令(bleeding order),基础体重,血浆葡萄糖和胰岛素作为协变量,然后通过适当的比较(双侧检验)来确定与对照组之间差异的显著性。统计方法假定在组间为正态分布,具有相等的方差。初始Shapiro-Wilk检验用于显示log(葡萄糖)和log(胰岛素)的残差的正态性比葡萄糖和胰岛素更正态分布,所以使用对数变换。然而,一些Shapiro-Wilk检验是显著的,所以使用稳健回归-除权这些变量分析中任何可能的极端值。

[0132] 对于OGTT,在每次给药后时间比较各治疗组并分别计算的曲线下面积(AUC),0-60分钟和0-120分钟(分别为 $\text{AUC}_{60\text{min}}$ 和 $\text{AUC}_{120\text{min}}$ )。

[0133] 计算如下:

$$[0134] \quad \text{AUC}_{120\text{min}} = 1/24 (2t_{0\text{min}} + 4t_{10\text{min}} + 4t_{20\text{min}} + 5t_{30\text{min}} + 6t_{45\text{min}} + 15t_{60\text{min}} + 12t_{120\text{min}})$$

$$[0135] \quad \text{AUC}_{60\text{min}} = \text{AUC}_{120\text{min}} - 1/2 (t_{60\text{min}} + t_{120\text{min}})$$

[0136] 上述B2基线的AUCs ( $\text{AUC}_{\text{B2}}$ ) 计算为 $\text{AUC}_{120\text{min}} - 2t_{0\text{h}}$ 和 $\text{AUC}_{60\text{min}} - t_{0\text{h}}$ 。在上面的等式中,t代表在特定时间葡萄糖或胰岛素的浓度用下标表示。使用对数变换,除了AUCBs,其可以是

负数,所以这些没有变换。使用M估计、Huber加权、使用缺省参数 $c=1.345$ ,通过稳健回归模型来进行OGTT分析。所述模型包括治疗和分析天作为因素和流血命令,第1天体重和第5天(禁食)基线血浆log(葡萄糖)或log(胰岛素)作为协变量。对于AUCBs,非变换的第5天葡萄糖或胰岛素用作协变量,而不是log(葡萄糖)或log(胰岛素)。第7天的禁食血浆葡萄糖和胰岛素数据是log变换,并通过稳健回归,以治疗作为因素和流血命令来进行分析,第1天的体重和第5天(禁食)基线血浆log(葡萄糖)或log(胰岛素)作为协变量。第6天和第13周的未禁食血浆葡萄糖和胰岛素数据是log变换的,并通过稳健回归,以治疗作为因素和流血命令来进行分析。第1天的体重和第6天(未禁食)基线血浆log(葡萄糖)或log(胰岛素)作为协变量。对载体的比较是:Williams' 检验用于FRI-1,多重t检验用于二甲双胍和Dunnett's 检验用于其联合。比较联合治疗-二甲双胍使用Williams' 检验,相同剂量的FRI-1使用多重t检验。 $P<0.05$ 为接受的统计学差异的水平。每次对于每一种化合物的假阳性率是5%。作为双侧检验来进行测试。

[0137] 用FRI-1/二甲双胍联合的体重研究的结果

[0138] 长期给药FRI-1和二甲双胍对控制雄性ob/ob小鼠的体重显示了协同作用,如图1所示。用FRI-1 (75mg/kg,口服)和二甲双胍(100mg/kg,口服)联合每天一次,与载体对照组之相比,在研究的第9、10、12、13和14天体重明显下降( $p>0.05$ )。在研究的给药期间,没有其他药物对体重有统计学显著的作用。

[0139] 研究FRI-1/二甲双胍联合对血浆胰岛素的作用

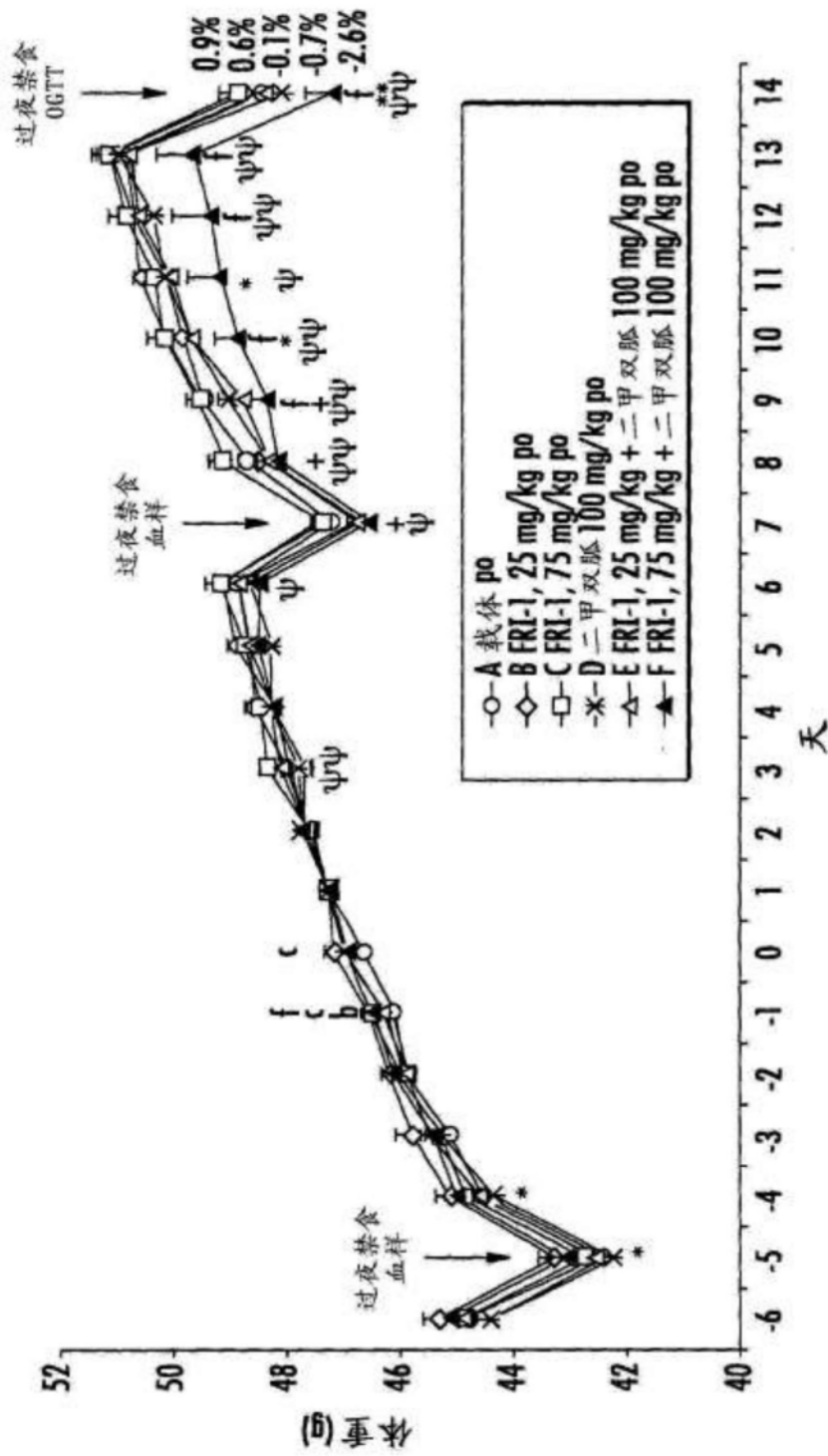
[0140] 对自由进食的ob/ob小鼠测定其血浆胰岛素。图2和3显示了长期给药FRI-1和二甲双胍对增加胰岛素敏感性的协同作用。在载体治疗组,在第13天,血浆胰岛素从基线水平约110ng/mL增加到180ng/mL。高剂量的FRI-1和二甲双胍联合对血浆胰岛素具有明显作用。具体来说,该联合治疗明显降低了第6天( $p>0.05$ )和第13天( $p<0.001$ )的血浆胰岛素。在第13天,胰岛素的这个下降不仅仅在水平方面明显不同于用载体治疗的对照组,而且也不同于单独用75mg/kg FRI-1( $p<0.01$ )或二甲双胍( $p<0.001$ )治疗的组。

[0141] 研究FRI-1/西格列汀联合对体重的影响

[0142] 长期给药FRI-1和西格列汀对控制雌性膳食诱导的肥胖大鼠具有协同作用,如图4所示。

[0143] 研究用FRI-1/依泽那太联合对血浆胰岛素的结果

[0144] 在ob/ob小鼠中长期给药FRI-1和依泽那太显示对增加胰岛素敏感性具有协同作用,如图5和6所示。与载体组相比,在第7天,观察到依泽那太和依泽那太加上FRI-1 (25mg/kg,口服)联合对降低血浆葡萄糖的小但是明显的作用。与载体组相比,在第7天,依泽那太和依泽那太联合两种剂量的FRI-1 (25mg/kg,口服)对于降低血浆胰岛素都观察到了明显的作用。在第14天,额外的统计学比较表明两种联合降低血浆胰岛素的作用明显大于单独使用任一剂量的FRI-1。

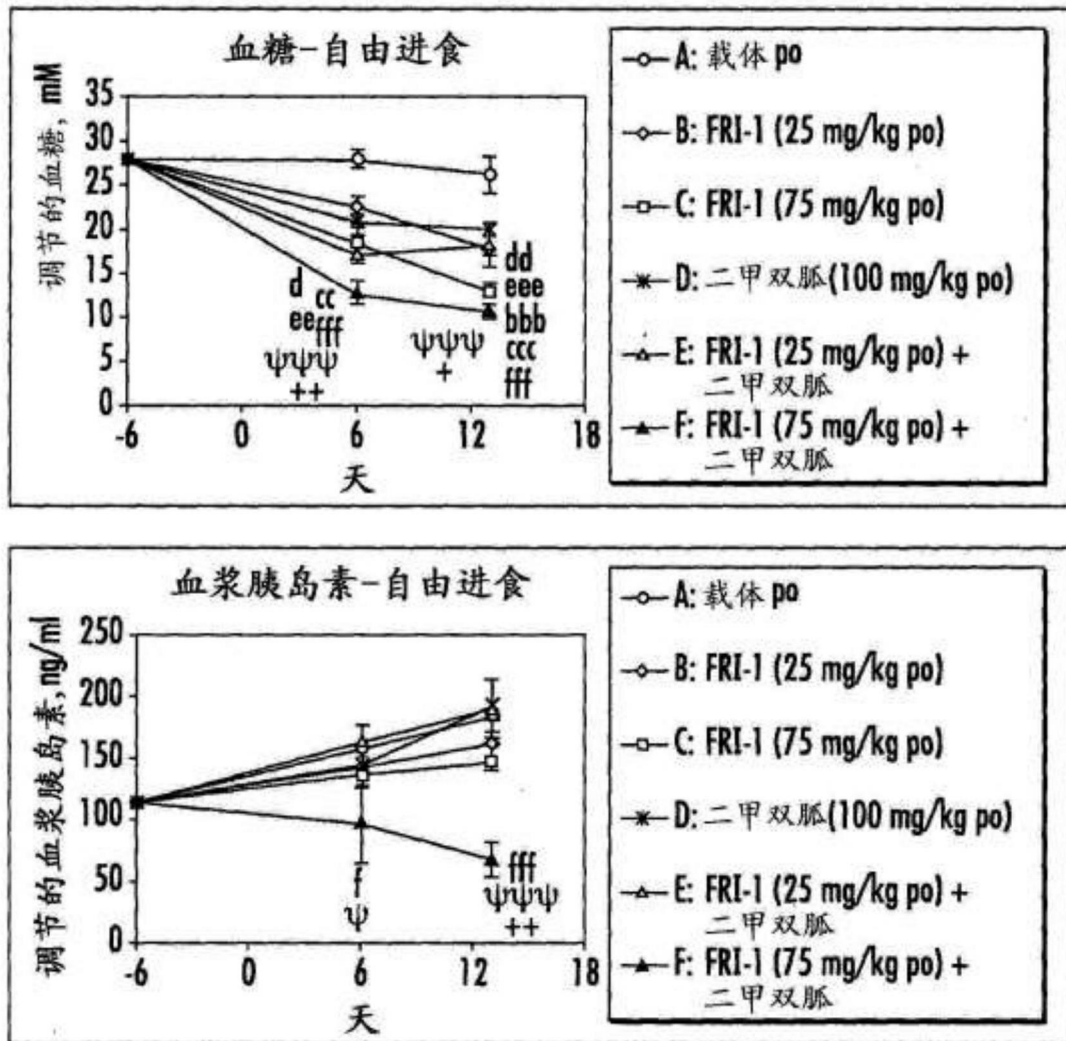


右侧的数字%表示第14天与载体组的差异

f, 组 F vs A,  $p<0.05$ ; c, 组 C vs A,  $p<0.05$ ; b, 组 B vs A,  $p<0.05$ ; \*, 组 F vs D,  $p<0.01$ ;  $\psi$ , 组 F vs C,  $p<0.05$ ;  $\psi\psi$ , 组 F vs C,  $p<0.01$ ; +, 组 E vs B,  $p<0.05$ .

图1





b, 组 B vs A; c, 组 C vs A; d, 组 D vs A; e, 组 E vs A; f, 组 F vs A;  $\psi$ , 组 F vs D; +, 组 F vs C.

1个符号,  $p < 0.05$ ; 2个符号,  $p < 0.01$ ; 3个符号,  $p < 0.001$ .

图2

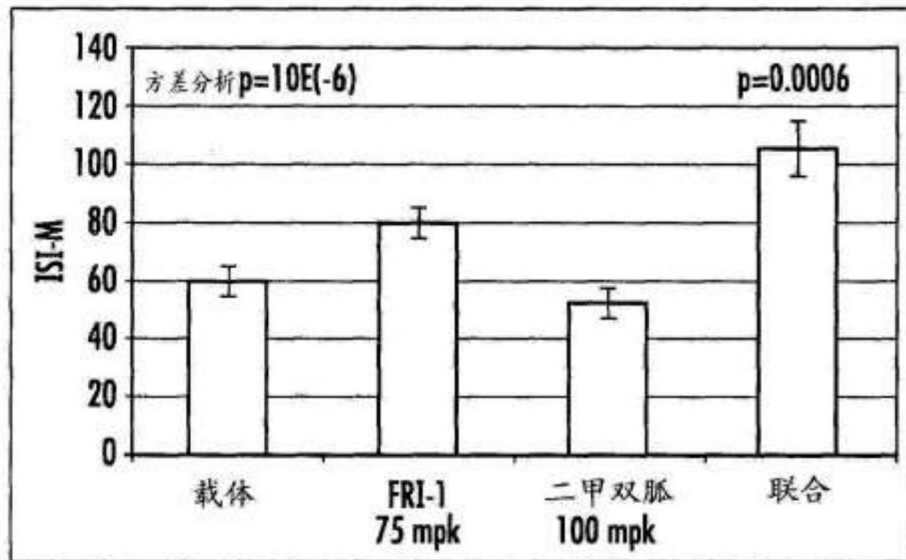


图3

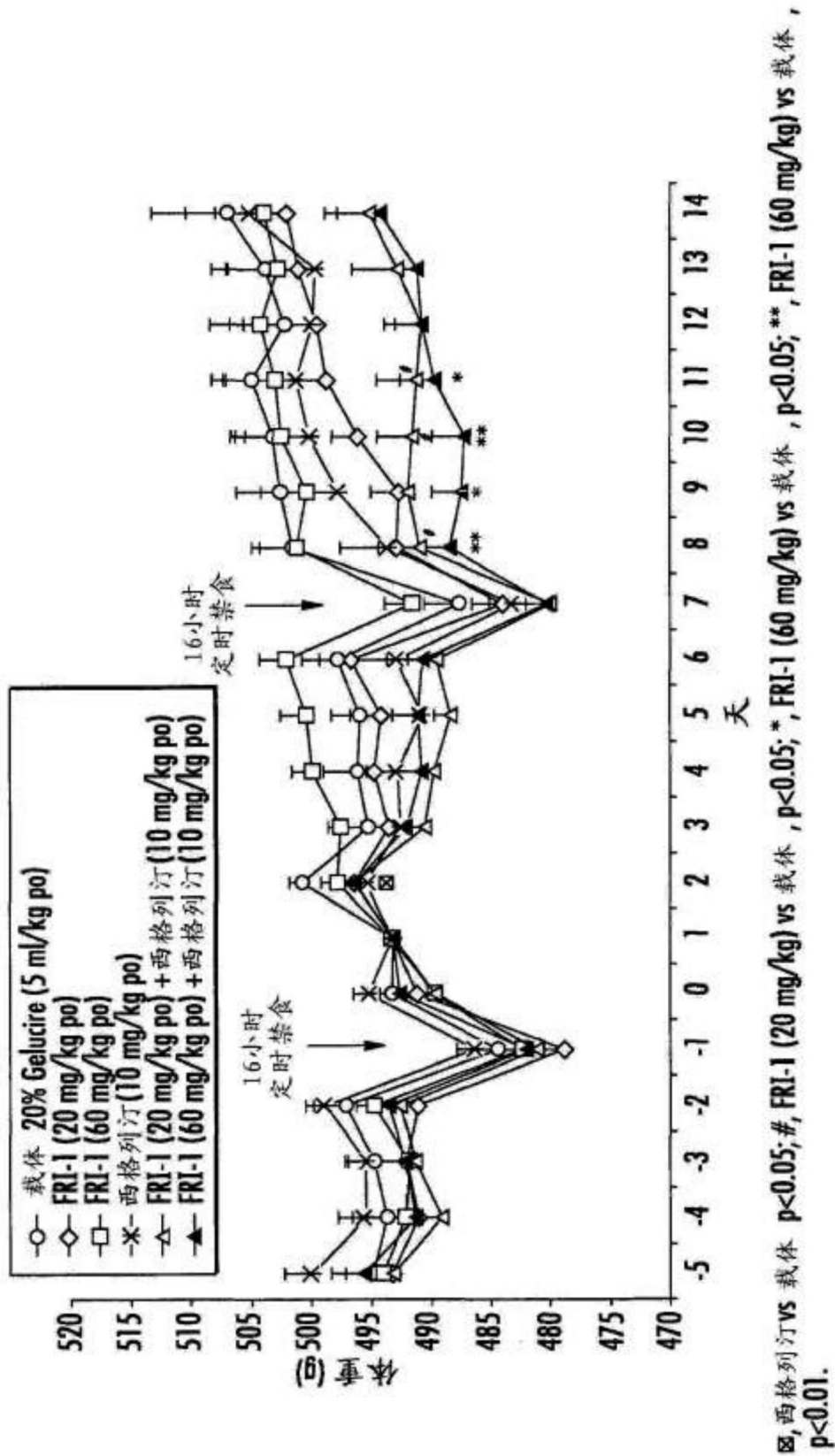
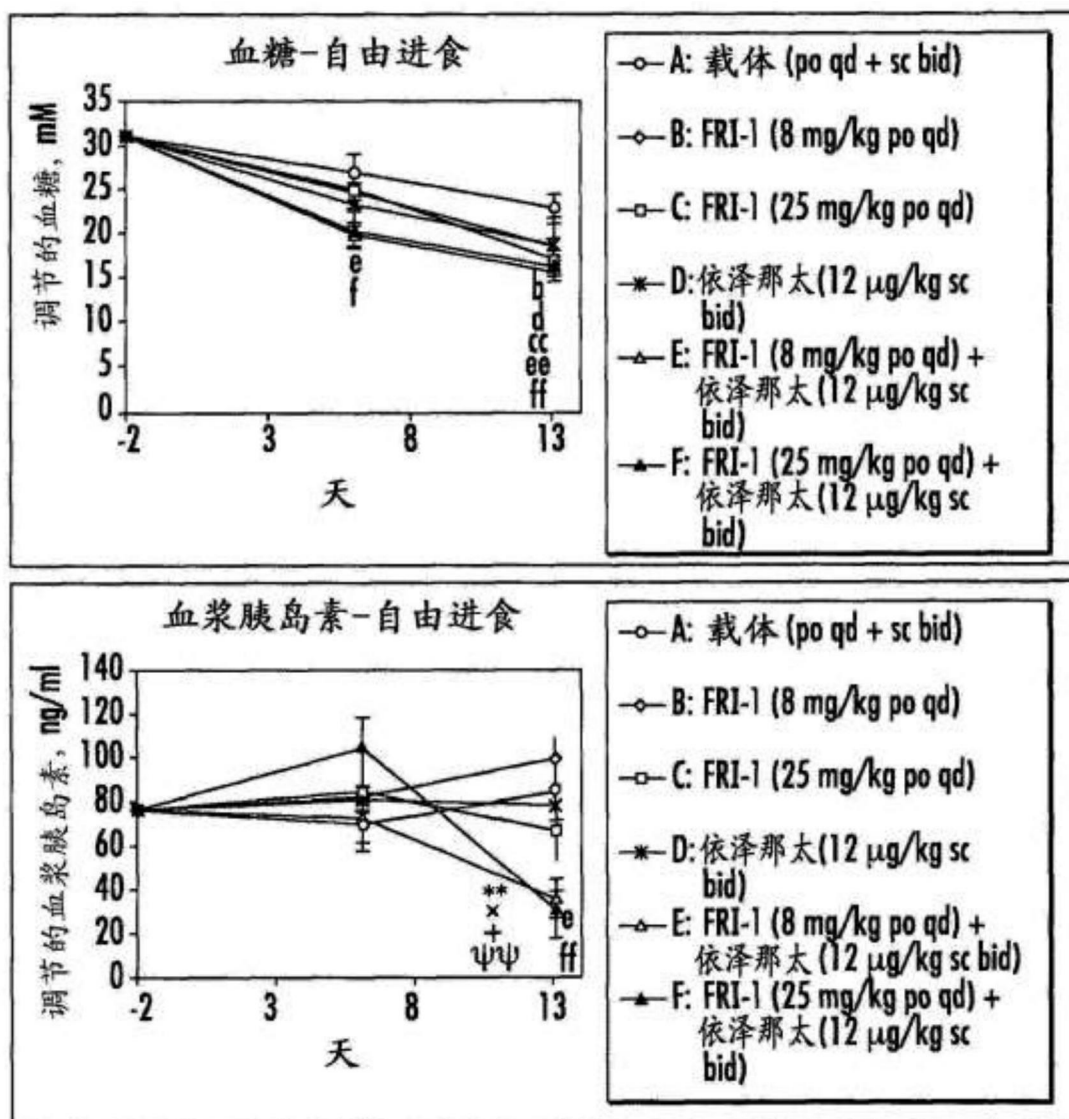


图4



b, 组 B vs A; c, 组 C vs A; d, 组 D vs A; e, 组 E vs A; f, 组 F vs A;  
 $\psi$ , 组 F vs D; +, 组 F vs C; \*, 组 E vs B; x, 组 E vs D.

1个符号,  $p < 0.05$ ; 2个符号,  $p < 0.01$ ; 3个符号,  $p < 0.001$ .

图5

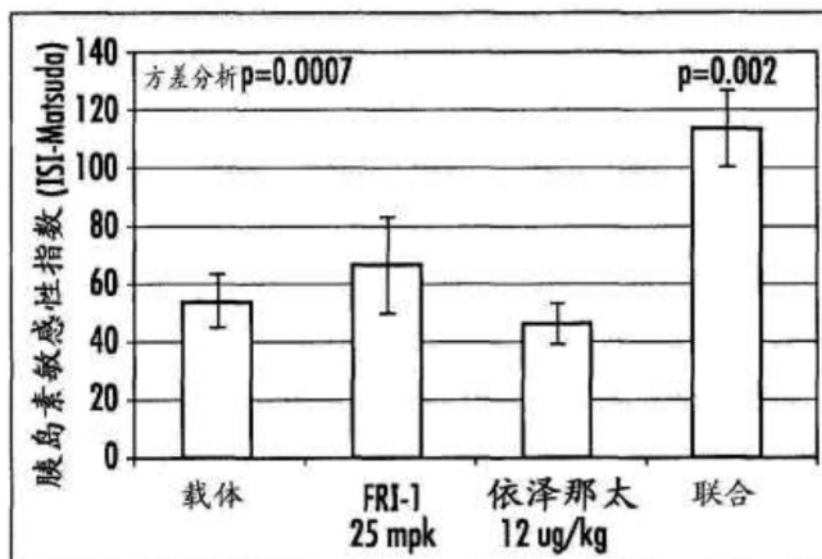


图6