



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104349790 A

(43) 申请公布日 2015. 02. 11

(21) 申请号 201380024802. X

A61K 31/426 (2006. 01)

(22) 申请日 2013. 05. 15

A61K 31/4985 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 3/06 (2006. 01)

61/648, 110 2012. 05. 17 US

A61P 3/10 (2006. 01)

A61P 9/10 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 9/12 (2006. 01)

2014. 11. 12

A61P 3/04 (2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/041076 2013. 05. 15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/173417 EN 2013. 11. 21

(71) 申请人 转化技术制药有限责任公司

地址 美国北卡罗来纳

(72) 发明人 M·C·瓦尔卡尔斯洛佩兹 T·方

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 焦丽雅

(51) Int. Cl.

A61K 38/26 (2006. 01)

A61K 45/06 (2006. 01)

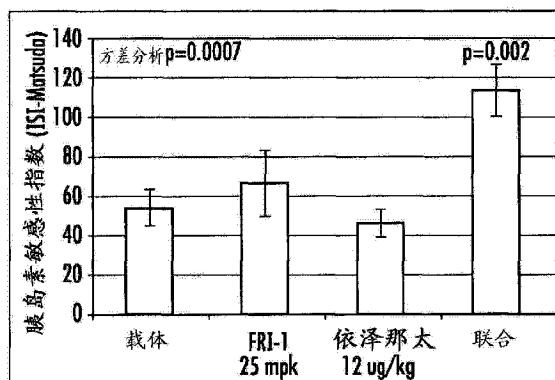
权利要求书2页 说明书12页 附图6页

(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. 权利要求 1 的组合物, 其中抗糖尿病药物是西格列汀或其可药用盐。
6. 权利要求 1 的组合物, 其中抗糖尿病药物是依泽那太或其可药用盐。
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 类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。
8. 权利要求 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。
9. 权利要求 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。
10. 权利要求 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。
11. 权利要求 7 的方法, 其中抗糖尿病药物是西格列汀或其可药用盐。
12. 权利要求 7 的方法, 其中抗糖尿病药物是依泽那太或其可药用盐。
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 类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。
14. 权利要求 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。
15. 权利要求 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。
16. 权利要求 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。
17. 权利要求 13 的方法, 其中抗糖尿病药物是西格列汀或其可药用盐。
18. 权利要求 13 的方法, 其中抗糖尿病药物是依泽那太或其可药用盐。
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。
20. 权利要求 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, 其选自动脉硬化和动脉粥样硬化。
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 β 细胞退化、改善和 / 或恢复胰腺 β 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,该方法包括给药患者药物组合物,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 类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。

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。

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。

用于治疗糖尿病的葡萄糖激酶活化剂组合物

发明领域

[0001] 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 (sulfanyl)}- 乙酸 (FRI-1) 与选自二甲双胍、西格列汀和依泽那太联合的药物组合物。本发明还涉及使用该药物组合物来恢复胰岛素敏感性,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。

[0002] 发明背景

[0003] 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 β 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 β 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摄取受损。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。

[0004] 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应,因此需要多种药物治疗。

[0005] 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。

[0006] 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。

[0007] 发明概述

[0008] 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。

[0009] 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、赋形剂、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。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。

[0010] 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 类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。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。

[0011] 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 类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。

[0012] 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、空腹葡萄糖受损 (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、非酒精性脂肪肝疾病 (NAFLD)、糖尿病导致的并发症或糖尿病相关的并发症、心血管疾病和肥胖。

[0013] 在另一方面,本发明提供了一种方法,其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、改善葡萄糖耐量、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 β 细胞退化、改善和 / 或恢复胰腺 β 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 类似物或其可药用盐的抗糖尿病药物。

[0014] 下面将描述本发明的其它特征和方面。

[0015] 附图简述

[0016] 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。

[0017] 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。

[0018] 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。

[0019] 图 4 示出了 FRI-1 联合西格列汀对雌性膳食诱导的肥胖大鼠体重降低的协同作用。

[0020] 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。

[0021] 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

[0022] 发明详述

[0023] I 定义

[0024] 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。

[0025] 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 是游离酸。

[0026] 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 α -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) γ -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, 维格列汀, saxaglipotin, 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。 α -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。

[0027] 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。

[0028] 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。

[0029] 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。

[0030] 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 β 细胞分泌。在一个实施方式中, GLP-1 类似物是依泽那太。

[0031] 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-Pro-Ser-NH₂ (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。

[0032] 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体化合物用作碱, 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、甲酸、氢溴酸、苯甲酸、酒石酸、富马酸、水杨酸、扁桃酸和碳酸的盐。可药用盐还包括其中所述主体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。

[0033] 下面是可以通过与无机或有机酸反应获得的酸式盐的进一步示例:乙酸盐、DIPEA盐、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、甲磺酸盐、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。

[0034] 术语“联合”指的是给药一种化合物联合另一种化合物,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、离散剂型给药,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 小时顺序给药,其中 FRI-1 的给药早于抗糖尿病药的给药,或反之亦然。

[0035] 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、延迟、降低、逆转或改善疾病、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。

[0036] 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。

[0037] 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。

[0038] 术语“血糖控制”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,患者血糖控制不充分包括尽管用二甲双胍治疗,患者的 HbA1c 基线值仍为大约 7.5% - 10%。

[0039] 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。

[0040] II. 药物组合物

[0041] 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,和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剂

型存在,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,联合的活性成分以单剂型形式联合。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。

[0042] 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。

[0043] 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。

[0044] 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。

[0045] 在另一种实施方式中,本发明提供了包含 FRI-1 或其可药用盐联合西格列汀或其可药用盐的药物组合物。

[0046] 在另一种实施方式中,本发明提供了包含 FRI-1 或其可药用盐联合依泽那太或其可药用盐的药物组合物。

[0047] 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。

[0048] 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。

[0049] 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。

[0050] 在另一种实施方式中,本发明提供了液体形式口服剂型给药的药物组合物。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。

[0051] 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。

[0052] 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)或雾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。

[0053] 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。

[0054] III. 剂量

[0055] 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而变。给药的频率也将随着治疗期望和所治疗的紊乱而不同。

[0056] 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 μ 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 μ g- 大约 1000mg/ 天,或大约 1 μ g- 大约 750mg/ 天,或大约 5 μ g- 大约 500mg/ 天,或大约 20 μ g- 大约 250mg/ 天,或大约 100 μ g- 大约 100mg/ 天,或大约 500 μ g- 大约 10mg/ 天,或大约 1mg- 大约 5mg/ 天。

[0057] 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;关于抗糖尿病药物的剂量,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。

[0058] 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。在以小的、亚最佳剂量给药的情况下,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。

[0059] 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,以提供协同治疗效果。在一些实施方式中,西格列汀的给药剂量范围从大约 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。

[0060] 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 μ g-20 μ 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 μ g- 大约 100 μ 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 μ g- 大约 75 μ g/ 天,从大约 0.5 μ g- 大约 50 μ g/ 天,从大约 1 μ g- 大约 25 μ g/ 天,或从 5 μ g- 大约 10 μ g/ 天。在其他实施方式中,依泽那太的量是少于大约 10 μ g/ 天,例如,大约 0.25 μ g,0.5 μ g,1 μ g,1.5 μ g,2 μ g,2.5 μ g,3 μ g,3.5 μ g,4 μ g,4.5 μ g,5 μ g,5.5 μ g,6 μ g,6.5 μ g,7 μ g,7.5 μ g,8 μ g,8.5 μ g,9 μ g 或 9.5 μ g/ 天。

[0061] IV. 治疗方法

[0062] 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:

[0063] (a) 治疗 I 型和 / 或 II 型糖尿病;

[0064] (b) 正常化或降低血糖水平;

[0065] (c) 改善葡萄糖耐量;

[0066] (d) 改善血糖控制;

[0067] (e) 降低空腹血糖;

[0068] (f) 降低餐后血糖;

[0069] (g) 降低糖基化血红蛋白 HbA1c;

[0070] (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;

[0071] (i) 降低体重或预防体重增加或促进体重减轻;

[0072] (j) 治疗胰腺 β 细胞退化;

[0073] (k) 改善和 / 或恢复胰腺 β 细胞功能;

[0074] (l) 刺激和 / 或恢复胰腺胰岛素分泌功能;

[0075] (m) 增强葡萄糖磷酸化;或

[0076] (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。

[0077] 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。

[0078] 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 5-6.5%。

[0079] 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。

[0080] 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。

[0081] 在另一种实施方式中, 本发明提供了用于治疗患者中胰腺 β 细胞退化, 和 / 或改善和 / 或恢复胰腺 β 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。

[0082] 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。

[0083] 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, 其中所述病况选自 : 代谢性疾病 (包括代谢综合症), 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 综合症, 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 II 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, 非酒精性脂肪肝病 (NAFLD), 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。

[0084] 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两者的最佳剂量, 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。

[0085] 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。

[0086] 本发明将参考以下非限制性实施例进行详细描述。

实施例

[0087] 药理学

[0088] 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的效力, 与 II 型糖尿病的遗传机制相关。

[0089] 50 只雄性 ob/ob 小鼠 (约 6 周龄) 获自 Charles River, 意大利。小鼠单独喂养在聚丙烯笼子内, 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 开灯 /8h 关灯的明暗周期 (光照期约从 17:30–9:30h)。

[0090] 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)。一周时间的处理方案之后, 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第 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样 ($20 \mu\text{L}$), 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–固定时间, 开始抽血, 在抽取每只动物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)。在抽取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, 并在在使用商购试剂盒和试剂: Alpco 小鼠超敏胰岛素试剂盒 80-INSMSU-E10; Thermo Scientific Infinity 葡萄糖试剂 TR15421 测定血浆葡萄糖 (两次抽血测定) 和胰岛素 (单份血液重复测定) 之前, 将血浆部分冻存 (-80°C)。

[0091] 之后, 继续基线治疗。在基线期结束时, 根据体重、基线食物和水的摄取、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, 分别给予载体或测试药物, 详见下表 1。

[0092] 表 1:

[0093]

组别	治疗 (po ;qd)	n
A	载体	8
B	FRI-1 (25mg/kg, 口服)	8

C	FRI-1 (75mg/kg, 口服)	8
D	二甲双胍 (100mg/kg, 口服)	9
E	FRI-1 (25mg/kg, 口服) + 二甲双胍 (100mg/kg, 口服)	8
F	FRI-1 (75mg/kg, 口服) + 二甲双胍 (100mg/kg, 口服)	8

[0094] 所有治疗都是通过强饲法经口服给药,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 20 μ L 血液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°C ,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-INSMSU-E10;Thermo Scientific Infinity 葡萄糖试剂 TR15421 进行葡萄糖 ($n = 2$) 和胰岛素 ($n = 1$) 含量分析。

[0095] 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。在给予葡萄糖之后的 10、20、30、45、60 和 120 分钟再抽取血样。所有血样(均大约 20 μ L)均从尾静脉抽取。抽取的血样放入锂肝素化试管(Sarstedt Microvette CB300LH)并通过离心分离血浆。所有血浆样品冷冻在 -80°C ,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-INSMSU-E10;Thermo Scientific Infinity 葡萄糖试剂 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。

[0096] 以评估二甲双胍类似的方法评估依泽那太。

[0097] 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。动物成对圈养至少 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。

[0098] 药物和给药

[0099] 基线期前 5 天给动物给予 1%羧甲基纤维素(Sigma C4888;批次 120M0216V)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)(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)。将适当体积的载体 (20%蒸馏水中的月桂酸聚乙二醇甘油酯) 直接加到含有称重量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物, 并使用 2.5mL/kg 的剂量体积给药。以 2.5mL/kg 给药 D- 葡萄糖。

[0100] 数据分析

[0101] 通过协方差分析来确定体重、总的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) 的每天的平均食物摄取作为协变量。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)。该模型以治疗作为因素, 将基线期 (第 -6 至 0 天) 的平均每天水摄取量作为协变量。使用相同的方法分析平均水摄取量。与载体组的多重比较如下进行: 对 FRI-1 用 Williams' 检验, 对二甲双胍用多重 t 检验, 对 FRI-1 联合二甲双胍用 Dunnett's 检验。通过 Williams' 检验来进行 FRI-1 联合二甲双胍与单独二甲双胍的比较, 通过多重 t 检验来分析单独 FRI-1 的情况。血浆葡萄糖和胰岛素数据通过稳健回归来分析, 以治疗作为因素和抽血顺序 (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。统计方法假定数据在各组中为正态分布, 具有相等的方差。用于残差的正态性的初始 Shapiro-Wilk 检验显示 $\log(\text{葡萄糖})$ 和 $\log(\text{胰岛素})$ 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。

[0102] 对于 OGTT, 在每次给药后时间比较各治疗组并分别计算曲线下面积 (AUC), 0-60 分钟和 0-120 分钟 (分别为 $AUC_{60\text{min}}$ 和 $AUC_{120\text{min}}$)。计算如下:

$$[0103] \quad AUC_{120\text{min}} = 1/24(2t_{0\text{min}} + 4t_{10\text{min}} + 4t_{20\text{min}} + 5t_{30\text{min}} + 6t_{45\text{min}} + 15t_{60\text{min}} + 12t_{120\text{min}})AUC_{60\text{min}} = AUC_{120\text{min}} - (t_{60\text{min}} + t_{120\text{min}})$$

[0104] B2 基线之上的 AUCs (AUCB2) 计算为 $AUC_{120\text{min}} - 2t_{0h}$ 和 $AUC_{60\text{min}} - t_{0h}$ 。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抽血顺序, 第 1 天体重和第 5 天 (禁食) 基线血浆 $\log(\text{葡萄糖})$ 或 $\log(\text{胰岛素})$ 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 $\log(\text{葡萄糖})$ 或 $\log(\text{胰岛素})$ 。第 7 天的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, 以治疗作为因素来进行分析和抽血顺序, 第 1 天的体重和第 5 天 (禁食) 基线血浆 $\log(\text{葡萄糖})$ 或 $\log(\text{胰岛素})$ 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, 以治疗作为因素来进行分析和抽血顺序。第 1 天的体重和第 6 天 (未禁食) 基线血浆 $\log(\text{葡萄糖})$ 或 $\log(\text{胰岛素})$ 作为协变量。与载体的比较如下进行: 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。使用 Williams' 检验比较联合治疗与二甲双胍, 使用多重 t 检验比较联合治疗与相同剂量的 FRI-1。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。

[0105] 用 FRI-1/ 二甲双胍联合的体重研究的结果

[0106] 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。

[0107] 研究 FRI-1/ 二甲双胍联合对血浆胰岛素的作用

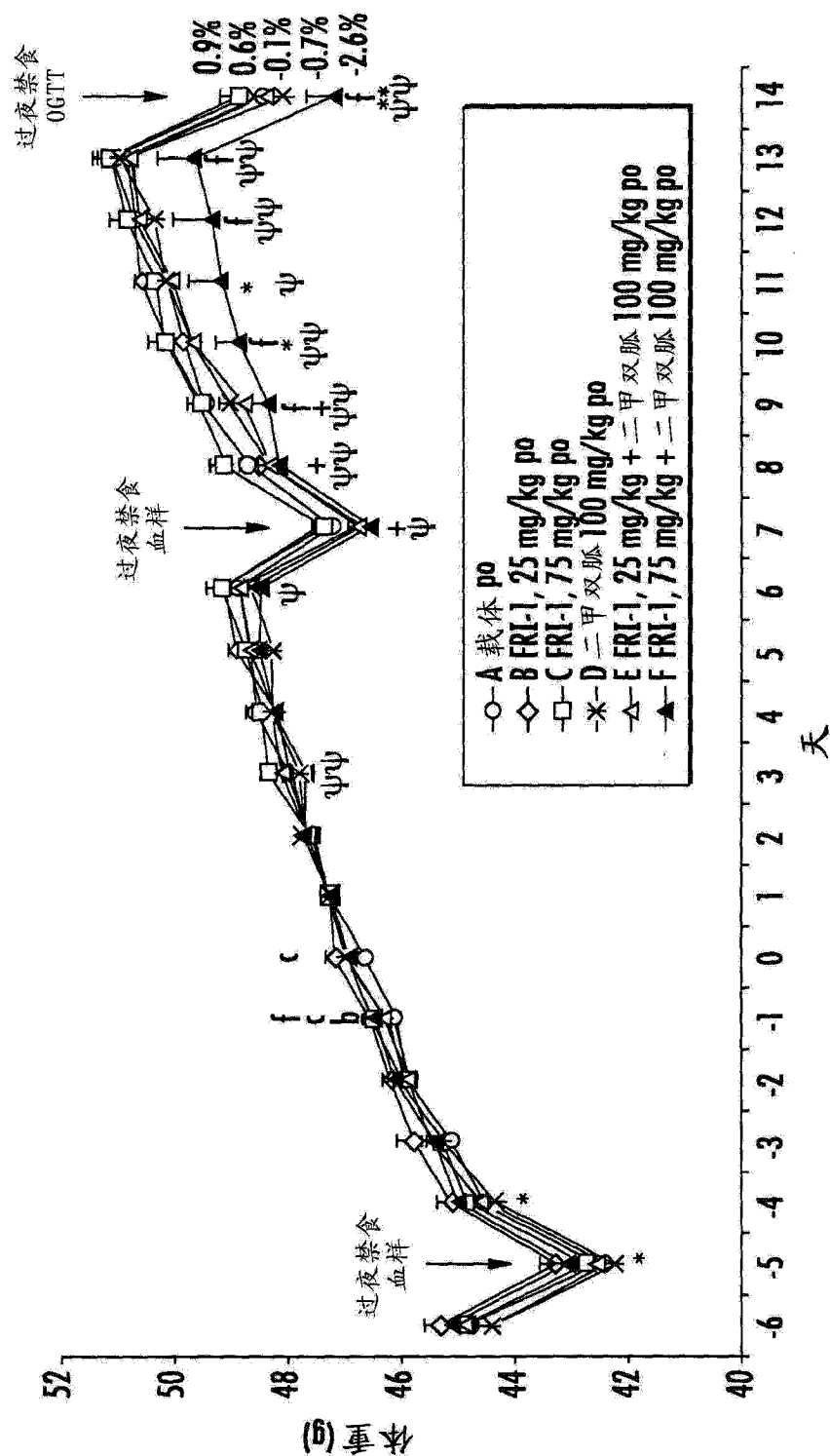
[0108] 对自由进食的 ob/ob 小鼠测定其血浆胰岛素。图 2 和 3 显示了长期给药 FRI-1 和二甲双胍对增加胰岛素敏感性的协同作用。在载体治疗组,在第 13 天,血浆胰岛素从基线水平约 110ng/mL 增加到 180ng/mL。高剂量的 FRI-1 和二甲双胍联合对血浆胰岛素具有明显作用。具体来说,该联合治疗明显降低了第 6 天 ($p>0.05$) 和第 13 天 ($p<0.001$) 的血浆胰岛素。胰岛素的这个下降不仅仅在水平方面明显不同于用载体治疗的对照组,而且在第 13 天,也不同于单独用 75mg/kg FRI-1 ($p<0.01$) 或二甲双胍 ($p<0.001$) 治疗的组。

[0109] 研究 FRI-1/ 西格列汀联合对体重的影响

[0110] 长期给药 FRI-1 和西格列汀对控制膳食诱导的雌性大鼠的肥胖具有协同作用,如图 4 所示。

[0111] 研究用 FRI-1/ 依泽那太联合对血浆胰岛素的结果

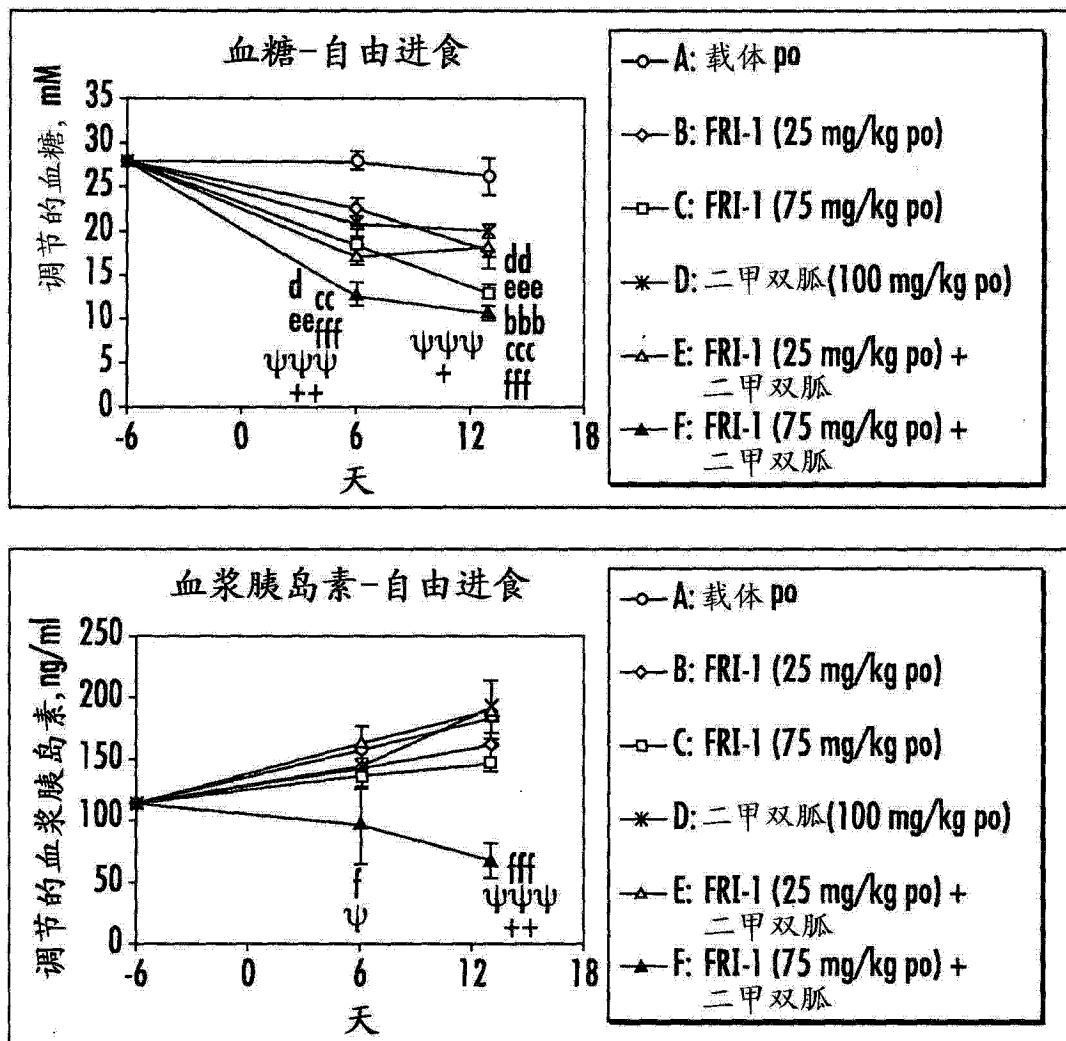
[0112] 在 ob/ob 小鼠中长期给药 FRI-1 和依泽那太显示对增加胰岛素敏感性具有协同作用,如图 5 和 6 所示。与载体组相比,在第 7 天,观察到依泽那太和依泽那太加上 FRI-1 (25mg/kg, 口服) 联合对降低血浆葡萄糖的小但是明显的作用。与载体组相比,在第 7 天,依泽那太和依泽那太联合两种剂量的 FRI-1 (25mg/kg, 口服) 对于降低血浆胰岛素都观察到了明显的作用。在第 14 天,额外的统计学比较表明两种联合降低血浆胰岛素的作用明显大于单独使用任一剂量的 FRI-1。



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, $p<0.05$; **, 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; ψ , 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

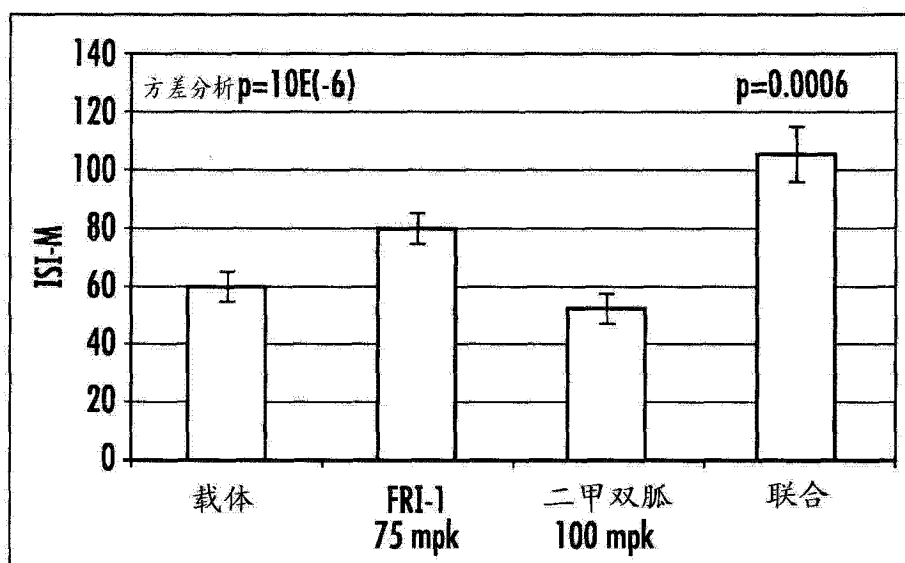
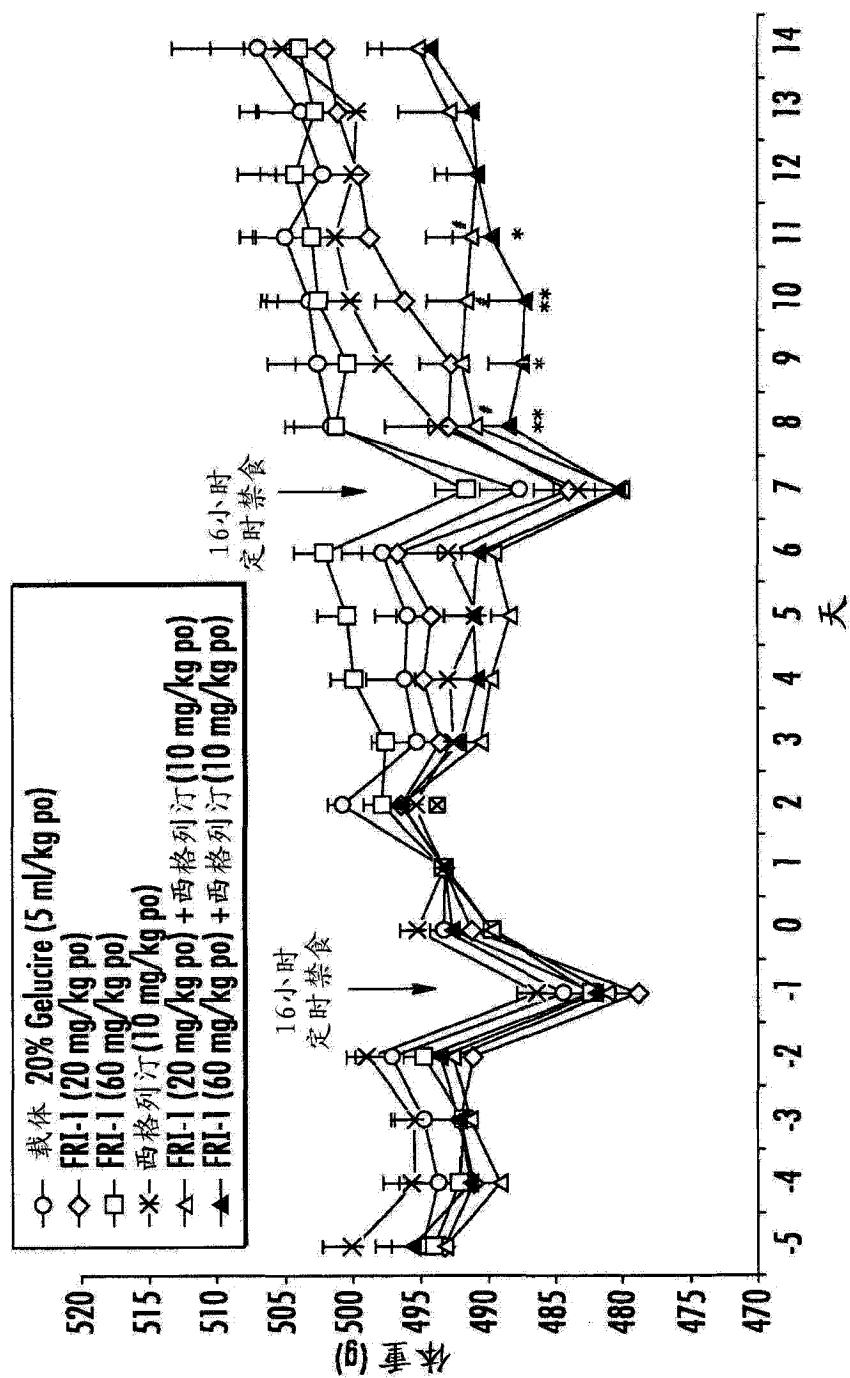
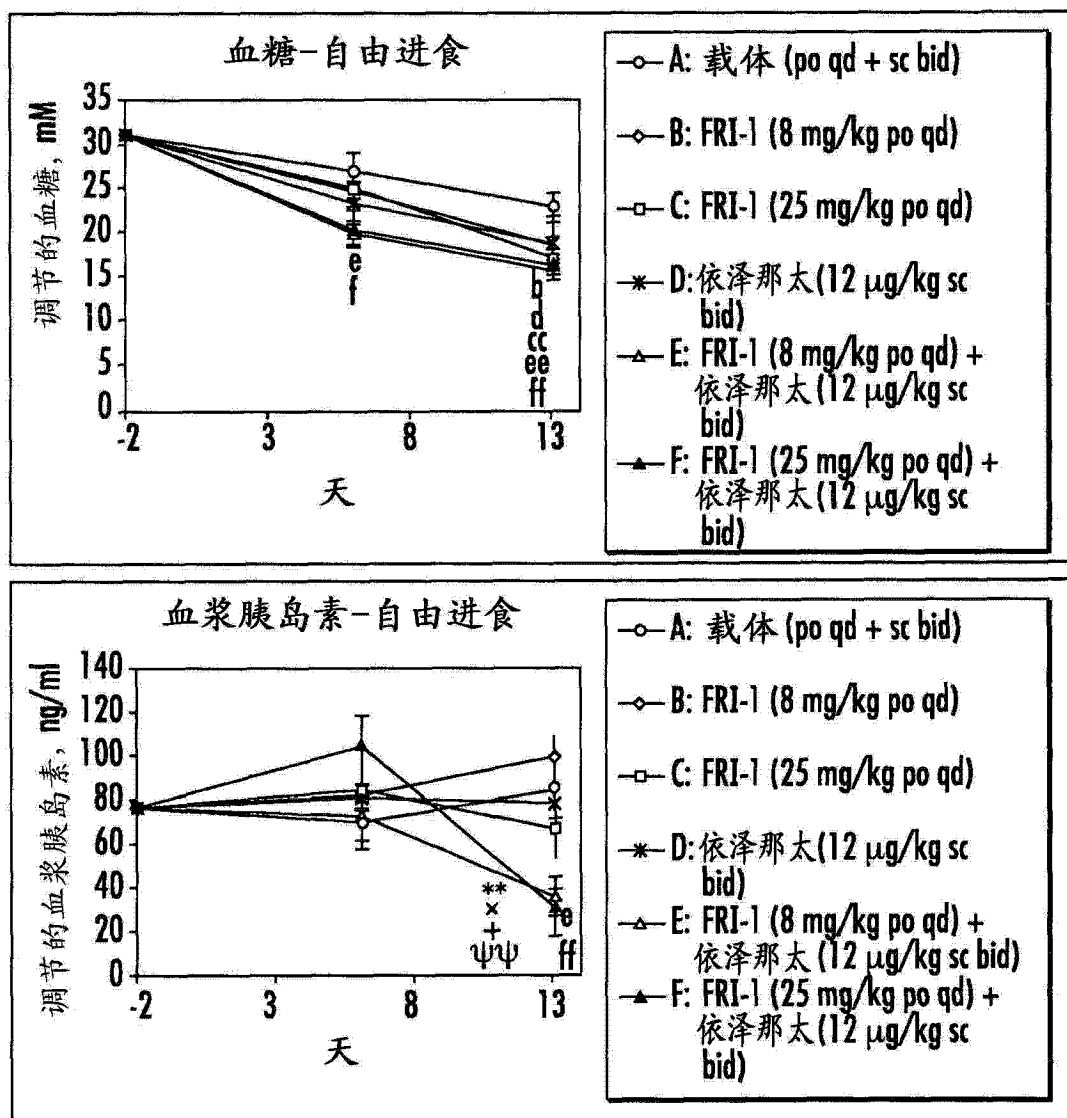


图 3



□, 西格列汀 vs 载体 $p < 0.05$; #, FRI-1 (20 mg/kg) vs 载体, $p < 0.05$; *, FRI-1 (60 mg/kg) vs 载体, $p < 0.05$; **, FRI-1 (60 mg/kg) vs 载体, $p < 0.01$.

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;
 ψ, 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

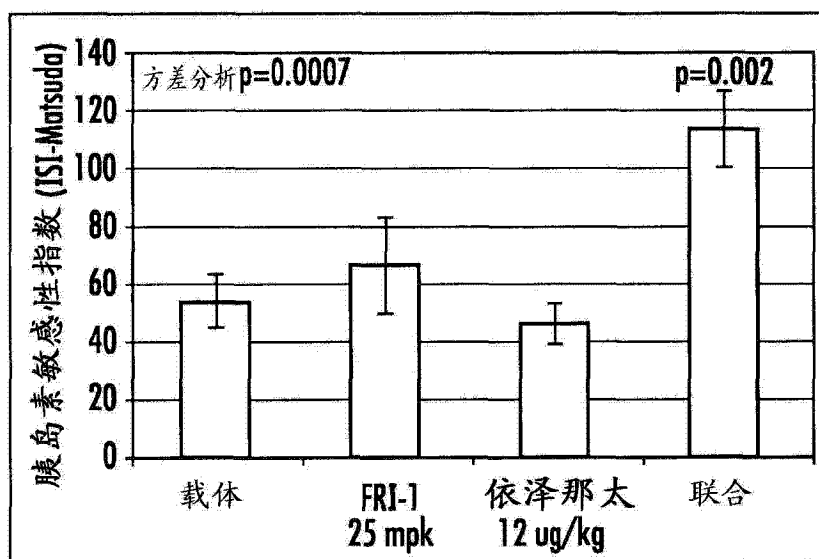


图 6