



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I487524 B

(45)公告日：中華民國 104 (2015) 年 06 月 11 日

(21)申請案號：099142063

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 12 月 03 日

(51)Int. Cl. : A61K31/455 (2006.01)

A61K31/197 (2006.01)

A61P3/06 (2006.01)

A61P9/10 (2006.01)

(71)申請人：泰特拉有限公司(拉脫維亞) TETRA, SIA (LV)

拉脫維亞

(72)發明人：凱文西 愛華斯 KALVINS, IVARS (LV)；柏門斯 安那東利傑斯 BIRMANS, ANATOLIJS (LV)；米斯諾夫司 安那東利傑斯 MISNOVS, ANATOLIJS (LV)；拉貝帝夫斯 安多司 LEBEDEVS, ANTONS (LV)；菲佛利斯 馬利斯 VEVERIS, MARIS (LV)

(74)代理人：王盛發

(56)參考文獻：

TW 200930356A

US 2007/0105793A1

審查人員：楊婷雅

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：1 共 53 頁

(54)名稱

菸鹼酸和米曲肼之新穎治療組合

NOVEL THERAPEUTIC COMBINATIONS OF NICOTINIC ACID AND MELDONIUM

(57)摘要

本發明包含一種菸鹼酸和米曲肼之協同組合，其特徵在於增加治療疾病的效率，該等疾病包括血小板聚集、異常血脂症、高血脂症、動脈粥狀硬化症、選自由心絞痛和心肌梗塞所構成之群組之冠狀動脈心臟病、包含腦血管意外和中風和周邊動脈閉塞性疾病之暫時性或永久性腦缺血發作，以及其特徵在於降低潮紅效應和/或增加血糖濃度，該組合包含對上述目的有效量之作為活性成分的菸鹼酸或其醫藥上可接受之鹽類以及米曲肼或其醫藥上可接受之鹽類。

The present invention comprises a synergistic combination of nicotinic acid and meldonium characterized by increased efficiency in treating disorders, including platelet aggregation, dyslipidemia, hyperlipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease as chosen from the group of angina pectoris and myocardial infarction, transient and permanent ischemic attack including cerebrovascular accident and stroke and peripheral arterial occlusive disease, and by reduced flushing effect and/or increase of blood glucose levels, comprising as active ingredients nicotinic acid or pharmaceutically acceptable salt thereof and meldonium or pharmaceutically acceptable salt thereof, effective for said purpose.

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99142063

A61K 31/455 (2006.01)

※申請日：99.12.3

※IPC 分類：

A61K 31/221 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61P 9/00 (2006.01)

菸鹼酸和米曲胍之新穎治療組合/NOVEL THERAPEUTIC
COMBINATIONS OF NICOTINIC ACID AND MELDONIUM

二、中文發明摘要：

本發明包含一種菸鹼酸和米曲胍之協同組合，其特徵在於增加治療疾病的效率，該等疾病包括血小板聚集、異常血脂症、高血脂症、動脈粥狀硬化症、選自由心絞痛和心肌梗塞所構成之群組之冠狀動脈心臟病、包含腦血管意外和中風和周邊動脈閉塞性疾病之暫時性或永久性腦缺血發作，以及其特徵在於降低潮紅效應和/或增加血糖濃度，該組合包含對上述目的有效量之作為活性成分的菸鹼酸或其醫藥上可接受之鹽類以及米曲胍或其醫藥上可接受之鹽類。

三、英文發明摘要：

The present invention comprises a synergistic combination of nicotinic acid and meldonium characterized by increased efficiency in treating disorders, including

platelet aggregation, dyslipidemia, hyperlipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease as chosen from the group of angina pectoris and myocardial infarction, transient and permanent ischemic attack including cerebrovascular accident and stroke and peripheral arterial occlusive disease, and by reduced flushing effect and/or increase of blood glucose levels, comprising as active ingredients nicotinic acid or pharmaceutically acceptable salt thereof and meldonium or pharmaceutically acceptable salt thereof, effective for said purpose.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一新穎的菸鹼酸和米曲胨治療組合以及用於預防及/或治療包含異常血脂症、高血脂症、動脈粥狀硬化症、選自由心絞痛和心肌梗塞所構成之群組之冠狀動脈心臟病、含暫時性或永久性腦缺血發作之腦血管意外和中風和周邊動脈閉塞性疾病等疾病、預防血小板聚集和血栓症的方法。

更確切而言，本發明係關於含菸鹼酸(niacin, nicotinic acid)和米曲胨之新穎治療組合，其協同地增強菸鹼酸之治療效果並改良菸鹼酸之某些不良的副作用，特別是周邊血管擴張（潮紅）及血糖濃度之提高。本發明亦關於一種包含該醫藥品之醫藥組成物，以及其於製造用於預防及/或治療前述疾病之藥物的用途。

所使用之縮寫

為了簡便，在本說明中進一步使用下列縮寫：

ATP - 腺苷三磷酸

C - 膽固醇

GL - 葡萄糖

HDL-C - 高密度脂蛋白-膽固醇

I/R - 局部缺血/再灌注

LDL-C - 低密度脂蛋白-膽固醇

MD - 米曲胨 (INN)

NA - 菸鹼酸

NAMg - 菸鹼酸鎂鹽

PI - 吡乙醯胺 (piracetam)

RPP - 心率血壓乘積 = 平均血壓 x 心搏速率 x 1000⁻¹

SI - 辛伐他汀

TG - 三酸甘油酯 s

TR - 四丁酚醛(Triton) WR1339 (泰洛沙泊 Tyloxapol)

VF - 心室顫動

VT - 心室性心搏過速

【先前技術】

NA 係一用於治療異常血脂症之重要藥劑，亦為當前唯一可得之正面影響血脂分析的所有成分之藥劑：其降低血液中總膽固醇、TG 和 LDL-C 之濃度，且在多種改變脂質劑中具有最顯著的提高 HDL-C 之活性 (Pieper JA 著，*美國護理管理期刊* 2002 年；8(12 補充)：頁 S308-14)。

早在 1955 年 (Altshul R、Hoffer A 和 Stephen JD 著，*生化與生物物理學期刊* 1955 年；54 期：頁 558-559) 及 1959 年 (Parsons Jr WB 和 Flinn JH 著，*美國醫學協會內科學文獻* 1959 年；103 期：頁 783-790)，已有人報導 NA 用於治療異常血脂症。

因為 NA 有效地提高 HDL-C 濃度 (McKenney J 著，*內科學文獻* 2004 年；164(7)期：頁 697-705。Carlson LA 著，*內科期刊* 2005 年；258 期：頁 94-114)，目前 NA 係結合其他脂質修飾劑，其大多作用於 LDL-C 濃度，為了增加 HDL-C

濃度 (Rosenson RS 著, *美國醫學期刊* 2005 年; 118(10)期: 頁 1067-77)。

NA 係一有效的改變脂質劑, 其可預防動脈粥狀硬化症之進展並減少心血管事件 (Savel'ev AA 與 Shershevskii MG 著, *外科醫學 (俄文)* 1996 年; 74 期: 頁 48-52 Drexel H 著, *歐洲心臟期刊增刊* 2006 年; 8 期, 補充 F: 頁 F23-F29。Brown BG 與 Zhao XQ, *美國心臟病學期刊* 2008 年; 101(8A) 期: 頁 58B-62B。) 藉由提高 HDL-C 濃度。NA 減少了具高血脂症患者的發病率與死亡率 (Canner PL 等人著, *美國心臟病學會期刊* 1986 年; 8 期: 頁 1245-55)。在治療高脂血症的案例中, NA 係於增加 HDL-C 最有效之藥劑 (Ellingworth DR 等人著, *內科學文獻* 1994 年; 154 期: 頁 1586-95。Schechtman G 等人著, *美國心臟病學期刊* 1993 年; 71 期: 頁 758-65)。NA 減弱血栓症, 降低血液黏度且具有心臟保護效果, 其可限制局部缺血-再灌注之傷害 (Lamping KA 等人著, *藥理與治療實驗期刊* 1984 年; 231(3) 期: 頁 532-538。Trueblood NA 等人著, *美國生理學期刊 - 心臟和循環系統生理學* 2000 年; 279(2)期, 頁 H764-H771。Rosenson RS 著, *動脈粥狀硬化症* 2003 年; 171(1)期: 頁 87-96)。

因為低 HDL-C 係中風的危險因子 (Wannamethee SG、Shaper AG、Ebrahim S 著, *中風* 2000 年; 31 期: 頁 1882。Sacco RL、Benson RT、Kargman DE 著 *美國醫學期刊* 2001 年; 285 期: 頁 2729-2735。Rizos E、Mikhailidis DP 著, 心

血管研究 2001；52(2)期，頁 199-207。Sanossian N、Tarlov NE 著，心血管醫學之當前治療選擇 2008 年；10(3)期，頁 195-206)，NA 作為藥劑提高 HDL-C（Carlson LA 著，心臟病學新見 2006 年；21(4)期：頁 336-344），於預防中風及中風後遺症狀係有用的（Koniukov SG、Liberzon SP 著，臨床醫學 (Mosk) 1975 年；53(9)期：頁 38-41)。已被肯認的是，當急性缺血性中風時，HDL-C 濃度降低(Russman AN 等人著，神經科學期刊 2009 年；279(1-2)期：頁 53-56)。NA 已顯示其改善中風後功能恢復（Chen J 等人著，神經學年鑑 2007 年；62(1)期：頁 49-58)。HDL-C 本身已被提議用於治療中風及其他缺血性症狀（Kapur NK 等人著，血管健康與風險管理 2008 年；4(1)期：頁 39-57。歐洲專利號 EP 1 425 031）。

NA 可有 3 種配方（立即釋放、延長釋放和長效作用）。立即釋放型 NA 與不良潮紅及血糖濃度升高有關。長效作用型 NA 與減少潮紅有關，但亦有肝毒性影響的危險。延長釋放型與較少的潮紅及低肝毒性危險有關（Pieper JA 著，美國保健系統藥房期刊 2003 年；60(13 補充 2)期：頁 S9-14。McKenney J 著，內科學文獻 2004 年；164(7)期：頁 697-705。Knopp RH 著，美國心臟病學期刊 2008 年；86(補充)期；頁 51L-56L)。NA 之鈉鹽、鉀鹽和鎂鹽之使用亦被描述。

NA 一個主要的缺點是，必須施用大劑量以實質改變血脂濃度。幾乎 100% 之受 NA 治療之受試體都會經歷不舒服

的潮紅副作用，其阻礙了以 NA 之治療。皮膚釋放前列腺素 D2 被確定為由 NA 誘發之潮紅的直接原因 (Morrow JD 等人著，*皮膚病學研究期刊* 1992 年；98 期：頁 812-5)。因為與 NA 有關之潮紅係前列腺素活性之一結果，乙醯水楊酸，其作為公認的前列腺素合成之抑制劑，被提出用來控制潮紅。除了乙醯水楊酸，其他 NSAIDS 亦為有效的 (Oberwittler H 和 Baccara-Dinet M 著，*國際臨床實務期刊* 2006 年；60(6)期：頁 707-715)。然而 NSAIDS 本身並非完全沒有副作用，且會導致腸胃刺激和潰瘍。

日前，有人提出前列腺素 D2 之特異性拮抗劑 (Parhofer KG 著，*血管健康與風險管理* 2009 年；5 期：頁 901-908) 受體第 1 亞型，拉羅匹侖 (laropiprant)，作為用於降低由 NA 誘發之潮紅的藥劑 (Lai E 等人著，*臨床藥物和治療期刊* 2007 年；81 期：頁 849-857. Davidson MH，*美國心臟病學期刊* 2008 年；101 期[補充]：頁 14B-19B)。雖然添加拉羅匹侖將降低潮紅的頻率，其並不完全消除此副作用。拉羅匹侖並不改變菸鹼酸對脂質之影響或其他的菸鹼酸之副作用。因此菸鹼酸與拉羅匹侖之組合可使菸鹼酸的高劑量使用，因此開發了此藥物的全部潛能 (Parhofer KG 著，*血管健康與風險管理* 2009 年；5 期：頁 901-908，Olsson AG 著，*藥理治療專家意見* 2010 年；11(10) 期：頁 1715-1726)。

第二型糖尿病患者常具有脂質異常改變，其特徵在於，TG 濃度之升高與 HDL-C 濃度之降低。思及 NA 對脂質代謝之藥理作用，NA 應抵消第二型糖尿病患者之脂質異常改

變。然而，數個報導指出，NA 增加了胰島素抗性 (Garg A 和 Grundy SM 著，*美國醫學期刊* 1990 年；264 期：頁 723-6。Kahn SE 等人著，*糖尿病* 1989 年；38 期：頁 562-8) 並提高葡萄糖濃度 (Elam、MB 等人著，*美國醫學期刊* 2000 年；284(10)期：頁 1263-1270)。因此對糖尿病患者建議只給予有限的 NA 劑量 (<2 公克/天) (Shepher J、Betteridge J 和 Van Gaal L 著，*當前醫學研究與意見* 2005 年；21(5)期：頁 665-682)。顯然的，需要有能改善使用 NA 之糖尿病患者血糖控制之新穎藥劑。臨床上有發現米曲肼之降低血糖能力 (Statsenko ME 等人著，*外科醫學 (俄文)* 2007 年；85(7)期：頁 39-42)，因此期待此藥劑可結合 NA 作為另外的臨床優勢。

在冠狀動脈心臟病期間，血小板在動脈粥狀硬化症和致命的血栓形成之發展中，扮演了關鍵性的角色。抗血小板製劑已成為預防及管理多種與心血管、腦血管、和周邊動脈系統相關之疾病之首選 (Meadows TA 等人著，*循環研究* 2007 年；100(9)期：頁 1261-75)。NA 係一有效的改變脂質劑，其可預防動脈粥狀硬化症並減少心血管事件。NA 具有多種的脂蛋白與抗動脈粥樣血栓症效果，其改善內皮功能，減少發炎，增加斑塊穩定性，並降低血栓症 (Rosenson RS，*動脈粥狀硬化症* 2003 年；171 期：頁 87-96)。

NA 抑制了血小板聚集 (Lakin KM 著，*Farmakol Toksikol*，1980 年；43(5)期：頁 581-5)。NA 在活體外藉由溫和地抑制血小板聚集而影響血小板之活性，並刺激顯著

的前列腺素釋放，及大部分完整的主要血小板受體表現。NA 之效力為獨特的，不同於其他已知的抗血小板製劑，且提供了就治療組合之潛在機會（Serebruany VL 等人著，*血栓症與止血*，2010 年（印刷中））。

NA 幾乎完全預防由凝血酶和垂體後葉素誘發之血管內凝血，顯示了其具有溶解血栓之效果（Baluda VP 著，*心臟病學* 1974 年；14(11)期：頁 105-7（俄文））。數名作者說明了 NA 之抗血栓之特性（Shestakov VA 著，*Probl Gematol Pereliv Krovi*，1977 年；22(8)期：頁 29-35。Chekalina SI，*Sov Med* 1982 年 5 期：頁 105-8）。菸鹼酸減少了血液凝塊的風險（Chesney CM 等人著，*美國心臟期刊*，2000 年；140 期：頁 631-36）。

MD 係一具有某些對心臟與血管有益影響之藥物。某些可取的 MD 活性已在動脈粥狀硬化症之動物模型中發現（Veveris M、Smilsaraja B 著，*波羅的海動物科學實驗室* 2000 年；10 期，頁 194-199。Veveris M 等人著，*波羅的海動物科學實驗室* 2002 年；12 期：頁 116-122。Okunevich IV 與 Ryzhenkov VE 著，*Patol Fiziol Eksp Ter* 2002 年；(2) 期：頁 24-7），以及在臨床上被觀察到（Karpov RS 等人著，*Ter Arkh* 1991 年；63(4) 期：頁 90-3），因此期待此藥劑可結合 NA 作為另外的臨床優勢。

亦已被注意的是，MD 抑制血小板聚集（Tsirkin VI 著，*Ros Kardiol Zh* 2002 年；1 期：頁 45-52）。於實驗的動脈血栓症後經口施用於兔與犬兩週之 MD 醫療使用，顯示了溶

解血栓之效果 (Logunova L 等人著, *Experim Clin Pharmacoter* 1991 年; 19 期: 頁 91-9 (俄文))。MD 在控制或預防血栓症之預防效果方面並無已知的數據。

發展藥品組合物以治療脂質代謝相關疾病此當前趨勢可改善臨床照料之效率 (Black DM 著, *當代治療研究* 2003 年; 5 期: 頁 39-32)。因為貝特類、NA 和施德丁各可依不同機制調節血清脂質, 結合療法比起單一療法對別人可提供特別可取的益處。因為發展用於降低 LDL-C 濃度之新穎藥劑的進展已逐漸緩慢, 研究已轉向發展的提高 HDL-C 濃度的更佳藥劑。愈來愈多使用包含 NA、貝特類、施德丁和膽汁酸螯合劑之結合療法來治療脂質代謝相關疾病, 因為該等結合之產物的附加輪廓(additive profiles) (Miller M 著, *梅歐醫院論文集* 2003 年; 78(6)期: 頁 735-42。Backes JM 等人著, *血管健康與風險管理* 2005 年; 1(4)期: 頁 317-331。Belsey L 等人著, *當前醫學研究與意見* 2008 年; 24(9)期, 頁 2703-9。Rosenson RS 和 Pitt B 著, *自然心血管臨床應用* 2009 年; 6(2)期: 頁 98-100)。愈來愈多使用包含 NA 與其他藥劑如乙醯水楊酸和其他 NSAIDs 作為血小板抑制劑之結合療法 (美國專利號 USP 5,981,555)。然而這些組合物並無增加 NA 之活性, 亦即, 沒有協同作用被報導。因此任何可增強 NA 在脂質代謝相關疾病中之療效、又不增加 NA 的不良副作用的藥劑, 將在臨床上有優異的效用。

【發明內容】

本發明之一目標係提供一種用於預防和/或治療脂質代

謝相關疾病之治療組合，與一預防和/或治療一所需該預防治療的主體之脂質代謝相關疾病的方法，其藉由使用 NA 結合 MD，其具有緩和 NA 不良的副作用之進一步有利的影響。本發明之治療組合預期具有在脂質代謝相關疾病之治療和/或預防方法中協同的效果，包括異常血脂症、高血脂症、動脈粥狀硬化症、選自由心絞痛和心肌梗塞所構成群組之冠狀動脈心臟病、含腦血管意外和中風和周邊動脈閉塞性疾病之暫時性或永久性腦缺血發作、預防血小板聚集和血栓症。

根據本發明，若治療組合具治療上較佳於 NA 或 MD 單獨之效果，則定義為具有協同效果。自不待言，在此使用之治療組合意指，同時、依序或分別施用該組合物藥劑。本發明之另一目標係提供一包含 NA 和 MD 兩者用於前述目的之醫藥組成物。本發明進一步之目標將在下文中更為明顯，且其他的目標對於本領域中熟習此藝者將顯而易見。

本發明之說明

本發明包含 NA 和 MD 之組合物，其提供治療脂質代謝相關疾病有效的協同結合之結果，較佳為以單一劑量單位形式。另擇的，該二成分可分離、同時或以任何次序依序施用。施用活性成分的確切形式並不重要，只要能獲得本發明所欲之效果即可。活性成分可為下列形式：膠囊、懸浮液、分散、藥酒(elixir)、糖漿、或類似物，可分開或以單一組合物施用。

現在我們已出人意外地發現，NA 和 MD 對脂質代謝相關疾病具有協同作用，及其他有益的效果。始料未及的發現為，MD 係第一個可增強 NA 之有益效果的藥劑，亦即降低 TG 和 LDL-C 濃度並提高 HDL-C 濃度，增強 NA 之反聚合效果，並改良 NA 之不良的副作用，特別是潮紅及血糖濃度之提高。

因此上述組合物預期為用於治療糖尿病患者之異常血脂症的較佳藥劑。我們亦出人意外地發現，本發明組合物改良了實驗性梗塞和中風之後果。

現在我們已出人意外地發現，NA 和 MD 對血小板聚集具有協同作用。始料未及的發現為，MD 係第一個可增強 NA 之反血小板效果的藥劑。

本發明組合物可為適用於口服的形式（例如作為藥片、膠囊、水狀懸浮液或可分散的粉末或顆粒），非消化道施用（例如作為用於靜脈注射、皮下的、或肌肉注射給藥的無菌水溶液）或作為用於直腸給藥之栓劑。較佳地，本發明之治療組合係以適用於口服的形式，例如作為藥片或膠囊。

根據本發明之治療組合亦包括活性劑之分別的醫藥組成物的組合物，其包含一第一 NA 組成物或其醫藥上可接受的鹽類和一醫藥上可接受之賦形劑或載體，以及一第二包含 MD 或其醫藥上可接受的鹽類和一醫藥上可接受之賦形劑或載體之組成物。此醫藥組成物之組合物提供了本發明治療組合能同時或依序使用。此組合物之優點在於，讓

醫師可為個別病人調整活性劑之比例。本發明治療組合亦預期包括 NA 與 NA 之醫藥上可接受之鹽類（鈉、鉀或鎂）以及 MD 與其鹽類之持續釋放或延長釋放劑型。

本發明治療組合亦可包括其他具對脂質代謝相關疾病有已知活性之藥品，亦即施德丁，特別是辛伐他汀。

本發明醫藥組成物可藉由使用傳統醫藥上可接受之賦形劑或載體和技術之傳統程序而獲得。

提供下列實例以說明本發明但不限制本發明之範疇。

【實施方式】

實例

試驗：以習知技術中使用的標準方法來研究被測物質之醫藥活性。在 22 ± 1 °C、相對濕度 $60 \pm 5\%$ 之氣候調節室中將動物以 6 隻一組置於適當的籠中，給予 12/12-小時光照/黑夜循環，及可自由取用食物與水。所有實驗皆依據 1986 年 11 月 24 日歐洲共同體議會指令 (86/609/EEC) 有關實驗動物照護的規定而實施。所有的努力皆為將動物的痛苦減到最小並減少動物的使用量而做。

物質：膽固醇（阿庫羅斯福岡有機 Acros Organics）、米曲胍（格林德斯 Grindex）、動物營養（R 70 Lactamin）、奶油（商業可能的）、膽酸鈉（阿庫羅斯福岡有機）、NA（阿庫羅斯福岡有機）、拉羅匹侖（laropiprant）（MK 0524，開曼化學品 Cayman Chemicals）。其它化學品皆係商業可得的。

實例 1—抗動脈粥樣硬化活性之測定

方法：使用一種對動脈粥狀硬化症基因易感的 C57BL/6J 小

鼠之動脈粥狀硬化症模型，如文獻所提出者（Smith J D 和 Breslow JL 著，*內科期刊* 1997 年；242 期：頁 99-109）。控制組接受標準實驗室動物營養。藉由添加 1.25% 膽固醇、15% 奶油和 0.5% 膽酸鈉至標準營養中，誘導出實驗性動脈粥狀硬化症（Nishina P 等人著，*脂質研究期刊* 1993 年；34 期：頁 1413-1422）。實驗組接受以由前導實驗所建立之有效劑量之分別形式與組合物形式的待測物質。添加待測物質至飲用水。根據實驗期間實際消耗的水量來校正劑量之製備。平均而言，一天中小鼠飲用約 12% 體重的水。於 22 週時，藉由標準方法和判斷標準以形態、生化的和組織學角度評估動脈粥樣硬化改變的濃度（Paigen B 等人著，*動脈粥狀硬化症* 1987 年；68 期：頁 231-240。）以商業可得之測試套件測定血清中總 C、HDL-C、LDL-C 和 TG。LDL-C/HDL-C 比被接受為評估心血管風險的標準工具（Fernandez ML 和 Webb D 著，*美國大學營養期刊*，2008 年；27(1)期：頁 1-5）。

動脈粥狀硬化症指數（反映出冠狀動脈粥狀硬化症，且與周邊動脈粥狀硬化症有索鑑別）由下式計算出：指數 = LDL-C/HDL-C。

動脈粥狀硬化症係數（反映出冠狀動脈粥狀硬化症）由下式計算出：係數 = 總 C/HDL-C。

統計：7 至 10 隻分別的動物/數量之數據以平均數±標準差 (Mean±SEM) 表示。使用單向 ANOVA 分析及重複比較（塔基檢定）來比較各實驗組間之不同。P<0.05 被認為是顯著

的。

結果：安排第一系列的試驗並測定組合物藥劑之不同比例及劑量的效果。如表 1 所示，在 22 週後，接受富含脂質和 C 之營養的 C 控制組動物在主動脈中，特別是主動脈弓，發展了動脈粥樣硬化的改變。NA 和 MD，當分別被使用時，顯示了降低損害區域之趨勢。出人意外地，NA 和 MD 之組合比起個別物質，造成相當高及統計上顯著的對動脈粥樣硬化損害的保護效果，亦即，其具有協同效果。

表 1

NA 和 MD 對主動脈之動脈粥樣硬化損害的影響；n=7-10；平均數±標準差

群組	損害區域， m k m ² ，主動脈弓	損害區域，主動 脈區域之 %
控制組	44 ± 25.8**	0.02 ± 0.01**
C 控制組	6076 ± 1282	5.44 ± 1.12
NA 50 毫克/公斤	5867 ± 975	5.21 ± 1.07
NA 200 毫克/公斤	4153 ± 742	3.39 ± 0.69
MD 50 毫克/公斤	4741 ± 786	3.87 ± 0.64
MD 150 毫克/公斤	3801 ± 573	3.30 ± 0.49
MD 200 毫克/公斤	3098 ± 547	2.74 ± 0.47*
NA 50 + MD 50	3106 ± 368 [§]	2.58 ± 0.31* [§]
NA 50 + MD 150	2231 ± 390* [§] &	1.93 ± 0.40* [§] &
NA 200 + MD 200	1602 ± 404* [§] &	1.29 ± 0.38* [§] &

NA50+MD50 = NA 50 毫克/公斤 + MD 50 毫克/公斤

NA50+MD150 = NA 50 毫克/公斤 + MD 150 毫克/公斤

NA200+MD200 = NA 200 毫克/公斤 + MD 200 毫克/公斤

*P<0.05 vs C 控制組

**P<0.005 vs C 控制組

[§]P<0.05 vs NA 同劑量

[&]P<0.05 vs MD 同劑量

如下表 2 所示，NA 和 MD 之組合物表現出對於降低 LDL-C 和 TG 濃度以及增加 HDL-C 濃度，統計學上顯著的效果。於組合物劑量 NA50+MD150，其中 NA 係以自身不具對脂質濃度有顯著效果的劑量而被使用，彙總效果(summary

effect)出人意外地高於各單獨物質之效果。此在動脈粥樣硬化指數和總 C/HDL-C 比特別明顯，NA 和 MD 的協同效果係可觀察到的。

表 2

待測物質對血清中脂質之影響；n=7-10；平均數±標準差

群組	總 C 毫克/分升	HDL-C 毫克/分升	LDL-C 毫克/分升	指數， LDL-C/HDL-C	總 C/ HDL-C 比	TG 毫克/分升
控制組	66.5±4.5 [#]	57±3.4	9.7±2.2 [#]	0.17±0.04 [#]	1.17±0.04 [#]	22.1±2.19**
C 控制組	161±10.4	50±5.0	110±9.9	2.22±0.25	3.23±0.25	48.8±4.93
NA 50 毫克/公斤	156±9.4	56±5.2	100±6.9	1.78±0.19	2.77±0.18	37.8±4.56
NA 200 毫克/公斤	153±11.1	59±4.7	93±8.3	1.63±0.15*	2.60±0.2*	31.7±4.21**
MD 50 毫克/公斤	157±9.5	54±5.0	102±7.5	1.97±0.20	2.94±0.2	44.3±4.84
MD 150 毫克/公斤	153±11.8	59±5.0	94±9.1	1.65±0.18*	2.63±0.18*	42.9±4.62
MD 200 毫克/公斤	151±11.2	56±3.9	95±10.0	1.72±0.20	2.70±0.2	42.2±3.35
NA50+MD 50	156±10.2	58±5.5	97±7.9	1.71±0.23	2.72±0.23	40.1±3.75
NA50+MD 150	148±8.9	65±5.7	83±4.4* ^s	1.31±0.09* ^{s&}	2.30±0.08* ^{s&}	36.1±2.23*
NA200+ MD200	152±7.1	67±5.2*	85±5.1*	1.29±0.11* ^{s&}	2.31±0.12* ^{s&}	33.6±2.45* ^{&}

NA50+MD50 = NA 50 毫克/公斤 + MD 50 毫克/公斤

NA50+MD150 = NA 50 毫克/公斤 + MD 150 毫克/公斤

NA200+MD200 = NA 200 毫克/公斤 + MD 200 毫克/公斤

*P<0.05 vs C 控制組

**P<0.005 vs C 控制組

[#]P<0.0005 vs C 控制組

^sP<0.05 vs NA 同劑量

[&]P<0.05 vs MD 同劑量

在另一系列實驗中，更詳細地評估本發明組合物之抗動脈粥樣硬化活性，並進一步添加已知之抗血脂劑 SI 至該組合物中。NA 和 MD，當分別被使用時，顯示了降低損害區域之趨勢（表 3）。出人意外地，NA+MD 之組合比起個

別物質，造成相當高及統計上顯著的對動脈粥樣硬化損害的保護效果。添加本發明組合物至 SI 進一步增加其對動脈粥樣硬化損害保護效果。

表 3

待測物質對主動脈之動脈粥樣硬化損害的影響；n=7-9；平均數±標準差

群組	損害區域，毫平方公里，主動脈弓	損害區域，主動脈區域之%
控制組	29.4±14.8**	0.01±0.01 [#]
C 控制組	6416±860	5.97±0.89
NA 50 毫克/公斤	5001±726	4.52±0.64
MD 150 毫克/公斤	4189±628	3.58±0.67*
SI 10 毫克/公斤	2819±447**	2.67±0.36**
NA 50+MD 150	2413±442**& ^{\$}	2.28±0.40** ^{\$}
NA 50+MD 50+SI 10	2263±314** ^{\$&}	2.19±0.30** ^{\$&}

NA50+MD150=NA 50 毫克/公斤+MD 150 毫克/公斤

NA50+MD50+SI10=NA 50 毫克/公斤+MD 50 毫克/公斤+SI 10 毫克/公斤

*P<0.05 vs C 控制組

**P<0.005 vs C 控制組

[#]P<0.0005 vs C 控制組

^{\$}P<0.05 vs NA

[&]P<0.05 vs MD

在同一系列實驗中，亦測定了血清中之總 C、HDL-C、LDL-C 和 TG。如下表 4 所示，NA 和 MD，當分別被使用時，僅輕微地改善膽固醇含量的比率及動脈粥狀硬化症指數，無任何統計學上的顯著。出人意外地，NA 和 MD 之組合物相當地改善了膽固醇含量的比率及統計學上顯著地降低了動脈粥狀硬化症指數及總 C/HDL-C 比。此組合物亦防止血清中 LDL-C 和 TG 之增加。因此本發明組合物，相對於當分別被使用時，對改變脂質代謝具有顯著較高的保護作用。具 SI 之三重組合物亦保持顯著的保護效果。

表 4

待測物質對血清中脂質之影響；n=7-9；平均數±標準差

群組	總 C 毫克 / 分 升	HDL-C 毫克 / 分升	LDL-C 毫克 / 分 升	指數， LDL-C/ HDL-C	總 C/ HDL-C rate	TG 毫克 / 分升
控制組	66.8±3.7 [#]	58±3.4	8.7±1.94 [#]	0.15±0.03 [#]	1.15±0.03 [#]	22.8±1.82 [#]
C 控制組	167±8.64	54±4.7	113±8.4	2.24±0.25	3.23±0.24	52.2±3.98
NA 50 毫 克 / 公斤	158±9.9	57±5.2	100±7.6	1.76±0.21	2.75±0.19	41.0±4.62
MD 150 毫克 / 公斤	159±7.8	62±4.1	95±8.2	1.58±0.21	2.60±0.21	44.2±4.05
SI 10 毫 克 / 公斤	132±9.9*	55±5.0	77±6.7*	1.4±0.08*	2.4±0.08*	47.7±3.73
NA 50+MD 150	139±7.5*	60±6.1	79±6.2*	1.32±0.20* ^s	2.30±0.20*	39.5±3.96*
NA 50+MD 50+SI 10	141±7.3*	61±5.5	80±5.7*	1.31±0.16* ^s	2.30±0.16* ^s	42.2±3.65

NA50+MD150 = NA 50 毫克/公斤 + MD 150 毫克/公斤

NA50+MD50+SI10 = NA 50 毫克/公斤 + MD50 毫克/公斤 + SI 10 毫克/公斤)

*P<0.05 vs C 控制組

[#]P<0.0005 vs C 控制組^sP<0.05 vs NA

又另一系列之實驗中，NAMg 與 NA+SI 組合物被包括於比較評估之列（表 5）。已有人比較公雞之 NAMg 與 NA（Burstein J 和 Telkka A 著，北歐獸類病理微生物期刊 1962 年；56 期：頁 261-265）。基於臨床的實驗所使用的比例，NA（50 毫克/公斤）和 MD（150 毫克/公斤）的組合物對主動脈具有最顯著的有益效果，較 NA 和 NAMg 佳，且勝於 SI 和 NA 的組合物（Pandian A 等人著，血管健康與風險管理 2008 年；4(5)期：頁 1001-1009）。

表 5

待測物質對主動脈之動脈粥樣硬化損害的影響；n=7-9；平均數±標準差

群組	損害區域，毫平方公里，主動脈弓	損害區域，主動脈區域之%
控制組	35±19.8***	0.02±0.01***
C 控制組	6216±839	5.75±0.82
NA 50 毫克/公斤	4978±688	4.23±0.67
NAMg 60 毫克/公斤	4053±518*	3.39±0.44*
MD 150 毫克/公斤	3904±489*	3.47±0.45*
NA50+MD150	2105±215***\$@#&	1.95±0.30***\$@#&
NA50+SI2	3068±297*	2.67±0.48*

NA50+MD150 = NA 50 毫克/公斤 + MD 150 毫克/公斤

NA50+SI2 = NA 50 毫克/公斤 + SI 2 毫克/公斤

*P<0.05 vs C 控制組

**P<0.005 vs C 控制組

***P<0.0005 vs C 控制組

\$P<0.05 vs NA

@P<0.05 vs NAMg

&P<0.05 vs MD

#P<0.05 vs NA50+SI2

相似於形態學數據，生化之測試確認了，NA+MD 之組合物在使脂質濃度正常化方面，明顯的優於 NA 或 NAMg (表 6)。

表 6

待測物質對血清中脂質之影響；n=7-9；平均數±標準差

群組	總 C 毫克 / 分升	HDL-C 毫克 / 分升	LDL-C 毫克 / 分升	指數， LDL-C/H DL-C	總 C/HDL-C	TG 毫克 / 分升
控制組	67±3.9***	56±3.0	7.8±1.83***	0.14±0.03***	1.19±0.04***	26.5±2.13**
C 控制組	164±9.2	50±3.8	107±7.4	2.21±0.18	3.33±0.19	54.8±5.56
NA 50 毫克/公斤	158±8.7	57±4.7	96±6.2	1.74±0.15	2.82±0.16*	40.8±3.46*
NAMg 60 毫克/公斤	151±9.6	55±4.0	91±7.7	1.67±0.12*	2.73±0.14*	41.4±1.06*
MD 150 毫克/公斤	154±8.1	55±3.3	95±5.5	1.75±0.14	2.74±0.11*	43.2±1.25
NA50+MD150	148±7.4	63±3.9*	81±4.1*	1.31±0.11**\$@&	2.35±0.10**\$@&	37.5±0.97*@\$&
NA50+SI2	144±4.7	58±4.4	82±4.8*	1.49±0.12**	2.52±0.12**	42.4±1.74

NA50+MD150 = NA 50 毫克/公斤 + MD 150 毫克/公斤

NA50+SI2 = NA 50 毫克/公斤 +SI 2 毫克/公斤

*P<0.05 vs C 控制組

**P<0.005 vs C 控制組

***P<0.0005 vs C 控制組

^sP<0.05 vs NA

@P<0.05 vs NAMg

&P<0.05 vs MD

在降低總 C 和 LDL-C 方面，NA+MD 之組合物相似於 NA+SI 之組合物，但在對 HDL-C 和 TG 濃度有益效果的影響上，則實質上更優，並且在動脈粥樣硬化的指數和總 C/HDL-C 比例上具有更顯著的效果。

此系列的測試確認了，在實驗性動脈粥狀硬化症方面，NA 和 MD 之組合物比 NA 或 NAMg 具有顯著更佳的有益效果，且亦優於臨床上使用的 NA 和 SI 之組合物。

實例 2—NA 和 MD 在大鼠高血脂症模型之脂質方面分別的以及組合物的影響

方法：使用 Levine 和 Saltzman 所述之方法 (Levine S 和 Saltzman A 著，*藥理和毒理方法期刊* 2007 年；55 期：頁 224-226) 以 TR 誘導實驗性慢性高血脂症/高膽固醇血症。

動物經由尾靜脈接受 250 毫克/公斤 TR 溶液，一週三次共三週。每天一次在注射 TR 溶液或採血樣品前一小時經口導入用於實驗組之待測物質之溶液或用於控制組之水。

體重 220-240 公克之雄性韋斯大鼠被分配至下列 8 個群組 (群組，動物數)：

- | | |
|----------------------|----|
| 1. 控制組 | 10 |
| 2. TR (TR 250 毫克/公斤) | 14 |

- | | |
|--|----|
| 3. NA (TR 250 毫克/公斤 + NA 50 毫克/公斤/天) | 14 |
| 4. MD (TR 250 毫克/公斤 + MD 150 毫克/公斤/天) | 14 |
| 5. NA+MD (四丁酚醛 250 毫克/公斤 + NA 50+MD 150 毫克/公斤/天) | 14 |
| 6. SI10 (TR 250 毫克/公斤 + SI 10 毫克/公斤/天) | 12 |
| 7. NA+SI2 (TR 250 毫克/公斤 + SI 2 + NA 50 毫克/公斤/天) | 12 |
| 8. NA+SI2+MD
(TR 250 毫克/公斤 + SI 2 + NA 50 + MD 150 毫克/公斤/天) | 12 |

在 1、2、3 週後（在 TR 注射後隔天起算）在乙醚麻醉下藉由心臟穿刺獲得用於生化分析之血液。以離心分離出血清，並以商業可得之套件分析總 C、HDL-C、LDL-C 和 TG 濃度。

統計：藉由使用軟體 Microsoft Excel 數學化處理所得數據，結果以平均數±平均標準差(SEM)表示。使用 ANOVA 單向分析及學生 t 檢驗來比較不同群組之平均結果。於 P<0.05，結果之差異被認為是顯著的。

結果：重複注射 TR 發展了明顯且穩定的高膽固醇血症和高血脂症，其特徵在於相較於控制組，顯著的總 C、LDL-C 和 TG 濃度之增加。NA 療法，更顯著地在第一週，限制了總 C、LDL-C 和 TG 之增加，但僅在 2 和 3 週時顯著地增加 HDL-C 濃度。MD 就降低總 C 和 LDL-C 濃度及增加 HDL-C 濃度方面之活性稍為較弱，但並不阻止 TG 濃度之增加。出人意外地，NA+MD 之組合使用，相較於個別成分，在降低 LDL-C 和 TG 濃度方面和進一步增加 HDL-C 濃度方

面，更有效。再者，延長 NA+MD 之使用（在我們實驗中為 2 或 3 週）證明了，相較於使用 NA+SI，在降低 LDL-C 和 TG 濃度方面和增加 HDL-C 濃度方面，實質上更為顯著（見下述）。因此，預期 NA+MD 之組合物於預防和/或治療高膽固醇血症和高血脂症方面係有用的。

以劑量 10 毫克/公斤使用 SI，明顯地降低了由 TR 誘發之總 C 和 LDL-C 之增加，但對 HDL-C 和 TG 濃度僅有稍為影響。以臨床上可接受之比例結合使用 SI 和 NA，證明了對抗血清中總 C、LDL-C 和 TG 增加的明顯保護，並增加了 HDL-C 濃度。出人意外地，NA、SI 和 MD 之結合使用，相較於各成分個別使用，仍證明了對抗 TR 誘發之改變最佳的保護，且在降低 TG 和 LDL-C 濃度方面，顯著地比 NA+SI 更佳。對於臨床實務特別重要的是，NA、SI 和 MD 之結合在增加 HDL-C 濃度方面，實質上比 SI 或 NA 個別都好，此所觀察到的事實。因此，預期 NA+MD 和 NA+SI+MD 之組合物於臨床上預防和/或治療高膽固醇血症和高血脂症方面係有用的。

表 7

NA、SI 和 MD 在大鼠高血脂症模型之脂質方面分別的以及組合物的影響
； n=9-14；平均數±標準差

群組	1、2 和 3 週後之總 C，毫克/分升		
	C1	C2	C3
控制組	77.6±4.9***	75.1±5.1***	72.7±2.5***
TR	487.6±25.4	501±16.7	513±41.1
NA	345±15.7***	401.1±25.1**	405.5±25.9*
MD	412±24.7	414.7±23.2*	401±22.8*
NA+MD	340.5±19.5***&	360±21.7***	346.4±32.8**
SI	314±29.6***	329.5±36.2**	335.7±31.6**

NA+SI	345.9±27.5**	388.7±32.3*	384.5±33.9*
NA+SI+MD	333.5±26.2***&	376.4±23.1***	333.4±19.3***\$&

表 (續)

群組	1、2 和 3 週後之 HDL-C，毫克/分升		
	HDL-C1	HDL-C2	HDL-C3
控制組	54.6±1.9*	54.1±1.3	53.7±1.0*
TR	76.3±6.9	76.2±11.4	77±10.2
NA	111.3±9.1*	144.7±13.5**	127.3±10.9**
MD	107.3±8.4*	118.6±10.3*	115.9±9.6*
NA+MD	126.2±11.1**	150.4±11.2***&#	136.9±18.1*
SI	84.5±12.5	98.5±20.5	94.4±10.2
NA+SI	99±12.9	116.2±11.7*	114.9±11.9*
NA+SI+MD	124.8±18.2*	157.3±15**&#	143.2±9.7***

表 7 (續)

群組	1、2 和 3 週後之 LDL-C，毫克/分升		
	LDL-C1	LDL-C2	LDL-C3
控制組	18.7±3.8***	19.7±4.4***	16.3±2.0***
TR	388.7±26.7	402.1±19.2	405.1±41.7
NA	216.3±14.0***	250.3±20.6***	265.1±18.4*
MD	290.8±21*	275±22.3**	270±16.9*
NA+MD	209.6±16.7***&	197.6±15.4***&\$#	203.3±20.3**&\$#
SI	212±24.1***	228.9±20.6***	232.7±22.8**
NA+SI	227.2±26.1***	272.5±21.3**	268±23.2*
NA+SI+MD	193.2±16.5***&	216.6±17***&\$#	197.1±16.6**&\$#

表 7 (續)

群組	1、2 和 3 週後之 TG，毫克/分升		
	TG1	TG2	TG3
控制組	38±2.9***	37±3.2***	38±4.4***
TR	1240±80,1	1297±78.3	1234±114.1
NA	734±81.6***	860±73.8**	828±44.7*
MD	1040±91	1081±63.2	1010±72.5
NA+MD	785±62.9***&	792±73.8***&	774±39.2**&#
SI	849±96.8*	879±72.1**	891±129.1
NA+SI	769±69.2***	868±36.1***	879±31*
NA+SI+MD	734.4±95.7***&	763±36***&\$#	692±45**&\$#

*P<0.05 vs TR

**P<0.005 vs TR

***P<0.0005 vs TR

\$P<0.05 vs NA

&P<0.05 vs MD

#P<0.05 vs NA+SI

實例 3—心臟保護特性之測定

方法：雄性韋斯大鼠被分配成 6 組（每組 12 至 16 隻動物）：

- 1) 控制組經口接受 0.9% 鹽水；
- 2) NA50 組經口接受 50 毫克/公斤/天之 NA；
- 3) MD50 組經口接受 50 毫克/公斤/天之 MD；
- 4) NA50+MD50 組經口接受 50 毫克/公斤/天之 NA 加上 50 毫克/公斤之 MD；
- 5) MD150 組經口接受 150 毫克/公斤/天之 MD；
- 6) NA50+MD150 組經口接受 50 毫克/公斤/天之 NA 加上 150 毫克/公斤/天之 MD。

在實驗之前 48、24 和 1 小時，測試群組之動物經由胃導管接受實驗物質之水溶液。控制組之動物接受等量之鹽水。動物被麻醉（腹腔注射戊巴比妥鈉 60 毫克/公斤）並置於機械通氣下，以準備阻塞左冠狀動脈。藉由閉塞冠狀 45 分鐘長，接著再灌注 2 小時長，來誘發動脈實驗性梗塞。記錄下列數據：VT、VF、死亡動物數、平均動脈壓、RPP，該 RPP 心肌描述之功能狀況、反映心肌中 ATP 之產量，且為臨床的和實驗數據分析廣泛使用的指數（Broderick TL 著，藥物研究發展 2008 年；9(2)期：頁 83-91）。實驗後，藉由三苯四銻-伊文思藍灌注染色方法偵測缺血和壞死區域。切開左心室並秤重，計算形態的判斷標準：左心室之缺血區域之比例、左心室之壞死區域之比例，以及壞死區域對缺血區域之比（壞死指數）。

統計：各群組的結果以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。群組內的統計分析以學生 t 檢驗進行。從局部缺血-再灌注實驗中存活的動物中，計算由所記錄之血壓和心搏速獲得之數據。計算所有動物之心律不整 (VT 和 VF) 發病數和死亡數。使用單向 ANOVA 分析及重複比較 (塔基檢定) 來比較各實驗組間之不同。P<0.05 被認為是顯著的。

結果：在控制組 16 隻動物中，心臟局部缺血接著再灌注造成嚴重的心律紊亂，有 7 隻死亡。NA 組在心律紊亂方面相較於控制組並無顯著地不同。MD 和 NA+MD 組相對於控制組具有較不顯著的危及生命的心律紊亂 (VF 和 VT)，但死亡數僅有在 NA50+MD50 組和 NA50+MD150 組顯著較低 (下表 8)。

表 8

冠狀動脈閉塞與再灌注期間，待測物質對心律不整及死亡率之效果

群組	n	心室心搏過速		心室顫動		死亡	
		n	%	n	%	n	%
I/R 控制組	16	16	100	13	81.3	7	43.8
NA50	12	12	100	8	66.7	3	25
MD50	12	11	91.7	7	58.3	3	25
MD150	12	10	83	7	58.3	2	17
NA50+MD50	12	10	83	6	50	1*	8.3
NA50+MD150	12	9	75	5	42	0*	0

*P<0.05 vs I/R 控制組

再灌注期間，在所有實驗組中平均動脈壓及心搏速皆相似，但在控制組中觀察到的 RPP 之降低，僅有在 NA50+MD50 組和 NA50+MD150 組係統計上顯著地被預防 (表 9)。此指出了，以本發明組成物藥品做一短暫 (3 天

長) 之前處理, 即已具備對抗梗塞造成之功能性枯竭相當的保護。

表 9

冠狀動脈閉塞與再灌注期間, 待測物質對心率血壓乘積(RPP)之效果; n=9-12; 平均數±標準差

群組	初始	閉塞 45 分鐘	再灌注 120 分鐘
I/R 控制組	44.2±3.0	39.7±2.3 ^{&}	34.2±2.1 [#]
NA	43.1±2.8	40.4±2.7	36.0±1.3 ^{&}
MD 50	44.8±1.7	41.5±2.9	37.6±1.9 ^{&}
MD 150	44.3±1.8	40.3±2.5	37.9±1.8
NA 50+MD 50	42.7±3.1	40.5±1.9	38.6±1.8 [*]
NA 50+MD 150	43.9±2.7	41.2±1.8	40.1±1.6 ^{**}

*P<0.05 vs I/R 控制組

**P<0.005 vs I/R 控制組

[&]P<0.05 vs 初始

[#]P<0.01 vs 初始

此亦由本發明組成物藥品(兩種劑量組合之NA+MD皆是)統計上顯著地降低了對左心室和對缺血區域之壞死區域百分比(表 10), 所確認之。

表 10

對大鼠冠狀動脈閉塞與再灌注期間, 待測物質對心臟型態學上之效果; n=9-12; 平均數±標準差

群組	左心室, 毫克	缺血區域 / 左心室, %	壞死區域 / 左心室, %	壞死指數, %
I/R 控制組	872.9±25.1	48.4±2.4	34.4±2.8	70.9±3.7
NA	880.4±25.2	47.0±1.4	29.8±2.4	63.0±3.9
MD 50	878.9±48.1	48.4±1.5	28.4±3.1	58.4±4.3
MD 150	873.2±41.8	48.1±1.9	28.1±1.8 [*]	58.2±2.9 [*]
NA 50+MD 50	887.6±22.3	46.8±1.6	22.8±1.9 ^{**§}	49.1±2.1 ^{**§&}
NA 50+MD 150	867.0±31.5	47.7±2.1	21.5±1.3 ^{**§&}	45.6±2.6 ^{#§&}

*P<0.05 vs I/R 控制組

**P<0.005 vs I/R 控制組

[#]P<0.0005 vs I/R 控制組

[&]P<0.05 vs MD 同劑量

[§]P<0.05 vs NA

壞死指數=壞死區域/缺血區域 x 100

因此我們已出人意外地發現，藉由 NA 和 MD 之組合物藥品之協同作用對抗心肌梗塞發病之高精度保護。NA+MD 組合物顯著地維持了心肌之功能，增加動物之存活率（表 8、9），且相較 NA 和 MD 個別，其更顯著地避免心肌因局部缺血與再灌注而壞死（表 10）。

實例 4—對腦部之抗缺氧和抗局部缺血效果之測定 進行進一步實驗，以測定在實驗性 CNS 局部缺血、缺氧和中風模型中，NA 和 MD 之組合物藥品相較於個別成分效用之效用。

4.1. 小鼠腦循環缺氧模型

方法：藉由在 3 秒內導入 $MgCl_2$ （2% $MgCl_2$ ，劑量 200 毫克/公斤）至雄性 ICR 小鼠之尾靜脈誘發實驗性循環缺氧（Berga P 等人著，藥物發現 1986 年；36(9)期：頁 1314-1320）。動物以單一劑或等劑量每日一次共 7 日接受待測物質。藉由胃內導管導入待測物質。隨機地將動物分為 7 組（一組 6 至 10 隻動物）：

控制組接受水 0.01 毫升/公克

PI500 組（主動控制）接受 500 毫克/公斤劑量之吡乙醯胺

NA50 組接受 50 毫克/公斤劑量之 NA

MD50 組接受 50 毫克/公斤劑量之 MD

MD150 組接受 150 毫克/公斤劑量之 MD

NA50+MD50 組接受 50 毫克/公斤 NA 加上 50 毫克/公斤

MD 之劑量

NA50+MD150 組接受 50 毫克/公斤 NA 加上 150 毫克/公斤

MD 之劑量

於試驗開始前 1 小時給予待測物質之最後一劑。從 MgCl₂ 注射之末到最後呼吸動作的中止之期間，被記錄為存活時間。

統計：各群組的結果以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。群組內的統計分析以學生 t 檢驗進行。使用單向 ANOVA 分析及重複比較(塔基檢定)來比較各實驗組間之不同。P<0.05 被認為是顯著的。

結果：結果概述於表 11 中。當重複導入，臨床使用的 PI 和 MD 劑顯示了保護性抗缺氧效果(表 11)。意想不到地，NA+MD 之組合物在單一施用後即已顯示了明顯的保護效果，特別是劑量 NA50 + MD150，其中該效果係優於個別物質。重複施用此組合物具有更顯著的效果。在此試驗中所得之結果指出，NA+MD 之組合物於臨床上治療缺氧的可能用途。

表 11

待測物質在小鼠腦循環之效果
缺氧模型；n=6-10；平均數±標準差

群組	存活時間，秒	
	單一劑量	處理 7 天
控制組	25.75±1.01	25.4±1.07
PI500	28.5±1.04	29.8±1.32*
NA50	27.3±0.68	27.8±0.86
MD50	26.5±1.07	28.9±1.20*
MD150	27.0±0.93	29.8±1.19*
NA50+MD50	30.8±1.44* [§]	32.6±1.18 ^{#&§}
NA50+MD150	31.1±1.33* ^{§&}	34.4±1.50 ^{@§§}

*P<0.05 vs 控制組

#P<0.005 vs 控制組

@P<0.0005 vs 控制組

\$P<0.05 vs MD 同劑量

&P<0.05 vs NA

§P<0.005 vs NA

4.2. 中大腦動脈閉塞模型

方法：使用體重 21 至 25 公克雄性 ICR 小鼠。根據適用於小鼠之由 Zhang Q 等人著 (*Behavioural Brain Research* 2006 年；169 期：頁 66 - 74) 的已知方法以腔內細絲技術閉塞中大腦動脈 (MCA) 源頭 (Longa EZ 等人著, *中風* 1989 年；20 期：頁 84-91)。使用預防性 (每天一次共 7 天, 用於永久 MCA 閉塞模型) 和治療性 (在暫時性 MCA 閉塞後開始治療) 處理科學實驗計畫。

控制組動物僅接受鹽水。此測試係一對臨床狀況上真正的腦損傷和中風 (其常遇到中大腦動脈閉塞) 的好的模型。根據 2 個科學實驗計畫進一步繼續實驗。在第一個計畫中, 閉塞係永久的。在第二個計畫中, 以腔內細絲之閉塞係暫時性的, 且該細絲在 2 小時後被移除, 並導入再灌注。在閉塞後 24 小時評估動物之神經狀態。以一等級尺度評估, 給予不具病狀的動物 0 點, 給予無法自發性活動的動物 4 點 (Longa EZ 等人著, *中風* 1989 年; 20 期: 頁 84-91)。在評估神經功能缺損後, 動物接受過量的戊巴比妥鈉, 將腦分離並切片成 6 層, 每層厚度約 1.5 毫米。以 2% 三苯四銻鈉於 37 °C 染色該等切片 30 分鐘並拍照。選擇了在視神經交叉層腦側的第三個切片, 其為最適於計算腦缺血損傷

者，因為其完全由來自中大腦動脈之血液供應。

統計：7 至 9 隻分別的動物之數據以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。使用單向 ANOVA 分析及重複比較(塔基檢定)來比較各實驗組間之不同。以學生 t 試驗分析群組間神經功能評分之差異。P<0.05 被認為是顯著的。

結果：閉塞 24 小時後，所有 8 控制組動物展現了平均具 2.63 點的神經紊亂(下表 12)。

表 12

待測物質對永久性閉塞組動物之神經狀態之影響；n=7-9；平均數±標準差

測試群組	神經狀態，點
控制組	2.63±0.38
假手術組	0.14±0.14 [#]
NA50 x 7	2.25±0.25
MD150 x 7	1.63±0.29
NA50+MD150 x 7	1.38±0.26 ^{*&}

*P<0.05 vs 控制組

[#]P<0.0005 vs 控制組

[&]P<0.05 vs NA

在假手術組中，僅有 1 隻動物展現了輕微的紊亂。重複使用 MD 共 7 天部分預防了由造成之 MCA 閉塞神經狀態之惡化。出人意外地，NA+MD 組合物展現了明顯的對神經紊亂之防禦，優於 NA 之效果(表 12)。

就控制組動物，中大腦動脈閉塞導致缺血性損傷，其在視神經交叉層之腦組織中佔了 22.2% (表 13)。施用 NA+MD 組合物共 7 天展現了明顯的對腦組織損傷之防禦，亦優於 NA 單獨之效果。

表 13

7 天施用待測物質對永久性閉塞組動物之腦缺血梗塞損傷區域的大小之影響；
n=7-9；平均數±標準差

測試組	缺血性損傷區域，%
控制組	22.2±2.21
NA	19.0±1.75
MD	16.9±1.82
NA50+MD150	12.9±1.54* ^{&}

*P<0.005 vs 控制組

[&]P<0.05 vs NA

在下一個實驗中，中大腦動脈被暫時性閉塞 2 小時，接著再灌注，導致了控制組動物在試驗 24 小時後嚴重的腦功能紊亂（下表 14）。在閉塞 1、3 和 6 小時導入待測物質，NA25（25 毫克/公斤 x 3）組和 MD75（75 毫克/公斤 x 3）組兩者皆無提供明顯的保護。出人意外地，僅有具測試組合的 NA25+MD75（25 毫克/公斤 + 75 毫克/公斤）組在閉塞後導入 3 次，得到了腦功能實質上的保護，顯著地優於 NA 和 MD 單獨（下表 14）。

表 14

於暫時性閉塞後，待測物質對神經功能之醫藥效果；n=7-9；平均數±標準差

測試組	神經狀態，點
控制組	2.75±0.31
假手術組	0.29±0.18 [#]
NA25	2.25±0.16
MD75	2.13±0.23
NA25+MD75	1.44±0.18* ^{&} [§]

*P<0.005 vs 控制組

[#]P<0.0005 vs 控制組

[§]P<0.05 vs MD

[&]P<0.05 vs NA

形態分析揭露了，NA 或 MD 單獨並無明顯的防禦由

MCA 暫時性閉塞和再灌注造成之腦組織損傷（下表 15）。出人意外地，NA+MD 之組合（25 毫克/公斤 + 75 毫克/公斤），在閉塞後開始治療，展現了實質上防禦腦組織損傷，顯著地優於 NA 和 MD 單獨（表 15）。

表 15

待測物質對暫時性閉塞組動物之腦缺血梗塞損傷區域的大小之醫藥效果；n=7-9；平均數±標準差

測試組	缺血性損傷區域， %
控制組	22.3±1.3
NA 25	18.9±1.8
MD 75	18.2±1.3
NA 25+MD 75	13.3±1.7 # & §

P<0.005 vs 控制組

§P<0.05 vs MD

&P<0.05 vs NA

因此我們已出人意外地發現，不論在 MCA 閉塞前或後的醫藥上使用，NA 加上 MD 之組合，比起單獨成分，提供了一顯著較佳的對腦組織在功能上和形態上損傷之防禦。這些結果指出，該等藥品之組合物可在治療和/或預防包含中風之 CNS 缺氧-缺血病狀有益處，此亦因為其對血小板聚集和血栓症測試之抑制活性，如下所述。

抗血小板聚集和抗血栓活性

測試：血小板聚集（在活體外）；大鼠血栓症模型（活體內）；

進行記錄活體內皮膚溫度之改變。

實例 5— MD 和 NA 對血小板聚集之影響

方法：於從未曾使用過 ASA 或任何其他抗血小板製劑之健

康捐贈者 B. (37 歲) 採集全血使用多板(Multiplate) (多種血小板功能分析儀, Dynabyte Medical 公司, 德國), 以已建立之方法 (Toth O 等人著, *血栓形成與止血法期刊* 2006 年; 96 期: 頁 781-788。Velik-Salchner C 等人著, *麻醉與止痛期刊* 2008 年; 107 期: 頁 1798-1806) 來研究血小板聚集。血液樣本被搜集至以水蛭素覆蓋之塑膠管中 (Dynabyte Medical 公司, 德國), 以用於在採集後 30 分鐘到 4 小時之間測量。根據經修飾之 Dynabyte Medical 公司之科學實驗計畫來進行測量。等滲氯化鈉溶液 (0.3 毫升, 或具欲研究之化合物之鹽水 (至最終濃度 10^{-6} 至 10^{-4} 毫莫耳/毫升)) 被預加熱至 37°C 並用移液管移至測試細胞中, 再加入 0.3 毫升以水蛭素抗凝之全血樣本。經 5 分鐘培養後, 在 37°C 攪拌之, 以添加適當的促效劑溶液 (取得自 Dynabyte Medical 公司, 德國) 來開始測量:

- 1) 二磷酸腺甘酸 (ADP) - ADP-測試。ADP 藉由 ADP 受體 (P2Y₁₂ 及其他) 刺激血小板活化。
- 2) ADP HS 測試 (前列腺素 E₁ 與 ADP 之組合)。添加內源性抑制劑 PGE₁, 使得 ADP HS 測試對氯吡格雷和相關藥物之效果相較於 ADP 測試更加敏感。

記錄聚集曲線 6 分鐘, 並使用 Dynabyte Medical 公司之軟體分析。我們計算了下列血小板聚集之參數:

- 1) Amax, 以任意單位(AU)之聚集的血小板聚集表現之最大值;
- 2) AUC, 在聚集曲線下之總面積 (AU*min)。此會被聚集

曲線之總高度以及其斜度所影響，且最適合於表現整體的血小板活性。

統計：結果以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。為了評估差異的顯著性，使用單向 ANOVA 分析。虛無假設被排除，則使用事後比較學生紐曼寇爾檢定。

結果：規劃第一系列之測試，以測定不同濃度之藥劑之效果。如表 16 所示，廣泛濃度範圍的 MD 提供明顯的對由 ADP+PGE₁ 誘發之血小板聚集之防禦。Amax 從控制組的 100%降至 MD 10⁻⁵ 組和 10⁻⁴ 組的 55-58%。NA (在 10⁻⁴ 和 10⁻³ 毫莫耳/毫升組) 亦降低由 ADP 導致之聚集。兩種物質之結合活性提供了顯著較多且顯著的由 ADP 或 ADP+PGE₁ 導致之血小板聚集之降低，此顯示於 AUC 和 Amax 兩者數據中。

表 16

MD、NA 及其組合對由 ADP 和 PGE₁+ADP 誘發之血小板聚集之影響；平均數±標準差；N=5-8.

群組	ADP			PGE ₁ + ADP		
	AUC (AU*min)	Amax		AUC (AU*min)	Amax	
		AU	%		AU	%
控制組	942±43.7	169.3±6.4	100	1005±46.5	175.3±8.9	100
MD 10 ⁻⁶	897±23.4	159.5±4.4	94	874±31.0	151.8±5.2	87
MD 10 ⁻⁵	882±26.0	157.7±3.4	93	579±48.4**	96.6±48.3**	55
MD 10 ⁻⁴	869±36.3	153.2±6.1	90	587±37.4**	101.4±2.2**	58
NA 10 ⁻⁴	859±62.5	148.0±5.2*	87	862±51.9	146.7±8.6	84
MD10 ⁻⁴ + NA10 ⁻⁴	474±34.9** *##SS	81±5.7**** *##SS	48	306±35.5* **##SS	54.5±5.8**** *##SS	31

*P<0.05 vs 控制組

**P<0.005 vs 控制組

***P<0.0005 vs 控制組

****P<0.00005 vs 控制組

#P<0.005 vs MD 10⁻⁴

##P<0.0005 vs MD 10⁻⁴

\$P<0.005 vs NA 10⁻⁴

\$\$P<0.0005 vs NA 10⁻⁴

實例 6 — MD 和 NA 對血栓症之影響

方法：我們選擇一種基於由三氯化鐵(FeCl₃)所誘發之大鼠動脈血栓症的實驗性血栓症模型 (Kurz K 等人著，*血栓形成研究* 1990 年，60 期：頁 269-280。Wang X 和 Xu L 著，*血栓形成研究* 2005 年，115 期：頁 95-100)。由鐵仲介之化學氧化作用起始的組織損傷使易於誘發血小板黏附和聚集之受傷部位，接著凝血活化及纖維蛋白沉積。在實驗中使用體重 350-420 公克為之雄性韋斯大鼠。隨機將大鼠分為多個實驗組，每組由不少於 7 隻動物所構成。在血栓症起始前 2 小時藉由口路徑施用媒介物或測試化學物 MD (25 毫克/公斤)、NA (25 毫克/公斤)及組合物 MD+NA (25+25 毫克/公斤)。

將大鼠以腹腔注射 50 毫克/公斤戊巴比妥鈉麻醉，並置於熱控手術台上，在整個實驗期間保持 37°C 之體溫。藉由頸切口將頸動脈之一暴露出，自黏附的組織、迷走神經分離，且一流探針 (電磁血流量計 MFV 1200, Nikon Kohden 公司，日本) 被放置在總頸動脈之露出部位，以記錄血流量。在 15 分鐘的穩定期間過後，藉由局部施用 (接觸血管外膜表面) 兩片 (2x1 毫米) 浸於三氯化鐵(FeCl₃)之 15% 溶液之惠特曼濾紙，來誘發血栓症。頸動脈血栓形成的時間是以造成血流完全停止所需之時間為記錄，在此則以直到

阻塞之時間 (TTO) 記述之。

此外，在血栓症實驗期間，測量大鼠尾巴流血時間。以解剖刀從尾端 5 毫米處橫切尾巴，並將尾巴立即浸入 37 °C 溫暖等滲鹽水中，直到注意到流血停止。流血完全停止且在接下來 30 秒無再流血的時間點，定義為流血停止。

統計：藉由軟體 Microsoft Excel 2007 分析數據。7 至 8 隻分別的動物/數量之數據以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。使用單向 ANOVA 分析及重複比較（塔基檢定）來比較各實驗組間之不同。P<0.05 被認為是顯著的。

結果：在控制組中，三氯化鐵(FeCl₃)導致之血管血栓症及其結果之動脈流停止的平均時間為 24.4 分鐘（表 17）

表 17

MD、NA 和其組合對 FeCl₃ 導致之血栓症之影響。平均數±標準差；N=7-8

群組	直到閉塞之時間 (TTO)		尾巴流血時間	
	分鐘	%	分鐘	%
控制組	24.4±1.45	100	8.9±1.28	100
MD 25 毫克/公斤	29.8±2.29	122	10.5±1.01	118
NA 25 毫克/公斤	30.3±3.12	124	11.5±1.39	129
MD+NA (25+25 毫克/公斤)	34.0±2.78*	139	11.4±1.42	128

*P<0.05 vs 控制組

MD 在 25 毫克/公斤劑量並無提供明顯的 TTO 之增加。NA 造成少量 TTO 之增加但不明顯的。NA 對尾巴流血時間之影響很小。MD 和 NA 之組合使用意想不到地造成 TTO 相當明顯的增加 (39%)，而無尾巴流血時間明顯的增加。

思及 MD 和 NA 之組合物在活體外對抗血小板聚集以及活體內 TTO 之延長的正面效益，此組合物可應用於降低患顯著的動脈粥狀硬化症、可能的心肌梗塞和損傷以及周邊血液循環失調之病人的血栓症風險。MD 和 NA 組合物不延長流血時間，此事實指出，此組合物在用於具在手術前及手術後期間增加流血風險之病患之可能用途。

實例 7— MD/NA 和 LA/NA 結合應用於降低潮紅之比較研究

菸鹼酸(nicotinic acid) (菸鹼酸(niacin), NA) 有效地降低血清膽固醇、LDL 和三酸甘油酯，且提高 HDL。然而對接受立即或持續釋放菸鹼酸之病人，一項限制性不利影響為，明顯的皮膚溫暖和血管擴張的迅速發展，稱為「潮紅」，其嚴重地導致停藥 (Gupta EK 和 Ito MK 著，心臟疾病 2002 年；4 期：頁 124 - 137)。拉羅匹侖(laropiprant) (MK-0524) 已被提出做為降低菸鹼酸潮紅最有活性及前瞻性之藥劑之一 (Cheng K 等人著，美國國家科學院院刊 2006 年；103 期：頁 6682-6687)。我們的研究目標為，比較在實驗中 MD 和 LA 對由 NA 造成之潮紅 (皮膚溫度和血流的改變) 的影響。

7.1.1. 皮膚的血管擴張之測定

模型：以戊巴比妥鈉 (50 毫克/公斤，腹腔注射) 麻醉雄性韋斯大鼠並以每小時額外的劑量 (10 毫克/公斤) 使處於麻

醉狀態下。測量左頸動脈之血壓，以標準 II 導聯記錄 ECG。以雷射都卜勒流量計 (OXYFLOW 2000, 美國) 測量右耳動脈之血流。以 AD 儀器 PowerLab 系統記錄血流、ECG 和動脈壓，並儲存在電腦中以待進一步處理。在 10 分鐘長之基準記錄後，以皮下注射將待測物質注射入髻甲區域並繼續記錄 30 分鐘。考慮到平均血壓，計算每隻動物之平均血流數據，並與起始值以及控制組比較。從 5 至 8 個分別實驗計算結果，並以百分比表示作為對基準而言最大的血流 (Carballo-Jane E 等人著，*藥理學與毒理學方法期刊* 2007 年；56(3)期：頁 308-316)。

統計：各群組的結果以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。藉由用於不成對數據之學生 t 檢驗和卡方檢驗進行群組間的統計分析。使用單向 ANOVA 分析及重複比較 (塔基檢定) 來比較各實驗組間之不同。P<0.05 被認為是顯著的。結果：如可由下表 18 所觀察到者，在此動物模型中，劑量 15 毫克/公斤之 NA 導致耳動脈明顯的血流增加。MD 相似於控制組，導致不明顯的血流變化。NA 與 MD 一起，比起 NA 單獨，導致遲延 (緩慢增加) 且明顯的統計上較不顯著的血流的絕對增加 (表 18)。MD 可拮抗由 NA 導致之周邊血管擴張，此潛力可具有臨床上用於減弱菸鹼酸對皮膚的影響 (潮紅) 的有益效果，因此並其被進一步詳細研究 (如下所述)。

表 18

實驗物質對皮膚的血管擴張之影響；n=5-8, 平均數±標準差

群組	血流之改變， %
控制組 / 溶劑	2.15 ± 4.29
NA (15 毫克 / 公斤)	46.1 ± 7.52 [#]
MD (45 毫克 / 公斤)	7.15 ± 3.72
NA+MD (15+45 毫克 / 公斤)	19.33 ± 6.44 ^s

[#] P<0.01 vs 控制組

^s P<0.05 vs NA

7.1.2. MD 和 LA 對由 NA 誘發之皮膚的血管擴張之影響

材料與方法：見 7.1.節

實驗計畫

群組	處理	動物數
用於NA和MD之溶劑		5
NA	NA 15 毫克/公斤	7
用於LA之溶劑		5
LA	LA 0.3 毫克/公斤	6
LA+NA [0]	LA 0.3 毫克/公斤+NA 15 毫克/公斤	6
LA+NA [30]	LA 0.3 毫克/公斤+NA 15 毫克/公斤	7
MD	MD 45 毫克/公斤	6
NA+MD [0]	NA 15 毫克/公斤+MD 45 毫克/公斤	6
NA+MD [30]	NA 15 毫克/公斤+MD 45 毫克/公斤	6

統計：各群組的結果以平均數±標準差(Mean±SEM)表示。
 群組內的統計分析以學生 t 檢驗進行。使用單向 ANOVA 分析
 及重複比較(塔基檢定)來比較各實驗組間之不同。P<0.05
 被認為是顯著的。

結果：當單獨施用 MD 時，相似於 LA，僅造成血流明顯的改變。當同時施用 NA 和 MD（提前時間 = 0），血流之升高變慢，而比起同時施用 NA 和 LA（LA+NA [0]，見表 19）係較不顯著的。於耳朵血流方面，MD+NA [0]（當 MD 與 NA 一起被加入）組和 MD+NA [30]（在 NA 的 30 分鐘前做 MD 45 毫克/公斤之前處理）組之間沒有明顯的不同。在我們的實驗中，在 NA 的 30 分鐘前做 LA 之前處理（NA+LA [30]）顯著地降低了在大鼠耳朵血管中由 NA 誘發之血流的提升（表 19）。

表 19

MD 和 LA 對由 NA 誘發之皮膚血管擴張的影響；N=5-7, 平均數±標準差

群組	血流變化，%
用於 NA 和 MD 之溶劑	2.12±1.66 ^{SS}
NA	52.27±8.5**
MD	6.04±2.02 ^S
NA+MD [0]	25.11±5.25* ^S
NA+MD [30]	28.07±5.74* ^S
用於 LA 之溶劑	7.31±1.93 ^{SS}
LA	9.87±2.60 ^S
NA+LA [0]	29.34±7.82*
NA+LA [30]	16.32±6.21 ^S

*P<0.05 vs 溶劑

**P<0.005 vs 溶劑

^SP<0.05 vs NA

^{SS}P<0.005 vs NA

MD 可拮抗由 NA 導致之周邊血管擴張，此潛力可具有臨床上用於減弱 NA 對皮膚的影響（潮紅）的有益效果。在我們的實驗中，相較於同時施用 NA 和 MD，我們無法建立任何 NA 和 LA 組合物之同時施用的優點。

7.2. 由菸鹼酸誘發之皮膚溫度改變的評定

材料與方法：為了記錄整隻大鼠皮膚溫度的變化，使用非接觸式溫度記錄方法（Papaliadis D 等人著，*英國藥理學期刊*/2008 年；153 期：頁 1382-1387）。以一手持式紅外測溫儀（Model Proscan 510，TFA-Dostman 公司）進行溫度測量。於使用前三日，使動物習慣於被處理及該紅外線探針。在無麻醉下，於動物被皮下注射 NA（鬚甲區域）或溶劑/測試化合物（尾巴區域）前刻，記錄三個從每一耳背側讀到的溫度。接著在一長至 60 分鐘的期間，每 5 分鐘測量耳溫。在測量之間，放置動物回牠們的籠內。將六個耳溫測量（每耳三個）在每個時間點平均之。在實驗的每一天，首先將拉羅匹侖(laropiprant)（MK 0524，開曼化學品 Cayman Chemicals）溶解於二甲基亞砷(DMSO)中，接著才以 0.9% 氯化鈉(NaCl)稀釋。NA 和 LA 組合物之比率係基於 Tredaptive™ (菸鹼酸/拉羅匹侖(laropiprant)) 1000 毫克/20 毫克修改緩釋片之產品特性概要。

實驗計畫

I 測試時間與溶劑對皮膚溫度之影響

群組	處理	動物數
SolvLA	用於 LA 之溶劑	6
SolvNA	用於 NA 之溶劑	6
NA	NA 15 毫克/公斤（皮下注射）	6

II NA/LA 和 NA/MD 組合物對皮膚溫度影響之研究

與 NA 同時導入 LA 如 LA+NA [0]，或在 NA 的 30 分鐘之前導入 LA 如 LA+NA [30]，與 NA 同時導入 MD 如 NA + MD [0]，或在 NA 的 30 分鐘之前導入 MD 如 NA + MD [30]；亦檢驗 LA 和 MD 單獨對皮膚溫度之影響。

群組	處理	動物數
控制組/溶劑		6
NA	NA 15 毫克/公斤	6
LA	LA 0.3 毫克/公斤	6
NA+LA	NA 15 毫克/公斤+LA 0.3 毫克/公斤	6*
MD	MD 45 毫克/公斤	6
NA+MD	NA 15 毫克/公斤+MD 45 毫克/公斤	6*

*於每個時間群組

統計：藉由軟體 Microsoft Excel 分析數據，結果以平均數 +/- 平均標準差表示。根據 ANOVA 使用單因子分析及學生 t 檢定) 來比較不同群組之平均結果。P<0.05 被認為是顯著的。

結果：從 10 AM 至 2 PM，所記錄的基準平均耳溫係 28.1 - 30.2 °C。對 NA (15 毫克/公斤，皮下注射) 的時間反應研究顯示了，在 10 分鐘時，從基準算的最高溫度增加了 2.32 ± 0.37 °C，與溶劑組比較最高溫度增加了 2.57 ± 0.43 (P<0.005) (圖 1)。被建立的是，LA 溶劑對耳溫之影響僅有在注射

後的起初 5 分鐘實質上不同於 NA 和 MD 溶劑，因此僅使用一個控制組。

皮下注射 MD 或 LA 並不對大鼠耳朵皮膚溫度造成明顯的改變（表 21）。同時施用 NA 和 MD (NA+MD [0]組；提前時間=0) 造成了 NA 潮紅之降低，其係相似於同時施用 NA 和 LA。由 NA 造成的溫度增加被降低，相應地至 69% 和 67%（表 21）。在 MD+NA [0]（當 MD 與 NA 一起被添加）和 MD+NA [30]（在 30 分鐘前做 MD 45 毫克/公斤之前處理）之間，沒有溫度的變化。在我們的實驗中，僅有以 LA 前處理（當以皮下注射劑量 0.3 毫克/公斤，提前 NA 30 分鐘）造成明顯的防禦由 NA 造成的皮膚溫度增加（表 21）。

表 21

LA 和 MD 對由 NA 造成之皮膚溫度升高之影響；N=6, 平均數±標準差

群組	起始溫度， ^o C	最高溫度， ^o C	增加，%
控制組 / 溶劑	29.5±0.29	29.62±0.25 ^{\$\$\$}	-
NA	29.61±0.4	32.2±0.42***	100
LA	29.43±0.27	29.5±0.35 ^{\$\$\$}	-
NA+LA [0]	29.72±0.31	31.45±0.40**	67
NA+LA [30]	29.51±0.32	30.73±0.34* [§]	47
MD	29.42±0.38	29.7±0.31 ^{\$\$\$}	-
NA+MD [0]	29.53±0.29	31.33±0.48*	69
NA+MD [30]	29.68±0.26	31.40±0.39*	65

*P<0.05 vs 控制組

**P<0.005 vs 控制組

***P<0.0005 vs 控制組

§P<0.05 vs NA

\$\$\$P<0.0005 vs NA

因此我們已建立，NA 和 MD 之組合物不僅具有無法預期的協同抗血小板活性，還可降低副作用 - 潮紅。

實例 8—對血糖濃度影響之測定

已廣為人知的是，即使單一大口服劑量的 NA，增加動物血中 GL 濃度 (Thornton JH 和 Schultz LH 著，*乳品科學期刊* 1980 年；63 期，頁 262-268)，且在治療糖尿病病人時，使用 NA 須要監控糖濃度 (Goldberg RB 和 Jacobson TA 著，*梅歐醫院論文集* 2008 年；83(4)期：頁 470-8)。

方法：在實驗中使用雄性成年韋斯大鼠。動物從實驗前一晚禁食，以使血中糖濃度穩定。在實驗前以及口服空白對照組或待測物質後 45 分鐘，測定在靜脈血中 GL 濃度。以一商業可得之套件 (*Optium*, Abbott Diabetes Care Ltd 公司，美國) 測定 GL 濃度。使用高劑量之 NA (300 毫克/公斤，經口導入)，其為已知會造成穩定且長期的血中 GL 濃度升高。使用相同劑量之 MD (300 毫克/公斤)。

隨機將動物分為 4 組(n=8)：

- 1) 控制組 (接受 1% 氯化鈉 (NaCl) 溶液，劑量 2 毫升/公斤)
- 2) NA 組 (接受 NA，劑量 300 毫克/公斤)
- 3) MD 組 (接受 MD，劑量 300 毫克/公斤)
- 4) NA+MD 組 (接受 300 毫克/公斤 NA 和 300 毫克/公斤 MD)

統計：各群組的結果以平均數±標準差 (Mean±SEM) 表示。群組內的統計分析以學生 t 檢驗進行。使用單向 ANOVA 分析及重複比較 (塔基檢定) 來比較各實驗組間之不同。P<0.05 被認為是顯著的。

結果：NA 造成統計上明顯的 GL 濃度提高，對照於基準和控制組（下表 21）。MD 造成明顯的 GL 濃度之降低，與控制組並無不同。NA 和 MD 之組合物造成值得注意的、較不顯著的 GL 濃度之提高（對基準言改變 27.5%，對照由 NA 造成的 61.1%）。此正面效益指出，NA+MD 之組合藥品可在具不穩定或紊亂之血糖控制之病患體內造成較不顯著的副作用。

表 21

待測物質對大鼠血液中 GL 濃度之影響；n=8；平均數±標準差

群組	基準	實驗	對基準言 之改變，%	% 對控 制組
控制組 (鹽水)	3.84±0.51	3.9±0.53	+1.6	0
NA	3.8±0.344	6.12±0.42* &	+61.1	+56.9
MD	3.92±0.34	3.72±0.31	-5.1	-4.6
NA + MD	4.03±0.349	5.14±0.56	+27.5	+31.8

*P<0.05 vs 控制組

&P<0.01 vs 基準

概要結論

被意想不到地發現的是，NA 和 MD 之組合物增強了 NA 對疾病的治療效果，該疾病包括異常血脂症、高血脂症、動脈粥狀硬化症、選自由心絞痛和心肌梗塞構成之群組之冠狀動脈心臟病、含腦血管意外和中風和周邊動脈閉塞性疾病之暫時性或永久性缺血發作，該組合物改善了心臟與腦在缺血-缺氧下之病症。該組合物亦改良了由 NA 造成之周邊血管擴張。因此，該治療組合，相較於 NA，預計在治療脂質代謝相關之紊亂可展現改善之活性，使得可減少 NA 日劑量，並具有較不顯著的不良的副作用。

實施本發明之模式

在此處，治療組合此用語，係提供用於同時、依序或分別施用該組合物之組成分。因此，本發明提供一種同時、依序或分別使用之治療組合，其包含 NA 和 MD 或其醫藥上可接受的鹽類，用於預防血小板聚集和血栓症。本發明治療組合可以醫藥組成物之形式被施用。依據本發明之此態樣，提供一種醫藥組成物，其包含 NA 或其醫藥上可接受的鹽類和 MD 或其醫藥上可接受的鹽類，混合醫藥上可接受之稀釋液或載劑。

根據本發明之醫藥組成物亦包括分開的組成物，其包含一第一 NA 組成物或其醫藥上可接受的鹽類和一醫藥上可接受之稀釋液或載體，以及一第二包含 MD 或其醫藥上可接受的鹽類和一醫藥上可接受之稀釋液或載體。此組成物提供了能依序或分開使用。因為治療或預防脂質代謝相關疾病假定長時間使用藥品，最佳的實施本發明的模式為提供適用於口服的形式，例如藥片或膠囊。在一醫藥組成物中，本治療組合各活性成分之量將依所治療的病狀而定。熟習治療脂質代謝相關疾病之病人此藝者，可輕易地選擇各活性成分的適當量，及一適合的給劑計畫。較佳的 NA 和 MD 或其鹽類之活性成分的比率為自 3:1 至 1:3。

根據本發明進一步的態樣，提供如前述定義之治療組合或如前述定義之醫藥組成物，用於製造一種用於同時、依序或分別使用來預防血小板聚集/血栓症之藥劑的用途。

【圖式簡單說明】

圖 1 為 NA、用於 NA 之溶劑(SolvNA)和用於 LA 之溶劑(SolvLA)對大鼠耳朵皮膚溫度之影響。

【主要元件符號說明】

無。

七、申請專利範圍：

1. 一種菸鹼酸醫藥治療組成物，其包含有效量之菸鹼酸或其醫藥上可接受之鹽類以及有效量之米曲胍或其醫藥上可接受的鹽類，聯合醫藥上可接受之賦形劑或載體。
2. 如申請專利範圍第 1 項之菸鹼酸醫藥治療組成物，其中該菸鹼酸或其醫藥上可接受之鹽類係以立即釋放、持續釋放或延長釋放配方之形式。
3. 如申請專利範圍第 1 項之菸鹼酸醫藥治療組成物，其中該米曲胍或其醫藥上可接受之鹽類係以立即釋放、持續釋放或延長釋放配方之形式。
4. 如申請專利範圍第 1 項之菸鹼酸醫藥治療組成物，其包含約 50-500 毫克之菸鹼酸或其醫藥上可接受之鹽類以及約 50-500 毫克之米曲胍或其醫藥上可接受的鹽類。
5. 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項之任一項菸鹼酸醫藥治療組成物，其進一步包含一施德丁。
6. 如申請專利範圍第 5 項之菸鹼酸醫藥治療組成物，其中該施德丁設為辛伐他汀。
7. 一種如申請專利範圍第 1 項至第 4 項之任一項菸鹼酸醫藥治療組成物在製備用於預防及/或治療以下疾病的藥品之用途：高血脂症、動脈粥狀硬化症、周邊動脈閉塞性疾病、心肌梗塞、含暫時性或永久性腦缺血發作之心絞痛、腦血管意外、中風以及血管栓塞。
8. 一種如申請專利範圍第 5 項之菸鹼酸醫藥治療組成物在製備用於預防及/或治療以下疾病所構成之群組的藥品

之用途：異常血脂症、高血脂症和動脈粥狀硬化症。

9. 一種如申請專利範圍第 6 項之菸鹼酸醫藥治療組成物在製備用於預防及/或治療以下疾病所構成之群組的藥品

之用途：異常血脂症、高血脂症和動脈粥狀硬化症。

公告本

八、圖式：

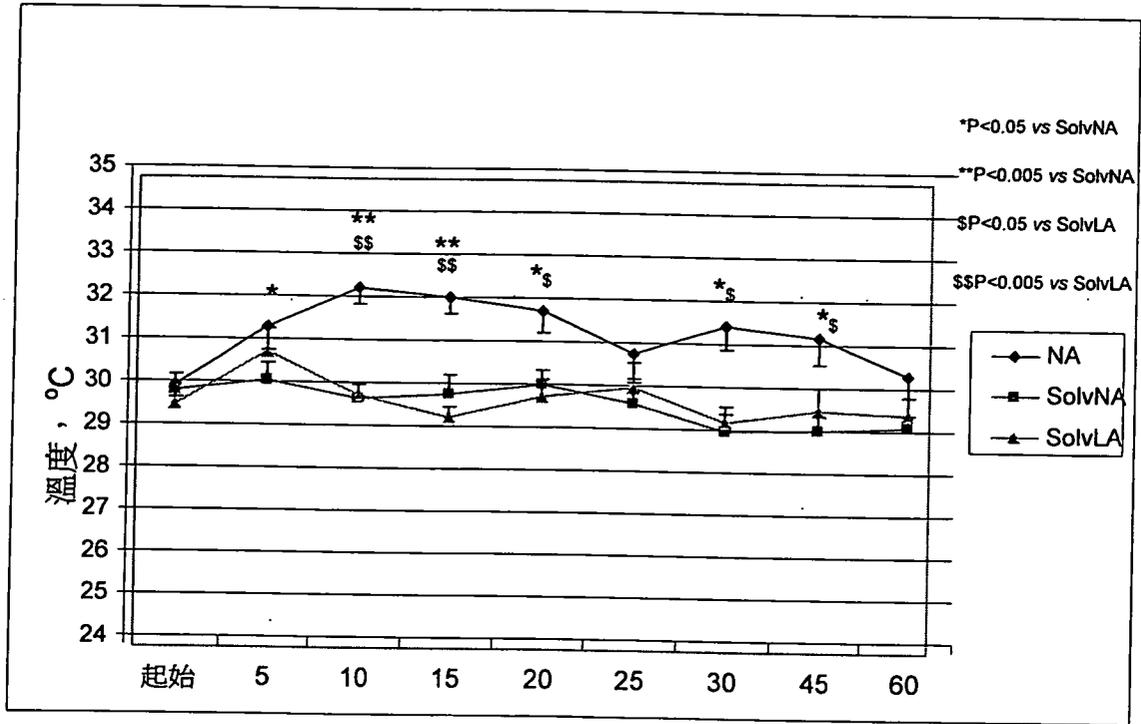


圖 1