



(10) 授权公告号 CN 114364385 B

(45) 授权公告日 2025. 05. 27

(21) 申请号 202080060415.1

(22) 申请日 2020.08.28

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114364385 A

(43) 申请公布日 2022.04.15

(66) 本国优先权数据
PCT/CN2019/103677 2019.08.30 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.02.24

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2020/112143 2020.08.28

(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/037212 ZH 2021.03.04

(73) 专利权人 中国科学院动物研究所
地址 100101 北京市朝阳区北辰西路1号院
5号

(72) 发明人 黄仕强 马诗琳

(74) 专利代理机构 北京彩和律师事务所 11688
专利代理师 张红春

(51) Int.Cl.
A61K 31/616 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 27/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 101702884 A, 2010.05.05
王振国. 曲美他嗪联合阿司匹林治疗冠心病合并心力衰竭患者的临床疗效.《山西医药杂志》.2019,第48卷(第24期),第3043-3044页.
吕煜等. 曲美他嗪联合阿司匹林治疗不稳定型心绞痛82例的临床研究.《中国伤残医学》.2014,第22卷(第10期),第143-144页.
吕煜等. 曲美他嗪联合阿司匹林治疗不稳定型心绞痛82例的临床研究.《中国伤残医学》.2014,第22卷(第10期),第143-144页.
Omar M.E. Abdel-Salam等
.Pharmacological Investigation of Trimetazidine in Models of Inflammation, Pain and Gastric Injury in Rodents.《Pharmacology》.2005,第75卷第122-132页.
Omar M.E. Abdel-Salam等
.Pharmacological Investigation of Trimetazidine in Models of Inflammation, Pain and Gastric Injury in Rodents.《Pharmacology》.2005,第75卷第122-132页.

(续)

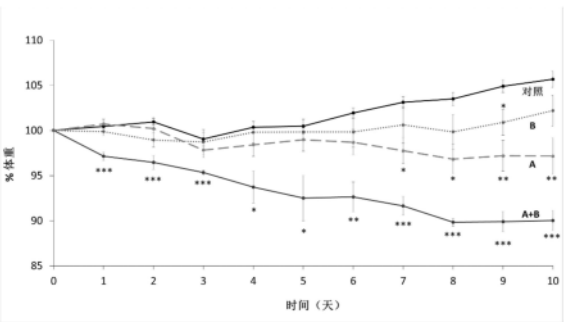
审查员 吕茂平

权利要求书1页 说明书26页 附图30页

(54) 发明名称
用于对抗代谢疾病的组合物及其用途

(57) 摘要
一种用于抵抗代谢疾病的组合物及其用途(或方法)。药物组合物包含治疗剂A或其药学上可接受的盐;治疗剂B或其药学上可接受的盐;以及至少一种药学上可接受的赋形剂,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。该药物组合物可以有效治疗或预防肥胖、非酒精性脂肪肝、多囊卵巢综合征、2型糖

尿病和胰岛素抵抗所导致的代谢综合征疾病。



[接上页]

(56) 对比文件

高远等.2型糖尿病与炎症的研究进展.《中华临床医师杂志(电子版)》.2010,第4卷(第9期),第1635-1638页.

Ripudaman S. Hundal等.Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes.《The Journal of Clinical Investigation》.2002,第109卷(第10期),第1321-1326页.

1. 治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗超重、肥胖、非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝炎、多囊卵巢综合征的药物中的用途,其中,所述治疗剂A是阿司匹林或其药学上可接受的盐,所述治疗剂B是曲美他嗪或其药学上可接受的盐;其中,所述治疗剂A和所述治疗剂B同时或者分别给药,且每天施用。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肥胖为内脏肥胖。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述受试者是人。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述治疗剂A在所述治疗剂B之前给药。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述治疗剂A在所述治疗剂B之后给药。

6. 根据权利要求1-5的任一项所述的用途,其中,所述治疗剂A和治疗剂B通过口服或注射给药。

7. 根据权利要求1-5的任一项所述的用途,其中,所述治疗剂A和治疗剂B可以达到以下功效:在患有多囊卵巢综合征患者中恢复发情周期、和/或增加促卵泡激素。

用于对抗代谢疾病的组合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及小分子药物领域,具体地,涉及一种用于降低代谢综合征风险的组合物及其用途。

背景技术

[0002] 代谢综合征是指人体的蛋白质、脂肪、碳水化合物等物质发生代谢紊乱的病例状态,它并不是单一的一种疾病,而是一组复杂的代谢紊乱症候群:腹部脂肪堆积、高血脂、高甘油三酯、高胆固醇、高血压、高血糖等。代谢综合征的中心环节是肥胖和胰岛素抵抗,其主要组成成分为肥胖症尤其是中心性肥胖,代谢综合征受试者具有糖尿病、心脑血管疾病、脂肪肝、多囊卵巢综合征的危险因素,心血管事件的患病率及死亡风险约为非代谢综合征受试者的2-3倍。

[0003] 肥胖和2型糖尿病在全世界流行率发生(参见国家糖尿病数据组,美国糖尿病,美国:国立糖尿病和消化疾病研究所,国立卫生研究院,1994;Mokdad等人,Diabetes Care 23(9):1278-1283(2000);Mokdad等人,JAMA 284(13):1650-1651(2000);Mokdad等人,JAMA 286(10):1195-1200(2001);Mokdad等人,JAMA 289(1):76-79(2003))。在2000年,估计有290万人死于与糖尿病相关的原因(Roglic等人,Diabetes Care 28:2130-2135,2005),估计全球糖尿病负担将在未来25年内增加一倍(King等人,Diabetes Care 21:1414-1431,1998;Amos等人,Diabet Med 14 Suppl 5:S1-85,1997;Wild等人,Diabetes Care 27:1047-1053,2004),与肥胖症的增加并行。2型糖尿病(T2DM)是一种日益普遍的疾病,由于并发症的频率高,导致预期寿命显著降低。由于与糖尿病相关的微血管并发症,2型糖尿病是目前工业化世界中成人发病的视力丧失、肾功能衰竭和截肢的最常见原因。此外,2型糖尿病的存在与心血管疾病风险增加有关。

[0004] 在疾病持续很长时间后,大多数2型糖尿病受试者最终会因口服治疗失败而成为胰岛素依赖性,需要每日注射和多次每日葡萄糖测量。UKPDS(英国前瞻性糖尿病研究)证明,二甲双胍、磺脲类药物或胰岛素的强化治疗仅导致血糖控制的有限改善(HbA1c ~ 0.9%的差异)。此外,即使在强化治疗组内的受试者中,血糖控制随时间显著恶化,这归因于β细胞功能的恶化。重要的是,强化治疗与大血管并发症(即心血管事件)的显著减少无关。

[0005] 因此,对于在血糖控制方面、在疾病改善性质方面以及在降低心血管发病率和死亡率同时显示出改善的安全性谱的方面中具有良好功效的方法、药物和药物组合物存在未满足的医学需求。

[0006] 在目前的研究中,肥胖所引发的炎症起着至关重要的作用,尤其是血糖水平升高与胰腺β细胞中Cox-2激活之间的联系已得到了充分证实。高葡萄糖诱导的前列腺素E2(PGE2)通过抑制β细胞的增殖以及诱导β细胞的凋亡,从而导致β细胞量的减少(Oshima,H.等人,2006)。吲哚美辛(Indomethacin)是一种非选择性环氧合酶抑制剂,其可预防C57BL/6J小鼠的HFD(高脂饮食)诱导的肥胖和胰岛素抵抗(Fjaere E.等人,2014)。已经证实,使用塞来昔布(Celecoxib)非甾体类抗炎药(NSAID)治疗可以部分恢复转化临床前模型以及肥

胖T2DM受试者两者中的胰岛素敏感性 (Gonzalez-Ortiz等人, 2005)。高血糖激活胰腺 β 细胞中的Cox-2并导致 β 细胞功能障碍。NS-398 (一种选择性Cox-2抑制剂) 的治疗可能通过减少PGE2介导的 β 细胞凋亡来逆转 β 细胞功能障碍 (Tian, V.F. 等人, 2014)。由于肥胖所引发的炎症导致非酒精性肝脂肪变性, 这是胰岛素抵抗的病理标志。非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 是与T2DM共存的病症。塞来昔布在HFD诱导的Wistar大鼠NASH模型中能逆转脂肪性肝炎以及炎症 (Chen, J. 等人, 2011)。过量表达NAG-1/GDF-15 (NSAID激活的基因-1) 已显示通过增加肥胖C57BL/6J小鼠的产热、脂解和氧化代谢来改善血糖参数并防止肥胖的发展 (Chrysovergis, K. 等人, 2014)。可诱导形式的Cox-2的激活在细胞功能障碍的起始中起着至关重要的作用, 包括: 脂肪细胞功能障碍, 胰岛 β 细胞功能障碍和巨噬细胞功能障碍。细胞功能障碍有助于胰岛素抵抗和全身葡萄糖耐受不良的发展。C57BL/6J肥胖小鼠中的Cox-2缺失降低了血糖水平 (Fujita等人, 2007)。更重要的是, 在相同的转化临床前模型中, 选择性Cox-2抑制剂塞来昔布能轻微地降低HbA1c水平, 改善葡萄糖耐量并提高胰岛素水平 (Fujita, H. 等人, 2007)。基于临床前和临床数据, 用抗炎疗法治疗2型糖尿病的复杂病理生理学的潜在炎症成分是部分缓解和管理2型糖尿病的策略之一。

[0007] 此外, 许多出版物已经支持脂肪细胞和炎症对胰岛素抗性发展的重要性。例如, 脂肪细胞中的JNK-1缺乏抑制了由于JNK依赖性而导致的肝脏中高脂肪饮食诱导的胰岛素抵抗 (Sabio, C. 等人, 2008), 脂肪细胞特异性的Glut4缺失或MCP-1过表达导致全身胰岛素抵抗 (Qi, L. 等人, 2009), TNF- α 缺乏改善了饮食诱导肥胖和Lep^{ob/ob}模型肥胖中的胰岛素敏感性 (Hotamisligil, GS等人, 1995)。升高的IL-1 β , IL-6和CRP预示着T2DM的发展 (Visser, M. 等人, 1999), 并且TLR4敲除小鼠免受炎症和胰岛素抵抗 (Shi, H. 等人, 2006)。目前的降血糖药物完全不涉及炎症抑制剂, 因此缺乏足够的功效和缺乏足够的总体临床益处。这是由于它们不能抑制引发和维持系统性胰岛素抗性的复杂病理生理学的促炎成分。

[0008] 炎症不仅是2型糖尿病的病理生理学, 而且是临床相关的合并症的重要组成部分。更重要的是, 促炎信号有助于引发和维持与2型糖尿病相关的并发症, 如糖尿病视网膜病变, 皮肤溃疡, 冠心病 (CHD), 中风, 脂肪肝, 多囊卵巢综合征, 慢性肾病 (CKD), 糖尿病周围神经病变和糖尿病血管病变等。促炎信号决定糖尿病相关并发症的严重程度和持续时间。促炎生物标记的升高与葡萄糖代谢受损之间存在直接关联。因此, 要达到有效的临床管理, 重要的是联合调控炎症和代谢, 统一治疗包括2型糖尿病在内的代谢疾病, 包括所有具有强烈促炎成分的复杂病理生理学的代谢综合征疾病, 而不是把每个代谢疾病当作个体疾病来治疗。目前单用NSAID药物无法全面抑制众多的炎症因子与炎症通路, 而单用降血糖药物也无法全面恢复糖脂代谢。例如, 为了在2型糖尿病、脂肪肝、多囊卵巢综合征或肥胖受试者中获得足够的治疗效果, 有必要用联合调控炎症和代谢的药物组合治疗, 不仅可以纠正血糖与血脂稳态受损, 还可以减轻临床相关的代谢性合并症, 更重要的是可以降低糖尿病相关并发症的严重程度。因此, 不应仅使用一种药物治疗代谢综合征受试者, 而有必要使用抗炎药物与抗代谢疾病药物组合来治疗受试者。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于克服现有技术中存在的缺陷, 即市面上的所有药物都不能很好地有效治疗或预防肥胖、2型糖尿病和胰岛素抵抗所导致的代谢综合征疾病, 从而提供一种

不仅可以纠正葡萄糖稳态受损,还可以减轻临床相关的合并症,更重要的是可以降低糖尿病相关并发症的严重程度的药物组合物。

[0010] 为了实现上述目的,在一个方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含治疗剂A或其药学上可接受的盐;治疗剂B或其药学上可接受的盐;以及至少一种药学上可接受的赋形剂,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。

[0011] 在一个实施方式中,在所述药物组合物中,所述治疗剂A和所述治疗剂B包含在单个剂型中。

[0012] 在另一个实施方式中,在所述药物组合物中,所述治疗剂A和所述治疗剂B以单独的剂型存在。

[0013] 在一个实施方式中,所述治疗剂A选自水杨酸盐,布洛芬,吲哚美辛,氟比布洛芬、苯氧基布洛芬,萘普生,萘丁美酮,吡罗昔康,保泰松,双氯灭痛,芬洛芬,酮基布洛芬,酮咯酸,四氯芬那酸,舒林酸和托美丁中的至少一种。

[0014] 在另一个实施方式中,所述治疗剂B选自曲美他嗪、乙莫克舍、氨基肉碱或肉碱的膦酰基氧衍生物。

[0015] 在一些实施例中,本发明提供了一种药物组合物,其包含治疗剂A或其药学上可接受的盐;治疗剂B或其药学上可接受的盐;以及至少一种药学上可接受的赋形剂,其中,所述治疗剂A选自水杨酸盐,所述治疗剂B选自曲美他嗪。

[0016] 在一些实施例中,本发明提供了一种药物组合物,其包含治疗剂A或其药学上可接受的盐;治疗剂B或其药学上可接受的盐;以及至少一种药学上可接受的赋形剂,其中,所述治疗剂A选自阿司匹林,所述治疗剂B选自曲美他嗪。

[0017] 在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1.在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0018] 在一些实施例中,该药物剂型为口服剂型。在一些实施例中,该药物剂型为注射剂型。

[0019] 在另一个方面,本发明还提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗1型糖尿病,2型糖尿病,葡萄糖耐量降低,空腹血糖受损,高血糖,餐后高血糖,超重,肥胖和代谢综合征;或改善血糖控制和/或降低空腹血浆葡萄糖,餐后血浆葡萄糖和/或糖化血红蛋白HbA1c;或减缓、延迟或逆转从葡萄糖耐量降低,空腹血糖受损,胰岛素抵抗和/或代谢综合征到2型糖尿病的进展;或治疗糖尿病并发症如白内障,以及微血管和大血管疾病如肾病,视网膜病,神经病,组织缺血,动脉硬化,心肌梗塞,中风和外周动脉闭塞性疾病;或减轻体重或促进减轻体重;或治疗胰腺 β 细胞变性和/或胰腺 β 细胞功能下降,和/或恢复胰腺 β 细胞功能,和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能;或治疗导致肝脏脂肪异常积聚的疾病或病症;或维持和/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;或治疗动脉粥样硬化和动脉粥样硬化并发症;或治疗青光眼和青光眼并发症;治疗血脂异常/高脂血症和血脂异常/高脂血症并发症,或治疗生殖相关代谢疾病的药物中的用途(或方法)或治疗方法,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。

[0020] 在一个实施方式中,所述受试者是诊断有选自超重、肥胖、内脏肥胖和腹部肥胖中

的一种或多种病症的个体。

[0021] 在另一个实施方式中,所述受试者是诊断有一种或多种以下病症的个体:

[0022] (a) 空腹血糖或血清葡萄糖浓度大于110mg/dL,特别是大于125mg/dL;

[0023] (b) 餐后血浆葡萄糖浓度等于或大于140mg/dL;和

[0024] (c) HbA1c值等于或大于6.5%,特别是等于或大于8.0%。

[0025] 在另一个实施方式中,所述受试者是存在一种或多种以下病症的个体:

[0026] (a) 肥胖、内脏肥胖和/或腹部肥胖;

[0027] (b) 甘油三酯血液浓度 $\geq 150\text{mg/dL}$;

[0028] (c) 女性受试者的HDL-胆固醇血液水平 $< 40\text{mg/dL}$,男性受试者的HDL-胆固醇血液水平 $< 50\text{mg/dL}$;

[0029] (d) 收缩压 $\geq 130\text{mmHg}$,舒张压 $\geq 85\text{mmHg}$;

[0030] (e) 空腹血糖水平 $\geq 110\text{mg/dL}$;和

[0031] (f) LDL-胆固醇血液水平 $\geq 130\text{mg/dL}$ 。

[0032] 在另一个实施方式中,所述受试者是禁用二甲双胍单独治疗和/或对治疗剂量的二甲双胍不耐受的个体。

[0033] 在另一个实施方式中,所述受试者是用一种或多种选自以下组成的组中的抗糖尿病药物治疗后仍血糖控制不足的个体:

[0034] (a) 双胍类;

[0035] (b) 磺酰脲类;

[0036] (c) 氯茴苯酸类;

[0037] (d) 噻唑烷二酮类;

[0038] (e) α -葡萄糖苷酶抑制剂;

[0039] (f) 胰岛素和胰岛素类似物;

[0040] (g) 二肽基肽酶IV抑制剂;

[0041] (h) SGLT2抑制剂;

[0042] (i) PPAR α 调节剂;

[0043] (j) 葡萄糖依赖性促胰岛素多肽激动剂;

[0044] (k) β -3激动剂;

[0045] (l) GLP1和GLP1类似物;

[0046] (m) PPAR γ 调节剂;和

[0047] (n) HMG-CoA还原酶抑制剂。

[0048] 根据本发明的药物组合物在血糖控制方面表现出非常好的功效,特别是在空腹血浆葡萄糖、餐后血浆葡萄糖和/或糖基化血红蛋白(HbA1c)减少方面,并且同时可以有效治疗或预防肥胖、非酒精性脂肪肝、多囊卵巢综合征、2型糖尿病和胰岛素抵抗所导致的代谢综合征疾病。

[0049] 在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐,所述治疗剂B选自曲美他嗪。

[0050] 在一些实施例中,所述治疗剂A选自阿司匹林,所述治疗剂B选自曲美他嗪。

[0051] 在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在

一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0052] 在一些实施例中,所述治疗剂A和所述治疗剂B同时给药。在一些实施例中,所述治疗剂A和所述治疗剂B包含在单个剂型中。在一些实施例中,该单个药物剂型为口服剂型。

[0053] 在一些实施例中,所述治疗剂A和所述治疗剂B分别给药。在一些实施例中,所述治疗剂A在所述治疗剂B之前给药。在一些实施例中,所述治疗剂A在所述治疗剂B之后给药。在一些实施例中,治疗剂A和治疗剂B分别通过口服给药。在一些实施例中,治疗剂A和治疗剂B分别通过注射给药。

[0054] 本发明的其它特征和优点将在随后的具体实施方式部分予以详细说明。

附图说明

[0055] 附图是用来提供对本发明的进一步理解,并且构成说明书的一部分,与下面的具体实施方式一起用于解释本发明,但并不构成对本发明的限制。在附图中:

[0056] 图1示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B 10天后,导致饮食诱导肥胖(DIO)小鼠的体重变化的结果。

[0057] 图2示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导DIO小鼠中脂肪减少的结果。

[0058] 图3示出了与DIO对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中性腺脂肪垫脂肪细胞形态的结果。

[0059] 图4示出了与DIO对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中脂肪肝与肝脏细胞形态的结果。

[0060] 图5示出了与DIO对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中心脏肌肉细胞形态的结果。

[0061] 图6示出了与DIO对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中骨骼肌细胞形态的结果。

[0062] 图7示出了与DIO对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中肾脏毒性指标血清肌酸酐(CREA)和血尿素氮(BUN)的结果。

[0063] 图8示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B 4周后,导致糖尿病患者DIO小鼠的体重变化的结果。

[0064] 图9示出了各组DIO小鼠中与高脂血症相关的指标血清胆固醇总量的对比。

[0065] 图10示出了各组DIO小鼠中与高脂血症相关的指标血清LDL-胆固醇的对比。

[0066] 图11示出了各组DIO小鼠中与脂肪肝相关的指标血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)的对比。

[0067] 图12示出了各组DIO小鼠中与氮代谢功能相关的指标血清白蛋白/球蛋白比例的对比。

[0068] 图13示出了各组DIO小鼠中与氮代谢功能相关的指标血清总蛋白的对比。

[0069] 图14示出了糖尿病患者DIO小鼠中葡萄糖耐受的结果。

[0070] 图15示出了糖尿病患者DIO小鼠中胰岛素敏感性的结果。

[0071] 图16示出了在施用各种治疗剂组合后的DIO小鼠体重的对比。

- [0072] 图17示出了在施用各种治疗剂组合后的DIO小鼠空腹血糖含量的对比。
- [0073] 图18示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导普通野生型小鼠中体重变化的结果。
- [0074] 图19示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导普通野生型小鼠中脂肪减少的结果。
- [0075] 图20示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导多囊卵巢综合征大鼠中体重变化的结果。
- [0076] 图21示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中的空腹血糖量的对比。
- [0077] 图22示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与脂肪肝相关的指标血清天冬氨酸转氨酶(AST)与总胆固醇的对比。
- [0078] 图23示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与肝脏氮代谢功能相关的指标血清总蛋白的对比。
- [0079] 图24示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与肾脏功能相关的指标血清肌酸酐(creatinine)的对比。
- [0080] 图25示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与心脏病相关的指标血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、心肌型肌酸激酶同工酶MB(CKMB)、 α -羟丁酸脱氢酶(HBDH)的对比。
- [0081] 图26示出了多囊卵巢综合征大鼠中胰岛素敏感性的结果。
- [0082] 图27示出了多囊卵巢综合征大鼠中发情周期的结果。
- [0083] 图28示出了多囊卵巢综合征大鼠中血清激素ELISA的结果。
- [0084] 图29示出了多囊卵巢综合征大鼠中骨骼肌蛋白Western blot分析的结果。
- [0085] 图30示出了多囊卵巢综合征大鼠中左心室壁厚度分析的结果。
- [0086] 图31示出了多囊卵巢综合征大鼠中心肌纤维化分析的结果。
- [0087] 图32示出了多囊卵巢综合征大鼠中血常规分析的结果。
- [0088] 图33示出了药物治疗剂A+B对NASH小鼠中体重变化的结果。
- [0089] 图34示出了NASH小鼠食量测试的结果。
- [0090] 图35示出了NASH小鼠肝脏重量测试的结果。
- [0091] 图36示出了NASH小鼠肝脏切片分析的结果。
- [0092] 图37示出了NASH小鼠心脏切片分析的结果。
- [0093] 图38示出了各组小鼠中与肝脏损伤相关的两项指标的对比。
- [0094] 图39示出了各组小鼠中与高脂血症相关的指标的对比。
- [0095] 图40示出了各组小鼠中与各器官损伤相关的指标的对比。
- [0096] 图41示出了各组小鼠中空腹血糖的结果。
- [0097] 图42示出了NASH小鼠中葡萄糖耐受的结果。
- [0098] 图43示出了NASH小鼠中胰岛素敏感性的结果。
- [0099] 图44示出了NASH小鼠中骨骼肌蛋白Western blot分析的结果。
- [0100] 图45示出了NASH小鼠中转录组学测序分析的结果。
- [0101] 图46示出了体外人类原代骨骼肌细胞施药后24小时的蛋白Western blot分析的结果。
- [0102] 图47示出了体外人类原代骨骼肌细胞被诱导胰岛素抵抗且施药后7天的蛋白

Western blot分析的结果。

[0103] 图48示出了由高脂肪高糖饲料诱导的PCOS多囊卵巢综合征大鼠中骨骼肌转录组学测序分析的结果。

[0104] 图49示出了NASH小鼠中血清样本的胰岛素酶联免疫吸附试验结果与胰岛素抵抗指数HOMA-IR结果。

[0105] 图50示出了NASH小鼠中血清样本的脂联素酶联免疫吸附试验结果。

[0106] 图51示出了对照组1和对照组3小鼠中血清样本的液相质谱分析相对比结果。

具体实施方式

[0107] 以下对本发明的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本发明,并不用于限制本发明。

[0108] 在本文中所披露的范围的端点和任何值都不限于该精确的范围或值,这些范围或值应当理解为包含接近这些范围或值的值。对于数值范围来说,各个范围的端点值之间、各个范围的端点值和单独的点值之间,以及单独的点值之间可以彼此组合而得到一个或多个新的数值范围,这些数值范围应被视为在本文中具体公开。

[0109] 本发明在很大程度上是基于发明人对非甾体抗炎药(治疗剂A)和脂肪酸氧化抑制剂(治疗剂B)在联合应用中所得到的意想不到的效果。发明人惊奇地发现,当对具有糖尿病、心脑血管疾病、脂肪肝、或多囊卵巢综合征的受试者同时施予治疗剂A和治疗剂B后,受试者的多项指标都得到改善,而且该药物组合还能达到多种症状逆转的效果。发明人还惊奇地发现,该药物组合的作用机制并非局限于调节炎症反应和代谢。每天施用该药物组合还可特异地使得p38和AMPK信号通路及相关代谢变化周而复始,形成兴奋效应循环,犹如效仿运动。短期施药后(60分钟内),本发明提供的药物治疗剂A+B通过脂肪酸氧化(FAO)、脂肪酸代谢物(acyl-metabolites)、腺苷三磷酸(ATP),联合调控p38和AMPK信号通路的机制模型,使得p38和AMPK信号通路同时骤增,从而促进脂肪水解和脂肪酸氧化等分解代谢(catabolism)。而长期施药后(3-24小时),本发明提供的药物治疗剂A+B通过炎症因子(Inf cytokines)、脂肪酸氧化(FAO)、线粒体活性氧(mtROS)、糖酵解(glycolysis),联合调控p38和AMPK信号通路的机制模型,使得p38和AMPK信号通路同时骤降,从而促进合成代谢(anabolism)和肌肉修复。该专利申请因此一方面提供了一种新颖有效的药物组合物,另一方面提供了使用该药物组合物的治疗方法。

[0110] 药物组合物

[0111] 在一个方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含治疗剂A或其药学上可接受的盐;治疗剂B或其药学上可接受的盐;以及至少一种药学上可接受的赋形剂,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。

[0112] 术语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内、适合用于与人类和动物的组织接触而没有过度的毒性、刺激性、变态反应或其它问题或并发症、与合理的利益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。治疗剂A和治疗剂B可以形成稳定的药学上可接受的酸或碱盐,并且在这样的情况下,施用作为盐的化合物可能是恰当的。酸加成盐的示例包括乙酸盐,己二酸盐,抗坏血酸盐,苯甲酸盐,苯磺酸盐,碳酸氢盐,硫酸氢盐,丁酸盐,樟脑酸盐,樟脑磺酸盐,胆碱,柠檬酸盐,环己基氨基磺酸盐,二亚乙基二胺,乙磺酸盐,

富马酸盐,谷氨酸盐,乙醇酸盐,半硫酸盐,2-羟乙基磺酸盐,庚酸盐,己酸盐,盐酸盐,氢溴酸盐,氢碘酸盐,羟基马来酸盐,乳酸盐,苹果酸盐,马来酸盐,甲磺酸盐,葡甲胺,2-萘磺酸盐,硝酸盐,草酸盐,双羟萘酸盐,过硫酸盐,苯基乙酸酯,磷酸盐,二磷酸盐,苦味酸盐,新戊酸盐,丙酸盐,奎尼酸盐,水杨酸盐,硬脂酸盐,琥珀酸盐,氨基磺酸盐,磺胺酸盐,硫酸盐,酒石酸盐,甲苯磺酸盐(对甲苯磺酸盐),三氟乙酸盐和十一酸酯。碱盐的示例包括铵盐;碱金属盐例如钠、锂和钾盐;碱土金属盐例如铝、钙和镁盐;与有机碱的盐例如二环己基胺盐和N-甲基-D-葡萄糖胺;以及与氨基酸例如精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸等的盐。

[0113] 在一个实施方式中,所述药物组合物中的治疗剂A和治疗剂B可以以治疗有效量存在。如本文所用,术语“治疗有效量”是指化合物或组合物的量足以显著且正性地改变待治疗的症状和/或病情(例如提供正性临床反应)。用于药物组合物中的活性成分的有效量将随所治疗的特定病情、病情的严重程度、治疗的持续时间、同时疗法的性质、所采用的特定活性成分、所利用的特定可药用赋形剂、以及主治医师的知识和专业知识内的类似因素而变化。

[0114] 如本文所用,术语“治疗”是指用于获得有益或期望的临床结果的方法。术语“治疗”是指抑制、预防或阻止病理(疾病、障碍或病症)的发展或进展和/或引起病理的减轻、缓解或消退。本领域技术人员将理解,可以使用各种方法和测定来评估病理学的发展,并且类似地,可以使用各种方法和测定来评估病理学的减轻、缓解或消退。

[0115] 如本文所用,术语“预防”是指防止疾病、障碍或病症在可能有疾病风险但尚未被诊断为患有该疾病的受试者中发生。在人口研究中可以证明预防(以及有效预防的剂量)。例如,相对于未治疗的对照人口,预防给定疾病或医学病症的有效量是减少治疗人口中发生率的有效量。

[0116] 如本文所用,术语“受试者”可以包括哺乳动物,优选患有病理特征的任何年龄的人。优选地,该术语还可以包括有发展病理特征风险的个体。

[0117] 治疗剂A和治疗剂B

[0118] 根据本发明,治疗剂A是非甾体抗炎药。如本文所用,术语“非甾体抗炎药(NSAID)”是一类不含有甾体结构的抗炎药,主要可以分成三类:即乙酰水杨酸盐类,包括阿司匹林(acetyl salicylic acid);非乙酰基水杨酸盐类,包括水杨酸镁、水杨酸钠、水杨酸胆碱镁、二氟尼柳、双水杨酸酯;非水杨酸盐类,包括布洛芬、吲哚美辛、氟比布洛芬、苯氧基布洛芬、萘普生、萘丁美酮、吡罗昔康、保泰松、双氯灭痛、芬洛芬、酮基布洛芬、酮咯酸、四氯芬那酸、舒林酸、托美丁等。而本发明中的治疗剂A可以选自这些非甾体抗炎药中的任一种。优选地,治疗剂A可以选自水杨酸盐,布洛芬,吲哚美辛,氟比布洛芬、苯氧基布洛芬,萘普生,萘丁美酮,吡罗昔康,保泰松,双氯灭痛,芬洛芬,酮基布洛芬,酮咯酸,四氯芬那酸,舒林酸和托美丁中的至少一种。更优选地,治疗剂A可以是水杨酸盐,例如阿司匹林或水杨酸镁等。

[0119] 根据本发明,治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂,其中包括,但不局限于,乙莫克舍(Etomoxir)、米屈肼(Meldonium)、奥芬尼辛(Oxfenicine)、哌克昔林(Perhexiline)、雷诺嗪(Ranolazine)、取代哌嗪(substituted piperazines)、曲美他嗪(Trimetazidine)和肉碱的衍生物。优选地,治疗剂B可以是曲美他嗪(Trimetazidine)、氨基肉碱(aminocarnitines,例如W085/04396中描述的)、肉碱的膦酰基氧衍生物(phosphinyloxy derivatives of carnitine,例如EP0574355B1中描述的)、或肉碱与其它化合物的复杂产

物(例如JP5127093B2/US6369073B1中描述的)。更优选地,治疗剂B可以是曲美他嗪。

[0120] 根据本发明,在本发明的药物组合物中,对治疗剂A和治疗剂B的组合方式没有特别限制。也就是说,在本发明的药物组合物中,治疗剂A和治疗剂B可以包含在单个剂型中,或者也可以以单独的剂型存在,从而使得在后续使用本发明的药物组合物时,治疗剂A和治疗剂B可以同时、分开或依次施用于受试者,例如可以将治疗剂A和治疗剂B同时施用于受试者(比如放在同一个剂型中施用),可以将治疗剂A施用于受试者然后立即将治疗剂B施用于受试者,或可以在将治疗剂A施用于受试者后的1小时,2小时,3小时,4小时,5小时,6小时,7小时,或8小时之内将治疗剂B施用于受试者。在一些实施例中,可以将治疗剂B施用于受试者然后立即将治疗剂A施用于受试者,或可以在将治疗剂B施用于受试者后的1小时,2小时,3小时,4小时,5小时,6小时,7小时,或8小时之内将治疗剂A施用于受试者。

[0121] 施用方式

[0122] 本发明的药物组合物可以是适合于口服施用(例如作为片剂,锭剂,硬或软胶囊,水性或油性悬液,乳液,可分散的粉末或颗粒,糖浆或酞剂)、局部施用(例如作为乳膏,软膏,凝胶,或水性或油性溶液或悬液)、通过吸入施用(例如作为细碎粉末或液体气溶胶)、通过吹入施用(例如作为细碎粉末)或肠胃外施用(例如作为用于静脉内、皮下、肌肉或肌肉内施用的无菌水性或油性溶液,或作为用于直肠施用的栓剂)的形式。在一个优选的实施方式中,本发明的药物组合物通过口服施用。

[0123] 本发明的药物组合物可通过常规程序使用本领域公知的常规药物赋形剂获得。用于片剂制剂的合适的可药用赋形剂包括,例如惰性稀释剂,如乳糖、碳酸钠、磷酸钙或碳酸钙;造粒和崩解剂,如玉米淀粉或藻酸;粘合剂,如淀粉;润滑剂,如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石;防腐剂,如对羟基苯甲酸乙酯或丙酯;和抗氧化剂,如抗坏血酸。片剂制剂可以是未包衣的或包衣的,包衣或是为了修改它们在胃肠道内的崩解和随后的活性成分吸收,或是为了改善它们的稳定性和/或外观,这两种情况下都可以使用本领域公知的常规包衣剂和方法。

[0124] 本发明的药物组合物在施用剂量和频率方面没有严格的限制,可以根据许多因素而变化,例如年龄、体重、总体健康、饮食、性别、待施用药物、施用途径(或方法)和所治疗病症的严重性以及主治医师的判断。在一般情况下,本发明的药物组合物可以以每天一次或多次施用,例如每天一次,每天两次,每天三次或更多,并且,也可以以每两天一次,每三天一次,每周一次或其它的频率施用。就每日剂量而言,治疗剂A的量可以为每天0.1mg至5000mg,或优选10mg至3000mg,更优选80mg至2000mg,或甚至更优选500mg至1500mg,治疗剂B的量可以为每天0.1mg至1000mg,或优选10mg至1000mg,更优选100mg至500mg,或甚至更优选35mg至300mg,因此,可以根据上述不同的施用频率和方式来合理达到上述用量的施用,例如每天一次施用5mg至500mg的治疗剂A,或每天两次施用10mg至250mg的治疗剂A等。

[0125] 在一些实施例中,该药物组合物包含水杨酸盐(比如100,200,300,400,500,或600mg水杨酸盐),和曲美他嗪(比如10,20,30,40,50,60,70,80,90,或100mg曲美他嗪)。在一些实施例中,该药物组合物包含阿司匹林(比如100,200,300,400,500,或600mg阿司匹林),和曲美他嗪(比如10,20,30,40,50,60,70,80,90,或100mg曲美他嗪)。在一些实施例中,水杨酸盐(比如阿司匹林)和曲美他嗪的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。

[0126] 用途(或方法)

[0127] 在另一方面,本发明还提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗2型糖尿病,葡萄糖耐量降低,空腹血糖受损,高血糖,餐后高血糖,1型糖尿病,超重,肥胖和代谢综合征;或改善血糖控制和/或降低空腹血浆葡萄糖,餐后血浆葡萄糖和/或糖化血红蛋白HbA1c;或减缓、延迟或逆转从葡萄糖耐量降低,空腹血糖受损,胰岛素抵抗和/或代谢综合征到2型糖尿病的进展;或治疗糖尿病并发症如白内障,以及微血管和大血管疾病如肾病,视网膜病,神经病,组织缺血,动脉硬化,心肌梗塞,中风和外周动脉闭塞性疾病;或减轻体重或促进减轻体重;或治疗胰腺 β 细胞变性和/或胰腺 β 细胞功能下降,和/或恢复胰腺 β 细胞功能,和/或恢复胰腺胰岛素分泌功能;或治疗导致肝脏脂肪异常积聚的疾病或病症;或维持和/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;或治疗动脉粥样硬化和动脉粥样硬化并发症;或治疗青光眼和青光眼并发症;或治疗血脂异常/高脂血症和血脂异常/高脂血症并发症的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。

[0128] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗2型糖尿病,糖耐量异常,空腹血糖受损,1型糖尿病,肥胖,脂肪性肝炎,动脉粥样硬化,青光眼,血脂异常/高脂血症,和高血糖症中的一种或多种病症的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了在有需要的受试者中治疗2型糖尿病,糖耐量异常,空腹血糖受损,1型糖尿病,肥胖,脂肪性肝炎,动脉粥样硬化,青光眼,血脂异常/高脂血症,和高血糖症中的一种或多种病症的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0129] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗1型糖尿病或2型糖尿病的药物中用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了在有需要的受试者中治疗1型糖尿病或2型糖尿病的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0130] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗导致肝脏脂肪异常积聚的疾病或病症的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了在有需要的受试者中治疗导致肝脏脂肪异常积聚的疾病或病症的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲

美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0131] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的受试者中治疗生殖相关代谢疾病的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了在有需要的受试者中治疗生殖相关代谢疾病的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。生殖相关代谢疾病包括,但不局限于,多囊卵巢综合征(PCOS)、妊娠糖尿病、子痫前期、复发性自然流产、胎儿生长受限、卵巢功能不全、卵巢早衰和男性不育。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0132] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体中治疗多囊卵巢综合征(PCOS)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种治疗多囊卵巢综合征(PCOS)的方法,包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0133] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有多囊卵巢综合征的病人)中恢复骨骼肌胰岛素敏感性和蛋白合成代谢(或缓解肌肉炎症、胰岛素抵抗、肌肉衰减综合征和/或代谢综合征)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种在有需要的患病个体(比如患有多囊卵巢综合征的病人)中恢复骨骼肌胰岛素敏感性和蛋白合成代谢(或缓解肌肉炎症、胰岛素抵抗、肌肉衰减综合征和/或代谢综合征)的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0134] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有多囊卵巢综合征或NASH的患者)中改善(包括逆转)心肌纤维化、心室肥厚、心脏衰竭等心血管疾病的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述

治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种在有需要的患病个体(比如患有多囊卵巢综合征或NASH的患者)中改善(包括逆转)心肌纤维化、心室肥厚、心脏衰竭等心血管疾病的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0135] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有多囊卵巢综合征或NASH的患者)中逆转胰岛素抵抗、肌肉衰减综合征和代谢综合征的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种在有需要的患病个体(比如患有多囊卵巢综合征或NASH的患者)中逆转胰岛素抵抗、肌肉衰减综合征和代谢综合征的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0136] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体中治疗非酒精性脂肪肝(NAFLD)或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种治疗非酒精性脂肪肝(NAFLD)或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0137] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中遏制体重增加(或逆转高脂血症)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种治疗在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中遏制体重增加(或逆转高脂血症)的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量

比为6:1。

[0138] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中逆转肝脏肿大(或肝脏损伤)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种治疗在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中逆转肝脏肿大(或肝脏损伤)的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0139] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中增加葡萄糖耐受(或逆转胰岛素抵抗,恢复骨骼肌和肝脏胰岛素敏感性,缓解肌肉炎症)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种治疗在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中增加葡萄糖耐受(或逆转胰岛素抵抗,恢复骨骼肌和肝脏胰岛素敏感性,缓解肌肉炎症)的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0140] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中促进血管生成(或促进神经肌肉组织敏感性)的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种治疗在有需要的患病个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中促进血管生成(或促进神经肌肉组织敏感性)的用途(或方法),包括向患病个体施用治疗剂A和治疗剂B,其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,所述治疗剂A选自水杨酸盐(例如阿斯匹林),所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为1:1至10:1,包括2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,或10:1。在一些实施例中,所述治疗剂A(例如水杨酸盐,比如阿司匹林)和所述治疗剂B(例如曲美他嗪)的重量比为6:1。

[0141] 在一些实施例中,本发明提供了治疗剂A和治疗剂B在制备用于在有需要的个体(比如患有非酒精性脂肪肝(NASH)的患者)中调节p38和AMPK信号通路的药物中的用途(或方法),其中,所述治疗剂A是非甾体抗炎药,所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中,本发明提供了一种调节p38和AMPK信号通路的用途(或方法),包括向所需个体(比如

患有非酒精性脂肪肝 (NASH) 的患者) 施用治疗剂A和治疗剂B, 其中所述治疗剂A是非甾体抗炎药, 所述治疗剂B是脂肪酸氧化抑制剂。在一些实施例中, 所述治疗剂A选自水杨酸盐 (例如阿斯匹林), 所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中, 所述治疗剂A (例如水杨酸盐, 比如阿司匹林) 和所述治疗剂B (例如曲美他嗪) 的重量比为1:1至10:1, 包括2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 或10:1。在一些实施例中, 所述治疗剂A (例如水杨酸盐, 比如阿司匹林) 和所述治疗剂B (例如曲美他嗪) 的重量比为6:1。

[0142] 由于治疗剂A和治疗剂B的定义以及施用频率、方式和剂量等可以与前述相同。

[0143] 在一些实施例中, 所述治疗剂A选自水杨酸盐, 所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中, 所述治疗剂A选自阿司匹林, 所述治疗剂B选自曲美他嗪。在一些实施例中, 所述治疗剂A (例如水杨酸盐, 比如阿司匹林) 和所述治疗剂B (例如曲美他嗪) 的重量比为1:1至10:1, 包括2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 或10:1。在一些实施例中, 所述治疗剂A (例如水杨酸盐, 比如阿司匹林) 和所述治疗剂B (例如曲美他嗪) 的重量比为6:1。在一些实施例中, 所述治疗剂A和所述治疗剂B同时给药 (比如口服用药)。在一些实施例中, 所述治疗剂A和所述治疗剂B包含在单个剂型中。在一些实施例中, 该单个药物剂型为口服剂型。在一些实施例中, 所述治疗剂A和所述治疗剂B分别给药 (比如口服用药)。

[0144] 治疗疗程可包括1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12个月或更长。在一些实施例中, 治疗剂A可按每天一次, 每天两次, 每天三次或更多, 并且, 也可以以每两天一次, 每三天一次, 每周一次或其它的频率施用。在一些实施例中, 治疗剂B可按每天一次, 每天两次, 每天三次或更多, 并且, 也可以以每两天一次, 每三天一次, 每周一次或其它的频率施用。当治疗剂A和治疗剂B分别给药时, 二者的给药频率可以相同, 也可以不同。

[0145] 根据本发明, 所述有需要的受试者可以分为很多种, 例如已经诊断为患有或有风险患有各类代谢综合征的受试者, 或者指示各类代谢综合征的各项指数超出正常范围的受试者, 或者对某些抗糖尿病药物不耐受、不可用、或使用后效果不佳的受试者等。因此, 在一个实施方式中, 所述受试者可以是诊断有选自超重、肥胖、内脏肥胖和腹部肥胖中的一种或多种病症的个体。在另一个实施方式中, 所述受试者可以是诊断有一种或多种以下病症的个体: (a) 空腹血糖或血清葡萄糖浓度大于110mg/dL, 特别是大于125mg/dL; (b) 餐后血浆葡萄糖浓度等于或大于140mg/dL; 和 (c) HbA1c值等于或大于6.5%, 特别是等于或大于8.0%。在另一个实施方式中, 所述受试者可以是存在一种或多种以下病症的个体: (a) 肥胖、内脏肥胖和/或腹部肥胖; (b) 甘油三酯血液浓度 $\geq 150\text{mg/dL}$; (c) 女性受试者的HDL-胆固醇血液水平 $< 40\text{mg/dL}$; 男性受试者的HDL-胆固醇血液水平 $< 50\text{mg/dL}$; (d) 收缩压 $\geq 130\text{mmHg}$, 舒张压 $\geq 85\text{mmHg}$; (e) 空腹血糖水平 $\geq 110\text{mg/dL}$; 和 (f) LDL-胆固醇血液水平 $\geq 130\text{mg/dL}$ 。在另一个实施方式中, 所述受试者可以是禁用二甲双胍单独治疗和/或对治疗剂量的二甲双胍不耐受的个体。在另一个实施方式中, 所述受试者可以是使用一种或多种选自由以下组成的组中的抗糖尿病药物治疗后仍血糖控制不足的个体: (a) 双胍类; (b) 磺酰脲类; (c) 氯茴苯酸类; (d) 噻唑烷二酮类; (e) α -葡萄糖苷酶抑制剂; (f) 胰岛素和胰岛素类似物; (g) 二肽基肽酶IV抑制剂; (h) SGLT2抑制剂; (i) PPAR α 调节剂; (j) 葡萄糖依赖性促胰岛素多肽激动剂; (k) β -3肾上腺素受体激动剂; (l) GLP1和GLP1类似物; (m) PPAR γ 调节剂; 和 (n) HMG-CoA还原酶抑制剂。

[0146] 在一些实施例中, 所述受试者为人, 比如年龄为20, 30, 40, 50, 60, 70, 或80以上。

[0147] 以下将通过实施例对本发明进行详细描述。

[0148] 实施例

[0149] 在以下实施例中,所有动物(例如小鼠)程序均基于机构动物护理和使用委员会批准的动物护理指南。对于组织学,将组织样品固定在10%中性福尔马林或Bouin溶液中并包埋在石蜡中。

[0150] 此外,本发明的对照组和试验组在实施例中均采用腹膜内注射,注射体积以4 μ l/g体重开始,并根据剂量调整,其中使得试验组中的治疗剂A(在以下实施例中均使用阿司匹林(商品名为Aspirin))在PBS中稀释为剂量在0.3mg/kg至120mg/kg体重之间,且治疗剂B(在以下实施例中均使用曲美他嗪(商品名为Trimetazidine))在PBS中稀释为剂量在0.05mg/kg至500mg/kg体重之间,而对照组中通常仅使用等量治疗剂A或等量治疗剂B,或仅使用等量PBS溶剂作为空白对照。

[0151] 对于各图表中的结果,数据表示为平均值 $\pm$ 均方误差(SEM),并且使用Student's t-检验(双尾分布,双样本不等方差)用于计算p值。统计显著性显示为 $p>0.05$ (无意义, n.s.), $p<0.05$ (一个星号,即*)、或 $p<0.01$ (两个星号,即**)、或 $p<0.001$ (三个星号,即***)。使用Microsoft Excel执行测试,其中测试类型始终设置为双样本等方差。

[0152] 实施例1

[0153] 选取二十只各方面身体状态相似的杰克逊实验室的6周大饮食诱导肥胖(Jackson Lab's Diet-Induced Obese, DIO)雄性小鼠,并将其分为四组,每组的小鼠数量均为5只,对于试验组,对每只小鼠每天有效施用30mg/kg的治疗剂A和5mg/kg的治疗剂B;对于对照组1,对每只小鼠每天有效施用30mg/kg的治疗剂A;对于对照组2,对每只小鼠每天有效施用5mg/kg的治疗剂B;而对于对照组3,对每只小鼠每天仅施用等量的PBS溶剂为空白对照,共持续10天。每天记录每只小鼠的体重,并根据每只小鼠的体重绘制体重随时间变化的图,如图1所示。

[0154] 图1示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B对诱导肥胖DIO小鼠中体重变化的结果。可以看出,本发明的药物组合物在10天内能够有效降低DIO小鼠的约10%以上体重,而对照组1-3均对小鼠的体重几乎没有明显的影响,由此可以认为本发明提供的治疗剂A和治疗剂B在组合使用时对于体重降低的治疗效果具备协同效应。

[0155] 实施例2

[0156] 选取已经完成实施例1后的试验组和对照组3中的小鼠,对其进行解剖,并观察试验组和对照组3中的小鼠的各处脂肪的堆积情况,然后进行对比,解剖后各处脂肪堆积的拍摄图像示于图2中。

[0157] 图2示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导DIO小鼠中脂肪减少的结果。可以看出,在对照组3的小鼠中有多处明显的脂肪堆积,例如脂肪肝、内脏脂肪和皮下脂肪等,而试验组的小鼠中的脂肪堆积明显减少,由此可以认为本发明提供的药物组合物具有明显降低体内脂肪含量的效果。

[0158] 实施例3

[0159] 同样选取已经完成实施例1后的试验组和对照组1、2、3中的小鼠,对解剖的小鼠进行显微镜观察,并对比性腺脂肪垫的脂肪粒形态和尺寸,显微镜下的脂肪粒形态的图示于

图3中。

[0160] 图3示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中性腺脂肪垫的结果。可以看出,相比于对照组1、2、3中的脂肪粒,试验组中的脂肪粒尺寸明显减小,也就是说治疗剂A+B有诱导脂肪减少的治疗效果。

[0161] 实施例4

[0162] 同样选取已经完成实施例1后的试验组和对照组1、2、3中的小鼠,对解剖的小鼠进行显微镜观察,并对比肝脏细胞的形态和脂肪粒尺寸,显微镜下的肝脏细胞形态的图示于图4中。

[0163] 图4示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中肝脏的结果。可以看出,相比于对照组1、2、3中的肝脏细胞,试验组中的肝脏细胞脂肪粒数量减少,且尺寸明显减小,炎症细胞减少,也就是说治疗剂A+B有诱导脂肪肝的脂肪与炎症减少的治疗效果。

[0164] 实施例5

[0165] 同样选取已经完成实施例1后的试验组和对照组1、2、3中的小鼠,对解剖的小鼠进行显微镜观察,并对比心脏肌肉的形态,显微镜下的心肌形态的图示于图5中。

[0166] 图5示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中心肌细胞形态的结果。可以看出,试验组和对照组1、2、3中的肌肉图像中的颜色和形态基本一致,也就是说,治疗剂A+B并没有导致心肌毒性。

[0167] 实施例6

[0168] 同样选取已经完成实施例1后的试验组和对照组1、2、3中的小鼠,对解剖的小鼠进行显微镜观察,并对比骨骼肌肉的形态,显微镜下的骨骼肌形态的图示于图6中。

[0169] 图6示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中骨骼肌细胞形态的结果。可以看出,试验组和对照组1、2、3中的肌肉图像中的颜色和形态基本一致,也就是说,治疗剂A+B并没有导致肌肉损失和肌肉毒性。

[0170] 实施例7

[0171] 同样选取已经完成实施例1后的试验组和对照组1、2、3中的小鼠,对解剖的小鼠血清进行血生化测试,并对比肾脏毒性指标血清肌酸酐(CREA)和血尿素氮(BUN)。两项指标的对比示于图7中。

[0172] 图7示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中血清肌酸酐(CREA)和血尿素氮(BUN)的结果。可以看出,试验组和对照组1、2、3中的血清肌酸酐(CREA)和血尿素氮(BUN)量基本一致,没有显著差异,也就是说,治疗剂A+B并没有导致肾脏毒性。

[0173] 实施例8

[0174] 根据实施例1中的相同方法对糖尿病患者DIO小鼠进行体重变化测试,不同的是,每组均使用12只小鼠,并且治疗的时间提升至4周。每天记录每只小鼠的体重,并根据每只小鼠的体重绘制体重随时间变化的图,如图8所示。

[0175] 图8示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导糖尿病患者DIO小鼠中体重变化的结果。可以看出,本发明的药物组合物在3周内能够有效且稳定降低糖尿病患者DIO小鼠的约20%以上体重,而对照组1-3均对

小鼠的体重几乎没有很明显的影响,由此可以认为本发明提供的治疗剂A和治疗剂B在组合使用时对于糖尿病患者体重降低的治疗效果具备协同效应。

[0176] 图9示出了各组DIO小鼠中与高脂血症相关的指标血清胆固醇总量的对比。

[0177] 图10示出了各组DIO小鼠中与高脂血症相关的指标血清LDL-胆固醇的对比。

[0178] 图11示出了各组DIO小鼠中与脂肪肝相关的指标血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 的对比。

[0179] 图12示出了各组DIO小鼠中与氮代谢功能相关的指标血清白蛋白/球蛋白比例的对比。

[0180] 图13示出了各组DIO小鼠中与氮代谢功能相关的指标血清总蛋白的对比。

[0181] 实施例9-13

[0182] 对已经完成实施例8的治疗的各组小鼠进行后续测试,实施例9-10检测了与肥胖和高脂血症相关的两项指标:总胆固醇和LDL-胆固醇,实施例11检测了与脂肪肝疾病相关的指标丙氨酸转氨酶 (ALT),且实施例12-13检测了与氮代谢功能相关的两项指标:白蛋白/球蛋白比例和总蛋白。各组的各项指标的对比分别示于图9-13中。

[0183] 图9-13分别示出了各组小鼠中与代谢综合征例如肥胖和高脂血症、脂肪肝疾病以及氮代谢功能相关的各项指标的对比。可以看出,在4周的治疗剂A+B施用后,与空白对照组3相比,试验组小鼠中的各项指标均表现出明显降低,而在对照组1的治疗剂A或对照组2的治疗剂B的单独使用中均没有实现明显的治疗或恢复效果,由此可见,本发明提供的药物组合物在治疗或改善与肥胖和高脂血症、脂肪肝疾病以及氮代谢功能相关的疾病中具备明显的医学用途。

[0184] 实施例14

[0185] 同样地,还对已经完成实施例8的治疗的各组小鼠进行葡萄糖耐受的测试,在试验组和对照组1-3中,对禁食过夜的小鼠进行腹膜内葡萄糖注射 (2mg/g体重),从而进行试验。在之后的每15-30分钟,用Lifescan One Touch血糖仪在各时间点处测试小鼠体内的葡萄糖含量 (mM),并根据葡萄糖含量和时间绘制折线图,结果示于图14中。

[0186] 图14示出了糖尿病患者DIO小鼠中葡萄糖耐受的结果。可以看出,与对照组1-3相比,试验组小鼠的体内葡萄糖含量没有大幅升高至很高的葡萄糖含量,并且后续也很快降低至一个较低的葡萄糖含量,因此可以看出,在经过4周本发明的药物组合物治疗后的小鼠在葡萄糖耐受方面表现出优异的性能。

[0187] 实施例15

[0188] 同样地,还对已经完成实施例8的治疗的各组小鼠进行胰岛素敏感性的测试,在试验组和对照组1-3中,通过用27G注射器针头在腹膜内给予5小时禁食大鼠0.75U胰岛素/kg体重的胰岛素 (Humulin)。在之后的每15-30分钟,用Lifescan One Touch血糖仪在各时间点处测试小鼠体内的葡萄糖含量 (mM),并根据葡萄糖含量和时间绘制折线图,结果示于图15中。

[0189] 图15示出了糖尿病患者DIO小鼠中胰岛素敏感性的结果。可以看出,与对照组1-3相比,试验组小鼠的体内葡萄糖含量始终保持在一个较低的葡萄糖含量且变化较大,因此可以看出,在经过4周本发明的药物组合物治疗后的小鼠在胰岛素敏感性方面表现出优异的性能。

[0190] 实施例16

[0191] 使用不同的治疗剂组合：(1) 空白对照；(2) 30mg/kg A；(3) 5mg/kg B；(4) 30mg/kg A+5mg/kg B；(5) 3mg/kg A+5mg/kg B；(6) 0.3mg/kg A+5mg/kg B；(7) 30mg/kg A+0.5mg/kg B；(8) 30mg/kg A+0.05mg/kg B对DIO小鼠进行10天的治疗，在治疗结束后，测量每种治疗剂组合的组中的体重(%)，结果如图16所示。

[0192] 图16示出了在施用各种治疗剂组合后的DIO小鼠体重的对比。可以看出，在施用一般常用剂量的情况下不能达到预期的治疗效果，相比之下，在第(4)组中30mg/kg A+5mg/kg B的治疗剂组合的情况下，可以在体重减少方面表现出优异的性能。

[0193] 实施例17

[0194] 使用不同的治疗剂组合：(1) 空白对照；(2) 30mg/kg A；(3) 5mg/kg B；(4) 30mg/kg A+5mg/kg B；(5) 3mg/kg A+5mg/kg B；(6) 0.3mg/kg A+5mg/kg B；(7) 30mg/kg A+0.5mg/kg B；(8) 30mg/kg A+0.05mg/kg B对DIO小鼠进行10天的治疗，在治疗结束后，测量每种治疗剂组合的组中的空腹血糖含量(mM)，结果如图17所示。

[0195] 图17示出了在施用各种治疗剂组合后的DIO小鼠空腹血糖含量的对比。可以看出，在施用一般常用剂量的情况下不能达到预期的治疗效果，相比之下，在第(4)组中30mg/kg A+5mg/kg B的治疗剂组合的情况下，可以在降低空腹血糖含量方面表现出优异的性能。

[0196] 实施例18

[0197] 选取各方面身体状态相似的普通野生型C57BL/6小鼠，对于试验组，对每只小鼠每天有效施用30mg/kg的治疗剂A和5mg/kg的治疗剂B；对于空白对照组，对每只小鼠每天仅施用等量PBS溶剂，共持续13天。每天记录每只小鼠的体重，并根据每只小鼠的体重绘制体重随时间变化的图，如图18所示。

[0198] 图18示出了与对照组相比，在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导普通野生型C57BL/6小鼠中体重变化的结果。可以看出，本发明的药物组合物在13天内能够有效降低普通野生型C57BL/6小鼠的约10%以上体重，而对照组对小鼠的体重几乎没有明显的影响，由此可以认为本发明提供的治疗剂A和治疗剂B在组合使用时对于普通野生型C57BL/6小鼠的体重降低的治疗效果也具备协同效应。

[0199] 实施例19

[0200] 选取已经完成实施例18后的试验组和对照组中的小鼠，对其进行解剖，并观察试验组和对照组中的小鼠的各处脂肪的堆积情况，然后进行对比，解剖后各处脂肪堆积的拍摄图像示于图19中。

[0201] 图19示出了与对照组相比，在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导普通野生型C57BL/6小鼠中脂肪减少的结果。可以看出，在对照组的小鼠中有多处明显的脂肪堆积，例如内脏脂肪和性腺脂肪等，而试验组的小鼠中的脂肪堆积明显减少，由此可以认为本发明提供的药物组合物具有明显降低体内脂肪含量的效果。

[0202] 实施例20

[0203] 选取二十四只各方面身体状态相似的8周大Sprague Dawley雌性大鼠，并将其分为两组，每组的大鼠数量均为十二只，每只都每天喂高脂肪高糖饲料(HFHSD, D11092103; Research Diet Inc)和每天皮下注射60mg/kg的脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone; DHEA; Sigma Aldrich)以便模拟多囊卵巢综合征(PCOS)的发生(Zhang et al.,

Reproduction 2016)。对于试验组,对每只大鼠每天有效施用30mg/kg的治疗剂A和5mg/kg的治疗剂B;对于对照组,对每只大鼠每天有效施用等量的PBS溶剂为空白对照,共持续三周。每天记录每只大鼠的体重,并根据每只大鼠的体重绘制体重随时间变化的图,如图20所示。

[0204] 图20示出了与对照组相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中药物治疗剂A+B诱导多囊卵巢综合征大鼠中体重变化的结果。可以看出,本发明的药物组合物在3周内能够有效且稳定避免多囊卵巢综合征大鼠的约10%以上体重增加,由此可以认为本发明提供的治疗剂A和治疗剂B在组合使用时对于多囊卵巢综合征患者肥胖发生的预防效果具备协同效应。

[0205] 图21示出了各组PCOS多囊卵巢综合征大鼠中的空腹血糖量的对比。

[0206] 图22示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与脂肪肝相关的指标血清天冬氨酸转氨酶(AST)与总胆固醇的对比。

[0207] 图23示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与肝脏氮代谢功能相关的指标血清总蛋白的对比。

[0208] 图24示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与肾脏功能相关的指标血清肌酸酐(creatinine)的对比。

[0209] 图25示出了各组多囊卵巢综合征大鼠中与心脏病相关的指标血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、心肌型肌酸激酶同工酶MB(CKMB)、 α -羟丁酸脱氢酶(HBDH)的对比。

[0210] 实施例21-25

[0211] 对已经完成实施例20的治疗的各组大鼠进行后续测试,实施例21检测了与糖尿病相关的指标空腹血糖,实施例22检测了与脂肪肝疾病相关的指标血清天冬氨酸转氨酶(AST)与总胆固醇,实施例23检测了与肝脏氮代谢功能相关的指标血清总蛋白,实施例24检测了与肾脏功能相关的指标血清肌酸酐(creatinine),且实施例25检测了与心脏病相关的指标血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、心肌型肌酸激酶同工酶MB(CKMB)、 α -羟丁酸脱氢酶(HBDH)。各组的各项指标的对比分别示于图21-25中。

[0212] 图21-25分别示出了各组大鼠中与多囊卵巢综合征相关例如糖尿病、肥胖、高脂血症、脂肪肝疾病、心脏病相关的各项指标的对比。可以看出,在3周的治疗剂A+B施用后,与空白对照组相比,试验组大鼠中的各项指标均表现出明显降低,由此可见,本发明提供的药物组合物在预防或改善多囊卵巢综合征以及相关的糖尿病、肥胖、高脂血症、脂肪肝疾病及心脏病相关的疾病中具备明显的医学用途。

[0213] 实施例26

[0214] 同样地,还对已经完成实施例20的治疗的各组大鼠进行胰岛素敏感性的测试,在试验组和对照组中,通过用27G注射器针头在腹膜内给予5小时禁食大鼠0.75U胰岛素/kg体重的胰岛素(Humulin)。在之后的每15-30分钟,用Lifescan One Touch血糖仪在各时间点处测试小鼠体内的葡萄糖含量(mM),并根据葡萄糖含量和时间绘制折线图,结果示于图26中。

[0215] 图26示出了多囊卵巢综合征大鼠中胰岛素敏感性的结果。可以看出,与对照组相比,试验组大鼠的体内葡萄糖含量始终保持在一个较低的葡萄糖含量且变化较大,因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的大鼠在胰岛素敏感性方面表现出优异的

性能。

[0216] 实施例27

[0217] 同样地,还对实施例20的各组大鼠进行阴道细胞学分析,连续11天评价发情周期各个阶段,包括D间情期,P发情前期,E发情期,M动情后期,并根据发情周期阶段和时间绘制折线图,结果示于图27中。

[0218] 图27示出了多囊卵巢综合征大鼠中发情周期的结果。可以看出,与正常对照组(Control)相比,多囊卵巢综合征大鼠(DHEA+HFHSD)的发情周期异常,12/12大鼠均出现非周期的现象。试验组大鼠(DHEA+HFHSD+A+B)的发情周期则较为正常,4/12大鼠的发情周期完全恢复正常,因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠有部分能完全恢复正常的发情周期。

[0219] 实施例28

[0220] 同样地,还对实施例20的各组大鼠进行血清激素ELISA分析,包括雄激素(T)、雌激素(E2)和促卵泡激素(FSH),结果示于图28中。

[0221] 图28示出了多囊卵巢综合征大鼠中血清激素ELISA的结果。可以看出,与多囊卵巢综合征大鼠对照组(Control)相比,试验组大鼠(A+B)的雄激素(T)和雌激素(E2)都没显著变化,但是4/12大鼠的促卵泡激素(FSH)有显著增加。因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠有部分能恢复正常的发情周期,是因为促卵泡激素(FSH)回升,而不是通过雄激素(T)和雌激素(E2)的调控。

[0222] 实施例29

[0223] 同样地,还对实施例20的各组大鼠进行骨骼肌蛋白Western blot分析,包括phospho-Akt(S473)、Akt、phospho-p38、肌肉蛋白重链(Myosin Heavy Chain,MHC)、GAPDH,结果示于图29中。

[0224] 图29示出了多囊卵巢综合征大鼠中骨骼肌蛋白Western blot分析的结果。可以看出,与多囊卵巢综合征大鼠对照组(PCOS)相比,试验组大鼠(PCOS+A+B)的phospho-Akt(S473)、Akt、肌肉蛋白重链(Myosin Heavy Chain,MHC)都有显著增加,phospho-p38则显著下降。因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠能恢复正常的骨骼肌胰岛素敏感性和蛋白合成代谢,缓解肌肉炎症、胰岛素抵抗、肌肉衰减综合征和代谢综合征。

[0225] 实施例30

[0226] 同样地,还对实施例20的各组大鼠进行心脏切片分析,包括室壁厚度和Massontrichrome三色染色的纤维化分析,结果示于图30和图31中。

[0227] 图30示出了多囊卵巢综合征大鼠中左心室壁厚度分析的结果。可以看出,与多囊卵巢综合征大鼠对照组(Control)相比,试验组大鼠(A+B)的左心室壁厚度有显著降低($P < 0.001$)。因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠能显著改善心室肥厚、心脏衰竭等心血管疾病。

[0228] 图31示出了多囊卵巢综合征大鼠中心肌纤维化分析的结果。可以看出,与多囊卵巢综合征大鼠对照组(Control)相比,试验组大鼠(A+B)的心肌纤维化面积有显著降低($P < 0.05$)。因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠能显著改善心肌梗塞导致的心肌纤维化、心室肥厚、心脏衰竭等心血管疾病。

[0229] 实施例32

[0230] 同样地,还对实施例20的各组大鼠进行血常规分析,结果示于图32中。

[0231] 图32示出了多囊卵巢综合征大鼠中血常规分析的结果。可以看出,与多囊卵巢综合征大鼠对照组(Control)相比,试验组大鼠(A+B)的各个血常规指标都没有显著变化($P > 0.05$)。因此可以看出,在经过3周本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠没有出现显著的毒性反应。

[0232] 实施例33

[0233] 选取二十六只各方面身体状态相似的杰克逊实验室的6周大ob/ob肥胖(Jackson Lab B6.Cg-Lepob/J, Stock No:000632)雄性小鼠,每只都每天喂高脂肪高糖饲料(HFSD, D11092103; Research Diet Inc),共持续45天以便模拟脂肪肝(NASH)的发生(Kristiansen et al., 2016; doi:10.4254/wjh.v8.i16.673)。45天后继续喂高脂肪高糖饲料,并将其分为两组,每组的小鼠数量均为13只,对于试验组,对每只小鼠每天有效施用30mg/kg的治疗剂A和5mg/kg的治疗剂B;对于对照组,对每只小鼠每天仅施用等量的PBS溶剂为空白对照,共持续37天。每天记录每只小鼠的体重,并根据每只小鼠的体重绘制体重随时间变化的图,如图33所示。

[0234] 图33示出了药物治疗剂A+B对NASH小鼠中体重变化的结果。可以看出,相对于NASH对照组,本发明的药物组合物在5天内能够有效降低NASH小鼠的约3%以上体重($P < 0.001$),在37天内能够有效降低NASH小鼠的约20%体重($P = 3.8e-10$)。而1-3均对小鼠的体重几乎没有明显的影响,由此可以认为本发明提供的药物治疗剂A+B能有效遏制体重增加。

[0235] 实施例34

[0236] 同样地,还对已经完成实施例33的治疗的各组小鼠进行三天食量的测试,结果示于图34中。

[0237] 图34示出了NASH小鼠食量测试的结果。可以看出,与NASH对照组相比,试验组小鼠的食量不但没降低,反而略微高一些($P = 0.109$)。因此可以看出,在经过40天本发明的药物组合物治疗后的NASH小鼠的食欲没有显著变化。

[0238] 实施例35

[0239] 同样地,还对已经完成实施例33的治疗的各组小鼠进行解剖,并检测肝脏重量,结果示于图35中。

[0240] 图35示出了NASH小鼠肝脏重量测试的结果。可以看出,与NASH对照组相比,试验组小鼠的肝脏重量显著降低($P < 0.001$),肝脏体积也明显降低。因此可以看出,在经过40天本发明的药物组合物治疗后的NASH小鼠能逆转肝脏肿大。

[0241] 实施例36

[0242] 同样地,还对已经完成实施例33的治疗的各组小鼠进行解剖、组织固定切片、hematoxylin-eosin和Picro-Sirius red (Sigma-Aldrich)染色并进行显微镜观察与专家打分,肝脏分析切片结果示于图36中,心脏分析切片结果示于图37中。

[0243] 图36示出了NASH小鼠肝脏切片分析的结果。可以看出,与NASH对照组相比,试验组小鼠的脂肪肝分级和脂肪肝活动评都显著降低($P < 0.01$),也就是说治疗剂A+B有诱导脂肪肝的脂肪与炎症减少的治疗效果。同时可以看出,与NASH对照组相比,试验组小鼠的肝脏纤维化面积(%)和纤维化分期也都显著减少($P < 0.01$),也就是说治疗剂A+B有诱导脂肪肝的

纤维化减少的治疗效果。在经过40天本发明的药物组合物治疗后的小鼠即使继续食用大量的
的高脂肪高糖饲料也能逆转NASH脂肪肝与肝脏纤维化。

[0244] 图37示出了NASH小鼠心脏切片分析的结果。可以看出,与NASH对照组相比,试验组
小鼠的心脏纤维组织面积显著减少($P<0.01$),也就是说治疗剂A+B有诱导心脏纤维化减少
的治疗效果。在经过40天本发明的药物组合物治疗后的小鼠即使继续食用大量的
高脂肪高糖饲料也能逆转心脏纤维化、心脏衰竭等心血管疾病。

[0245] 实施例38

[0246] 同样地,对已经完成实施例33的治疗的各组小鼠进行血生化测试,实施例38检测
了与肝脏损伤相关的指标:丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST),实施例39检测了
与高脂血症相关的指标:甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHOL)、HDL-胆固醇(HDL-C)和LDL-胆
固醇(LDL-C),实施例40检测了与各器官损伤相关的指标:白蛋白/球蛋白(Albumin/
Globulin)比例、尿素(Urea)、肌酸酐(Creatinine)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、心肌
型肌酸激酶同工酶MB(CKMB)和 α -羟丁酸脱氢酶(HBDH)。各组的各项指标的对比分别示于图
38-40中。

[0247] 图38示出了各组小鼠中与肝脏损伤相关的两项指标的对比。与NASH对照组相比,
试验组小鼠的丙氨酸转氨酶(ALT, $P<0.001$)和天冬氨酸转氨酶(AST, $P=0.02$)都显著降低。
在经过40天本发明的药物组合物治疗后的小鼠即使继续食用大量的
高脂肪高糖饲料也能逆转肝脏损伤。

[0248] 图39示出了各组小鼠中与高脂血症相关的指标的对比。与NASH对照组相比,试
验组小鼠的甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHOL, $P<0.01$)、HDL-胆固醇(HDL-C)和LDL-胆
固醇(LDL-C, $P=0.016$)都降低。在经过40天本发明的药物组合物治疗后的小鼠即使继续食用大量的
高脂肪高糖饲料也能逆转高脂血症。

[0249] 图40示出了各组小鼠中与各器官损伤相关的指标的对比。与NASH对照组相比,试
验组小鼠的白蛋白/球蛋白(Albumin/Globulin)比例、尿素(Urea)、肌酸酐(Creatinine)、
乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、心肌型肌酸激酶同工酶MB(CKMB)、 α -羟丁酸脱氢酶
(HBDH)都无显著变化($P>0.05$)。在经过40天本发明的药物组合物治疗后的小鼠各个器官都
没有出现任何毒性反应。

[0250] 实施例41

[0251] 同样地,对实施例33的各组小鼠进行空腹血糖测试,每隔3-7天用Lifescan One
Touch血糖仪测试禁食过夜的小鼠体内的葡萄糖含量(mM),并根据葡萄糖含量和时间绘制
折线图,结果示于图41中。

[0252] 图41示出了各组小鼠中空腹血糖的结果。可以看出,与NASH对照组相比,A+B试
验组小鼠的体内葡萄糖含量不但没有大幅升高,反而在14天内显著的降低至一个较低的葡
萄糖含量($P<0.001$)。因此可以看出,在经过40天本发明的药物组合物治疗后的小鼠在血糖控
制方面表现出显著的改善,防止了2型糖尿病发生。

[0253] 实施例42

[0254] 同样地,还对实施例33的各组小鼠进行葡萄糖耐受的测试,在试验组和对照组中,
对禁食过夜的小鼠进行腹膜内等量的葡萄糖注射(2mg/g体重),从而进行试验。在之后的每
15-30分钟,用Lifescan One Touch血糖仪在各时间点处测试小鼠体内的葡萄糖含量(mM),

并根据葡萄糖含量和时间绘制折线图,结果示于图42中。

[0255] 图42示出了NASH小鼠中葡萄糖耐受的结果。可以看出,与NASH对照组相比,A+B试验组小鼠的体内葡萄糖含量没有大幅升高至很高的葡萄糖含量,并且后续也很快降低至一个较低的葡萄糖含量($P<0.001$)。因此可以看出,在经过40天本发明的药物组合物治疗后的NASH小鼠在葡萄糖耐受方面恢复了正常。

[0256] 实施例43

[0257] 同样地,对实施例33的各组小鼠进行胰岛素敏感性的测试,在试验组和对照组中,通过用27G注射器针头在腹膜内给予6小时禁食大鼠同等量的胰岛素(Humulin,0.75U/kg体重)。在之后的每15-30分钟,用Lifescan One Touch血糖仪在各时间点处测试小鼠体内的葡萄糖含量(mM),并根据葡萄糖含量和时间绘制折线图,结果示于图43中。

[0258] 图43示出了NASH小鼠中胰岛素敏感性的结果。可以看出,与对照组相比,试验组小鼠的体内葡萄糖含量始终保持在一个较低的葡萄糖含量且60分钟后变化较大($P<0.01$)。因此可以看出,在经过40天本发明的药物组合物治疗后的NASH小鼠在胰岛素敏感性方面恢复了正常,逆转了胰岛素抵抗。

[0259] 实施例44

[0260] 同样地,对实施例33的各组小鼠进行6小时禁食后注射胰岛素(Humulin,0.75U/kg体重),15分钟后进行骨骼肌与肝脏样本取材和蛋白Western blot分析,包括phospho-Irs1(S307)、phospho-Akt(S473)、Akt、phospho-p38、GAPDH,结果示于图44中。

[0261] 图44示出了NASH小鼠中骨骼肌蛋白Western blot分析的结果。可以看出,与NASH小鼠对照组(Control)相比,试验组小鼠(A+B)的骨骼肌phospho-Irs1(S307)、phospho-Akt(S473)、Akt都有显著增加,phospho-p38则显著下降。也可以看出,与NASH小鼠对照组(Control)相比,试验组小鼠(A+B)的肝脏phospho-Akt(S473)与phospho-Irs1(S307)都有显著增加。因此可以看出,在经过40天本发明的药物组合物治疗后的NASH小鼠能恢复正常的骨骼肌与肝脏胰岛素敏感性,缓解肌肉炎症、全身胰岛素抵抗和代谢综合征。

[0262] 实施例45

[0263] 选取六只各方面身体状态相似的杰克逊实验室的6周大ob/ob肥胖(Jackson Lab B6.Cg-Lepob/J,Stock No:000632)雄性小鼠,每只都每天喂高脂肪高糖饲料(HFSD,D11092103;Research Diet Inc),共持续45天以便模拟脂肪肝(NASH)的发生(Kristiansen et al.,2016;doi: 10.4254/wjh.v8.i16.673)。45天后继续喂高脂肪高糖饲料,并将其分为两组,每组的小鼠数量均为3只,对于试验组,对每只小鼠每天有效施用30mg/kg的治疗剂A和5mg/kg的治疗剂B;对于对照组,对每只小鼠每天仅施用等量的PBS溶剂为空白对照,共持续7天。实验结束后,进行骨骼肌与肝脏样本取材、RNAseq转录组学测序分析和GSEA(Gene Set Enrichment Analysis)分析,并取出最显著的基因标签与标记物,如图45所示。

[0264] 图45示出了NASH小鼠中转录组学测序分析的结果。可以看出,相对于NASH对照组(C),本发明的药物组合物(F)在7天内能够有效上调NASH小鼠骨骼肌与肝脏的VEGF信号通路($P<0.001$,FDR <0.001),骨骼肌的Axon Guidance(神经轴突引导, $P<0.001$,FDR <0.001)和Ephrin信号通路($P<0.001$,FDR=0.0068),和肝脏IGF(类胰岛素)信号通路($P=0.0039$,FDR=0.07)。由此可以认为本发明提供的药物治疗剂A+B能有效促进血管生成、神经肌肉组织、胰岛素敏感性,犹如效仿运动(Hoier&Hellsten 2014doi:10.1111/micc.12117;Stark et

al.2015doi:10.1083/jcb.201502036;Lavin et al.2020doi:10.3389/fphys.2020.00653;Sarvas et al.2015doi:10.14814/phy2.12277)。

[0265] 实施例46

[0266] 利用体外人类原代骨骼肌细胞,将其分为四组,每组六个时间点,对于试验组施用100mg/L的治疗剂A和2mg/L的治疗剂B;对于对照组1施用100mg/L的治疗剂A;对于对照组2施用2mg/L的治疗剂B;而对于对照组3施用等量的DMSO溶剂为空白对照,共持续24小时,之后对每个时间点的样本进行蛋白Western blot分析,如图46所示。

[0267] 图46示出了体外人类原代骨骼肌细胞蛋白Western blot分析的结果。

[0268] 图46A示出了在短期施药后(60分钟内),与对照组1-3相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中,药物治疗剂A+B能快速和显著地上调phospho-p38、phospho-AMPK、phospho-ACC和PGC1a。相对于对照组3,对照组1和对照组2单用治疗剂A或单用治疗剂B虽然也能上调phospho-p38、phospho-AMPK、phospho-ACC和PGC1a,但效果都比较弱或比较慢,且时间不统一。由此可见,在短期施药后,本发明提供的药物治疗剂A+B比起单用治疗剂A或单用治疗剂B能更有效促进p38和AMPK信号通路及下游靶标,从而促进脂肪水解和脂肪酸氧化等分解代谢。在长期施药后(3-24小时),与对照组1-3相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中,药物治疗剂A+B能显著地下调phospho-p38、phospho-AMPK、phospho-ACC和PGC1a。相对于对照组3,对照组1和对照组2单用治疗剂A或单用治疗剂B虽然也能在24小时内下调phospho-p38、phospho-ACC和PGC1a,但效果都比较弱或比较慢,且时间不统一。由此可见,在长期施药后,本发明提供的药物治疗剂A+B比起单用治疗剂A或单用治疗剂B能更有效抑制p38和AMPK信号通路及下游靶标,从而促进合成代谢。

[0269] 图46B示出了短期施药后(60分钟内),本发明提供的药物治疗剂A+B通过脂肪酸氧化(FAO)、脂肪酸代谢物(acyl-metabolites)、腺苷三磷酸(ATP),联合调控p38和AMPK信号通路的机制模型。由此可见,药物治疗剂A+B能在短期施药后使得p38和AMPK信号通路同时骤增,从而促进脂肪水解和脂肪酸氧化等分解代谢(catabolism)。

[0270] 图46C示出了长期施药后(3-24小时),本发明提供的药物治疗剂A+B通过炎症因子(Inf cytokines)、脂肪酸氧化(FAO)、线粒体活性氧(mtROS)、糖酵解(glycolysis),联合调控p38和AMPK信号通路的机制模型。由此可见,药物治疗剂A+B能在长期施药后使得p38和AMPK信号通路同时骤降,从而促进合成代谢(anabolism)和肌肉修复。

[0271] 因此,每天施用药物治疗剂A+B可特异地使得p38和AMPK信号通路及相关代谢变化周而复始,形成兴奋效应循环,犹如效仿运动。

[0272] 实施例47

[0273] 利用体外人类原代骨骼肌细胞,将其分为六组,对于对照组1施用7天等量的DMSO溶剂为空白对照,对于对照组2施用7天等量的牛血清白蛋白(BSA)为脂肪溶剂对照,对于对照组3施用7天棕榈酸(Pa1)和TNFa为高脂肪和炎症诱导胰岛素抵抗对照,对于对照组4施用7天棕榈酸(Pa1)和TNFa并在第4天施用100mg/L的治疗剂A,对于对照组5施用7天棕榈酸(Pa1)和TNFa并在第4天施用2mg/L的治疗剂B,对于试验组施用7天棕榈酸(Pa1)和TNFa并在第4天施用100mg/L的治疗剂A和2mg/L的治疗剂B;之后对每组样本进行蛋白Western blot分析,如图47所示。

[0274] 图47示出了体外人类原代骨骼肌细胞被诱导胰岛素抵抗且施药后7天的蛋白

Western blot分析的结果。在7天试验后,与对照组3相比,在使用根据本发明实施方式的药物组合物的试验组中,药物治疗剂A+B能更显著地上调胰岛素敏感性指标phospho-Akt、phospho-S6和肌球蛋白重链(MHC)且下调细胞衰老指标H3K9me3,恢复到对照组1-2的水平。相对于对照组3,对照组4和对照组5单用治疗剂A或单用治疗剂B虽然也能上调胰岛素敏感性指标phospho-Akt、phospho-S6和肌球蛋白重链,但效果都比较弱。相对于对照组3,对照组4单用治疗剂A能下调细胞衰老指标H3K9me3,恢复到对照组1的水平,但对照组5单用治疗剂B却不能。由此可见,本发明提供的药物治疗剂A+B比起单用治疗剂A或单用治疗剂B能在胰岛素抵抗情况下更有效促进胰岛素敏感性和逆转细胞衰老。

[0275] 实施例48

[0276] 同样地,还对实施例20的各组大鼠进行骨骼肌RNAseq转录组学测序分析和GSEA (Gene Set Enrichment Analysis)分析,并取出最显著的基因标签与标记物,如图48所示。

[0277] 图48示出了由高脂肪高糖饲料诱导的PCOS多囊卵巢综合征大鼠中骨骼肌RNAseq转录组学测序分析的结果。可以看出,与PCOS大鼠对照组(M2)相比,A+B试验组大鼠(M1)的IRS1和IRS2胰岛素受体通路靶标($P<0.0001$, $FDR=4.9e-5$)、Rapamycin-sensitive雷帕霉素敏感的PI3K-Akt-mTOR通路靶标($P<0.0001$, $FDR=2.6e-5$)、Mitochondria线粒体基因都有显著增加。也可以看出,与多囊卵巢综合征大鼠对照组(M2)相比,A+B试验组大鼠(M1)的炎症相关的Interferon干扰素靶标($P<0.0001$, $FDR<0.0001$)、纤维化相关的Collagen胶原蛋白通路靶标($P<0.0001$, $FDR=3.5e-5$)和间充质细胞分裂靶标($P<0.0001$, $FDR<0.0001$)都有显著下降。因此可以看出,本发明的药物组合物治疗后的多囊卵巢综合征大鼠能恢复正常的胰岛素(insulin/IGF-IRS-PI3K-mTOR)敏感性和线粒体代谢,缓解inflammaging炎症衰老和纤维化,从而逆转胰岛素抵抗、肌肉衰减综合征和代谢综合征。

[0278] 实施例49

[0279] 同样地,对实施例33的各组小鼠的血清样本进行空腹胰岛素(insulin)的酶联免疫吸附试验(ELISA,Abcam),并计算胰岛素抵抗指数HOMA-IR,如图49所示。

[0280] 图49示出了NASH小鼠中血清样本的胰岛素酶联免疫吸附试验结果与胰岛素抵抗指数HOMA-IR结果。可以看出,相对于NASH对照组,本发明的药物组合物A+B能够有效降低血清空腹胰岛素($P<0.05$)与胰岛素抵抗指数($P<0.05$)。由此可以认为本发明提供的药物治疗剂A+B能有效的促进NASH患者的胰岛素敏感性和缓解胰岛素抵抗与高胰岛素血症,犹如效仿运动(van der Windt et al.2018,doi:10.3727/105221617X15124844266408)。

[0281] 实施例50

[0282] 同样地,对实施例33的各组小鼠的血清样本进行脂联素(adiponectin)的酶联免疫吸附试验(ELISA,Abcam),如图50所示。

[0283] 图50示出了NASH小鼠中血清样本的脂联素酶联免疫吸附试验结果。可以看出,相对于NASH对照组,本发明的药物组合物A+B能够有效上调血清脂联素($P<0.001$)。由此可以认为本发明提供的药物治疗剂A+B能通过脂联素有效促进糖脂代谢和抑制炎症,犹如效仿运动(Simpson&Singh 2008,doi:10.1038/oby.2007.53)。

[0284] 实施例51

[0285] 根据实施例8中的相同方法对小鼠进行分组和施药,不同的是1小时后对各组小鼠的血清样本进行液相质谱(LC-MS,Waters XBridge C18柱子与Xevo G2-XS)分析,并取出最

显著的小分子标记物,如图51所示。

[0286] 图51示出了对照组1和对照组3小鼠中血清样本的液相质谱分析相比对结果。可以看出,相对于对照组3(空白对照),药物A(对照组1)在血清里能够有效形成多种水杨酸衍生物(salicylate derivatives),多数的保留时间介于5-5.5分钟之间,跟乙酰水杨酸类似(<https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/EQ357853>)。由此可以认为任何一种水杨酸衍生物都能效仿A药物在肥胖机体内的药效。

[0287] 综合以上的实施例,可以容易地看出,相比于本发明的药物组合物中的单独成分的使用,根据本发明的药物组合物在血糖控制方面表现出非常好的协同功效,特别是在空腹血浆葡萄糖和餐后血浆葡萄糖减少方面,并且同时可以有效治疗或预防肥胖、脂肪肝、2型糖尿病和胰岛素抵抗所导致的代谢综合征疾病。

[0288] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于上述实施方式中的具体细节,在本发明的技术构思范围内,可以对本发明的技术方案进行多种简单变型,这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0289] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

[0290] 此外,本发明的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合,只要其不违背本发明的思想,其同样应当视为本发明所公开的内容。

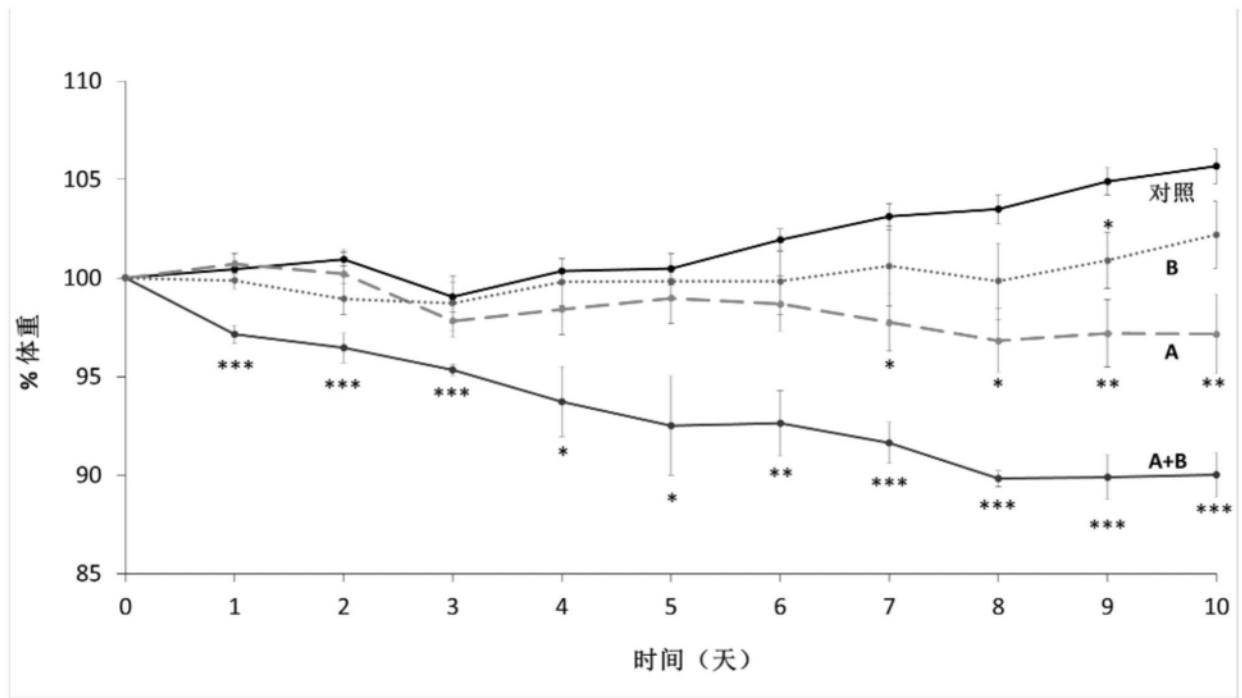


图1

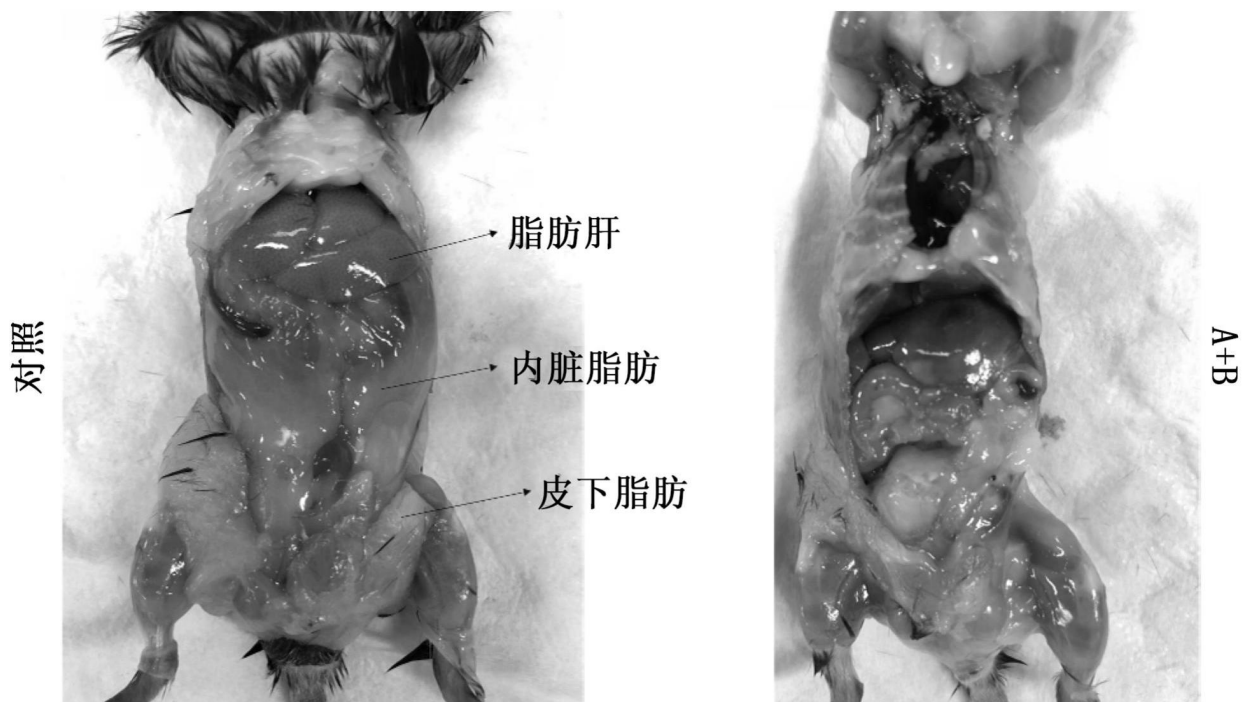


图2

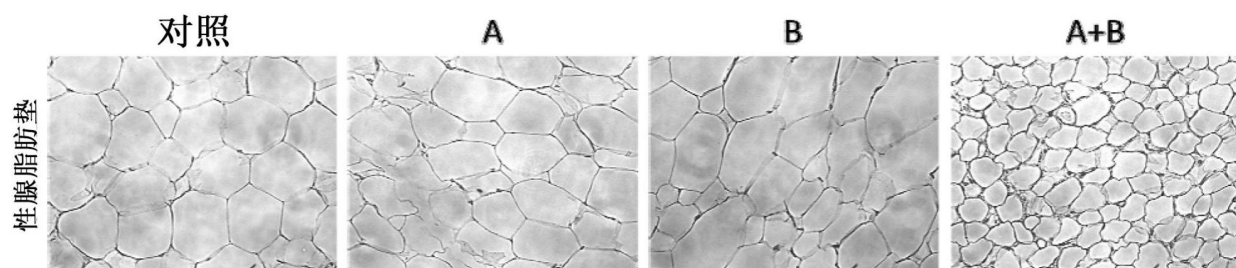


图3

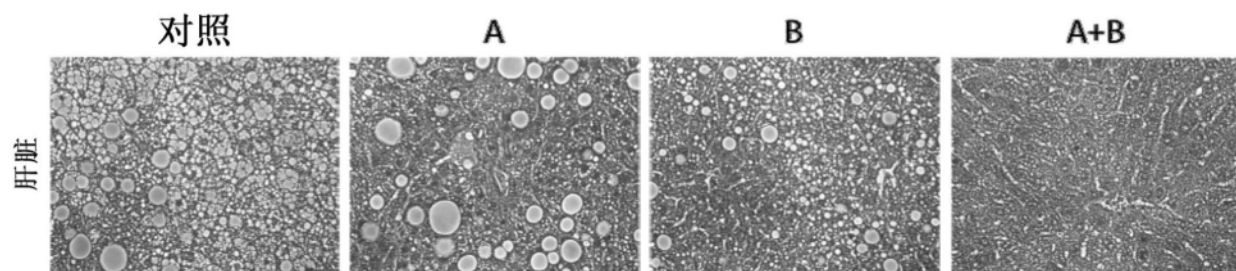


图4

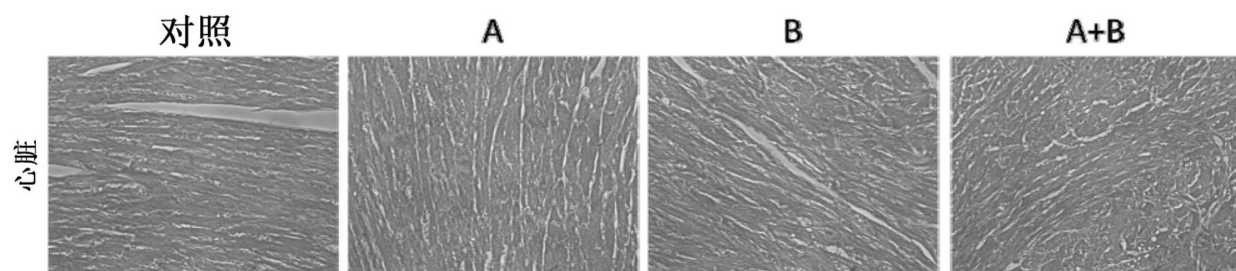


图5

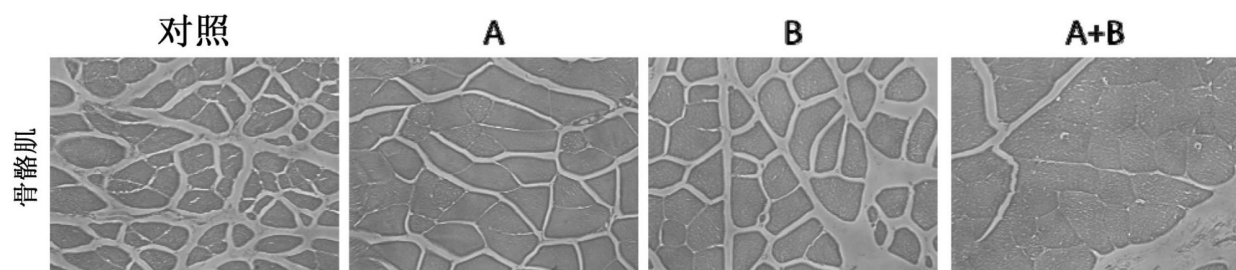


图6

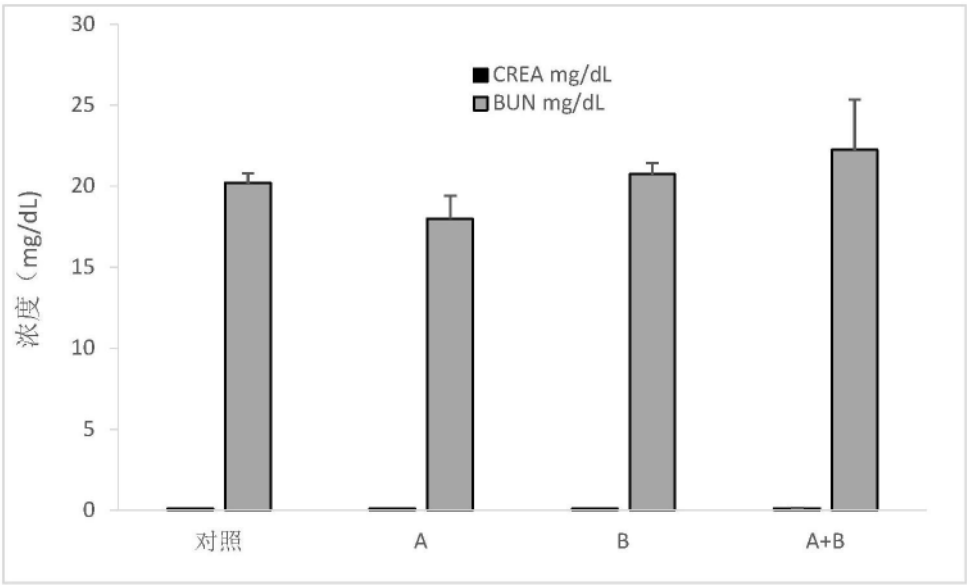


图7

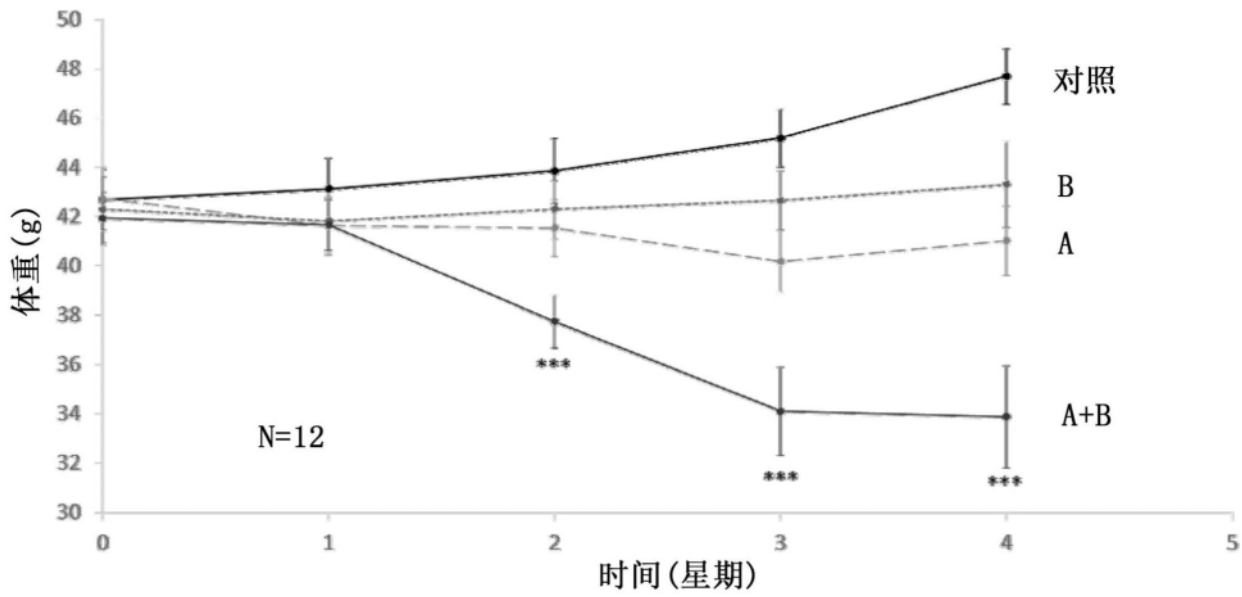


图8

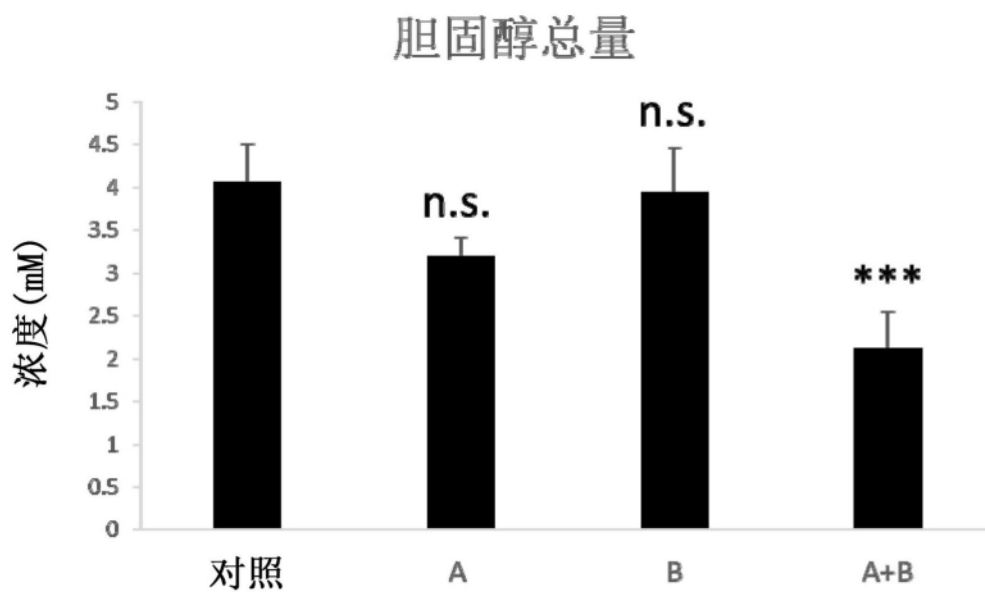


图9

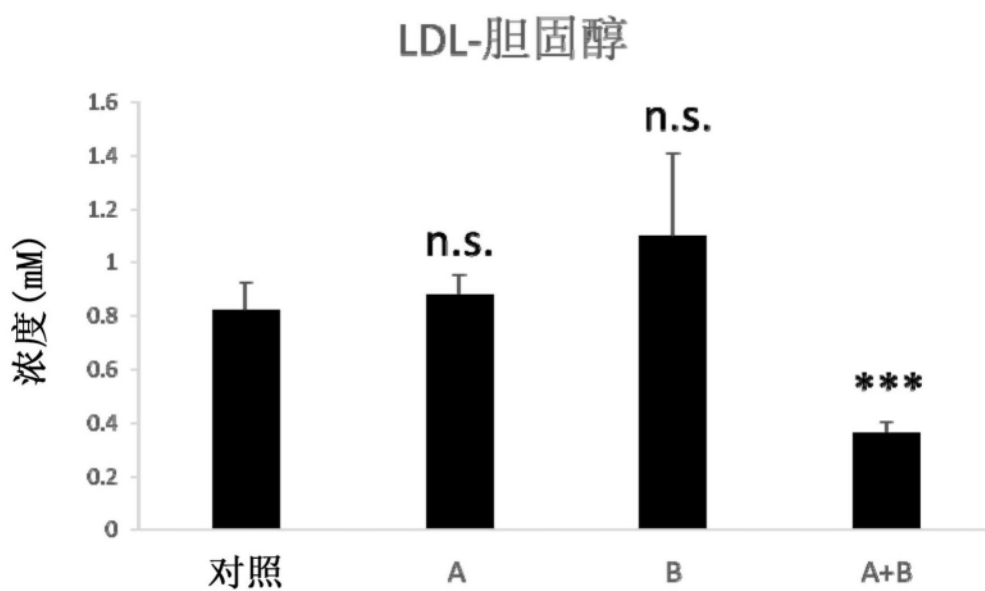


图10

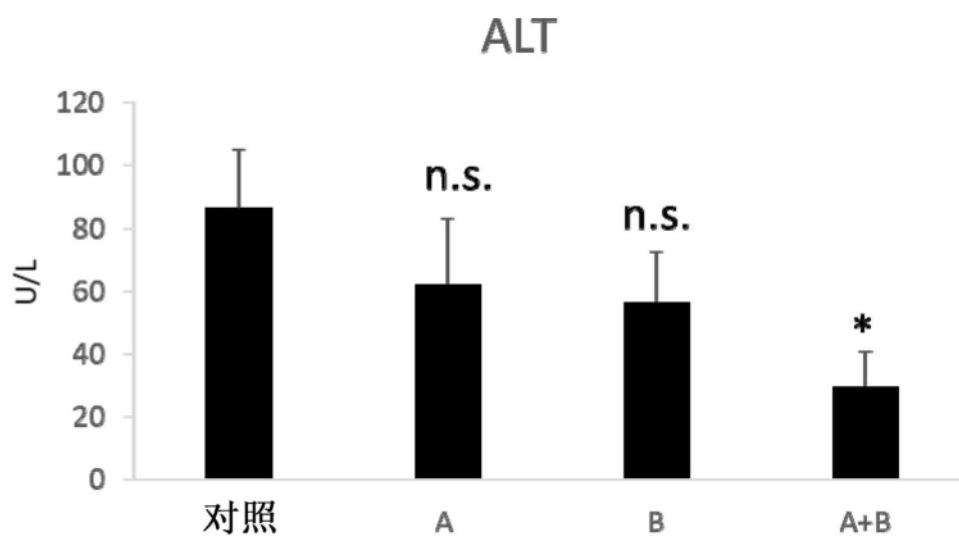


图11

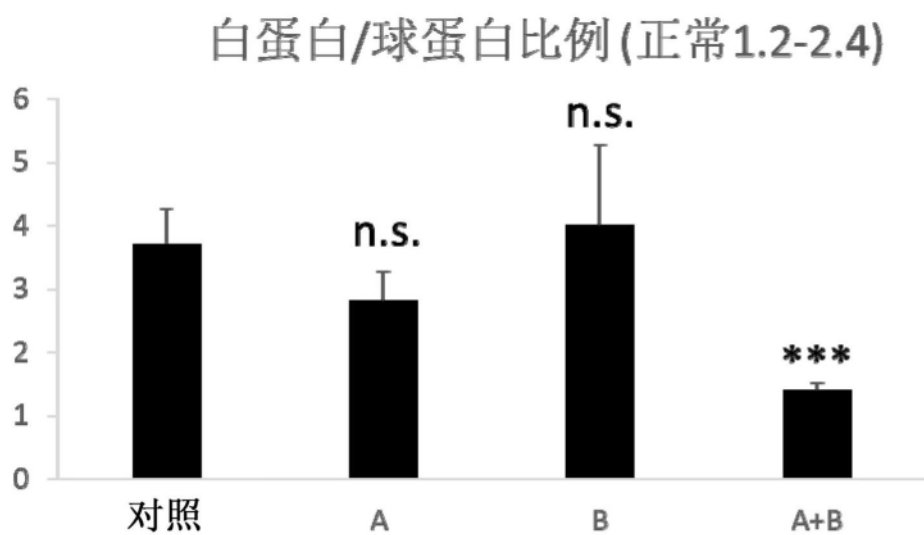


图12

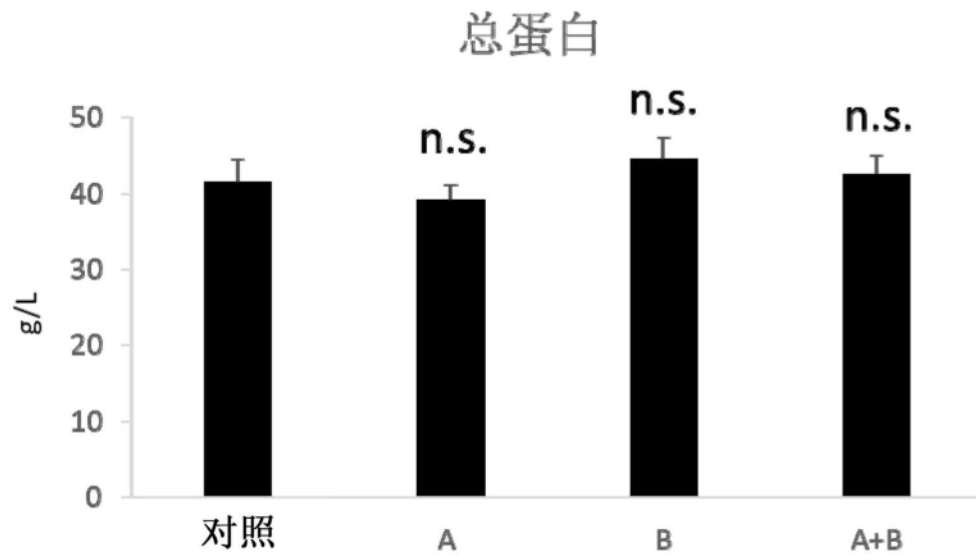


图13

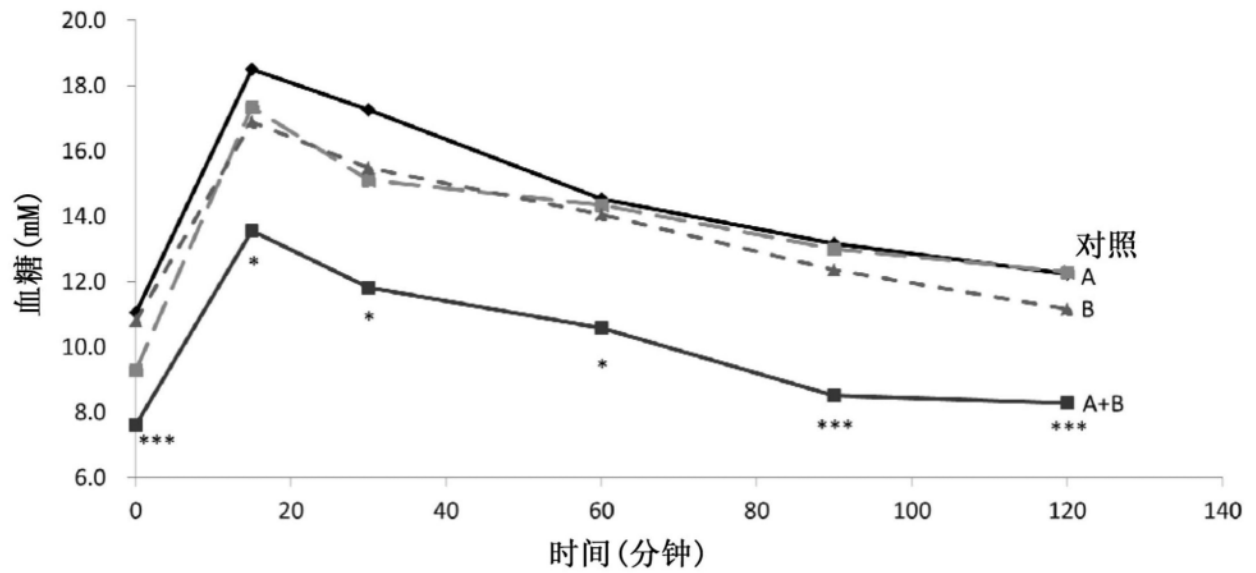


图14

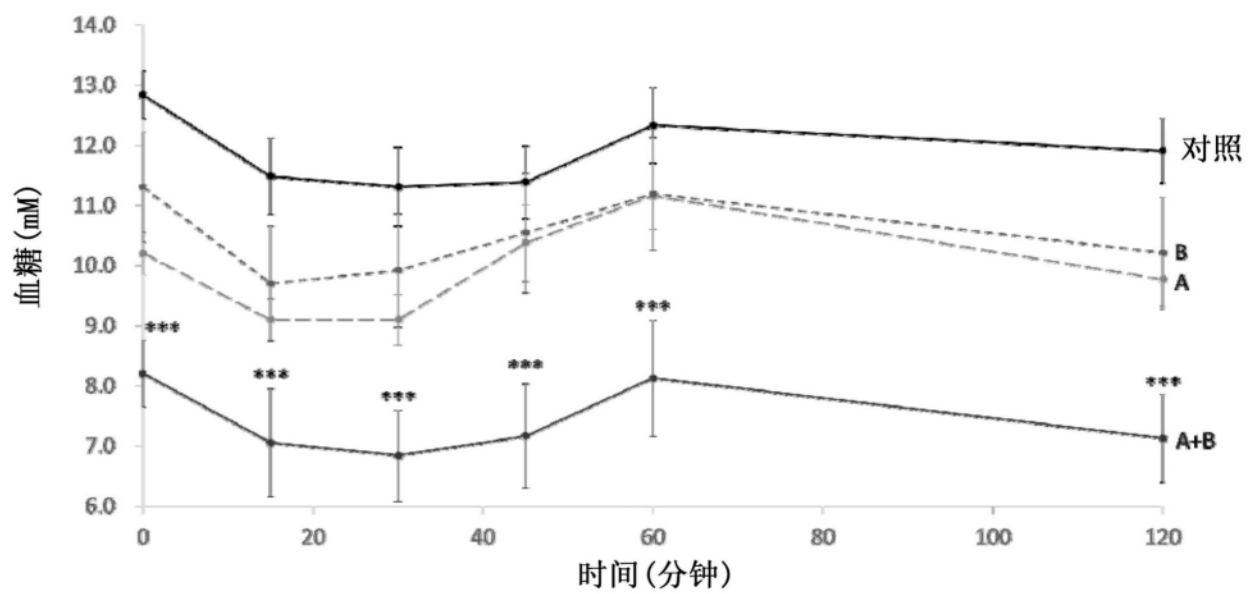


图15

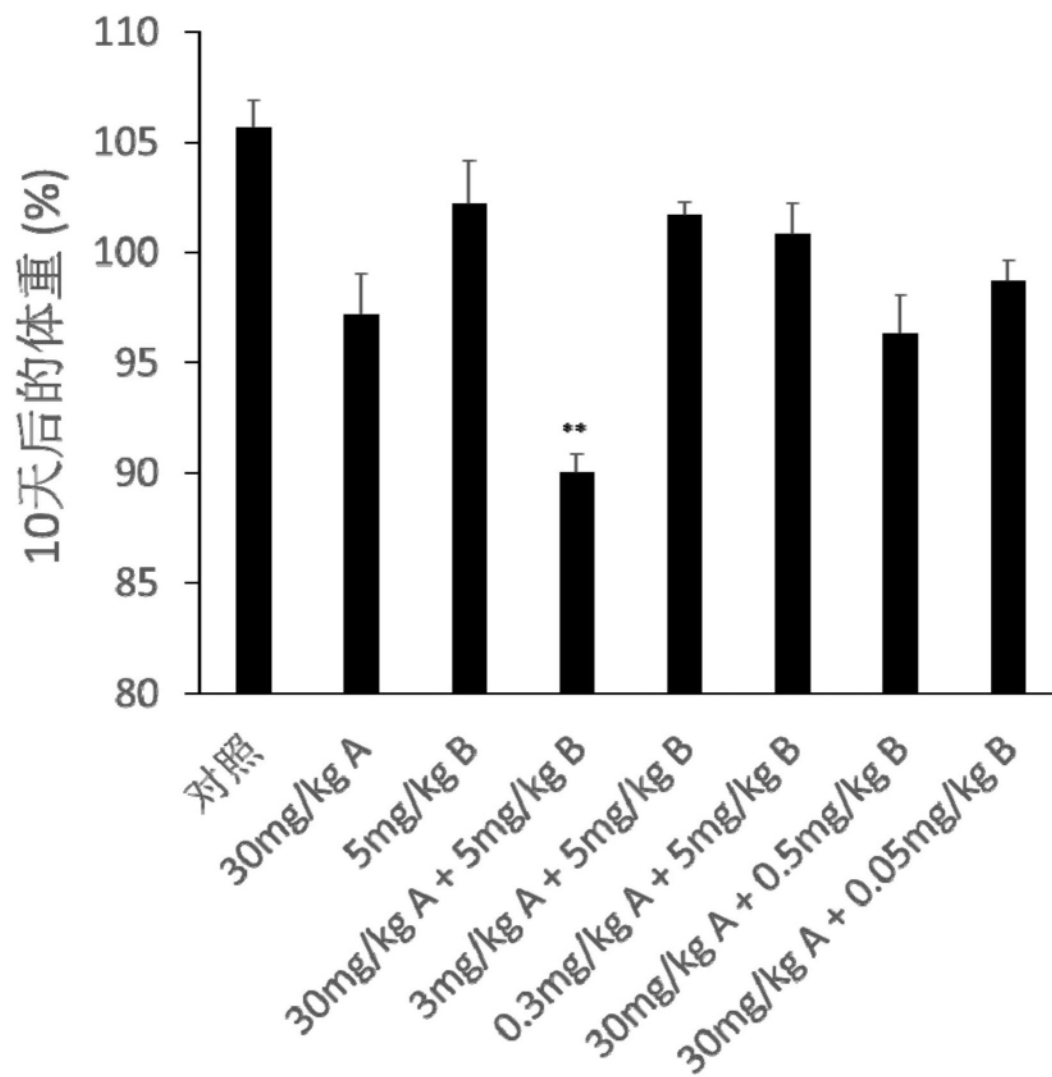


图16

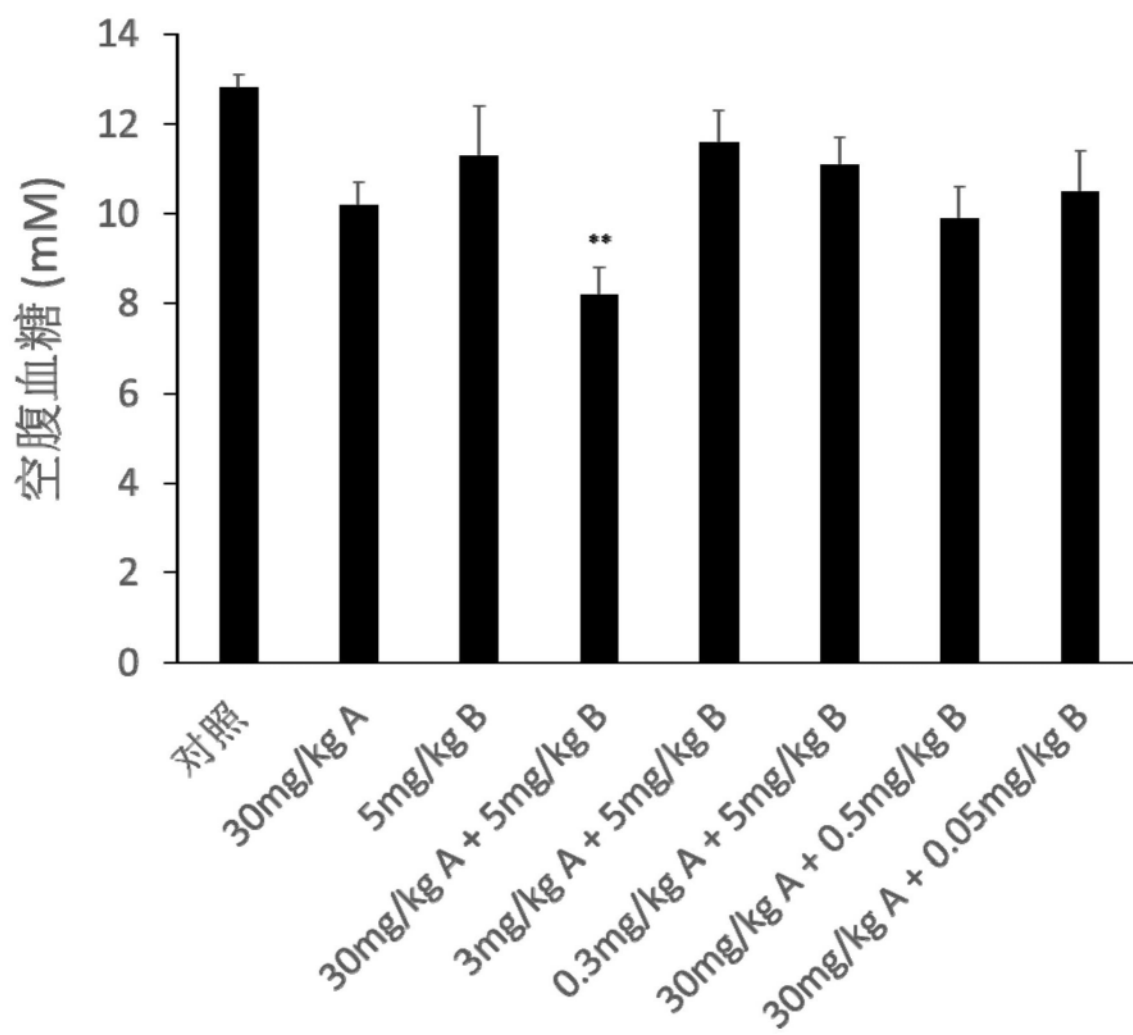


图17

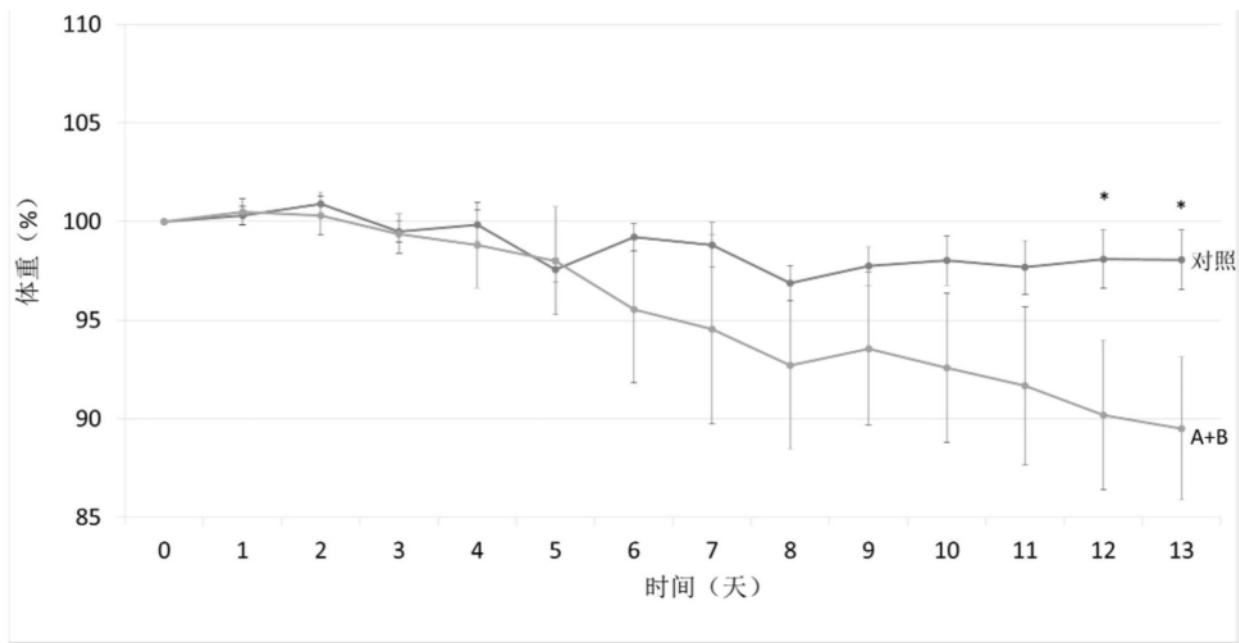


图18

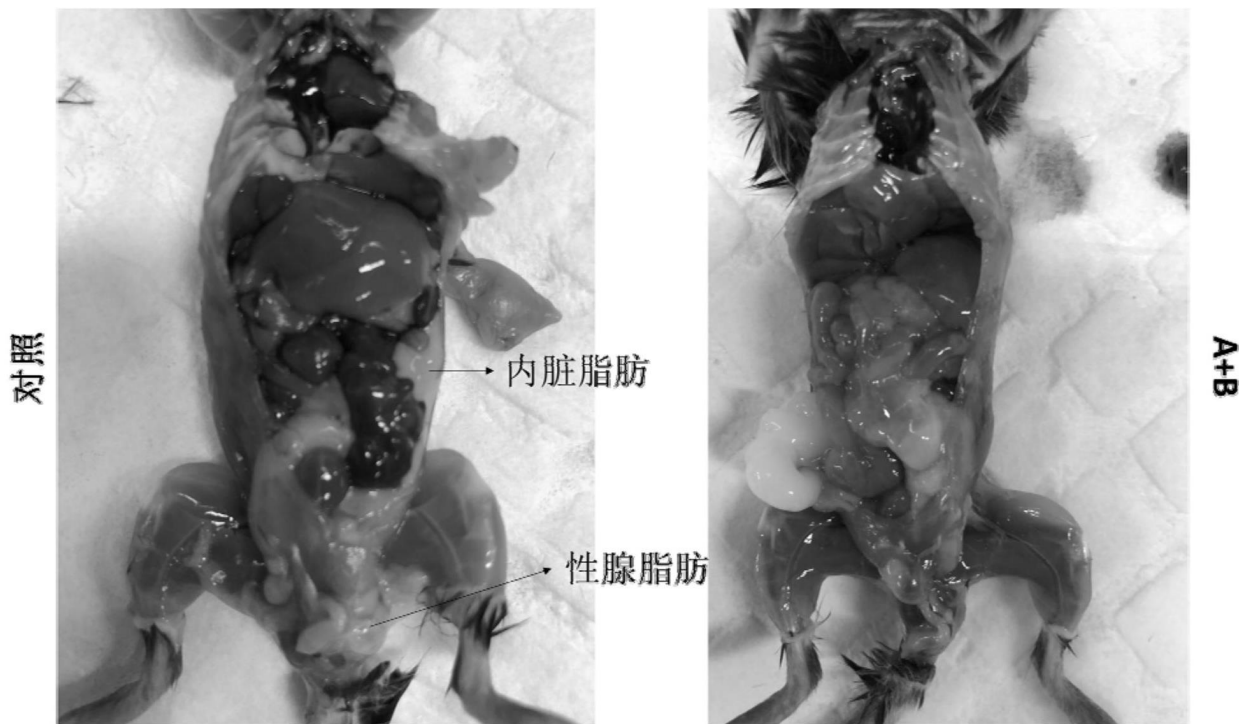


图19

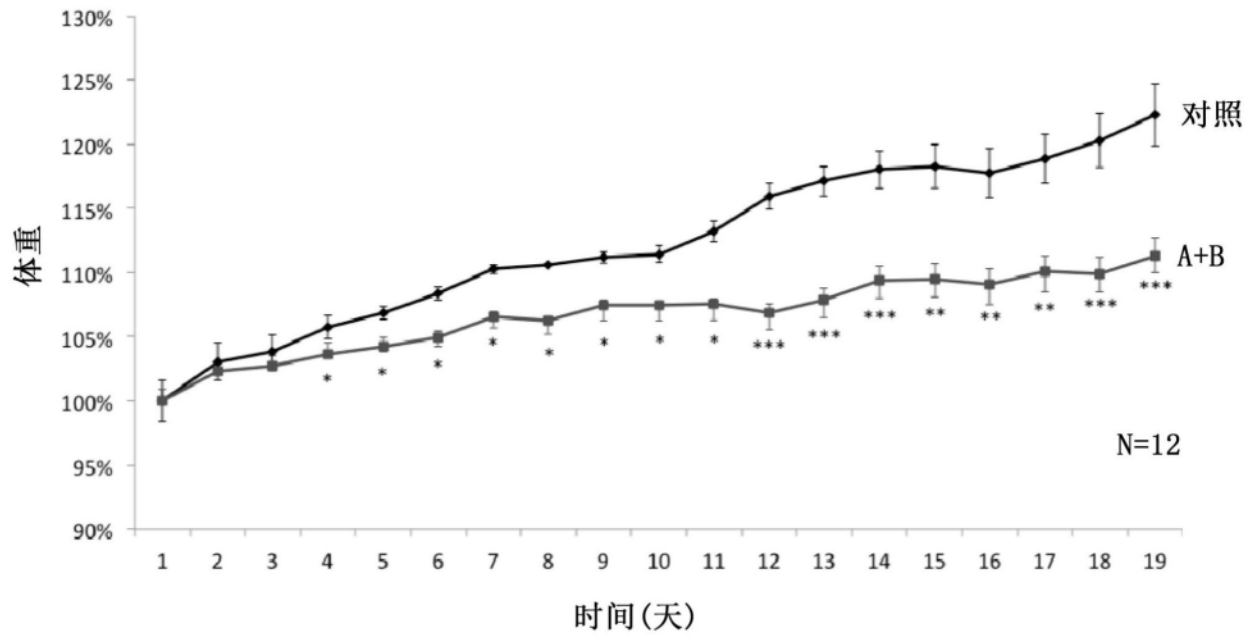


图20

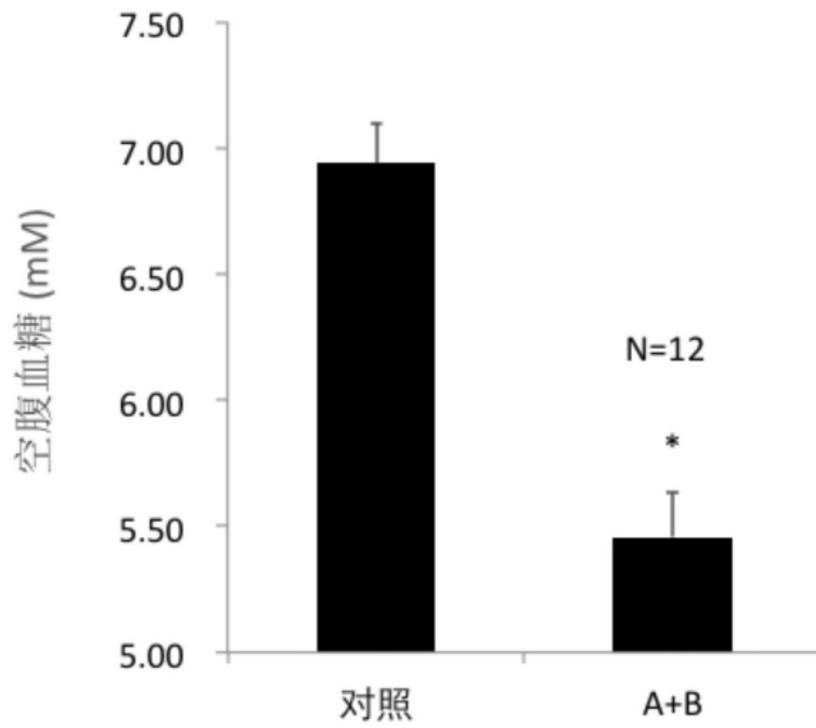


图21

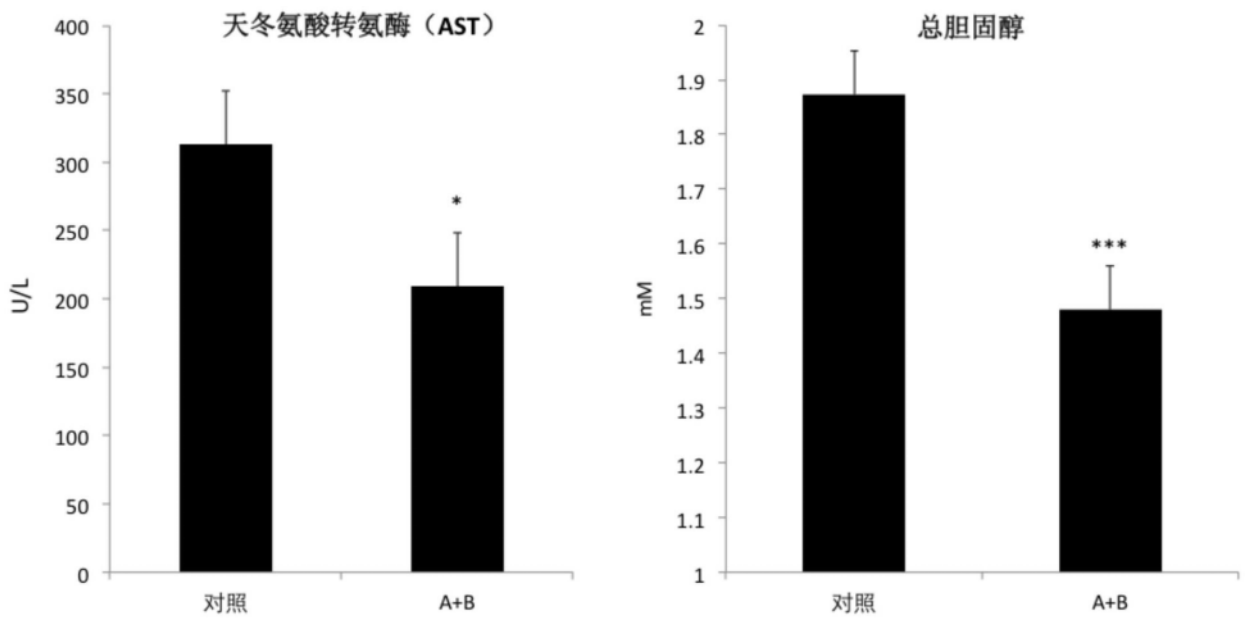


图22

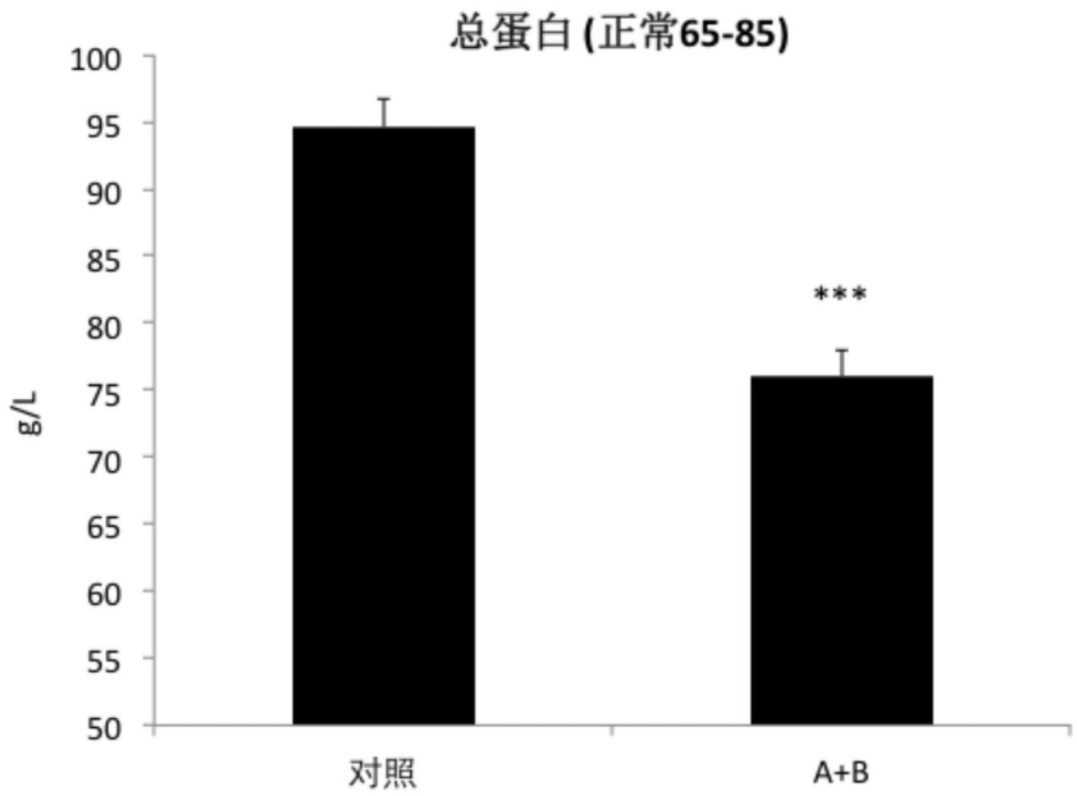


图23

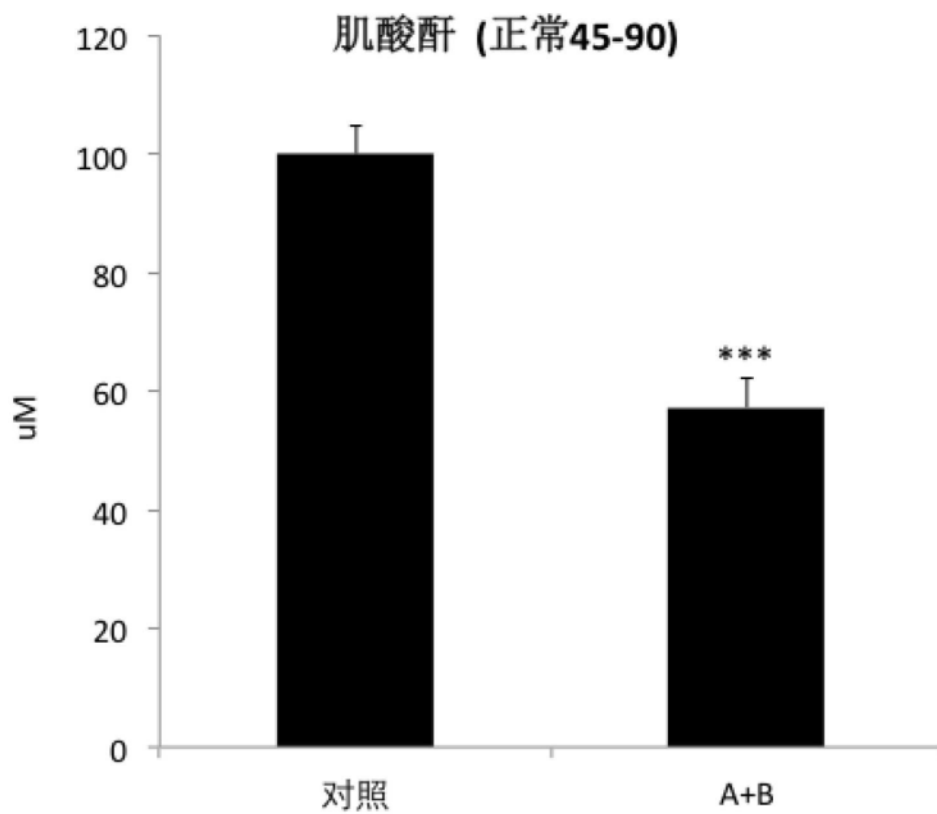


图24

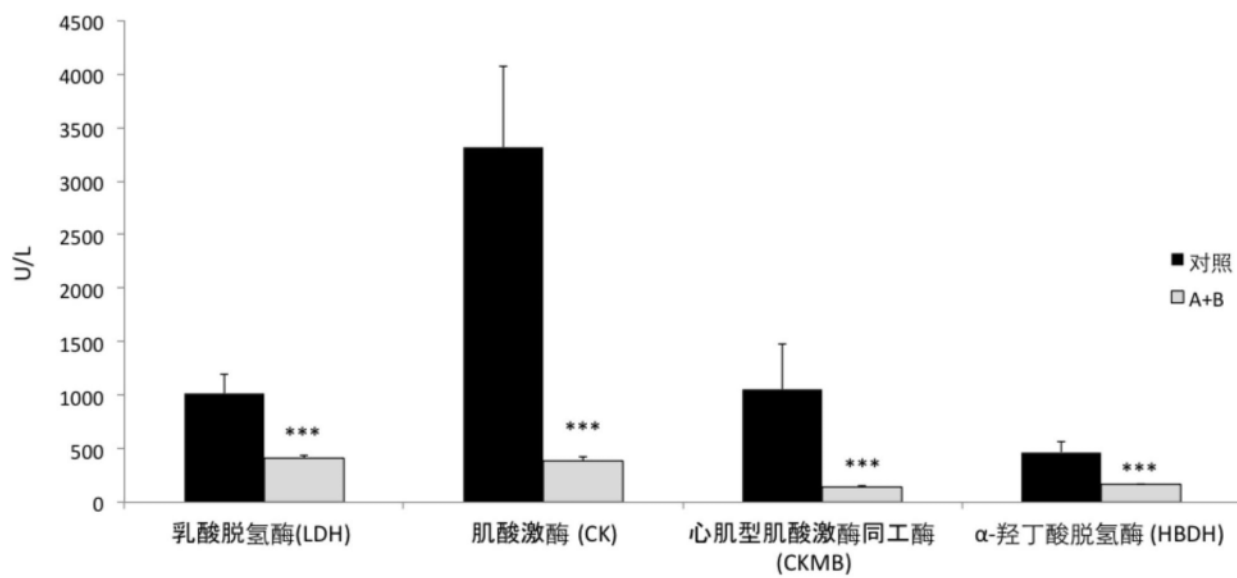


图25

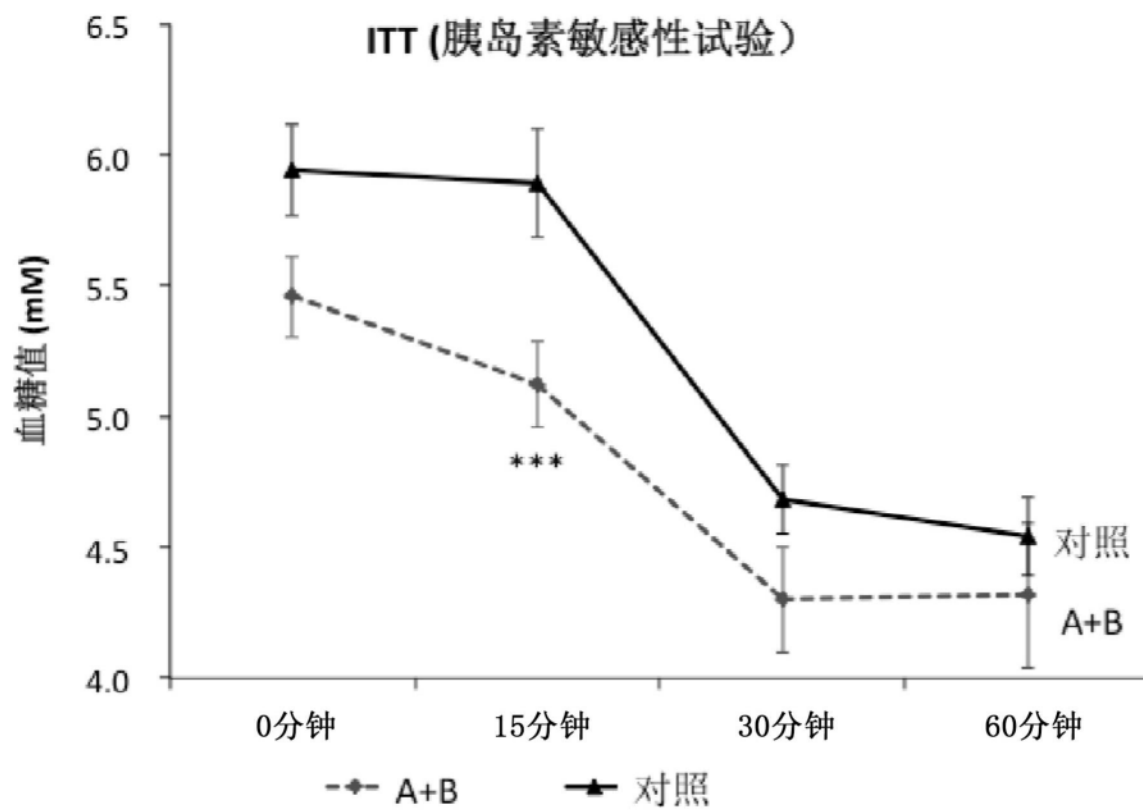
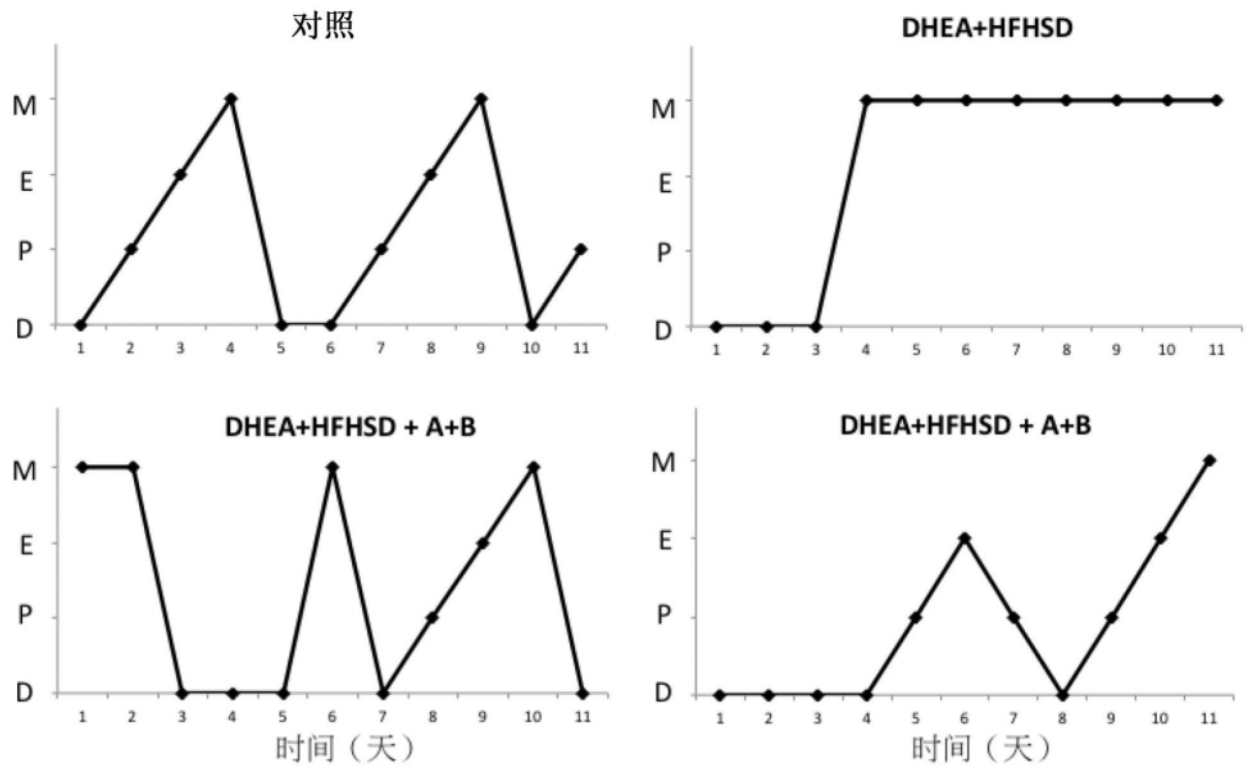


图26



DHEA + HFSD	+PBS	+A+B
非周期	12/12	8/12
正常周期	0/12	4/12

图27

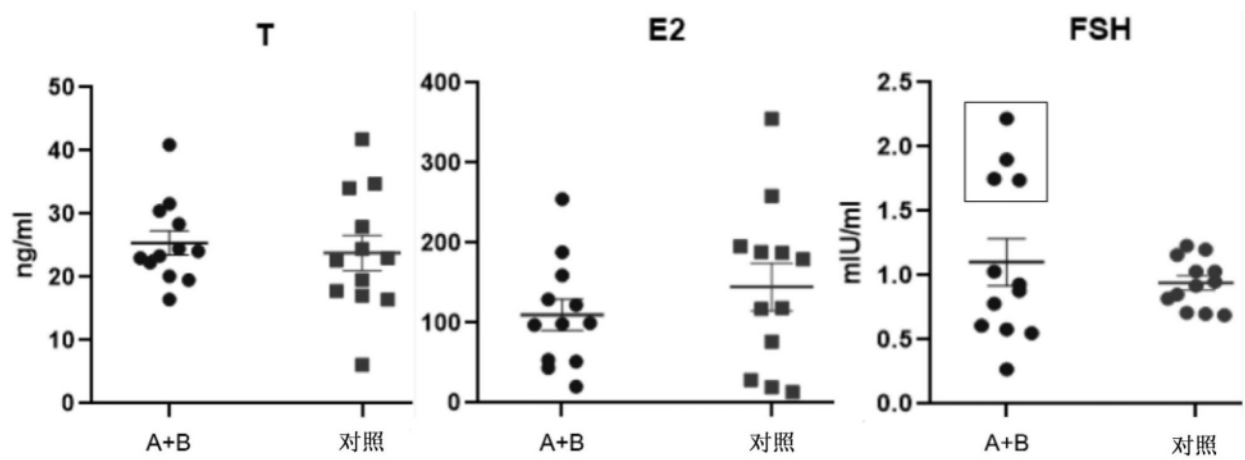


图28

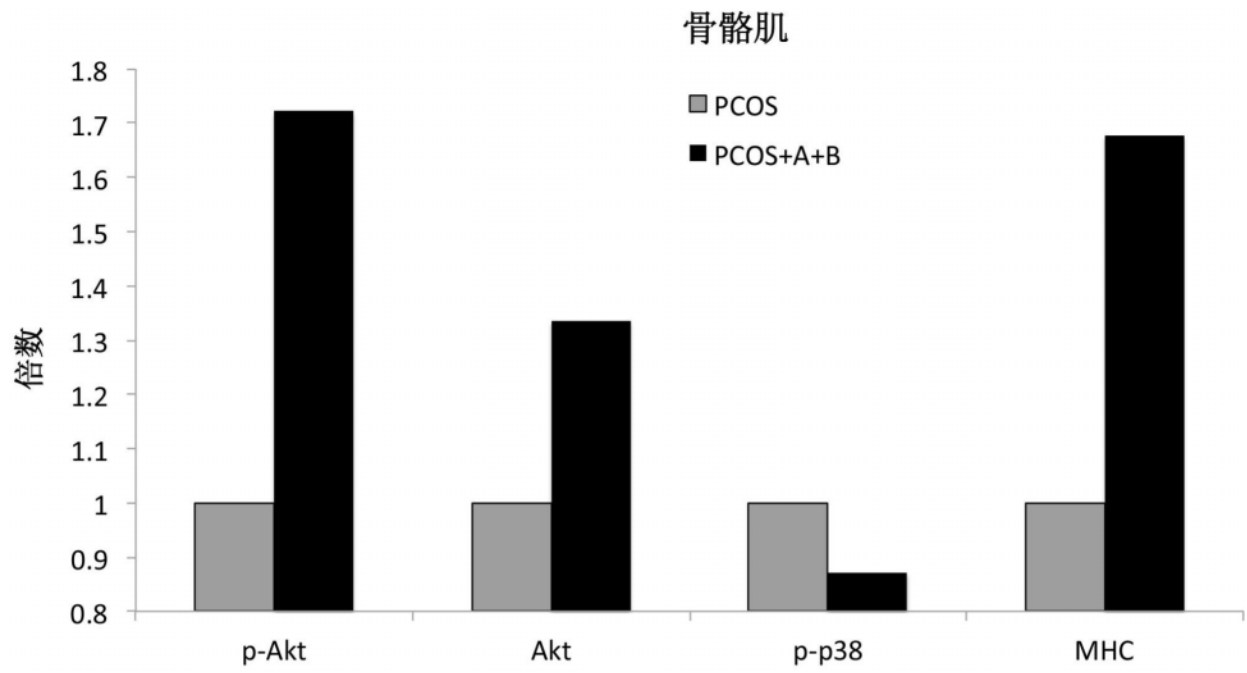


图29

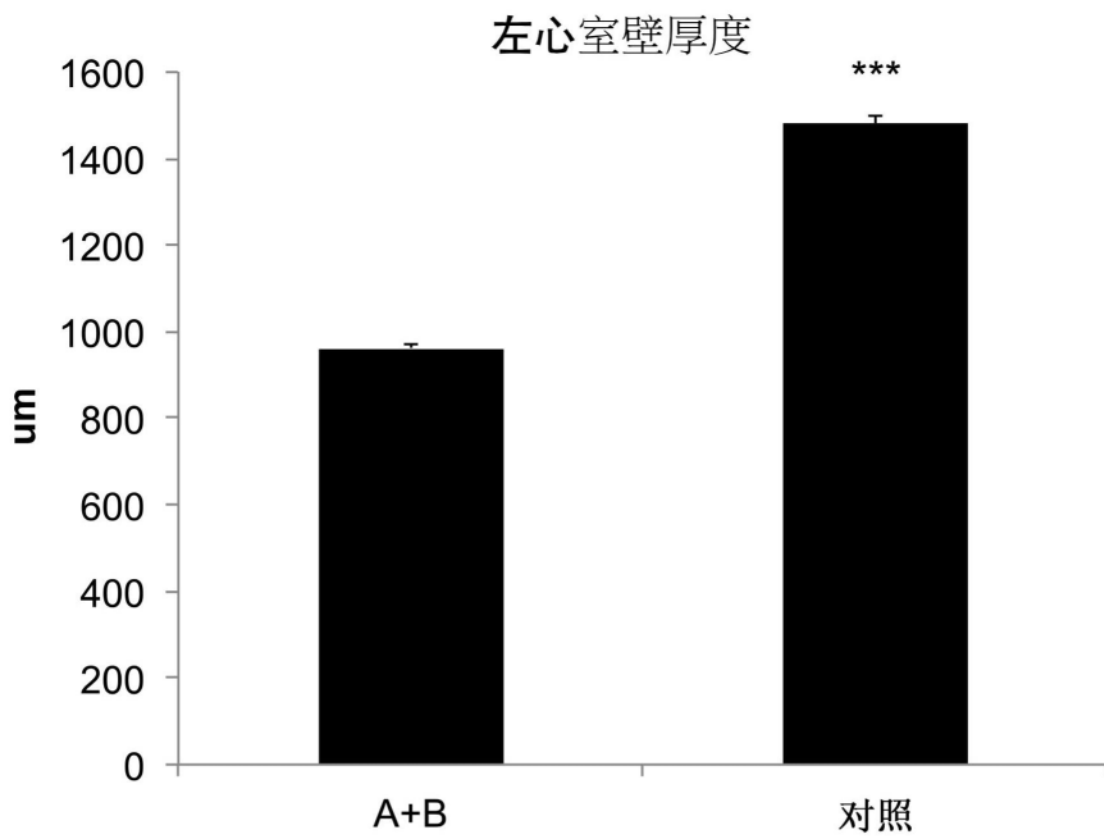


图30

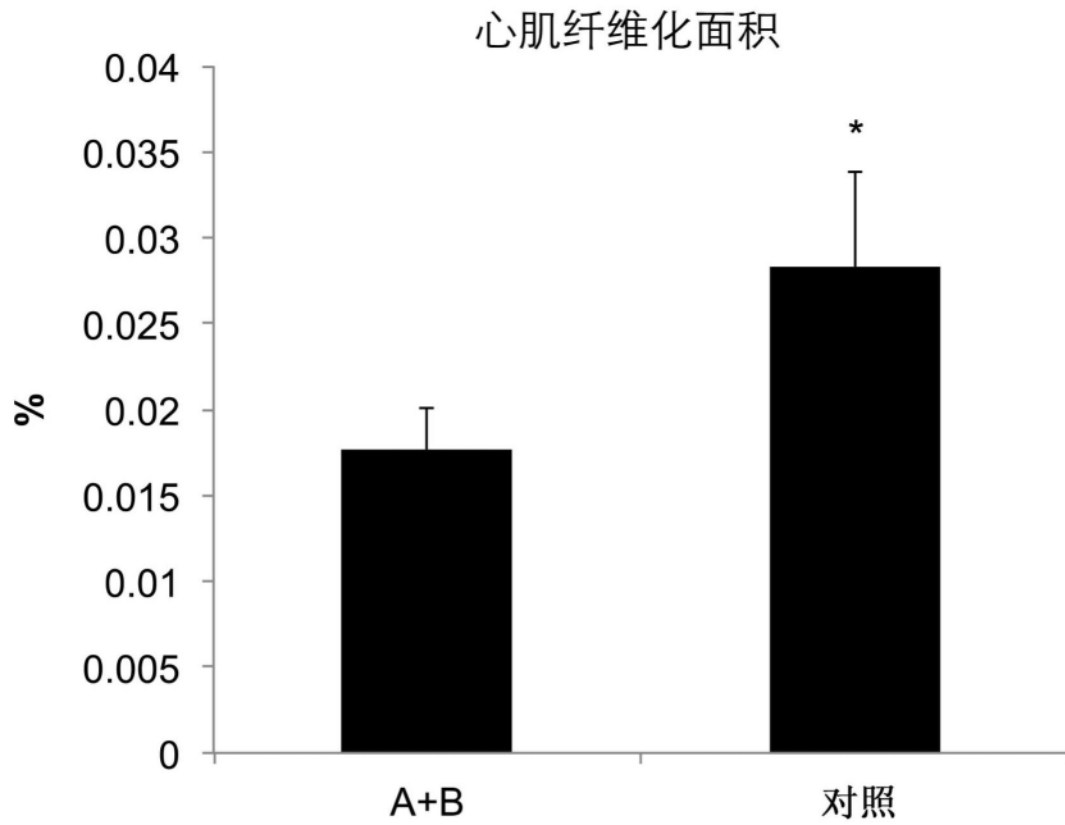


图31

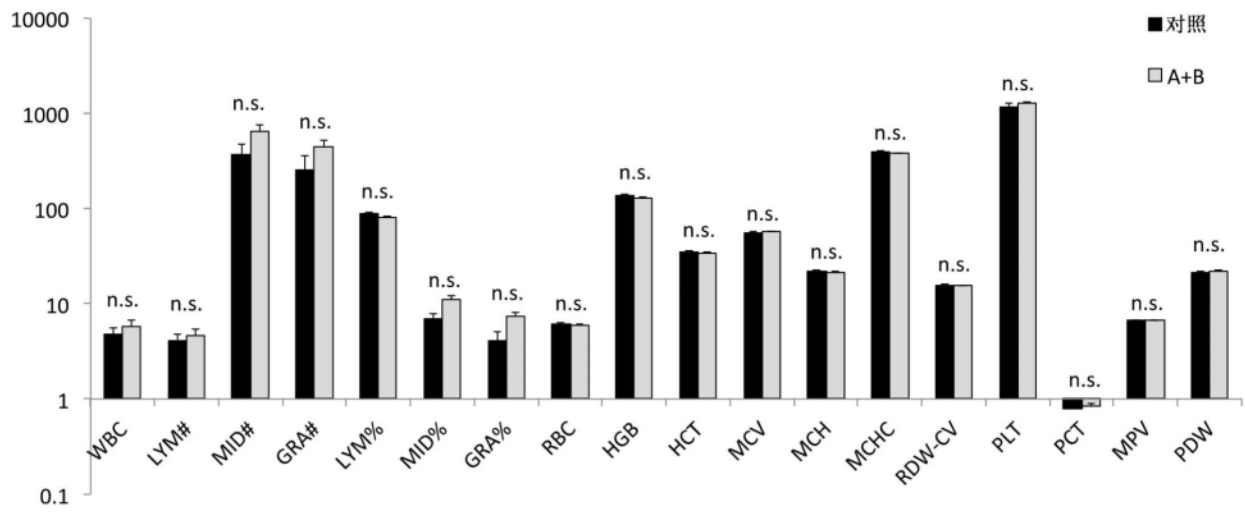


图32

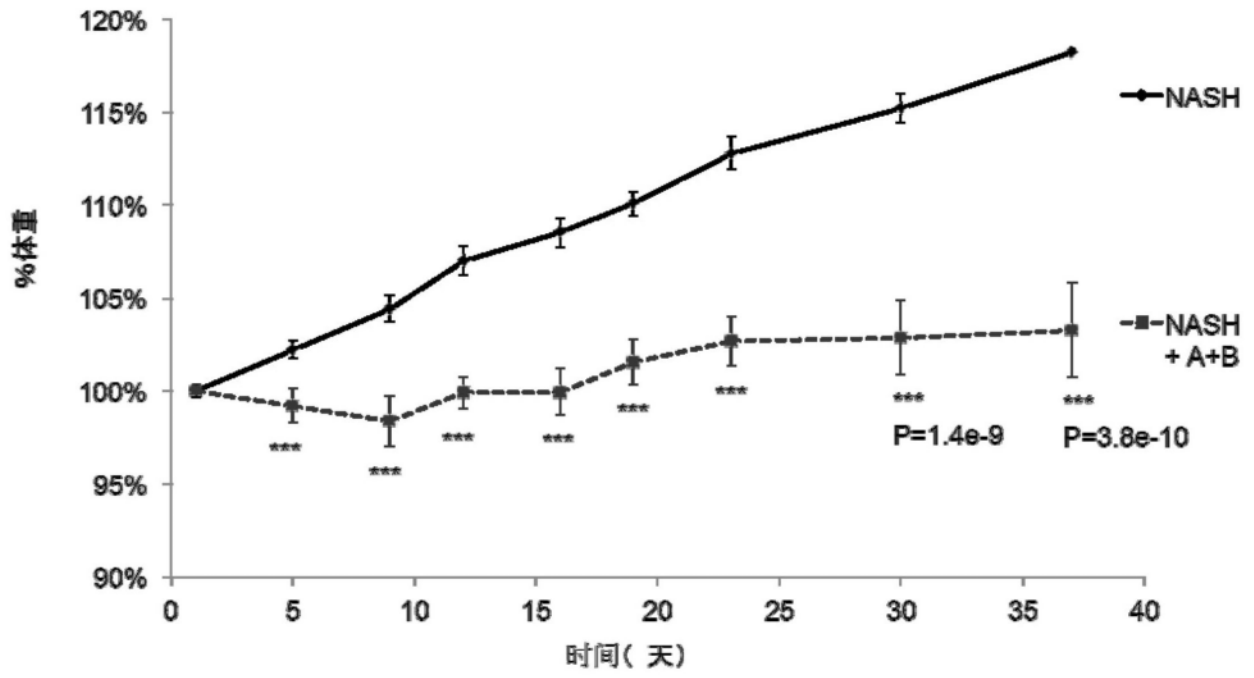


图33

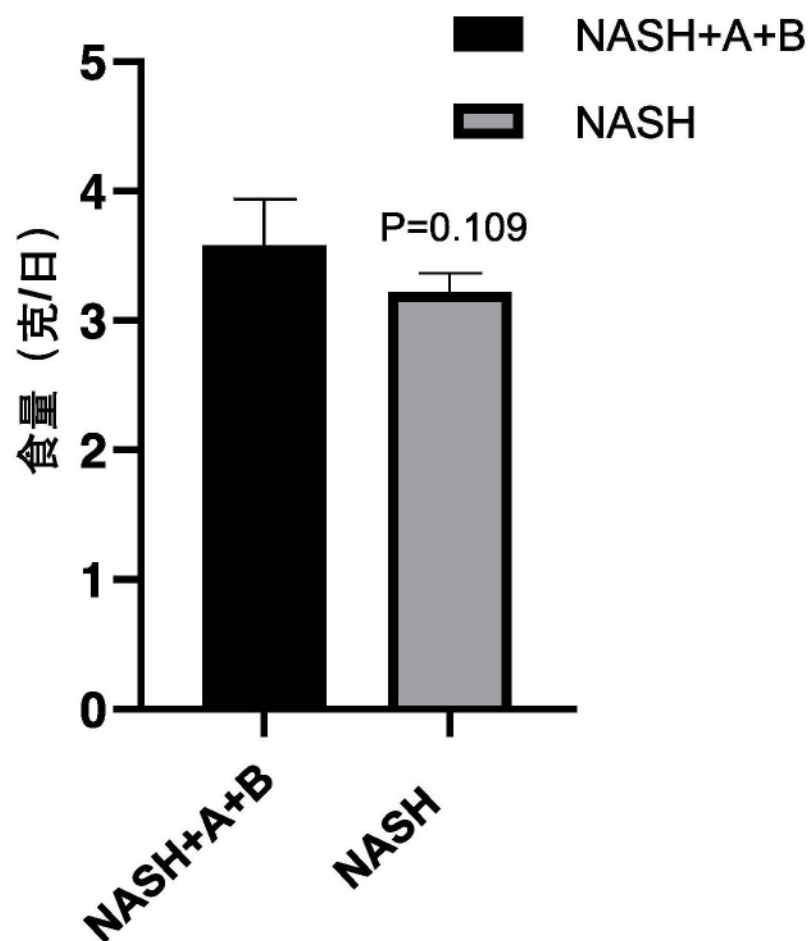


图34

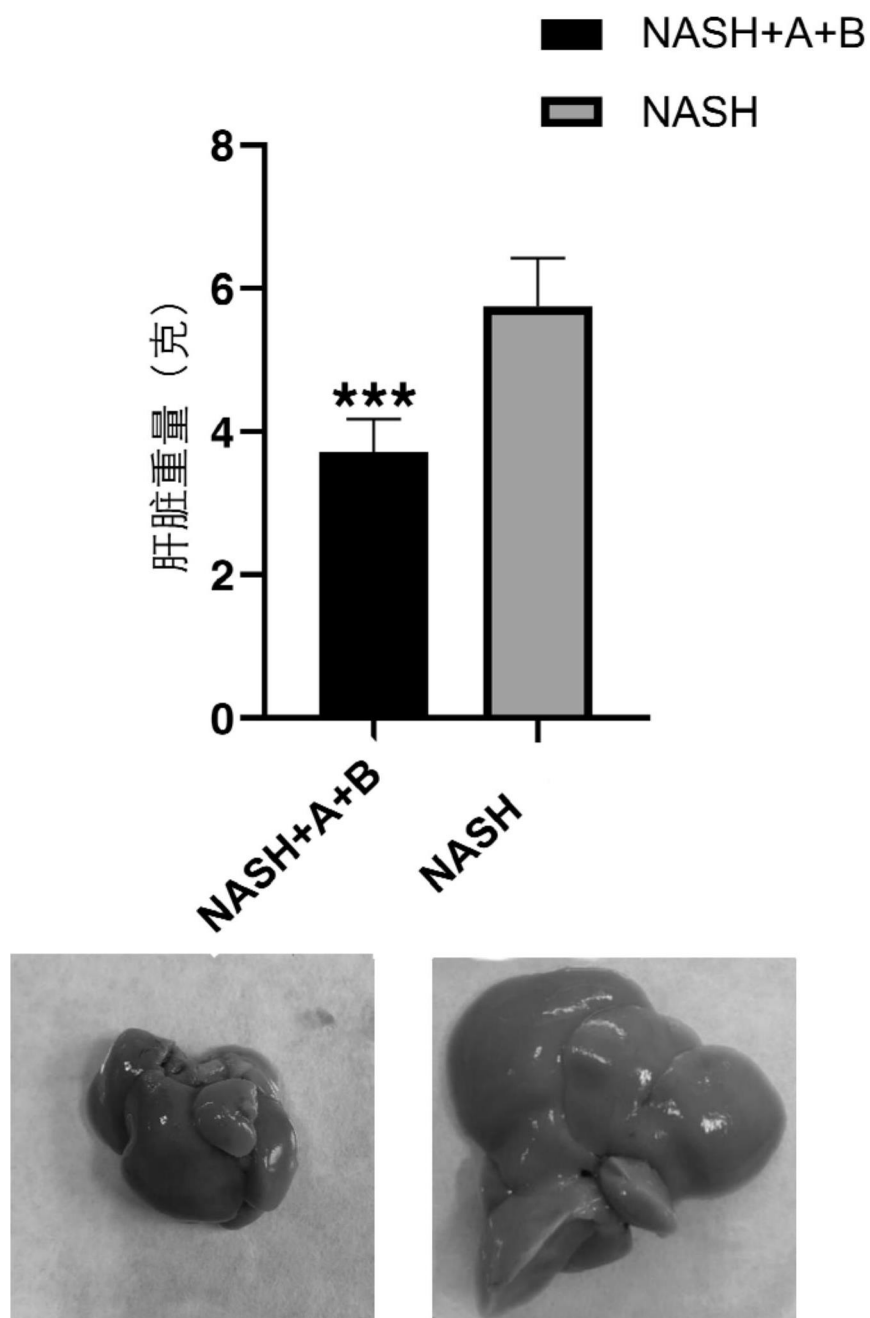


图35

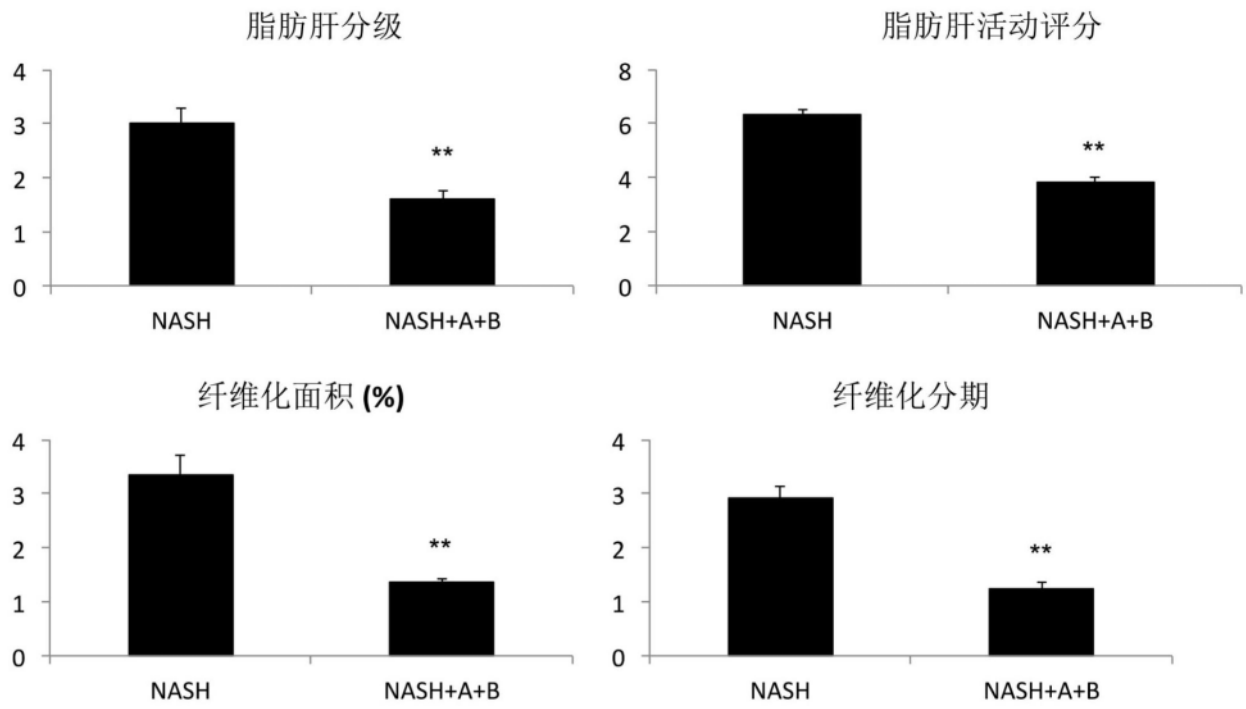


图36

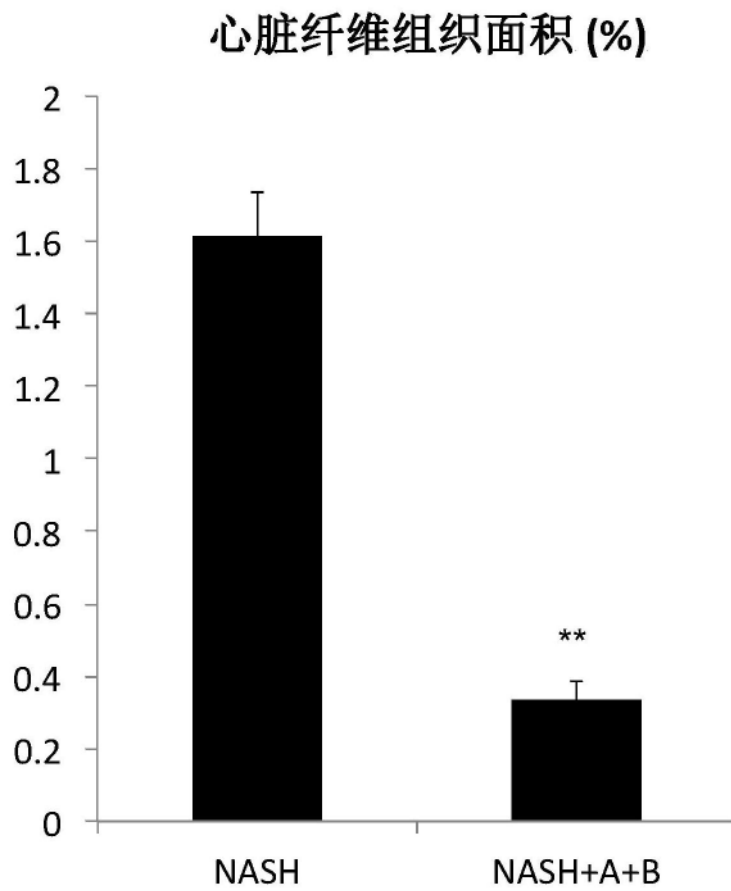


图37

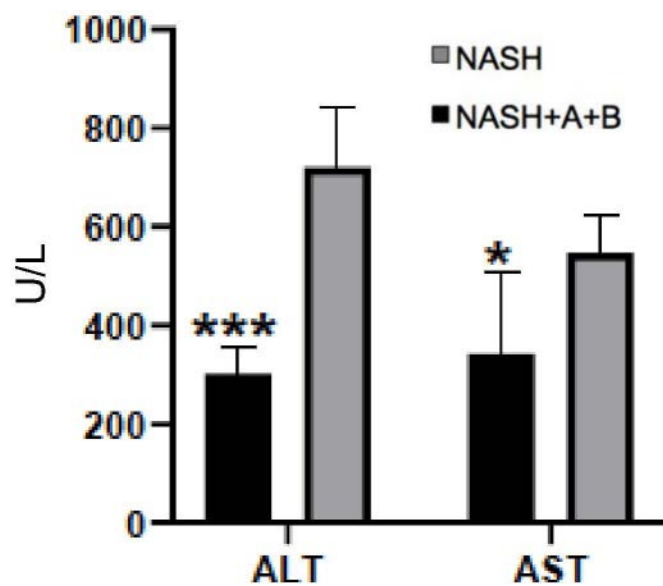


图38

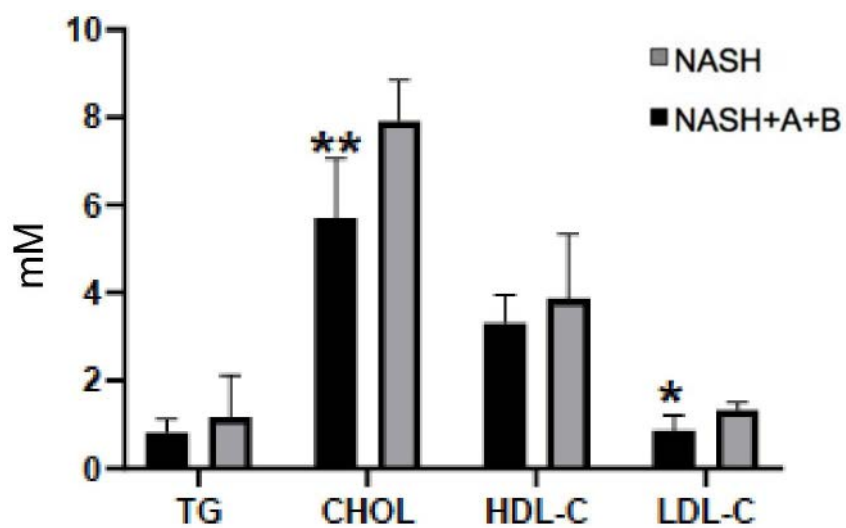


图39

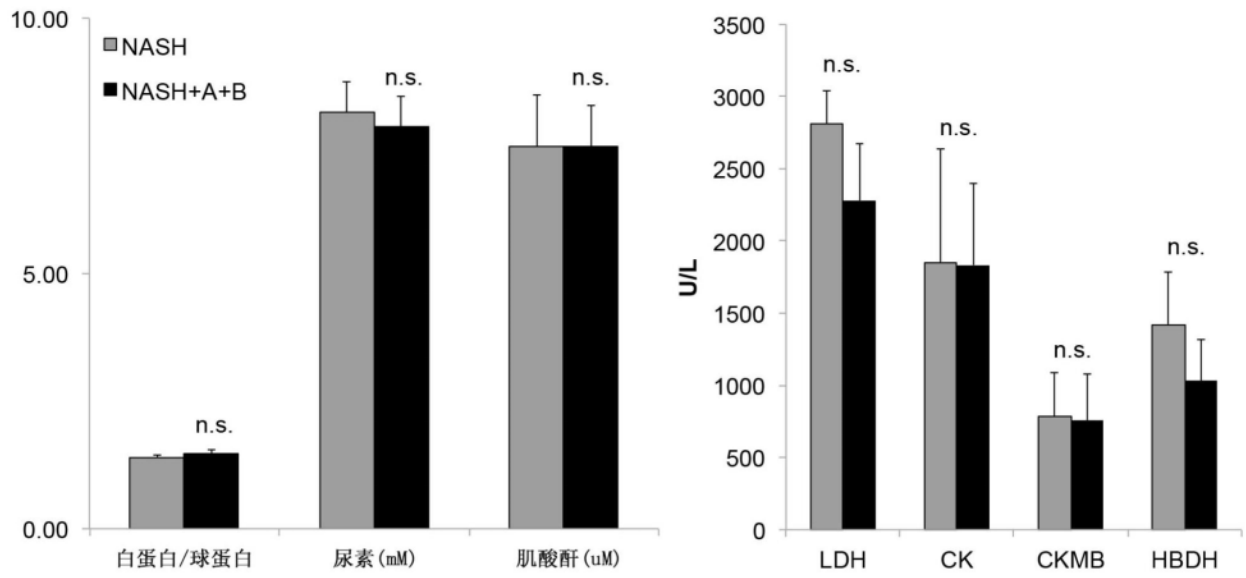


图40

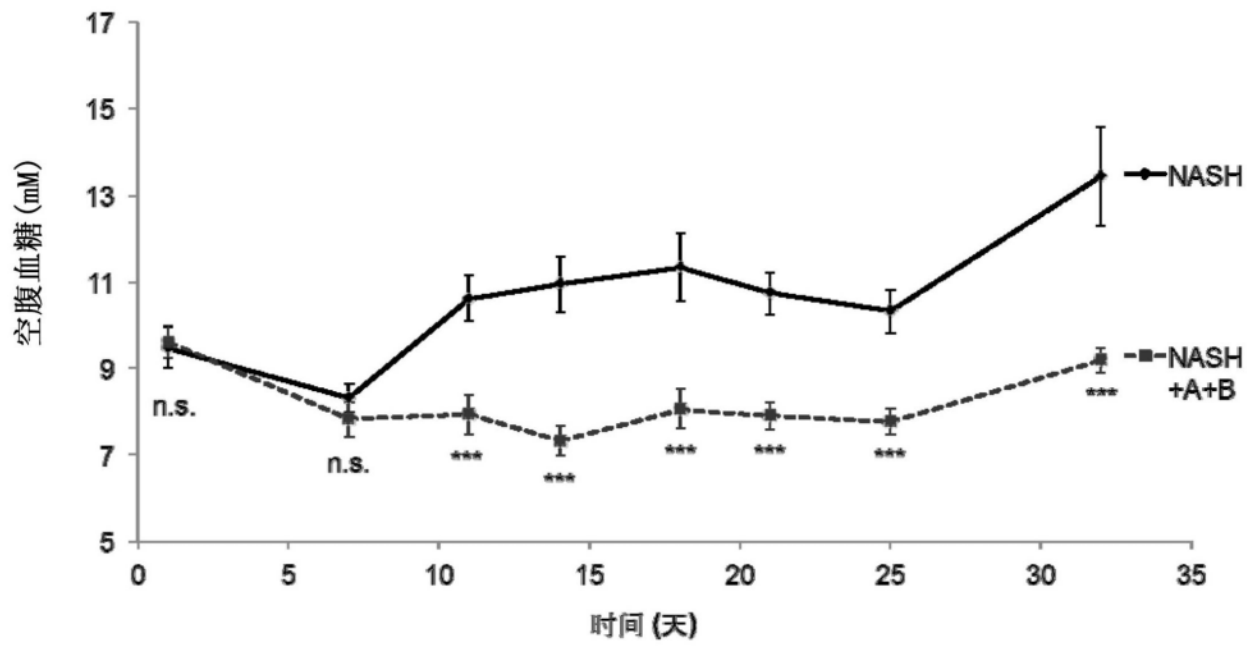


图41

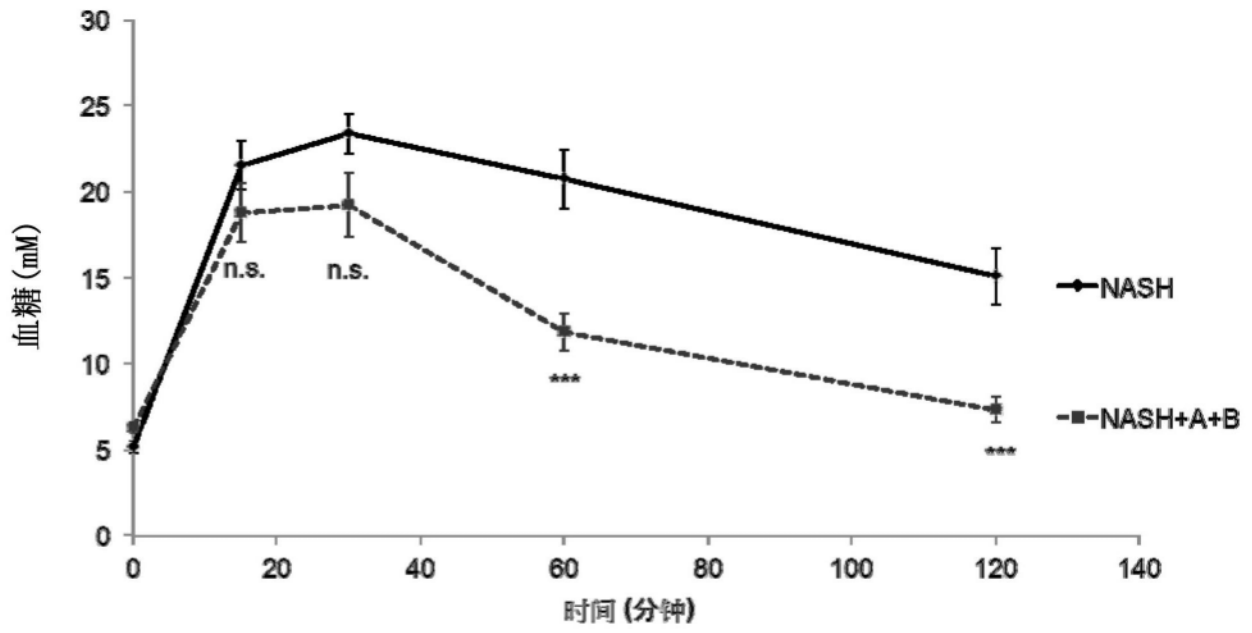


图42

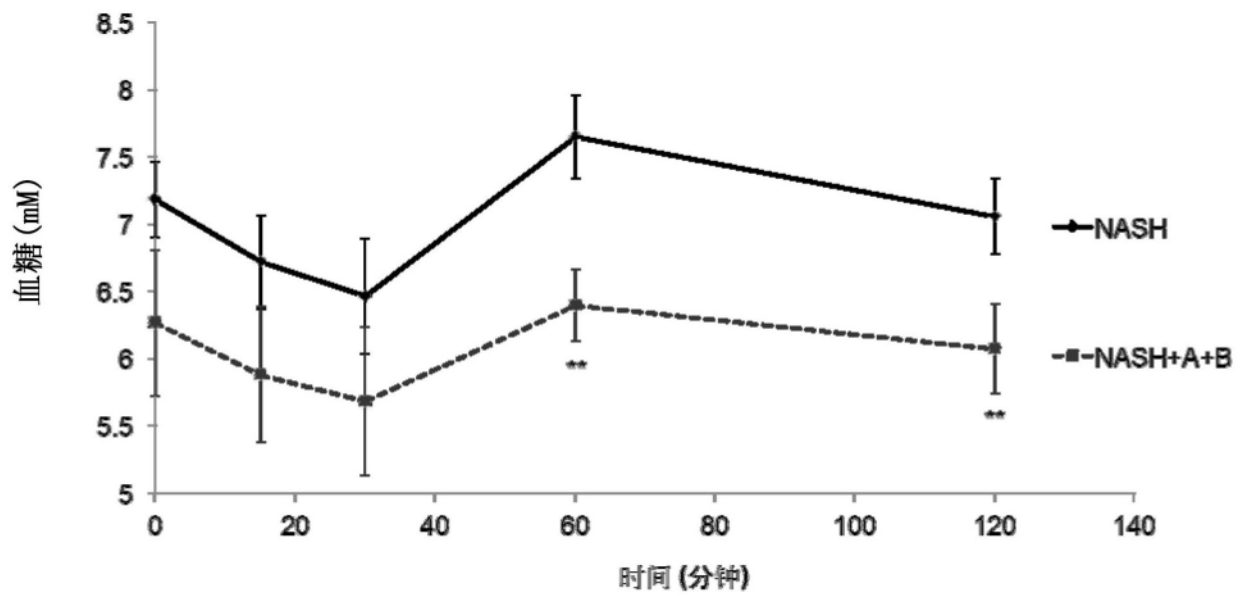


图43

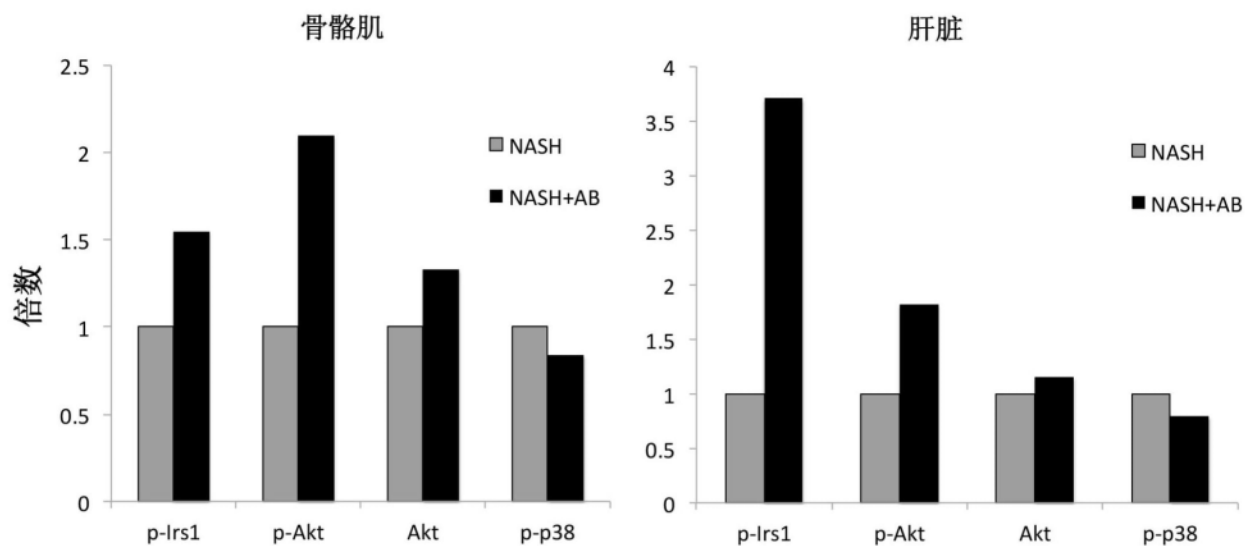


图44

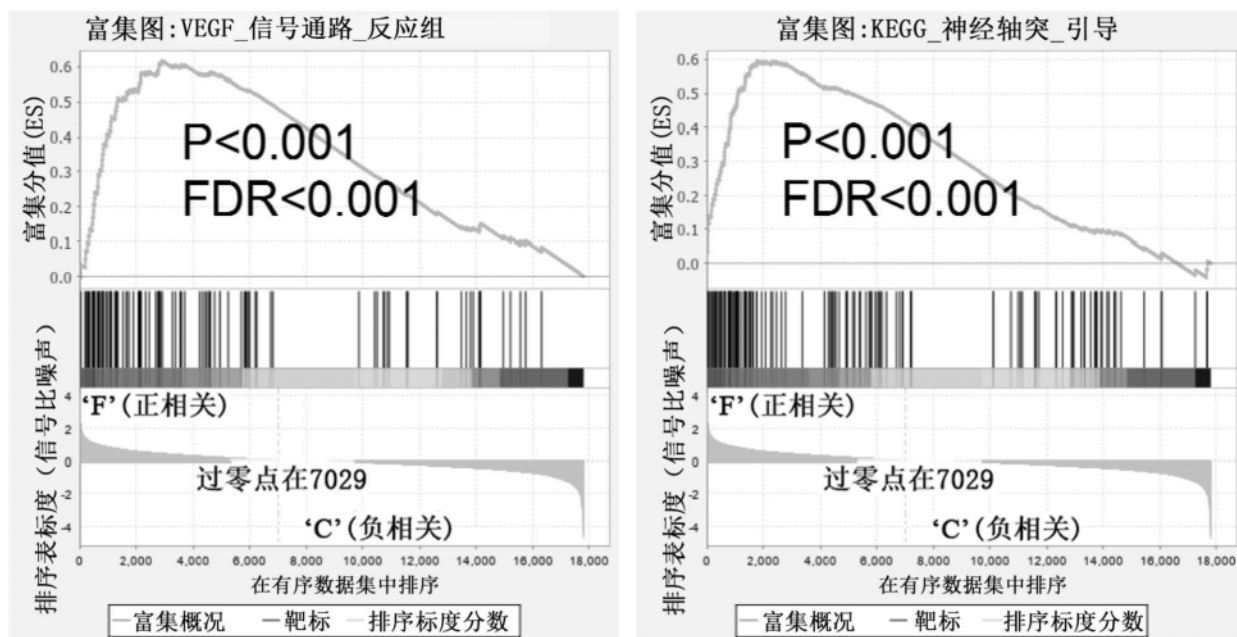
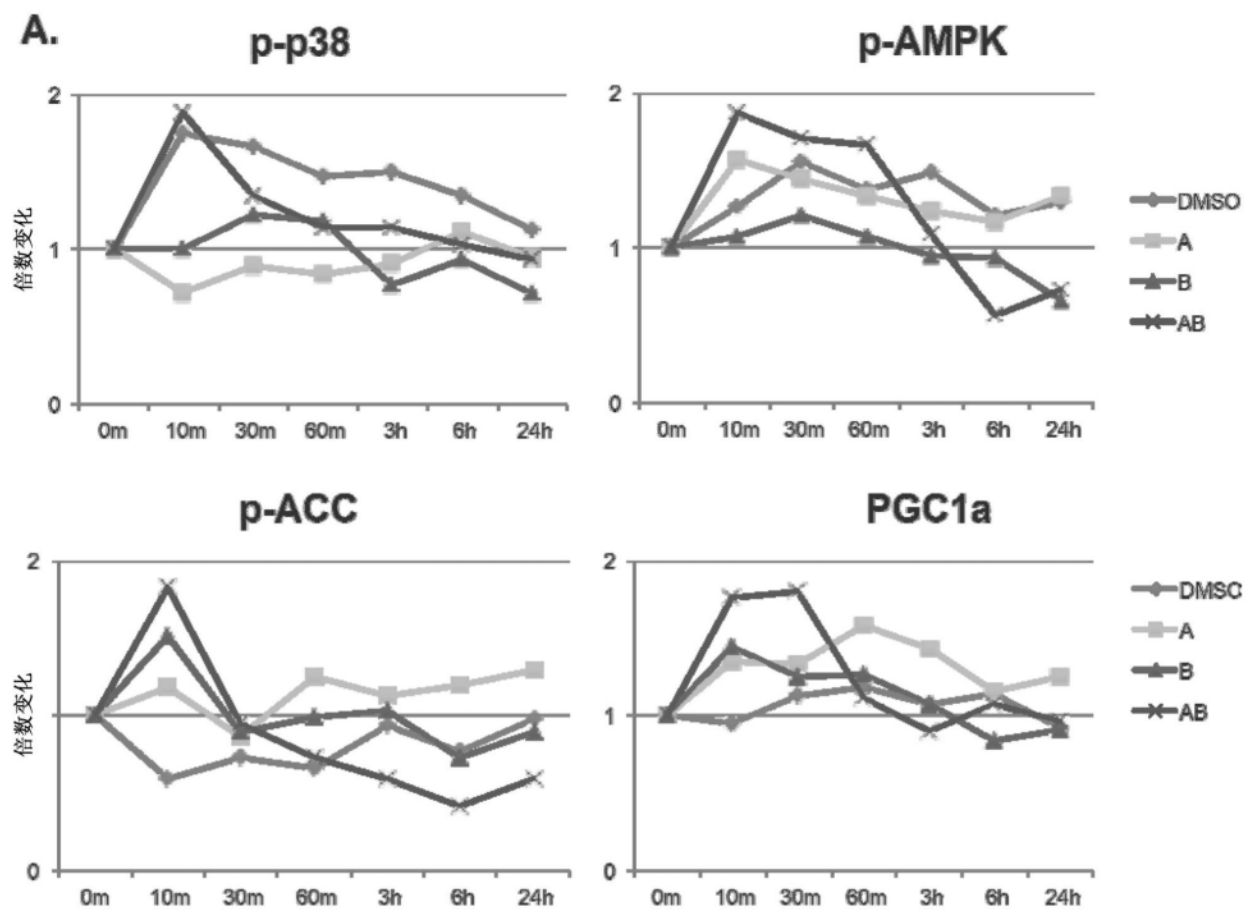
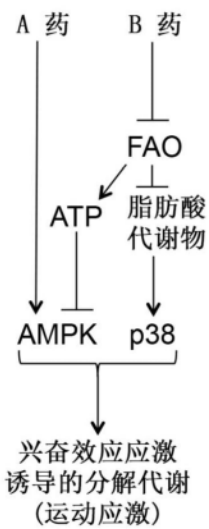


图45



B. 急性: 0-60分钟



C. 慢性: 1-24小时

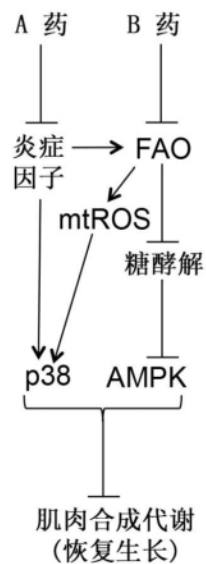


图46

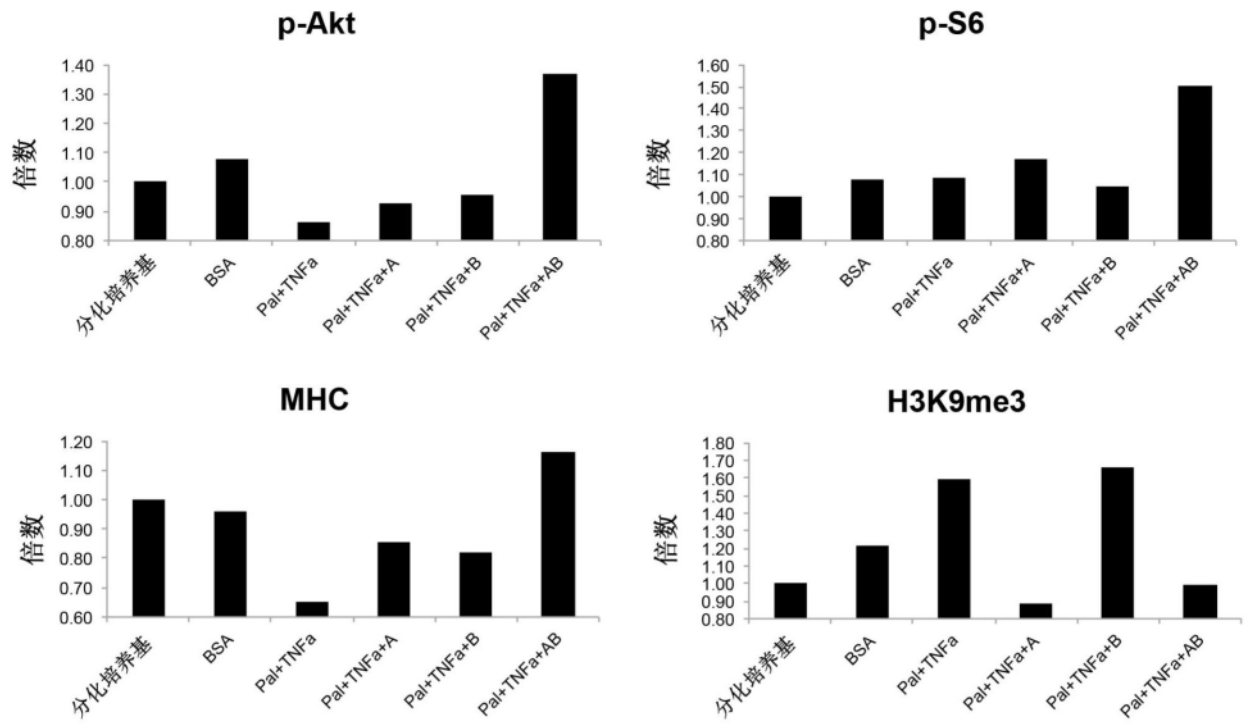
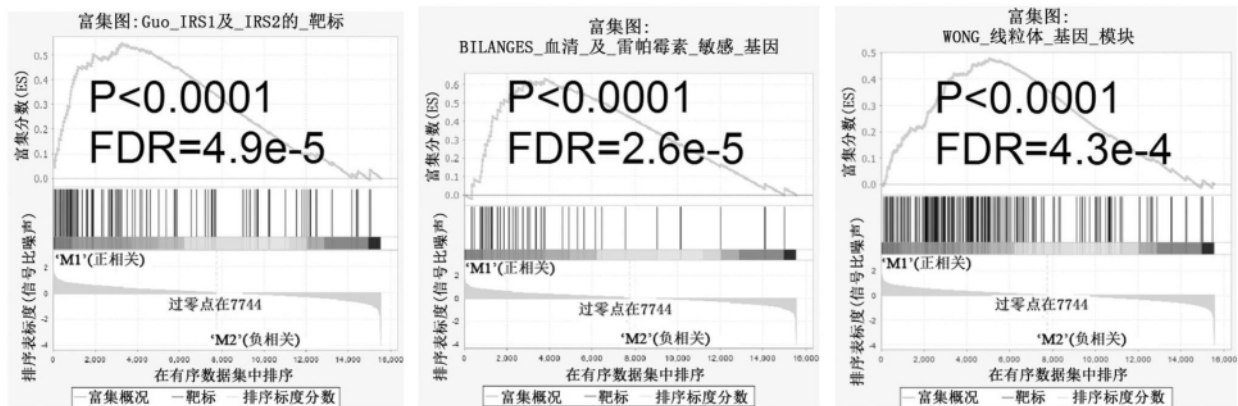


图47

A+B后上升:InsR-Irs1/2-Akt-mTOR-线粒体(IR逆转)



A+B后下降:干扰素, 纤维化

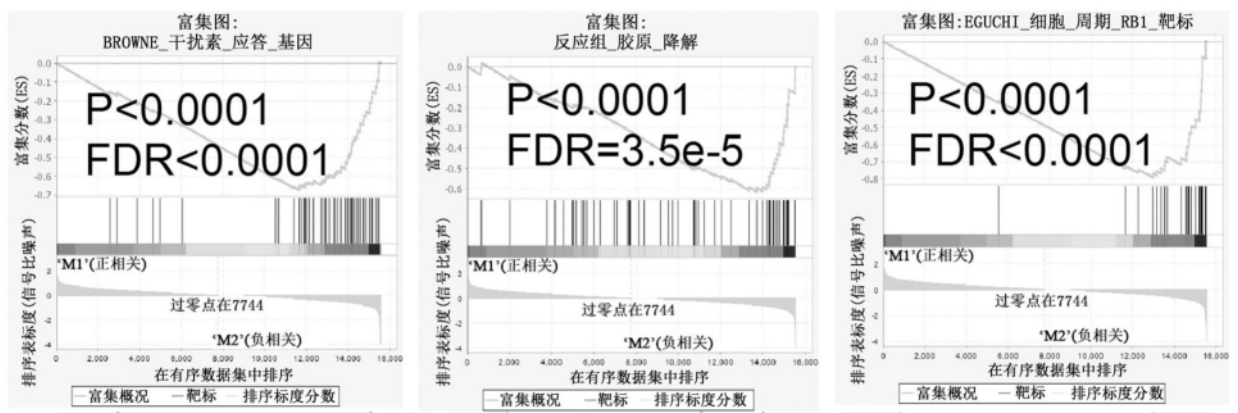


图48

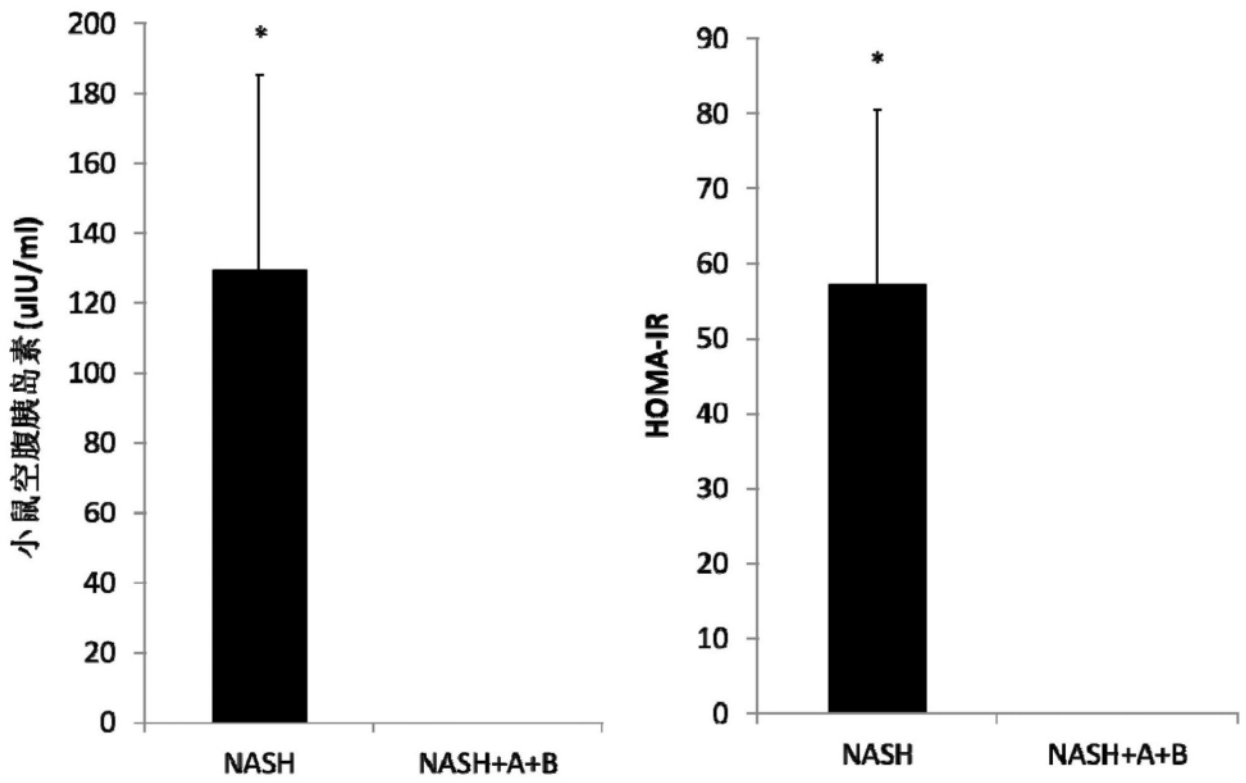


图49

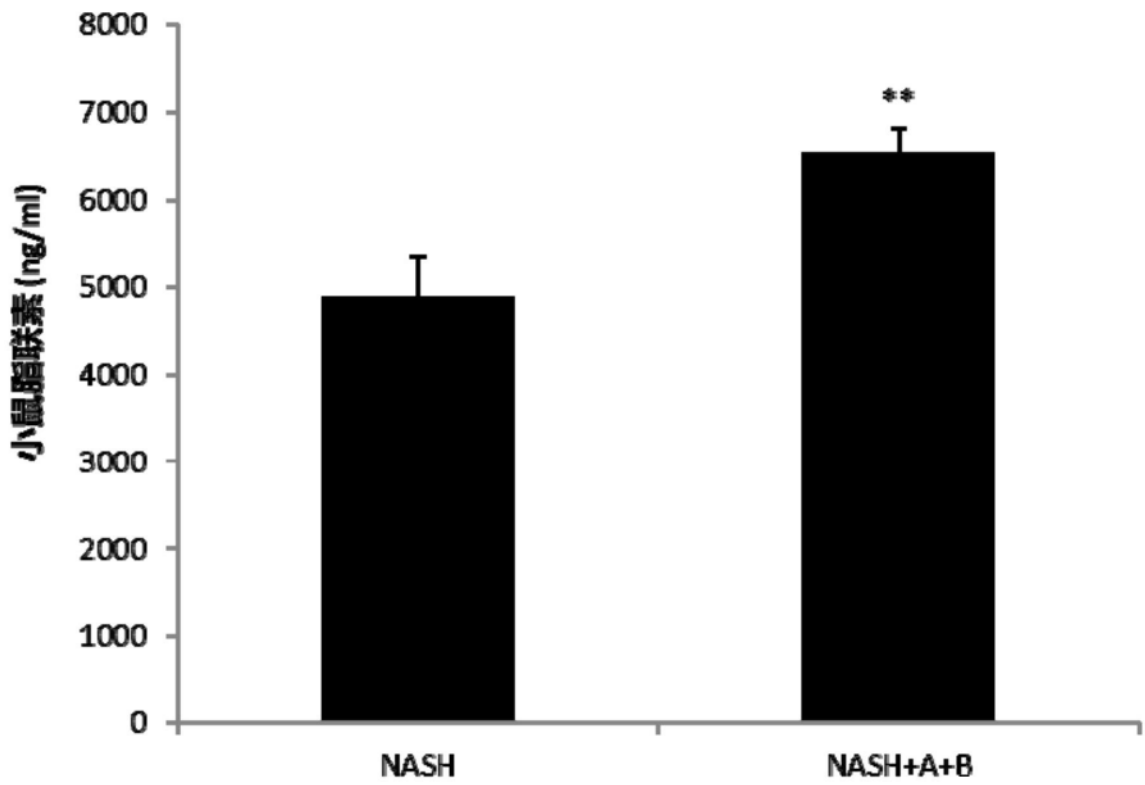


图50

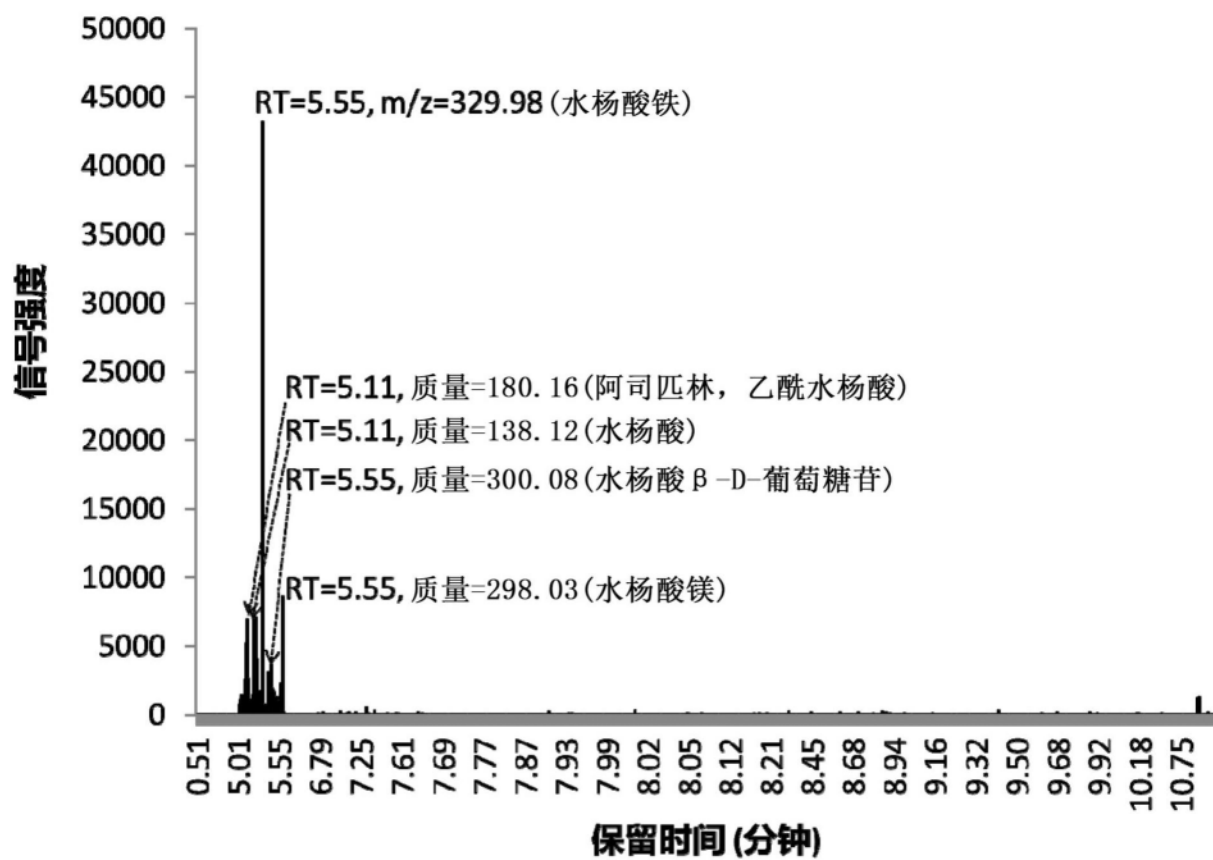


图51