



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113226347 A

(43) 申请公布日 2021.08.06

(21) 申请号 201980085374.9

桑耶西·R·卡利丁迪

(22) 申请日 2019.11.05

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(30) 优先权数据

代理人 凌翠 郑霞

201841041788 2018.11.05 IN

16/672,743 2019.11.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

A61K 36/58 (2006.01)

2021.06.22

A61P 3/10 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

B01D 11/02 (2006.01)

PCT/US2019/059774 2019.11.05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/097014 EN 2020.05.14

(71) 申请人 纳特雷恩公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 穆鲁加南达姆·A·韦拉拉格温

昌丹·K·森

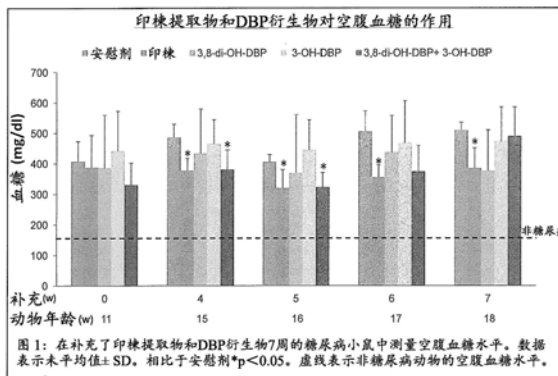
权利要求书2页 说明书24页 附图1页

(54) 发明名称

印楝提取物以及尿石素A和B的协同组合的抗糖尿病活性

(57) 摘要

提供了通过施用包含尿石素A和尿石素B的组合物治疗人受试者的2型糖尿病的症状的方法。提供了通过施用包含印楝提取物的组合物治疗人受试者的2型糖尿病和代谢综合征的症状的方法。



1. 一种用于治疗或预防2型糖尿病的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,所述组合物包含印度苦楝树 (*Azadirachta indica*) 的水提物,其中餐后血糖或空腹血糖降低。

2. 如权利要求1所述的方法,其中相比于安慰剂,所述血糖降低约20%。

3. 如权利要求1所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约62.5mg至约3000mg的日剂量范围提供。

4. 如权利要求1所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约125mg至约2000mg的日剂量范围提供。

5. 如权利要求1所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约250mg至约1000mg的日剂量范围提供。

6. 如权利要求1所述的方法,其中所述其中经约8周至约12周施用所述印度苦楝树的水提物。

7. 如权利要求1所述的方法,其中所述水提物包括基于所述组合物的总重量,按重量计约3%总黄酮和按重量计不小于7%肌醇单磷酸。

8. 如权利要求1所述的方法,进一步地,其中相比于安慰剂,HbA1c降低约20%。

9. 如权利要求1所述的方法,进一步地,其中相比于安慰剂,如通过HOMA-IR所测量的胰岛素抗性降低超过50%。

10. 一种治疗或预防患有2型糖尿病的糖尿病个体的内皮功能紊乱的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,所述组合物包含印度苦楝树的水提物,其中内皮功能改善。

11. 如权利要求10所述的方法,其中改善的内皮功能包括所述糖尿病个体的血液一氧化氮(NO)水平增加至少约10%-12%。

12. 如权利要求10所述的方法,其中改善的内皮功能包括所述糖尿病个体的血液谷胱甘肽(GSH)水平增加至少约15%-20%。

13. 如权利要求10所述的方法,其中改善的内皮功能包括所述糖尿病个体的血液丙二醛(MDA)水平降低至少约8%-12%。

14. 如权利要求10所述的方法,其中改善的内皮功能包括所述糖尿病个体的血液C-反应蛋白(hsCRP)水平降低至少约20%。

15. 如权利要求10所述的方法,其中改善的内皮功能包括所述糖尿病个体的血液白细胞介素-6(IL-6)水平降低至少约10%。

16. 如权利要求10所述的方法,其中改善的内皮功能包括所述糖尿病个体的血液TNF- α 水平降低至少约9%。

17. 如权利要求10所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约62.5mg至约3000mg的日剂量范围提供。

18. 如权利要求10所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约125mg至约2000mg的日剂量范围提供。

19. 如权利要求10所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约250mg至约1000mg的日剂量范围提供。

20. 如权利要求10所述的方法,其中所述其中经约8周至约12周施用所述印度苦楝树的

水提物。

21. 如权利要求10所述的方法,其中所述水提物包括基于所述组合物的总重量,按重量计约3%总黄酮和按重量计不小于7%肌醇单磷酸。

22. 一种用于治疗或预防代谢综合征的症状的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,所述组合物包含印度苦楝树的水提物,其中餐后血糖或空腹血糖降低。

23. 如权利要求22所述的方法,其中相比于安慰剂,所述血糖降低约4%-6%。

24. 如权利要求22所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约62.5mg至约3000mg的日剂量范围提供。

25. 如权利要求22所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约125mg至约2000mg的日剂量范围提供。

26. 如权利要求22所述的方法,其中所述印度苦楝树的水提物以约250mg至约1000mg的日剂量范围提供。

27. 如权利要求22所述的方法,其中经约8周至约12周施用所述印度苦楝树的水提物。

28. 如权利要求22所述的方法,其中所述水提物包括基于所述组合物的总重量,按重量计约3%总黄酮和按重量计不小于7%肌醇单磷酸。

29. 如权利要求22所述的方法,进一步地,其中相比于基线,在所述个体中,HbA1c降低约2%。

30. 如权利要求22所述的方法,进一步地,其中相比于基线,在所述个体中,如通过HOMA-IR所测量的胰岛素抗性降低超过10%。

31. 如权利要求22所述的方法,进一步地,其中内皮功能改善,包括在所述个体中血液C-反应蛋白(hsCRP)水平降低至少约10%。

印楝提取物以及尿石素A和B的协同组合的抗糖尿病活性

发明领域

[0001] 本发明涉及使用印楝提取物改善2型糖尿病和代谢综合征的症状。本发明还涉及组合使用尿石素A和尿石素B改善2型糖尿病的症状。本发明还涉及使用印楝提取物并组合使用尿石素A和尿石素B降低血糖水平的方法。以特别有效的比率提供了尿石素A(3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮)和尿石素B(3-羟基-二苯并- α -吡喃酮)的协同组合。还以特定浓度提供了印楝提取物。

背景

[0002] 糖尿病在世界范围内已达到流行病的程度。尽管可获得几种可用于控制糖尿病的处方药,但始终需要具有更少副作用或没有副作用并且具有更多额外益处的更好的药物。天然产品可能填补了这样的空白,这不仅是因为它们是天然产品,还因为人已经与周围的植物共同进化,并且正因如此,他们的身体可能会对天然产品的整体治疗特性做出更好的反应。此类天然产品的两个类型是:(1)印楝(印度苦楝树(*Azadirachta indica*))提取物;和(2)尿石素A和B,化学上分别称为3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮和3-羟基-二苯并- α -吡喃酮。

[0003] 尿石素是喜来芝(*Shilajit*)中存在的生物活性物质,喜来芝来源于沉积岩中的腐殖渗出物。新研究表明,这些分子也是鞣花单宁的代谢物,鞣花单宁是由动物胃肠道中的微生物组产生的。在当前研究中,令人惊异地发现,在遗传性糖尿病动物中,3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮和3-羟基-二苯并- α -吡喃酮以特定比率的组合示出了显著的协同抗糖尿病作用,而单独的尿石素不具有显著的作用。在链脲佐菌素诱导的糖尿病动物中,两种尿石素均示出抗糖尿病活性。

[0004] 印度苦楝树(*Azadirachta indica*),通常称为印楝(*neem*)、印楝树(*nitree*)或印度紫丁香(*Indian lilac*),是桃花心木家族楝科的树木。印楝是印楝属(*Azadirachta*)属中的两个物种中的一个,并原产于印度次大陆,即,印度、尼泊尔、巴基斯坦、孟加拉国、斯里兰卡和马尔代夫。印楝通常生长于热带和亚热带地区。印楝树还生长在位于伊朗南部的岛屿上。它的果实和种子是印楝油的来源。

[0005] 由于印楝树的药用价值,印度使用由印楝树制作的产品已经有超过两千年的历史。印楝产品被认为是悉达医学以及阿育吠陀和尤那尼医学中的重要组成部分,并且特别适用于皮肤疾病。印楝油也用于健康的头发,以改善肝功能,为血液排毒,并且平衡血糖水平。印楝树叶还被用于治疗皮肤疾病,如湿疹和银屑病。

[0006] 印楝提取物一直是许多临床前研究(包括对糖尿病的研究)的课题。在当前研究中,在链脲佐菌素诱导的糖尿病动物以及遗传性糖尿病动物中,评估了印楝树叶和嫩枝的水提物的抗糖尿病活性。许多产品对链脲佐菌素诱导的糖尿病动物起作用,但是对遗传性胰岛素缺陷动物不起作用;然而,本申请的提取物在两种类型的动物中均起作用。

[0007] 2型糖尿病(也称为糖尿病2型)是一种长期性代谢障碍,其特征为高血糖、胰岛素抗性和胰岛素相对缺乏。参见例如, *Causes of Diabetes* [糖尿病成因], *National Institute of Diabetes & Digestive & Kidney Diseases* [国家糖尿病、消化和肾脏疾病研究

所] (2014年6月), 将其通过引用以其全文并入本文。常见症状包括口渴增加、尿频和不明原因的体重减轻。参见例如, Diagnosis of Diabetes and Prediabetes [糖尿病和前驱糖尿病诊断], National Institute of Diabetes & Digestive & Kidney Diseases [国家糖尿病、消化和肾脏疾病研究所] (2014年6月), 将其通过引用以其全文并入本文。症状还可能包括饥饿感增加、感到疲倦以及不能治愈的疮。通常症状出现缓慢。高血糖的长期并发症包括心脏病、中风、可导致失明的糖尿病性视网膜病变、肾衰竭、和可导致截肢的四肢血液流动不良。参见例如, 世界卫生组织 (2011年8月) 的糖尿病资料表 (Diabetes Fact Sheet), 将其通过引用以其全文并入本文。高渗高血糖状态可能会突然发作; 然而, 酮症酸中毒并不常见。参见例如, F. J. Pasquel 和 G. E. Umpierrez, Hyperosmolar hyperglycemic state: a historic review of the clinical presentation, diagnosis, and treatment [高渗性高血糖状态: 临床表现、诊断和治疗的历史回顾], 37 Diabetes Care [糖尿病护理] 3124 (2014); O. A. Fasanmade 等人, Diabetic ketoacidosis: diagnosis and management [糖尿病性酮症酸中毒: 诊断和控制], 37 African J. of Medicine & Medical Scis. [非洲药物和医学杂志] 99 (2008); 将其每个通过引用以其全文并入本文。

[0008] 2型糖尿病的发生主要是由于肥胖和缺乏运动。有些人在遗传上比其他人更具风险。2型糖尿病约占糖尿病病例的90%, 而其他10%主要应归于1型糖尿病和妊娠糖尿病。在1型糖尿病中, 由于胰腺中自身免疫诱导的产生胰岛素的 β 细胞的损失, 用于控制血糖的胰岛素总水平降低。参见例如, The Autoimmune Diseases [自身免疫疾病] 575 (Ian MacKay 和 Noel Rose 编辑, Academic Press [学术出版社] 2014); Chapter 17: Pancreatic hormones & diabetes mellitus [第十七章: 胰腺激素与糖尿病], Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology [格林斯潘基础和临床内分泌学] (第9版, David G. Gardner 和 Dolores Shoback 编辑, McGraw-Hill Medical [麦格劳-希尔医学] 2011); 其每个通过引用以其全文并入本文。通过血液检查, 例如空腹血浆葡萄糖、口服葡萄糖耐受性试验或糖化血红蛋白 (A1C) 进行糖尿病的诊断。

[0010] 通过保持正常体重、规律运动和适当饮食, 可以在一定程度上预防2型糖尿病。治疗包括运动和改变饮食。如果血糖水平没有适当降低, 通常建议用药二甲双胍。参见, 例如, N. M. Maruthur 等人, Diabetes Medications as Monotherapy or Metformin-Based Combination Therapy for Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis [2型糖尿病的单一疗法或基于二甲双胍的联合疗法的糖尿病药物: 系统论述和汇总分析], 164 Annals of Internal Medicine [内科医学年鉴] 740 (2016); A. Saenz 等人, Metformin monotherapy for type 2 diabetes mellitus [2型糖尿病的二甲双胍单一疗法], Cochrane Database of Systematic Reviews [系统研究的科克伦数据库] (2005); 其每个通过引用以其全文并入本文。许多人可能最终还需要注射胰岛素。参见例如, A. J. Krentz 和 C. J. Bailey, Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus [口服抗糖尿病药物: 目前在2型糖尿病中的作用], 65 Drugs [药物] 385 (2005), 将其通过引用以其全文并入本文。对于那些在用胰岛素的人, 建议定期检查血糖水平; 但是, 服用抗糖尿病药的那些人可能不需要这样做。参见例如, U. L. Malanda 等人, Self-monitoring of blood glucose in patients with type 2 diabetes mellitus who are not using insulin [不使用胰岛素的2型糖尿病患者的自我血糖监测], Cochrane Database of

Systematic Reviews[系统研究的科克伦数据库](2012),将其通过引用以其全文并入本文。减重手术通常可以改善肥胖者的糖尿病。参见例如,S.Cetinkunar等人,Effect of bariatric surgery on humoral control of metabolic derangements in obese patients with type 2diabetes mellitus:How it works[减重手术对2型糖尿病肥胖患者的体液代谢异常控制的作用:如何发挥作用],3World J.of Clinical Cases[世界临床病例杂志]504(2015);S.Ganguly等人,Metabolic bariatric surgery and type2diabetes mellitus:an endocrinologist's perspective[代谢减重手术和2型糖尿病:内分泌学家的观点],29J.of Biomedical Research[生物医学研究杂志]105(2015);其每个通过引用以其全文并入本文。

[0011] 自1960年以来,2型糖尿病的比率显著增加,与肥胖症一致。参见例如,Susan Moscou,Getting the word out:advocacy,social marketing,and policy development and enforcement[宣传:倡导、社会营销以及政策制定和执行],Marie Truglio-Londrigan和Sandra B.Lewenson,Public Health Nursing:Practicing Population-based Care[公共卫生护理:实行基于人群的护理]317(第2版,Jones&Bartlett Learning[琼斯和巴特利特学习]2013),将其通过引用以其全文并入本文。2015年,约有3.92亿人被诊断出患有这种疾病,而1985年则为3,000万人。参见,例如GBD 2015Disease and Injury Incidence and Prevalence,Collaborators[GBD 2015疾病和伤害发生率和流行率,合作者],Global, regional,and national incidence,prevalence,and years lived with disability for 310diseases and injuries,1990-2015:asystematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015[1990-2015年全球、区域和国家310种疾病和伤害的发病率、流行率和残疾年限:2015年全球疾病负担研究的系统分析],388The Lancet[柳叶刀]1545(2016);S.Smyth和A.Heron,Diabetes and obesity:the twin epidemics[糖尿病和肥胖:成双流行病],12Nature Medicine[自然医学]75(2006);其每个通过引用以其全文并入本文。通常,2型糖尿病开始于中年或老年,尽管年轻人中发病率正在增加。参见例如,H.Tfayli和S.Arslanian,Pathophysiology of type2diabetes in youth:the evolving chameleon[青年中的2型糖尿病的病理生理学:进化中的变色龙],53Arquivos Brasileiros de Endocrinologia&Metabologia[巴西内分泌学和代谢档案]165(2009);Giuseppina Imperatore等人,Projections of Type 1and Type 2Diabetes Burden in the U.S.Population Aged<20Years Through 2050[到2050年<20岁的美国人口中1型和2型糖尿病的负担预测],35Diabetes Care[糖尿病护理]2515(2012);其每个通过引用以其全文并入本文。2型糖尿病关系着短十年的预期寿命。参见例如,Williams Textbook of Endocrinology[威廉姆斯内分泌学教科书]1371(第12版,Shlomo Melmed等人编辑,Elsevier/Saunders[爱思唯尔/桑德斯]),将其通过引用以其全文并入本文。

[0012] 尽管可获得几种可用于控制糖尿病的处方药,但始终需要具有更少副作用或没有副作用并且具有更多额外益处的更好的药物。天然产品可能填补了这样的空白,这不仅是因为它们是天然产品,还因为人已经与周围的植物共同进化,并且正因如此,他们的身体可能会对天然产品的整体治疗特性做出更好的反应。此类天然产品的两个类型是:(1)印楝(印度苦楝树(Azadirachta indica))提取物;和(2)尿石素A和B,化学上分别称为3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮和3-羟基-二苯并- α -吡喃酮。

概述

[0013] 在一个实施例中,描述了用于治疗或预防2型糖尿病的症状的方法,该方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,该组合物包含印度苦楝树的水提物,其中相对于安慰剂,餐后血糖或空腹血糖降低,和/或HbA1c降低。在一个实施例中,描述了用于治疗或预防代谢综合征的症状的方法,该方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,该组合物包含印度苦楝树的水提物,其中相对于安慰剂,餐后血糖或空腹血糖降低,并且内皮功能改善;而相对于基线,HbA1c和hsCRP降低。

[0014] 在另一个实施例中,描述了治疗或预防患有2型糖尿病的糖尿病个体的内皮功能紊乱的方法,该方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,该组合物包含印度苦楝树的水提物,其中内皮功能改善。

[0015] 在另一个实施例中,描述了用于治疗或预防2型糖尿病的症状的方法,该方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的组合物,该组合物包含尿石素A和尿石素B的组合。

附图说明

[0016] 图1描绘了柱状图,其表示在补充印楝提取物(50mg/kg)、尿石素A(10mg/kg)和尿石素B(2mg/kg)0、4、5、6和7周之后,对空腹血糖(“FBG”)的作用。条表示组的平均值±SD(n=3-5只/组)。如下所示,从左到右读取的条形图图例与从左到右查看的数据条的顺序相对应:(1)安慰剂,(2)印楝,(3)3,8-二-OH-DBP,(4)3-OH-DBP,(5)3,8-二-OH-DBP+3-OH-DBP。

具体实施方式

[0017] 印楝产品被认为是悉达医学以及阿育吠陀和尤那尼医学中的重要组成部分,并且特别适用于皮肤疾病。印楝油也用于健康的头发,以改善肝功能,为血液排毒,并且平衡血糖水平。印楝树叶还被用于治疗皮肤疾病,如湿疹和银屑病。印楝提取物一直是许多临床前研究(包括对糖尿病的研究)的课题。

[0018] 在又另一方面,本发明证明了印楝提取物在治疗具有糖尿病的症状(包括但不限于高血糖水平)的人类个体中的有用性。

[0019] 印楝树(印度苦楝树)在印度被认为是神圣的并且在印度次大陆普遍存在。该树的不同部分提供不同的生物活性成分,包括印楝素、nimbolin、宁宾(nimbin)、印楝定宁(nimbidin)、nimbidol、宁宾钠(sodium nimbinat)、葛杜宁(gedunin)、印楝沙兰林(salannin)和槲皮素(quercetin)。树叶含有以下成分,例如宁宾、印楝素烯(nimbanene)、6-脱乙酰基印楝素烯(desacetylnimbinene)、印苦楝二醇(nimbandiol)、印苦楝内酯(nimbolide)、抗坏血酸、正二十六醇和氨基酸、7-脱乙酰基-7-苯甲酰印苦楝二酮(azadiradione)、7-脱乙酰基-7-苯甲酰葛杜宁、17-羟基印苦楝二酮以及印苦楝酚(nimbiol)。已知槲皮素和β-谷甾醇、多酚类黄酮、新鲜树叶具有抗细菌和抗真菌特性,而种子具有珍贵的成分,包括葛杜宁和印楝素(参见Mohammad A.Alzohairy,“Therapeutics Role of Azadirachta indica (Neem) and its Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment[印度苦楝树(印楝)及其有效成分在疾病预防和治疗中的治疗作用],”Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine[循证补充和替代医学],2016卷,文章ID 7382506,11页)。植物的不同部分以及不同的提取溶剂和方法产生具

有不同生物活性组成的提取物。已经报道了许多生物学和药理活性,包括抗细菌、抗真菌和抗炎、降血糖、抗胃溃疡和抗癌活性。印楝调节几种肿瘤抑制基因(例如,p53、pTEN)、血管生成(VEGF)、转录因子(例如,NF- κ B)和细胞凋亡(例如,bcl2、bax)的活性。印楝还经由调节促炎酶的活性(包括环氧合酶(COX)和脂氧合酶(LOX))发挥抗炎作用。

[0020] 在本发明的实施例中,获得自Natreon公司(Natreon, Inc.)的PhytoBGS®是印度苦楝树(印楝)树叶和嫩枝(1:1w/w比率)的水提物,其用于控制血糖。PhytoBGS®在前驱糖尿病患者中进行的12周随机双盲安慰剂对照的临床研究中示出,在500mg BID剂量下、在12周结束时、与安慰剂组相比显著降低了空腹血糖以及餐后血糖水平和反射指数(内皮功能的量度)。在这一剂量下,与基线值相比,它还显著降低了HOMA胰岛素抗性、糖基化血红蛋白(HbA1c)水平、氧化应激生物标志物、hsCRP、IL-6和TNF- α 。

[0021] 在本文中,PhytoBGS®还在另一个已用稳定剂量的二甲双胍的2型糖尿病(T2DM)中进行的12周随机双盲安慰剂对照的临床研究中示出,在研究的全部剂量(125mg、250mg和500mg BID)下、在12周结束时显著改善空腹血糖水平和餐后血糖水平、HOMA胰岛素抗性、HbA1c、hsCRP以及全部氧化应激参数。在当前研究中,在第4周和第8周以及在测试的许多参数上都获得了显著的结果。

[0022] 在一个实施例中,本发明描述了一种包含尿石素A和尿石素B的组合物,其中尿石素B与尿石素A的wt./wt.比率为从约0.2:1至约1:1。药物组合物或营养组合物可通过包括可接受的载体或赋形剂来制备。

[0023] 在可替代的实施例中,本发明描述了一种包含印楝提取物的组合物。药物组合物或营养组合物可通过包括可接受的载体或赋形剂来制备。

[0024] 在实施例中,本发明的药物组合物可用于治疗人受试者的糖尿病的症状的方法中。

[0025] 糖尿病的症状可包括但不限于高血糖水平。

[0026] 喜来芝由已被与海洋生物和微生物代谢物混合的岩石层压缩的岩石腐殖质、岩石矿物质和有机物质组成。它从喜马拉雅山自1000-5000米的更高海拔范围处以黑色物质渗出岩石,被认为是印度传统医学体系阿育吠陀中的玛哈拉莎(maharasa)(超级活力剂(super-vitalizer)),可追溯到公元前3500年。喜来芝含有富里酸(作为主要组分)以及二苯并- α -吡喃酮("DBP")和二苯并- α -吡喃酮色蛋白。

[0027] 喜来芝的两种主要DBP组成组分是3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(又称"尿石素A",或可替代地"3,8-(OH)₂-DBP")和3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(又称"尿石素B"或可替代地"3-(OH)-DBP")。这些化合物均是在Natreon公司的合同生产现场定制合成的,纯度达到99%。

[0028] 源自喜来芝的富里酸复合物是天然存在的低分子量和中等分子量化合物的集合,这些化合物包含氧化的二苯并- α -吡喃酮(DBP)(既处于还原形式又处于氧化形式)作为中心核、和酰化的DBP和脂质作为部分结构单元、以及富里酸("FA")。来源于冲积源的富里酸复合物材料缺乏DBP;相反,冲积的富里酸的中心核由苯甲酸组成。

[0029] 因此,喜来芝的活性组分含有二苯并- α -吡喃酮和相关代谢物、小肽(构成非蛋白质氨基酸)、一些脂质和载体分子(富里酸)。参见例如S.Ghosal等人,Shilajit Part 1-

Chemical constituents[喜来芝部分1-化学成分],65J.Pharm.Scis.[药物科学杂志]772 (1976);S.Ghosal等人,Shilajit Part 7-Chemistry of Shilajit,an immunomodulatory ayurvedic rasayana[喜来芝部分7-喜来芝的化学成分,免疫调节性阿育吠陀拉萨亚那],62Pure Appl.Chem.[纯粹与应用化学](IUPAC)1258(1990);S.Ghosal等人,The core structure of Shilajit humus[喜来芝腐殖质的核心结构],23Soil Biol.Biochem.[土壤生物学生物化学]673(1992);美国专利号6,440,436(以及其中引用的参考文献);美国专利号6,869,612(以及其中引用的参考文献);其每个通过引用以其全文并入本文。

[0030] 喜来芝(例如PrimaVie®)在阿育吠陀中广泛用于各种临床状况。几个世纪以来,生活在喜马拉雅山及毗邻地区的偏远村庄中的人们一直单独使用喜来芝或将其与其他植物疗法组合使用,以预防和抵抗糖尿病问题。参见例如,V.P.Tiwari等人,An interpretation of Ayurvedica findings on Shilajit[阿育吠陀在喜来芝上的发现解释],8J.Res.Indigenous Med.[本土药物研究杂志]57(1973),将其通过引用以其全文并入本文。此外,作为抗氧化剂,喜来芝将防止由细胞毒性氧自由基引起的对胰岛细胞的损伤。参见例如,S.K.Bhattacharya,Shilajit attenuates streptozotocin induced diabetes mellitus and decrease in pancreatic islet superoxide dismutase activity in rats[喜来芝在大鼠中减弱链脲佐菌素诱导的糖尿病并降低胰岛超氧化物歧化酶的活性],9Phytother.Res.[植物疗法研究]41(1995);S.K.Bhattacharya,Effects of Shilajit on biogenic free radicals[喜来芝对生物自由基的影响],9Phytother.Res.[植物疗法研究]56(1995);S.Ghosal等人,Interaction of Shilajit with biogenic free radicals[喜来芝与生物自由基的相互作用],34B Indian J.Chem.[印度化学学会杂志]596(1995);其每个通过引用以其全文并入本文。已经提出糖尿病期间葡萄糖、脂肪和蛋白质代谢的紊乱导致高脂血症的发展。在一项研究中,喜来芝对大鼠的脂质分布产生了显著的有益影响。参见例如,N.A.Trivedi等人,Effect of Shilajit on blood glucose and lipid profile in alloxan-induced diabetic rats[喜来芝对四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠的血糖和脂质分布的影响],36Indian J.Pharmacol.[印度药理学杂志]373(2004),将其通过引用以其全文并入本文。

[0031] 如所讨论的,喜来芝已经被用于治疗各种疾病。还建议将其作为行为表现增强剂。据报道,富里酸(FA)在植物、动物以及人的生物系统中引发许多重要作用,包括:(a)改善矿物质和营养素的生物利用度,(b)作为电解质,(c)包括重金属在内的有毒物质的排毒,(d)作为抗氧化剂,以及(e)改善免疫功能。此外,已经假设二苯并- α -吡喃酮参与线粒体内的电子传递,从而促进了更多ATP的产生,导致能量增加。

[0032] 另一方面,本发明证明了3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(3-OH-DBP)、3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(3,8-(OH)₂-DBP)或其组合在治疗患有糖尿病的症状(包括但不限于高血糖水平)的人类个体中的有用性。

[0033] 提供以下非限制性实例以说明本发明并且其适用于本发明的其他实施例。本领域技术人员将理解,可能需要针对本发明的任何给定实施例改变程序,例如改变顺序或步骤和/或所使用成分的量。

[0034] 为评估3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素A)、3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素B)、喜来芝和印楝提取物的抗糖尿病作用,对印楝提取物和尿石素在链脲佐菌素诱导的

糖尿病动物以及遗传性糖尿病动物进行了以下实验：

[0035] 研究1:印楝提取物对雄性和雌性小鼠的链脲佐菌素诱导的糖尿病的作用；

[0036] 研究2:3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素A)和3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素B)及其以特定比率的组合对雄性和雌性小鼠的链脲佐菌素诱导的糖尿病的作用；

[0037] 研究3:印楝提取物、3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素A)、3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素B)及以特定比率组合的尿石素A和尿石素B对遗传性糖尿病小鼠的血糖水平的作用。

实例1(研究1)

[0038] 研究1的目标:研究印楝提取物对雄性和雌性小鼠的链脲佐菌素诱导的糖尿病的作用。

[0039] 在诱导糖尿病之前,测量体重、食物摄入量、水摄入量以及空腹基线血糖水平。通过腹膜内单次施用pH 4.5的柠檬酸钠缓冲液中的链脲佐菌素(65mg/kg体重)来诱导糖尿病。施用链脲佐菌素五天后,评估空腹血糖水平。具有 $230 \pm 20\text{mg}\%$ 的血糖水平的小鼠被认为可用于本研究。将雄性和雌性小鼠各自分为以下组:

[0040] 1.媒介物对照(“Veh Con”)

[0041] 2.链脲佐菌素(“STZ”)

[0042] 3.印楝50+STZ

[0043] 4.印楝100+STZ

[0044] 5.印楝250+STZ

[0045] 6.二甲双胍250+STZ

[0046] 在链脲佐菌素诱导的高血糖症之后,进行两周的治疗方案。将印楝提取物悬浮于0.3%羧甲基纤维素钠(“CMC”)中并且以50mg/kg b.w.、100mg/kg b.w.和250mg/kg b.w.的剂量口服施用持续两周。同样,将二甲双胍悬浮于0.3%CMC中并且以250mg/kg b.w.的剂量口服施用持续两周。在处理时间表期间,定期监测体重、以及食物和水的摄入量。每周监测空腹血糖(“FBG”)、HbA1C、血浆胆固醇和甘油三酯水平,持续两周。结果以平均值 \pm SEM(每个性别, $n=4$)表示。将数据进行单向ANOVA,随后使用GraphPad Prism 4.0软件进行图基(Tukey)检验以确立统计学显著性(* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; # $p<0.05$, ## $p<0.01$, ### $p<0.001$)。

[0047] 表1.印楝提取物对链脲佐菌素诱导的雄性糖尿病小鼠的血糖水平的作用。

表1

	媒介物对照 (mg %)	STZ (mg %)	STZ + 印楝 50 (mg %)	STZ + 印楝 100 (mg %)	STZ + 印楝 250 (mg %)	STZ + Met 250 (mg %)
第 0 天	104.4 ± 11.14	133 ± 27.15	126.6 ± 15.52	127.7 ± 17.23	105 ± 16.1	117.3 ± 23.99
第 1 周	120.6 ± 19.58	234.9 ± 16.05***	248.6 ± 13.47***	222 ± 13.24***	218.6 ± 24.36	269.2 ± 25.37***
第 2 周	107.8 ± 14.56	209.6 ± 10.14***	170.9 ± 16.57***,#	161.1 ± 18.83**,#	160.7 ± 10.02**,#	133.4 ± 7.96**,#
第 3 周	128.9 ± 2.34	203.6 ± 5.09***	172.7 ± 7.34***,#	178.5 ± 0.77***,#	148.4 ± 4.73*,##	136.2 ± 4.89###

相比于媒介物对照,*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001;相比于STZ诱导的糖尿病雄性小鼠,#p<0.05,##p<0.01,###p<0.001

[0048] 将雄性印楝+STZ和二甲双胍+STZ处理的小鼠的FBG (mg%) 与媒介物对照小鼠和链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠相比较。在STZ诱导的糖尿病雄性小鼠中,FBG水平显著(***p<0.001)提高。用印楝提取物(印楝50、印楝100、印楝250)和二甲双胍(Met 250)处理显著(#p<0.05,##p<0.01,###p<0.001)减弱STZ诱导提高的糖水平。

[0049] 表2.印楝提取物对链脲佐菌素诱导的雌性糖尿病小鼠的血糖水平的作用。

表2

	媒介物对照	STZ	STZ + 印楝	STZ + 印楝	STZ + 印楝	STZ + Met
	(mg %)	(mg %)	50 (mg %)	100 (mg %)	250 (mg %)	250 (mg %)
第 0 天	128.6 ± 4.67	130.3 ± 5.28	132.4 ± 3.62	96.23 ± 10.43	122.6 ± 10.42	119.2 ± 15.5
第 1 周	139.8 ± 9.06	303.3 ± 23.82***	256.6 ± 7.81***	236.8 ± 14.6***	250.6 ± 5.54***	241.1 ± 22.19***
第 2 周	123.1 ± 23.35	206.6 ± 3.64**	157 ± 4.86*#	149.8 ± 5.27##	148.9 ± 12.71##	133.8 ± 9.04##
第 3 周	139.2 ± 6.33	207.6 ± 3.06**	156.8 ± 14.95*#	145.1 ± 13.35##	127.6 ± 13.7###	121.2 ± 8.192###

相比于媒介物对照,**p<0.01,***p<0.001;相比于STZ-诱导的糖尿病雌性小鼠,#p<0.05,##p<0.01,###p<0.001

[0050] 将雌性印楝+STZ和二甲双胍+STZ处理的小鼠的FBG (mg%) 与媒介物对照小鼠和链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠相比较。在STZ诱导的糖尿病雌性小鼠中,FBG水平显著(***p<

0.001) 提高。用印楝提取物(印楝50、印楝100、印楝250)和二甲双胍(Met 250)处理显著([#]p < 0.05, ^{##}p < 0.01, ^{###}p < 0.001) 减弱STZ诱导提高的糖水平。

[0051] 表 印楝提取物对链脲佐菌素诱导的雄性和雌性糖尿病小鼠的HbA1C水平的作用。
表3

	媒介物对照 (%)	STZ (%)	STZ + 印楝 50 (%)	STZ + 印楝 100 (%)	STZ + 印楝 250 (%)	STZ + Met 250 (%)
雄性						
第 2 周	4.09 ± 0.45	5.99 ± 0.61*	5.94 ± 0.28*	6.28 ± 0.28*	5.66 ± 0.14	5.05 ± 0.51
第 3 周	3.97 ± 0.11	6.03 ± 0.03*	5.37 ± 0.56*	5.48 ± 0.80	4.68 ± 0.97 [#]	4.40 ± 0.65 [#]
雌性						
第 2 周	4.31 ± 0.35	6.02 ± 0.03*	5.97 ± 0.79	5.16 ± 0.53	5.96 ± 0.09	5.53 ± 0.46
第 3 周	3.5 ± 0.29	5.97 ± 0.17**	5.82 ± 0.11 [#]	5.78 ± 0.06 [#]	3.01 ± 0.44 ^{##}	3.08 ± 0.58 ^{##}

相比于媒介物对照, *p < 0.05, **p < 0.01; 相比于STZ诱导的糖尿病雄性和雌性小鼠, [#]p < 0.05, ^{##}p < 0.01

[0052] 将雄性和雌性印楝+STZ和二甲双胍+STZ处理的小鼠的HbA1C(%)与媒介物对照小鼠和链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠相比较。HbA1C水平显著(*p < 0.05)。用印楝提取物(印楝50、印楝100、印楝250)和二甲双胍(Met 250)处理显著([#]p < 0.05, ^{##}p < 0.01, ^{###}p < 0.001) 减弱STZ诱导糖尿病雄性和雌性小鼠中STZ诱导提高的HbA1C水平。

实例2(研究2)

[0053] 研究2的目标:研究3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素A)和3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素B)及其以特定比率的组合对雄性和雌性小鼠的链脲佐菌素诱导的糖尿病的作用。

[0054] 在诱导糖尿病之前测量体重、食物摄入量、水摄入量和空腹血糖(禁食12小时后采血)。通过腹膜内施用pH 4.5的柠檬酸钠缓冲液中的链脲佐菌素(50mg/kg体重)来诱导糖尿病。链脲佐菌素施用五天后,评估空腹血糖(禁食12小时后)。具有250 ± 20mg%的血糖水平的小鼠被认为可用于以下研究。将雄性和雌性小鼠分为以下四组(n=8):

[0055] i. 对照媒介物(Con Veh) (0.3%CMC)

[0056] ii. 链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病对照

[0057] iii. 3-OH-DBP(尿石素B)+STZ

[0058] iv. 3,8-(OH)₂-DBP(尿石素A)+STZ

[0059] 在链脲佐菌素诱导的高血糖症之后,进行1个月的治疗方案。将3-OH-DBP(尿石素B)和3,8-(OH)₂-DBP(尿石素A)各自分别悬浮于0.3%CMC中并且以10mg/kg体重的剂量口服施用持续1个月。在1个月的处理期间,定期监测体重、以及食物和水的摄入量。以15天的间隔评估两次FBG(12小时禁食后)。结果以平均值±SEM(n=8)表示。将数据进行单向ANOVA,

随后使用GraphPad Prism 4.0软件进行图基检验以确立统计学显著性(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$)。

[0060] 表5. 3-OH-DBP (尿石素B) 和3,8-(OH)₂-DBP (尿石素A) 对链脲佐菌素诱导的糖尿病雌性小鼠的空腹血糖(mg%)的作用。

表5

天数	媒介物对照 (mg %)	STZ (mg %)	3-OH-DBP + STZ (mg %)	3,8-(OH) ₂ -DBP + STZ (mg %)
诱导前	128.9 ± 3.466	123.5 ± 9.149	126.8 ± 3.848	95.45 ± 12.67
第5天 (诱导后)	84.82 ± 11.30	276 ± 12.58***	251.6 ± 1.280***	253.2 ± 5.194***
处理第15天	108.2 ± 3.864	247 ± 6.840***	189.8 ± 2.690***,###	166 ± 2.623***,###
处理第30天	119.7 ± 2.636	246.5 ± 6.018***	147.3 ± 15.21***,###	153.9 ± 9.953***,###

[0061] 将雌性3-OH-DBP+STZ和3,8-(OH)₂-DBP+STZ处理的小鼠的FBG与媒介物对照小鼠和链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠相比较。在第5天(诱导后)与媒介物对照组相比较时,STZ组的FBG显著(** $p < 0.001$)提高,这指示动物的高血糖状态。用3-OH-DBP和3,8-(OH)₂-DBP处理显著(### $p < 0.001$)减弱STZ诱导提高的糖水平,这指示抗糖尿病活性。

[0062] 表6. 3-OH-DBP和3,8-(OH)₂-DBP对链脲佐菌素诱导的糖尿病雄性小鼠的空腹血糖的作用。

[0063] 测试结果列于表6中。

表6

天数	媒介物对照 (mg %)	STZ (mg %)	3-OH-DBP + STZ (mg %)	3,8-(OH) ₂ -DBP + STZ
----	-----------------	---------------	--------------------------	-------------------------------------

				(mg %)
诱导前	113.8 ± 5.031	98.64 ± 7.658***	99.06 ± 14.73***	94.12 ± 7.811***
第 5 天 (诱导后)	108.9 ± 3.599	250.4 ± 13.31***	254.6 ± 1.575	252.2 ± 1.780
处理第 15 天	110 ± 4.802	253.5 ± 8.879***	171 ± 6.586***,###	166 ± 5.276***,###
处理第 30 天	123.7 ± 5.169	249.3 ± 4.122***	134.2 ± 3.381***,###	[0063] 156.7 ± 10.75***,###

[0064] 将雄性3-OH-DBP+STZ和3,8-(OH)₂-DBP+STZ处理小鼠的空腹血糖与媒介物对照小鼠和链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠相比较。

[0065] 在第5天(诱导后)与媒介物对照组相比较时,STZ组的FBG显著(***)提高,这指示动物的高血糖状态。用3-OH-DBP和3,8-(OH)₂-DBP处理显著(###)减弱STZ诱导提高的糖水平,这指示抗糖尿病活性。

实例3(研究3)

[0066] 研究3的目标:研究印楝提取物、3,8-二羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素A)、3-羟基-二苯并- α -吡喃酮(尿石素B)及以特定比率组合的尿石素A和尿石素B对遗传性糖尿病小鼠的血糖水平的作用。

[0067] 对五组糖尿病小鼠(db/db,11周;n=3-5)进行如下补充:

[0068] A. 安慰剂

[0069] B. 印楝提取物(剂量:50mg/kg)

[0070] C. 3-OH-DBP(尿石素B)(剂量:2mg/kg)

[0071] D. 3,8-(OH)₂-DBP(尿石素A)(剂量:10mg/kg)

[0072] E. 3,8-(OH)₂-DBP(尿石素A)(剂量:10mg/kg)和3-OH-DBP(尿石素B)(剂量:2mg/kg)的共混物

[0073] 定期监测空腹血糖水平。

[0074] 图1中描述了研究的结果,其证明了印楝提取物和DBP衍生物(尿石素A和尿石素B)对遗传性糖尿病小鼠的空腹血糖的作用。

[0075] 补充印楝提取物(50mg/kg)降低了db/db动物的空腹血糖水平。尽管单独的DBP衍生物没有示出空腹血糖水平有任何改变,在初始阶段,3,8-(OH)₂-DBP(剂量:10mg/kg)和3-OH-DBP(剂量:2mg/kg)的共混物示出血糖水平显著降低。应当注意的是,在这种情况下使用的小鼠模型(db/db;又称为Lepr^{db/db})是遗传型小鼠模型,其在编码瘦素受体基因的糖尿病(db)基因中具有点突变。由于基因突变,这些动物具有顽固的高血糖症,这不同于人类,人类中糖尿病的进展主要是由于饮食习惯和久坐的生活习惯。这或许是能解释3,8-(OH)₂-DBP和3-OH-DBP的共混物在后期反弹的原因。

[0076] 在实施例3中,可以将尿石素A和尿石素B的组合制备为药物或营养配制品。示例性尿石素B与尿石素A的wt./wt.比率可以在从约0.2:1至约1:1的范围内。在优选的实施例3中,

尿石素B与尿石素A的wt./wt.比率可以在从约0.2:1至约0.6:1的范围内。

[0077] 根据如本文描述的实例,在人受试者中,尿石素B和尿石素A的前述一种或多种协同组合的日剂量可以在约1.5mg/kg至约8.0mg/kg的范围内。在另一个实施例中,在人受试者中的日剂量可以在约1.5mg/kg至约10.0mg/kg的范围内。

[0078] 在一个实施例中,在人受试者中,尿石素B和尿石素A的前述一种或多种协同组合的日剂量可以在约100mg至约1000mg的范围内。在优选的实施例中,在人受试者中,尿石素B和尿石素A的前述一种或多种协同组合的日剂量可以在约100mg至约500mg的范围内。

[0079] 进一步预期,当在哺乳动物受试者中以相当的剂量范围进行时,研究3中观察到的协同将以在研究1和2中相似的方式展现。进一步预期,将在用于治疗人受试者的糖尿病的症状(包括但不限于提高的血糖水平)的方法中观察到尿石素B和尿石素A协同。

[0080] 在实施例中,可以将印楝提取物制备为药物或营养配制品。

[0081] 根据如本文描述的实例,在人受试者中,印楝提取物的日剂量可以在约62.5mg至约3000mg/天的范围内。在另一个更优选的实施例中,在人受试者中的日剂量可以在约125mg至约2000mg/天的范围内。在最优选的实施例中,在人受试者中的日剂量可以在约250mg至约1000mg/天的范围内。

[0082] 进一步预期,将在用于治疗糖尿病的症状(包括但不限于提高的血糖水平)的方法中观察到研究3中对印楝提取物观察到的空腹血糖水平的降低。

实例4-2型糖尿病临床研究

[0083] 在患有2型糖尿病的人受试者中评估印楝提取物对血糖控制、内皮功能紊乱、生物标志物和血小板聚集的作用。

[0084] 研究目标

[0085] 主要目标:在正在进行二甲双胍治疗的患有2型糖尿病的患者中,研究用印楝提取物(NE)处理12周对空腹血糖(FBS)、餐后血糖(PPBS)和糖基化血红蛋白(HbA1c)的作用。

[0086] 次要目标:研究对内皮功能和生物标志物(包括一氧化氮(NO)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)、高敏C-反应蛋白(hsCRP)、脂质分布和血小板聚集)的作用;评估对HOMA-IR和促炎性细胞因子IL6、TNF α 的作用;并评估安全性和耐受性。

[0087] 研究群体

[0088] 主要从尼扎姆医学研究所(NIMS)的全科医学门诊招募正在进行二甲双胍疗法的2型糖尿病患者。在印度海得拉巴Panjagutta的临床药理与治疗科(CP&T,NIMS)进行本研究。方案编号CPT/04印楝/DM/01。

[0089] 入选标准如下:男性和女性受试者,30-65岁之间,并愿意给予知情同意书和遵守与方案相关的研究程序;空腹血浆葡萄糖为110-126mg/dL;糖基化血红蛋白(HbA1c)在6.5%和8%之间在筛选之前的过去8周,患者接受了稳定剂量的抗糖尿病治疗(二甲双胍1500-2500mg/天);患有内皮功能紊乱的患者-(沙丁胺醇激发试验)记录为RI指数降低<6%;并且受试者在过去6个月内没有用任何试验产品。

[0090] 排除标准:受试者具有研究者认为显著的异常血液学或生物化学参数;不受控制的糖尿病(HbA1c>8%并且FBS>210mg/dl);不受控制的高血压(SBP>180mmHg并且DBP>100mmHg);血清甘油三酯>500mg/dl;AST和ALT升高>正常上限值的3倍;血清肌酸酐超过1.5mg/dl;服用任何其他饮食或草药补充剂;或具有任何使医生感觉参与本研究会对受试

者健康不利的医疗状况。

[0091] 本研究设计是随机化、双盲、平行组研究。

[0092] 研究治疗组

[0093] 筛选后,将全部合格的患者以双盲的方式随机划分到四个治疗组,为期12周,如下。

[0094] 组A -每日两次(BID)一个相同安慰剂的胶囊(每个胶囊含有微晶纤维素300mg、交联羧甲基纤维素钠20mg、气相二氧化硅5mg、硬脂酸镁5mg),即,每天饭后服用两次,早晚各一次。

[0095] 组B-每日两次(BID)一个含有125mg印楝提取物(NE)的胶囊(每个胶囊含有125mg印楝水提物、微晶纤维素175mg、交联羧甲基纤维素钠10mg、气相二氧化硅3mg、硬脂酸镁3mg),即,每天饭后服用两次,早晚各一次。

[0096] 组C-每日两次(BID)一个含有250mg印楝提取物(NE)的胶囊(每个胶囊含有250mg印楝水提物、微晶纤维素50mg、交联羧甲基纤维素钠10mg、气相二氧化硅3mg、硬脂酸镁3mg),即,每天饭后服用两次,早晚各一次。

[0097] 组D-每日两次(BID)一个含有500mg印楝提取物(NE)的胶囊(每个胶囊含有500mg印楝水提物、微晶纤维素50mg、交联羧甲基纤维素钠10mg、气相二氧化硅3mg、硬脂酸镁3mg),即,每天饭后服用两次,早晚各一次。

[0098] 全部治疗用作现有二甲双胍治疗的辅助疗法。

[0099] 安慰剂胶囊和印楝提取物胶囊由美国新泽西州新不伦瑞克Natreon公司提供。

[0100] 如本文使用的印楝提取物是标准化印度苦楝树(叶)水提物,其作为PhytoBGS®获得自Natreon公司,包含约2.3-3.7%w/w(平均3.0%w/w)总黄酮(包括槲皮素-3-0-葡萄糖苷、槲皮素-3-0-芸香糖苷、芹菜素芸香糖苷(apegenin rutinoside)、芸香苷衍生物)、约7.3-11.3%w/w(平均9.3%w/w)肌醇单磷酸、约5.2-7.7%w/w(平均6.6%w/w)总多酚、和6.3-13.1%w/w(平均10.1%w/w)总氨基酸(包括精氨酸和甲硫氨酸)。质量标准:不小于按重量计约7%的肌醇单磷酸和不少于按重量计约1%的黄酮。

[0101] 结果测量

[0102] 主要目标:12周疗法后HbA1c减少至少1%;并且空腹血糖(FBG)和餐后血糖(PPBG)减少至少10mg/dl。

[0103] 次要目标:在全部治疗组中,在12周时,内皮功能紊乱的变化(如反射指数变化超过6%所评估);从基线至12周疗法结束时,全部治疗组中氧化应激生物标志物一氧化氮(NO)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA),炎性生物标志物-高敏C-反应蛋白(hsCRP)和血小板聚集的变化;12周治疗后胰岛素抗性(HOMA-IR)和促炎性细胞因子-IL6、TNF α 的变化;以及测试药物的安全性和耐受性评估。

[0104] 方法

[0105] 签署书面知情同意后,对受试者进行筛选。将八十名合格受试者分别以相等的比率随机分配四种测试配制品:组A(安慰剂BD=BID),组B(NE 125mg BD),组C(NE 250mg BD)和组D(NE 500mg BD)。在过去的8周中,所有入选受试者均按照医生的规定,服用稳定剂量的伴随药物,并且在整个研究过程中继续使用相同的伴随药物。

[0106] 从随机化访视开始,受试者接受四种研究药物中的任一种的治疗,持续12周。筛选

是在第1次访视时完成的。在第1次访视的一周内进行了随机化(第2次访视)。第3次和第4次访视是经过4周和8周疗法之后的随访。第5次访视(治疗结束)在12周治疗结束时进行。每次访视时,患者均在禁食条件下到门诊报道。在筛选或第1次访视时,对本研究进行详细描述后,从每个受试者获取参与的书面知情同意书。

[0107] 然后记录受试者的人口统计学数据、病史和生命体征。使用沙丁胺醇激发试验,通过英国迈科(Micro Medical)系统无创地评估内皮功能。受试者在禁食条件下到研究单位报道。采集血液样品用于获得空腹血糖、HbA1c、安全性评估、脂质分布、hs-CRP、生物标志物评估、血小板聚集、HOMA-IR和促炎性细胞因子-IL6、TNF α 。为受试者提供早餐。早餐两小时后,采集血液样品用于评估餐后血糖。要求受试者在之后的一周内到单位报道进行第2次访视。

[0108] 第2次访视是随机化访视。根据先前的随机化时间表,将符合入选/排除标准的受试者随机接受四种治疗中的一种。记录生命体征,并进行体检。关于任何伴随药物的使用和不良事件,对受试者进行询问并将其记录在病例记录表中。按照随机化时间表向受试者分配研究药物,并要求他们在四周后进行下一次随访。

[0109] 在随后的随访,第3次访视(第4周)和第4次访视(第8周)中,对受试者进行了检查。记录生命体征。进行了体检。在CRF中报告并记录伴随药物的任何改变、任何药物不良反应。在每次访视时,通过丸剂计数来评估对研究药物的依从性。通过沙丁胺醇激发试验评估内皮功能紊乱,并收集血液样品以评估空腹血糖和餐后(PP)血糖(早餐2小时后)。询问任何ADR(尤其是体征)和低血糖症状,并将其记录在病例报告表(CRF)中。按照时间表分配研究药物。

[0110] 在治疗结束时的第5次访视(第12周)时,记录了生命体征,并进行了体检。通过丸剂计数来评估对研究药物的依从性。记录报告的任何不良药物反应。评估内皮功能(RI),并采集血液样品用以进行全部生物标志物评估和安全性评估。

[0111] 在基线时并且在每次访视时,评估FBG、PPBG、生物标志物(MDA、NO、GSH、hsCRP)、反射指数(RI)。在基线、4周和12周时,评估HOMA-IR、IL-6和TNF α 。在基线和治疗12周时,评估HbA1c、血小板聚集和脂质分布。

[0112] 评估方法

[0113] 内皮功能评估:沙丁胺醇激发试验。将应用数字体积描记法的沙丁胺醇激发试验用于评估内皮功能,如以下所报道:Chowienczyk等人,“Photoplethysmographic assessment of pulse wave reflection:blunted response to endothelium dependant beta 2-adrenergic vasodilation in type 2diabetes mellitus[脉冲波反射的光电体积描记法评估:2型糖尿病中对内皮依赖性 β_2 -肾上腺素血管舒张反应迟钝],” J.Am.Coll.Cardiol.[美国心脏病学会杂志](1999Dec) 34(7):2007-14;和Naidu等人,“Comparison of two β_2 adrenoceptor agonists by different routes of administration to assess human endothelial function[比较不同施用途径的两种 β_2 肾上腺素受体激动剂以评估人内皮功能],” Indian J.Pharmacol.[印度药理学杂志](2007) 39:168-9。休息5分钟后,对患者以仰卧位进行检查。使用光电体积描记器(Pulse Trace PCA2,PT200英国迈科,肯特,英国)获得数字容积脉冲(DVP),该光电体积描记器发射940nm红外光,置于右手的食指上。使用12位模数转换器以100Hz的采样频率将体积描记器

的信号数字化。按照Millasseau等人,“Determination of age related increases in large artery stiffness by digital pulse contour analysis[通过数字脉冲轮廓分析确定与年龄相关的大动脉僵硬增加],”Clinical Science[临床科学](2002)103:371-377中详细描述的程序,经20秒时间段记录DVP波形,并且将DVP的收缩末期/舒张早期部分的高度表示为DVP振幅的百分比,以产生反射指数(RI)。获取DVP记录,计算反射指数(RI)的三个测量值,并确定平均值。通过吸入,向患者施用400mcg的沙丁胺醇。15分钟后,再次获得RI的三个测量值,并将施用沙丁胺醇前后的平均RI差用于评估内皮功能。沙丁胺醇后RI的 $\leq 6\%$ 的变化被认为是内皮功能紊乱。结果示出于下表8中的研究数据总结中。

[0114] 评估生物标志物;血小板聚集试验;特殊测试以及安全性参数

[0115] 如在Miranda等人,“A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite[快速、简单的分光光度法同时检测硝酸盐和亚硝酸盐],”NITRIC OXIDE: Biology and Chemistry[一氧化氮:生物和化学](2001)第5卷,第1期,第62-71页中所述,采用分光光度法评估一氧化氮水平。如分别在Vidyasagar等人,“Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning[急性有机磷杀虫剂中毒的氧化应激和抗氧化状态],”Indian J. Pharmacol. [印度药理学杂志](2004年4月)36(2):76-79和G.L.Ellman, Arch. Biochem. Biophys. [生物化学与生物物理学集刊](1959)82:70-77(初始测定)中所述,采用分光光度法评估MDA和谷胱甘肽的水平。通过ELISA法确定hsCRP(高敏C-反应蛋白)。使用适当的标准技术,收集禁食过夜后的样品用以确定血红蛋白、血尿素和血清肌酐、肝功能测试、脂质分布[总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、极低密度脂蛋白(VLDL-C)和甘油三酯]。使用血小板聚集测定法,即Chronolog透光率聚集法,用ADP和胶原蛋白进行血小板聚集试验。使用可商购的ELISA试剂盒评估TNF α 和IL6。HOMA-IR(胰岛素抗性的稳态模型评估)是胰岛素抗性的近似方程。使用公式:空腹胰岛素(mIU/L) x 空腹葡萄糖(mg/dL) / 405来评估。HOMA-IR值小于3,指示胰岛素抗性正常;3-5之间的值指示中度的胰岛素抗性,而高于5的值指示严重的胰岛素抗性。参见下表8的研究数据总结中的结果。

[0116] 数据分析将数据表示为平均值 \pm SD。组内分析是使用配对的“t”检验完成的。组间使用ANOVA进行分析。组间的事后分析是用图基检验完成的。p值 < 0.05 被认为是统计上显著的。使用软件GraphPad Prism 8进行统计分析。

[0117] 样本量:为检测出10mg/dL的PPBG降低,并且 α 误差幅度为5%、检验力为80%、并假设退出率为10%、以及筛选失败率为5%,总共筛选了94名患者。

[0118] 研究结果

[0119] 筛选了总共94名受试者,并且有80名合格受试者参加了本研究。总共78名受试者完成12周的治疗。在第一次随访之前,C组(NE 250mg BD)的两名受试者退出了本研究。一名受试者因为移居到另一座城市而退出。另一名受试者因为已搬到同一城市的一个偏远地点,出于后勤方面原因而退出。表1中的人口统计数据示出了全部随机分组的受试者,因此每组20名。此外,表2至表14包括完成研究的受试者的数据。因此,总共A组(安慰剂BD)20名受试者、B组(NE 125mg BD)20名受试者、C组(NE 250mg BD)18名受试者以及D组(NE 500mg BD)20名受试者完成了12周的研究治疗。

[0120] 表7描述了四个研究组的人口统计学特征。治疗组之间的基线特征(包括年龄和体重指数(BMI))无显著差异,这指示同质群体。

表7-人口统计数据

	安慰剂 BD (A)	NE 125 mg BD (B)	NE 250 mg BD (C)	NE 500 mg BD (D)
总数量	20	20	20	20
性别 (M/F)	13M/7F	8M/12F	14M/6F	11M/9F
年龄 (岁)	51.80 ± 6.69	54.50 ± 8.18	53.20 ± 7.67	55.05 ± 7.88
BMI (Kg/m ²)	26.54 ± 2.33	25.63 ± 2.92	24.51 ± 1.91	26.01 ± 1.84

表8:在12周时,相比于安慰剂,2型糖尿病研究的结果总结

参数	12周变化%和相比于安慰剂的 p 值			
	安慰剂 13M + 7F	125 mg BID 8M + 12F	250 mg BID 14M + 6F	500 mg BID 11M + 9F
空腹血糖水平 (FBG)	-1.3 ± 3.4 NS	-8.3 ± 4.1 p ≤ 0.0001	-10.1 ± 3.7 p ≤ 0.0001	-19.3 ± 3.9 p ≤ 0.0001
餐后血糖水平 (PPBG)	-0.6 ± 2.3	-10.8 ± 4.8	-15.6 ± 4.7	-22.6 ± 4.4

	NS	$p \leq 0.0001$	$p \leq 0.0001$	$p \leq 0.0001$
胰岛素抵抗性 (HOMA-IR)	-10.1 ± 7.9 $p \leq 0.01$	-23.0 ± 11.1 $p \leq 0.001$	-32.9 ± 12.26 $p \leq 0.0001$	-57.4 ± 6.4 $p \leq 0.0001$
糖基化血红蛋白 (HbA1c)	-0.7 ± 1.3 $p \leq 0.05$	-3.4 ± 1.6 $p \leq 0.0001$	-8.7 ± 3.2 $p \leq 0.0001$	-19.6 ± 4.9 $p \leq 0.0001$
反射指数 (RI, %)	-0.10 ± 1.00 NS	-0.84 ± 0.31 NS	-2.41 ± 1.93 $p \leq 0.0001$	-3.21 ± 0.89 $p \leq 0.0001$
谷胱甘肽 (GSH)	0.10 ± 0.39 NS	1.17 ± 0.34 NS	8.14 ± 1.49 $p \leq 0.0001$	12.14 ± 2.39 $p \leq 0.0001$
丙二醛 (MDA)	-0.25 ± 0.57 NS	-2.90 ± 2.16 NS	-3.18 ± 1.33 NS	-11.47 ± 3.50 $p \leq 0.05$
一氧化氮 (NO)	5.39 ± 12.58 NS	13.40 ± 5.05 NS	16.28 ± 7.95 NS	22.12 ± 7.25 NS
C-反应蛋白 (hsCRP)	-0.59 ± 1.31 NS	-11.39 ± 7.72 $p \leq 0.05$	-18.28 ± 6.93 $p \leq 0.05$	-23.86 ± 12.10 $p \leq 0.0001$
白细胞介素-6 (IL-6)	-0.08 ± 0.24 NS	-3.86 ± 5.03 $p \leq 0.0001$	-8.10 ± 4.87 $p \leq 0.0001$	-10.31 ± 8.87 $p \leq 0.0001$
肿瘤坏死因子 (TNF- α)	-0.06 ± 1.42 NS	-5.11 ± 3.37 NS	-7.27 ± 4.40 NS	-9.09 ± 6.72 NS

P值针对测试产品对比安慰剂

[0121] 结论

[0122] 在当前研究中,如表8所示,印楝水提取物显著降低FBG、PPBG、HbA1c和HOMA-IR的水平。如通过反射指数(RI)的改善所评估,还显著改善了应激生物标志物MDA、NO和GSH以及内皮功能。还可见hsCRP、IL6和TNF α 水平的明显改善。在第4周、第8周和第12周进行测量。

[0123] 在B组(NE 125mg BD)、C组(NE 250mg BD)和D组(NE 500mg BD)中,在第4周、第8周和第12周结束时,与基线和安慰剂相比,观察到FBG、PPBG、HbA1c和HOMA-IR水平的显著改善。在A组(安慰剂BD)中未见这种作用。在组间分析中可观察到,在上述参数下,尽管C组和D组均优于B组,D组示出的反应优于C组。

[0124] 通过RI评估所测量,与基线相比,在第4周、第8周和第12周,在B组、C组和D组中内皮功能紊乱示出显著改善。A组没有示出任何作用。在进一步的组间分析中,观察到C组和D

组的反应优于B组,其中D组示出RI的最大改善。

[0125] 氧化应激生物标志物MDA、NO和GSH也显著改善。

[0126] 与基线相比,在治疗的第4周、第8周和第12周,B组、C组和D组的GSH值显著改善。A组没有示出任何作用。与安慰剂相比,第4周和第8周的组间分析示出了B组、C组和D组的显著性。与安慰剂组和治疗组相比,在第12周时可注意到C组和D组的显著性。

[0127] 与基线相比,在治疗的第4周、第8周和第12周,B组、C组和D组的MDA水平示出显著的改善。在A组中未见统计学上的显著改善。与安慰剂相比,第4周和第8周的组间分析在全部治疗组中均未示出MDA水平改善的任何显著性。与安慰剂相比,在第12周,只有D组示出显著的作用。在治疗组间未观察到显著性。

[0128] 与基线相比,在治疗的第4周、第8周和第12周,B组、C组和D组的一氧化氮水平显著改善。A组没有示出任何显著性。当对安慰剂组和治疗组的NO进行组间比较时,未见统计学显著性。

[0129] 与基线相比,在第4周、第8周和第12周,B组、C组和D组可观察到炎症标志物hsCRP的水平改善。A组没有示出任何改善。hsCRP的组间分析示出,在第4周和第8周,与安慰剂相比,B组和C组没有示出任何显著性。而与安慰剂和其他治疗组相比,D组已示出显著性。与安慰剂相比,在第12周,B组、C组和D组已示出hsCRP水平显著改善。与安慰剂和其他治疗组相比,D组示出最大的反应。

[0130] 与基线相比,在第4周和第12周,B组、C组和D组观察到促炎性标志物IL-6的水平改善。A组没有示出任何改善。与安慰剂相比,在第4周和第12周,B组、C组和D组的组间分析是显著的。在治疗组间未观察到显著性。

[0131] 与基线相比,在第4周和第12周,促炎性标志物TNF α 水平也在B组、C组和D组中示出显著改善。安慰剂组未见这种作用。TNF α 的组间分析示出,安慰剂组和治疗组之间没有显著性。

[0132] 在治疗12周结束时,确定血小板聚集百分比抑制(抑制%)。使用ADP(10 μ M/ml)和胶原蛋白(2 μ g/ml)的血小板聚集的正常范围在60%和90%之间。为示出药物是否影响血小板聚集,抑制百分比的变化应超过30%。在任何治疗组中均未观察到对血小板聚集的作用。

[0133] 在基线和治疗结束时,对于全部四个治疗组,按照访视时间表进行的全部安全性血液学和生物化学参数均在正常范围内。B组(NE 125mg BD)一名患者和D组(NE 500mg BD)一名患者报告了轻度的胃肠道不适,并且在对症治疗缓解。两组中受试者均未因不良事件而中断研究。

[0134] 该研究中使用的药物耐受性良好。没有报告严重不良事件。没有受试者因任何不良事件而中断研究,这表明该研究中所用治疗的安全性良好。

[0135] 当前研究的发现指示,印楝水提取物可作为辅助药物用于控制2型糖尿病患者的高血糖症。此外,如RI和生物标志物的变化所证明,它似乎可以改善2型糖尿病的心血管并发症。

[0136] 表9描述了PhytoBGS T2DM研究(NIMS)数据的总结,指出了基线(B)和12周的平均值%变化(M%C)。

表9:基线(B)和12周的平均值%变化(M%C)

分组	FBG		PPBG		HOMA IR		HbA1c	
	B	M%C	B	M%C	B	M%C	B	M%C
安慰剂 BD (A)	121.8	-1.3	202.3	-0.6	4.9	-10.1	7.62	-0.7
125 mg BD (B)	119.2	-8.3	194.4	-10.8	4.5	-23.0	6.87	-3.4
250 mg BD (C)	115.5	-10.1	192.3	-15.6	3.8	-32.9	7.52	-8.7
500 mg BD (D)	120.7	-19.3	205.9	-22.6	4.6	-57.4	7.78	-19.6

p值针对测试产品对比安慰剂并以 $p \leq 0.0001$ 显著,除了125mg BID组的HOMA IR值($p \leq 0.001$)。

[0137] 应当注意的是,经12周施用印楝提取物(同时施用二甲双胍)降低了2型糖尿病患者的FBG、PPBG和HbA1C水平,并且将这些水平调节至接近正常。治疗后测量值如下:FBG: 97.3 ± 3.7 ($p \leq 0.0001$); PPBG: 159.3 ± 7.1 ($p \leq 0.0001$); HbA1C: 6.26 ± 0.4 ($p \leq 0.0001$)。

实例5-代谢综合征临床研究

[0138] 在患有代谢综合征的人受试者中评估印楝提取物对血糖控制、内皮功能紊乱、生物标志物和血小板聚集的作用。

[0139] 研究方法、治疗水平和治疗组与实例4相同,不同的是在该研究中招募了符合代谢综合征原则的受试者。

[0140] 表10描述了四个研究组的人口统计学特征。治疗组之间的基线特征(包括年龄和体重指数(BMI))无显著差异,这指示同质群体。

表10:人口统计数据

	安慰剂 BD	NE 125 mg BD	NE 250 mg BD	NE 500 mg BD
	(A)	(B)	(C)	(D)
总数量	20	20	20	20
性别 (M/F)	11M / 9F	13M / 7F	12M / 8F	11M / 9F
年龄 (岁)	42.7 ± 5.42	43.45 ± 5.79	47.35 ± 5.14	46.8 ± 5.16
BMI (Kg/m ²)	30.74 ± 0.76	31.21 ± 1.09	31.01 ± 1.04	31.10 ± 1.07

表11:代谢综合征研究相比于安慰剂的结果总结

参数	12 周平均值%变化和相比于安慰剂的 p 值			
	安慰剂 11M + 9F	125 mg BID 13M + 7F	250 mg BID 12M + 8F	500 mg BID 11M + 9F
空腹血糖水平 (FBG)	5.7 ± 5.5	2.4 ± 8.3	-3.1 ± 3.9	-6.0 ± 2.5 Ω - p ≤ 0.01
餐后血糖水平 (PPBG)	4.4 ± 2.6	3.6 ± 4.2	-0.4 ± 5.7	-4.1 ± 4.6 Ω - p ≤ 0.01
反射指数 (内皮功能)	-0.07 ± 0.15	-0.59 ± 0.25 ‡ - p ≤ 0.05	-0.68 ± 0.29 ‡ - p ≤ 0.05	-1.15 ± 0.28 Ω - p ≤ 0.01

[0141] 表11示出了治疗12周后与安慰剂相比(组间)的血糖和反射指数数据总结。

表12:代谢综合征研究相比于基线的结果总结

参数	12 周平均值%变化和相比于基线的 p 值			
	安慰剂 13M + 7F	125 mg BID 8M + 12F	250 mg BID 14M + 6F	500 mg BID 11M + 9F

HOMA IR	24.9 ± 18.4	4.3 ± 15.2	-5.6 ± 9.5 \$- p ≤ 0.01	-12.1 ± 7.1 * - p ≤ 0.0001
HbA1c	1.28 ± 1.25	0.47 ± 1.47	-0.58 ± 0.98 \$ - p ≤ 0.01	-1.72 ± 2.30 \$ - p ≤ 0.01
谷胱甘肽 (GSH)	0.06 ± 0.14	0.41 ± 0.15 * - p ≤ 0.0001	0.56 ± 0.11 * - p ≤ 0.0001	0.76 ± 0.45 * - p ≤ 0.0001
丙二醛 (MDA)	3.65 ± 2.04	-1.03 ± 2.44	-3.05 ± 2.31 * - p ≤ 0.0001	-5.88 ± 3.52 * - p ≤ 0.0001
一氧化氮 (NO)	1.35 ± 4.46	1.39 ± 1.42	3.42 ± 9.32 * - p ≤ 0.0001	4.14 ± 2.31 * - p ≤ 0.0001
C-反应蛋白 (hsCRP)	3.78 ± 5.99	2.69 ± 4.13	-3.30 ± 1.82 * - p ≤ 0.0001	-10.22 ± 7.85 * - p ≤ 0.0001
白细胞介素-6 (IL-6)	0.43 ± 1.54	-0.62 ± 2.58	-2.70 ± 4.28 \$ - p ≤ 0.01	-5.18 ± 3.40 * - p ≤ 0.0001
肿瘤坏死因子-α (TNF-α)	0.58 ± 0.94	-0.75 ± 2.59	-0.99 ± 0.73 * - p ≤ 0.0001	-1.01 ± 0.58 * - p ≤ 0.0001
血小板聚集抑制	无作用	无作用	无作用	无作用

[0142] 表12示出治疗12周后相比于基线(组间)的氧化应激生物标志物和其他血液测量数据总结。

[0143] 本发明的这些营养组合物可以与营养上可接受的载体组合施用。在此类配制品中可以包含按重量计1%至按重量计99%、或可替代地按重量计0.1%至按重量计99.9%的活性成分。“营养上可接受的载体”意指与配制品中的其他成分兼容并且对使用者无害的任何载体、稀释剂或赋形剂。根据一个实施例,适合的营养上可接受的载体可以包括乙醇、乙醇水溶液混合物、水、果汁和/或蔬菜汁及其组合。

[0144] 本发明的这些药物组合物可以与药学上可接受的载体组合施用。在此类配制品中可以包含按重量计1%至按重量计99%、或可替代地按重量计0.1%至按重量计99.9%的活性成分。“药学上可接受的载体”意指与配制品中的其他成分兼容并且对使用者无害的任何载体、稀释剂或赋形剂。

[0145] 递送系统

[0146] 适合的剂型包括片剂、胶囊、溶液、混悬剂、粉剂、胶质、以及糖果。舌下递送系统包括但不局限于,舌头下和舌头上可溶的药片、液滴、以及饮料。可以使用可食用膜、亲水性聚

合物、口服可溶性膜或口服可溶性条。其他有用的递送系统包括口腔喷雾或鼻腔喷雾或吸入器等。

[0147] 对于口服施用而言,可以将喜来芝、尿石素A、尿石素B、或其组合进一步与一种或多种固体无活性成分进行组合以用于制备片剂、胶囊、丸剂、粉剂、颗粒或其他适合剂型。对于口服施用而言,可以将印楝提取物与一种或多种固体无活性成分进行组合以用于制备片剂、胶囊、丸剂、粉剂、颗粒或其他适合剂型。例如,可以将活性剂与至少一种赋形剂进行组合,这些赋形剂是例如填充剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、溶液阻滞剂、吸收促进剂、润湿剂、吸收剂、或润滑剂。其他有用的赋形剂包括硬脂酸镁、硬脂酸钙、甘露醇、木糖醇、甜味剂、淀粉、羧甲基纤维素、微晶纤维素、硅石、明胶、二氧化硅等。

[0148] 本发明的组分连同常规的佐剂、载体、或稀释剂因此可以被放置为药物组合物及其单位剂量的形式。此类形式包括固体,特别是片剂、填充的胶囊、粉剂和球粒形式;以及液体,特别是全部用于口服使用的水性或非水性溶液、混悬剂、乳剂、酏剂、以及填充有它们的胶囊;用于直肠施用的栓剂;以及用于肠胃外使用的无菌可注射溶液。此类药物组合物及其单位剂型可以按常规比例包含常规成分,具有或不具有另外的活性化合物或要素,并且此类单位剂型可含有任何适合的有有效量的活性成分,其量与预期使用的每日剂量范围相称。

[0149] 本发明的组分能以多种多样的口服剂型和肠胃外剂型施用。对本领域的普通技术人员将显而易见的是,以下剂型可以包括作为活性组分的本发明的化学化合物或本发明的化学化合物的药学上可接受的盐。

[0150] 对于由本发明的化学化合物制备药物组合物,药学上可接受的载体可以是固体的或液体的。固体形式制剂包括粉剂、片剂、丸剂、胶囊、扁囊剂、栓剂、以及可分散的颗粒。固体载体可以是一种或多种以下物质,这些物质还可以作为稀释剂、调味剂、增溶剂、滑润剂、助悬剂、粘合剂、防腐剂、片剂崩解剂、或封装材料。

[0151] 在粉剂中,载体是与精细分散的活性组分处于混合物形式的精细分散的固体。在片剂中,将活性组分与处于适合比例的具有必需的结合能力的载体混合并且被压实为所希望的形状和尺寸。

[0152] 粉剂和片剂优选地含有百分之五或百分之十至约百分之七十的一种或多种活性化合物。适合的载体是碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、糖、乳糖、果胶、糊精、淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点蜡、可可油等。术语“制剂”旨在包括活性化合物与作为载体以提供胶囊的封装材料的配制品,其中含或不含载体的活性组分被载体包围,从而与其结合在一起。类似地,包括扁囊剂和锭剂。包括片剂、粉剂、胶囊、丸剂、扁囊剂、以及锭剂。可以将片剂、粉剂、胶囊、丸剂、扁囊剂、以及锭剂用作适于口服施用的固体形式。

[0153] 液体制剂包括溶液、混悬剂、以及乳剂,例如水或水-丙二醇溶液。例如,肠胃外注射液体制剂可以被配制为处于聚乙二醇水溶液中的溶液。根据本发明的化学化合物因此可以被配制为用于肠胃外施用(例如,通过注射,例如弹丸注射或连续输注)并且能以用于安瓿、预填充的注射器、小体积的输注中或用于具有添加的防腐剂的多剂量容器中的单位剂型存在。组合物可以采用如下形式,如在油性或水性媒介物中的混悬剂、溶液、或乳剂,并且可以含有配制剂,如助悬剂、稳定剂和/或分散剂。可替代地,活性成分可以处于在使用之前用一种适合的媒介物(例如无菌的无热原水)复水的粉末形式(通过无菌固体的消毒分离或通过从溶液中冻干而获得)。

[0154] 可以通过将活性组分溶解于水中并且按需要添加适合的着色剂、调味剂(flavor)、稳定剂以及增稠剂来制备适于口服使用的水溶液。可以通过用粘性材料(例如天然的或合成的胶质、树脂、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、或其他熟知的助悬剂)将精细分散的活性组分分散于水中来制造适于口服使用的水性混悬剂。

[0155] 适于口腔局部施用的组合物包括锭剂,其包含在调味基质中的活性剂,该调味基质通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄芪胶;软锭剂,其包含在惰性基质中的活性成分,该惰性基质是例如明胶和甘油,或葡萄糖和阿拉伯胶;和漱口水,其包含在适合的液体载体中的活性成分。

[0156] 通过常规手段直接将溶液或混悬剂施用至鼻腔,例如用滴管、移液管或喷雾。组合物能以单一或多剂型被提供。在用于向呼吸道施用的组合物(包括鼻内组合物)中,化合物将通常具有小的颗粒尺寸,例如5微米的量级或更小。可以通过本领域已知的手段(例如通过微粒化)获得这样的颗粒尺寸。

[0157] 药物制剂优选地处于单位剂型。在这种形式中,制剂被细分为包含适当数量的活性组分的单位剂量。单位剂型可以是包装制剂,该包装含有不连续数量的制剂,例如小瓶或安瓿中的包装的片剂、胶囊、以及粉剂。此外,单位剂型本身可以是胶囊、片剂、扁囊剂或锭剂,或它可以是呈包装形式的适当数目的任何这些剂型。

[0158] 用于口服施用的片剂、胶囊和锭剂以及用于口服使用的液体是优选的组合物。用于施用至鼻腔或呼吸道的溶液或混悬剂是优选的组合物。用于局部施用至皮肤的透皮贴剂是优选的。

[0159] 用于配制和施用的技术的另外的细节可以在最新版本 *Remington's Pharmaceutical Sciences* [雷明顿药物科学] (麦克出版公司(Mack Publishing Co.), 伊斯顿,宾夕法尼亚) 中找到。

[0160] 除了上述列举的营养组合物成分或化合物以外,用于口服施用的固体营养组合物可以任选地含有:载体材料,如玉米淀粉、明胶、阿拉伯胶、微晶纤维素、高岭土、磷酸二钙、碳酸钙、氯化钠、海藻酸等;分解剂,包括微晶纤维素、海藻酸等;粘合剂,包括阿拉伯胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素等;以及滑润剂,如硬脂酸镁、硬脂酸、硅酮流体、滑石、蜡、油、胶体二氧化硅等。此类赋形剂的有用性在本领域内是熟知的。

[0161] 在一个优选的实施例中,营养组合物可以呈液体的形式。根据本实施例,提供了制备液体组合物的方法。

[0162] 可以在水或其他水性媒介物中制备与预防和/或治疗炎症、感冒和/或流感的方法有关地用于口服施用的液体营养组合物。除了上述列举的成分或化合物之外,液体营养组合物可以包括助悬剂,例如像甲基纤维素、海藻酸盐、黄芪胶、果胶、藻朊钠(kelgin)、角叉菜胶、阿拉伯胶、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇等。液体营养组合物可以呈溶液、乳剂、糖浆剂、凝胶或酏剂的形式,包括或含有连同以上列举的成分或化合物、润湿剂、甜味剂以及着色剂和调味剂。不同液体和粉末营养组合物可以通过常规方法制备。预期了各种即饮配制品(RTD)。

[0163] 施用途径

[0164] 这些组合物可以通过任何适合的途径来施用,包括但不限于,口服、舌下、口腔、

眼睛、肺部、直肠、以及肠胃外施用,或作为口腔喷雾或鼻腔喷雾(例如喷雾状的蒸汽、液滴或固体微粒的吸入)。肠胃外施用包括例如静脉内、肌内、动脉内、腹膜内、鼻内、阴道内、膀胱内(例如,向膀胱)、真皮内、透皮、局部或皮下施用。还预期在本发明的范围内的是将药物组合物以控制的配制品的形式滴注至患者的体内,其中该药物的全身性或局部释放在较晚的时间发生。例如,该药物可以被定位于储存处用于至循环的控释,或用于释放至局部位点。

[0165] 本发明的药物组合物可以是适于口服、直肠、支气管、鼻、肺、局部(包括口腔和舌下)、透皮、阴道或肠胃外(包括皮肤、皮下、肌内、腹膜内、静脉内、动脉内、脑内、眼内注射或输注)施用的那些,或处于适于通过吸入或吹入(包括粉剂和液体气溶胶)施用、或通过缓释系统施用的形式的那些。缓释系统的适合的实例包括含有本发明的化合物的固体疏水性聚合物的半透性基质,这些基质可以处于已定形的物品的形式,例如薄膜或微囊剂。

[0166] 在描述当前要求保护的发明的上下文中(尤其是权利要求的上下文中),术语“一个/一种(a/an)”、“所述/该(the)”以及相似指代词的使用应解释为涵盖单数和复数两者,除非本文另外指示或明显地与上下文矛盾。除非本文另外指示,否则本文数值范围的叙述仅旨在用作单独指示落入该范围内的每个独立数值的速记方法,并且将每个独立数值并入说明书中,就如同它是单独在本文叙述一样。术语“约”的使用旨在描述在大约 $\pm 10\%$ 的范围内高于或低于所述值的值;在其他实施例中,值的范围可以是高于或低于所述值的大约 $\pm 5\%$ 的范围;在其他实施例中,值的范围可以是高于或低于所述值的大约 $\pm 2\%$ 的范围;在其他实施例中,值的范围可以是高于或低于所述值的大约 $\pm 1\%$ 的范围。上述范围旨在根据上下文确定,并且未隐含进一步限制。本文描述的所有方法能以任何适合的顺序进行,除非本文另外指示或明显地与上下文矛盾。本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如,“如”)的使用仅旨在更好地描述本发明并且不对本发明的范围构成限制,除非另外声明。说明书中的任何语言都不应当解释为指示任何未要求保护的要素为实践本发明所必需的。

[0167] 尽管在前述说明书中,已经就本发明的某些实施例对其进行了描述,并且为了说明的目的已经提出了许多细节,但是对本领域普通技术人员显而易见的是本发明易受另外的实施例的影响并且本文描述的某些细节可以在不偏离本发明的基本原则下进行相当大的改变。

[0168] 本文所引用的所有参考文献均通过引用以其全文并入。在不偏离本发明的精神或基本属性下,本发明可以以其他特定形式实施,并且因此在指明本发明的范围时应参考所附权利要求,而非参考前述说明书。

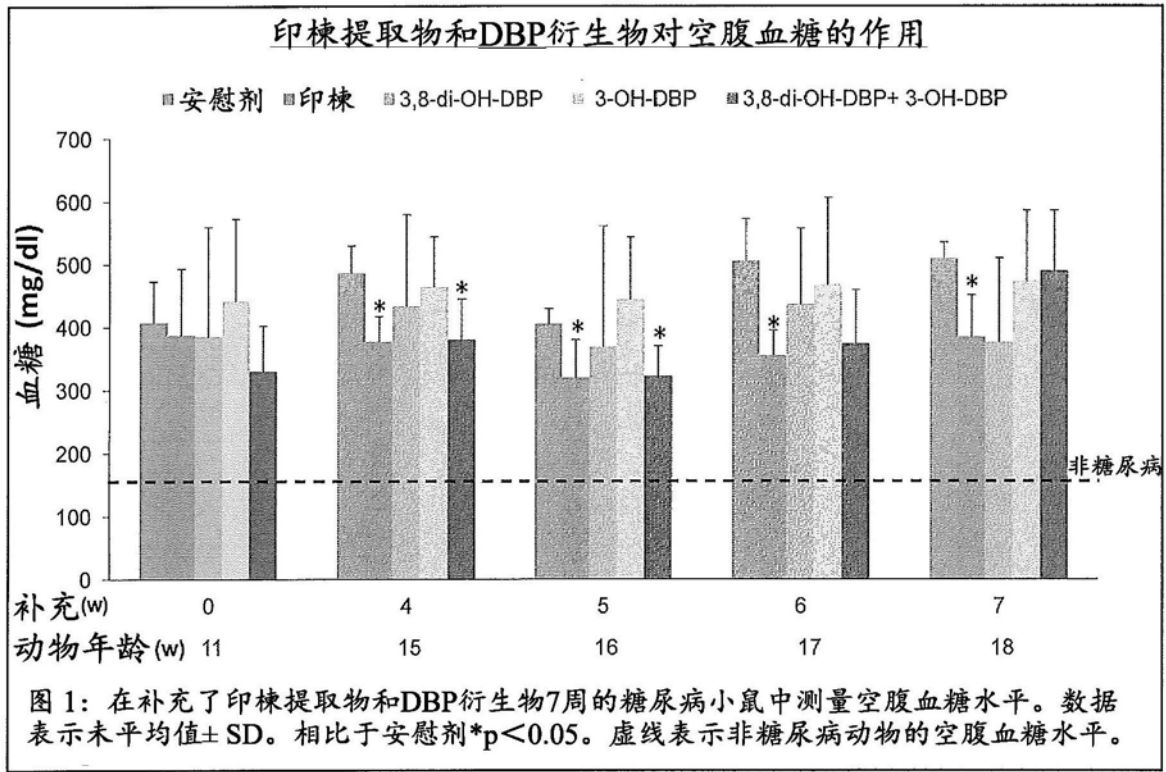


图1