



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2002129014/14, 02.04.2001

(24) Дата начала действия патента: 02.04.2001

(30) Приоритет: 31.03.2000 US 60/194,061

(43) Дата публикации заявки: 10.04.2004

(45) Опубликовано: 27.09.2005 Бюл. № 27

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 9819998, 14.05.1998. RU 98121213 A, 10.09.2000. DE 29909210, 09.09.1999. ДЖОН Ф. ЛЕЙКОК и др. Основы эндокринологии, М., Медицина, 2000, с.386-387. PEDERSON R.A. et al. Diabetes, New York, 1998, v.47, no 8, pp.1253-1258.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 31.10.2002

(86) Заявка РСТ:
EP 01/03725 (02.04.2001)

(87) Публикация РСТ:
WO 01/72290 (04.10.2001)

Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Г.Б. Егоровой

(72) Автор(ы):
ДЕМУТ Ханс-Ульрих (DE),
ГЛУНД Конрад (DE)

(73) Патентообладатель(ли):
ПРОСИДАЙЕН ЛИМИТЕД (GB)

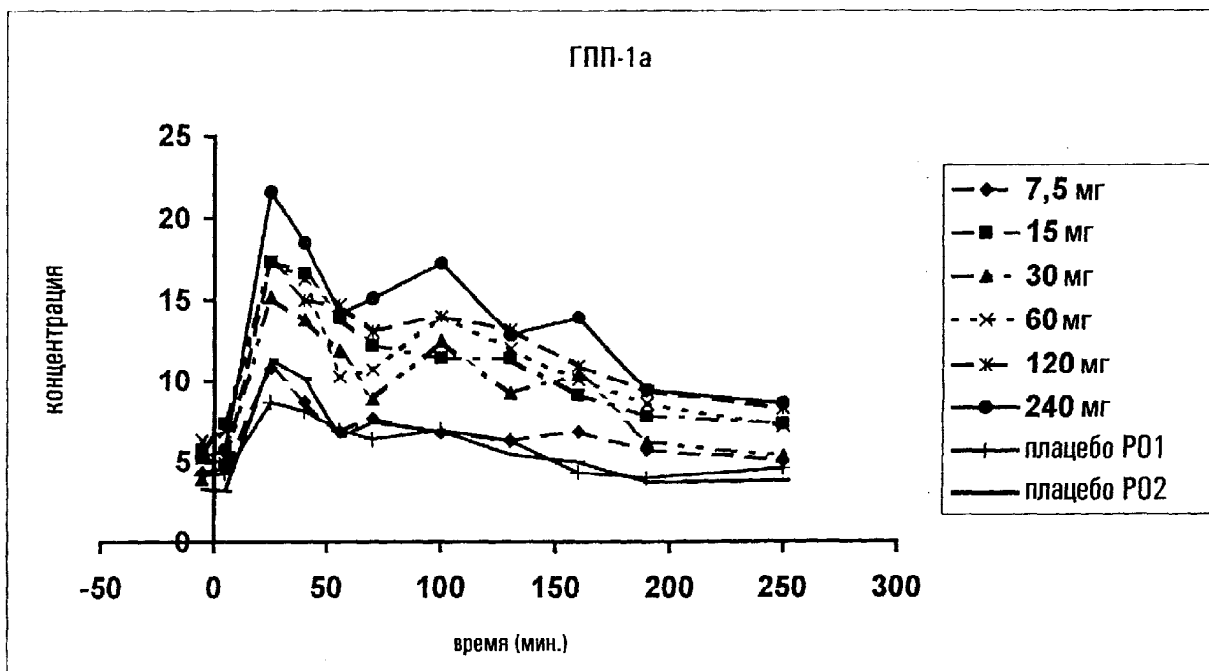
(54) СПОСОБ УЛУЧШЕНИЯ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА В ОСТРОВКАХ ЛАНГЕРГАНСА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ЕГО ПРОФИЛАКТИКЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к эндокринологии, и касается лечения диабета у млекопитающих. Для этого предлагают использовать ингибиторы активности фермента дипептидилпептидазы IV в качестве активного компонента в производстве лекарственного

средства, а также в способе лечения диабета. Изобретение обеспечивает повышение функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток у животного, дифференцировки эпителиальных клеток поджелудочной железы. 2 н. и 18 з.п. ф-лы, 5 ил., 2 табл.

ГПП-1а



Фиг. 1

RU 2 2 6 1 9 2 2 9 6 0 1 9 6 С 2

RU 2 2 6 1 0 9 6 С 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 261 096** (13) **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 31/425, 38/00, A 61
P 3/10**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2002129014/14, 02.04.2001**
(24) Effective date for property rights: **02.04.2001**
(30) Priority: **31.03.2000 US 60/194,061**
(43) Application published: **10.04.2004**
(45) Date of publication: **27.09.2005 Bull. 27**
(85) Commencement of national phase: **31.10.2002**
(86) PCT application:
EP 01/03725 (02.04.2001)
(87) PCT publication:
WO 01/72290 (04.10.2001)

Mail address:
**129010, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i
Partnery", pat.pov. G.B. Egorovoj**

(72) Inventor(s):
**DEMUT Khans-Ul'rikh (DE),
GLUND Konrad (DE)**
(73) Proprietor(s):
PROSIDAJEN LIMITED (GB)

(54) **METHOD FOR IMPROVING SIGNAL TRANSFER IN ISLETS OF LANGERHANS IN DIABETES MELLITUS AND IN ITS PROPHYLAXIS**

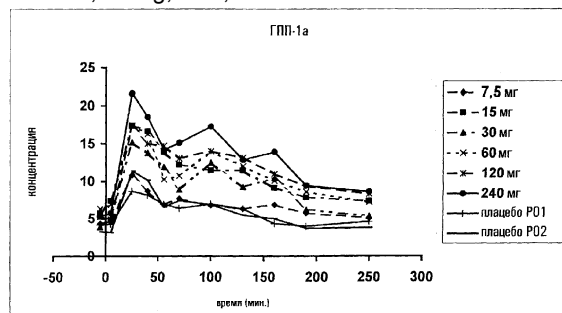
(57) Abstract:

FIELD: medicine, endocrinology.

SUBSTANCE: invention relates to treatment of diabetes mellitus in mammals. Invention proposes applying inhibitors of enzyme dipeptidyl peptidase IV as an active component in manufacturing a medicinal agent, and in a method for treatment of diabetes mellitus. Invention provides enhancing the functional activity of insulin-producing cells in animal and differentiation of epithelial cells of the pancreas.

EFFECT: improved method for insulin producing and diabetes treatment.

20 cl, 5 dwg, 2 tbl, 2 ex



Фиг. 1

Предпосылки

В состав поджелудочной железы входят две железистые ткани, одна представляет собой скопление клеток, которые выполняют экзокринную функцию поджелудочной железы, осуществляя которую эти экзокринные клетки синтезируют и высвобождают

5 пищеварительные ферменты в кишечник; другая ткань выполняет эндокринную функцию поджелудочной железы, синтезируя и высвобождая гормоны в кровотока. Важнейшее значение в эндокринной функции поджелудочной железы имеют β -клетки. Эти клетки синтезируют и секретируют гормон инсулин. Гормон инсулин играет жизненно важную роль в поддержании нормальных физиологических уровней глюкозы в крови. Существуют

10 молекулы, которые представляют собой эффекторы эндокринных клеток поджелудочной железы. Инкретины представляют собой пример таких молекул. Инкретины стимулируют индуцированную глюкозой секрецию инсулина поджелудочной железы.

Было показано, что инкретины, такие как амид глюкагоноподобного пептида-1 (7-36) («ГПП-1»; или lizard аналог Экзендин-4) и желудочный ингибиторный полипептид («GIP»),

15 являются инсулинотропными, т.е. их присутствие или стабильность могут обеспечивать быстрое подавление гликемии эффектами, стимулирующими секрецию инсулина. (Demuth, H.U., et al., DE 196 16 486:1-6, 1996; Pauly, R.P. et al., Regul. Pept. 64(1-3): 148, 1996, содержание которых приведено здесь в качестве ссылки в полном объеме). Кроме того, было показано, что ГПП-1 действует как гормон роста островков, стимулируя

20 пролиферацию β -клеток, увеличивая клеточную массу и переводя недифференцированные клетки поджелудочной железы в специализированные клетки островков Лангерганса. Такие клетки проявляют улучшенную секрецию инсулина и глюкагона (Yaekura, K. et al., IN: VIP, PACAP, и Related Peptides, W. G. Forssmann и S. I. Said (eds.). New York: New York Academy of Sciences, 1998, p. 445-450; Buteau, J. et al., Diabetologia 42 (7):

25 856-864, 1999, содержание которых приведено здесь в качестве ссылки в полном объеме).

Ранее было предложено применять экзогенный биоактивный ГПП-1 или его аналоги либо для стимуляции регенерации клеток островков *in vivo*, либо для получения клеток поджелудочной железы у больных сахарным диабетом и обработки таких клеток *ex vivo* в культуре ткани с использованием биоактивного ГПП-1. Считалось, что такая обработка *ex vivo* способствует регенерации и/или дифференцировке клеток островков, которые затем

30 могли синтезировать и секретировать инсулин или глюкагон (Zhou, J. et al., Diabetes, 48 (12): 2358-2366, 1999; Xu, G. et al., Diabetes, 48 (12): 2270-2276, 1999, содержание которых приведено здесь в качестве ссылки в полном объеме).

Однако такая схема лечения требует энтерального или парентерального введения пациентам биоактивного ГПП-1, включая возможность хирургического вмешательства. Одним аспектом является устранение необходимости в хирургическом лечении, энтеральном или парентеральном применении биоактивного ГПП-1.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к новому способу, при котором уменьшение

40 активности фермента дипептидил пептидазы (DP IV или CD 26) или активности DP IV-подобного фермента в крови млекопитающих, индуцированной эффекторами этого фермента, в результате приводит к снижению деградации гастроинтестинального полипептида амида-1 глюкагоноподобного пептида-1 7-36 (ГПП-17-36) (или структурно родственных функциональных аналогов этого пептида, таких как ГПП-17-36, или

45 усеченных, но биологически активных фрагментов ГПП-17-36) под действием DP IV и DP IV-подобных ферментов. Такая обработка приведет к уменьшению или задержке снижения концентрации функционально активных (включая ГПП-1 производные) циркулирующих пептидных гормонов ГПП-1 или их аналогов.

В результате получаемой повышенной стабильности циркулирующих пептидов эндогенного ГПП-1 (включая производные ГПП-1), вызванной ингибированием активности DP IV, активность ГПП-1 пролонгируется, обеспечивая функционально активные гормоны, представляющие собой циркулирующие пептиды ГПП-1 (включая производные ГПП-1), усиливающие соматостатиноподобную стимуляцию клеток поджелудочной железы, таким

образом, что указанные клетки пролиферируют до функционально активных клеток островков Лангерганса. Кроме того, нечувствительные клетки поджелудочной железы или поврежденные панкреатические клетки могут быть трансформированы в функционально активные клетки островков Лангерганса под действием ГПП-1.

5 Ожидалось, что трансформация нечувствительных клеток поджелудочной железы или разрушенных панкреатических клеток в функционально активные клетки островков Лангерганса в результате приводит к увеличению секреции инсулина и повышению содержания инсулина в плазме крови. Как ни странно, по данным исследований здоровых людей добровольцев и тучных диабетических крыс Zucker, содержание инсулина
10 снижалось после лечения ингибитором DP IV изолейцилтиазолидинхемифумаратом (P32/98) (см. примеры 1 и 2 соответственно). Тем не менее, результирующая регенерация островков Лангерганса изменяет действие эндогенного инсулина и других гормонов островков, таких как глюкагон, таким образом, что у леченых млекопитающих происходит стимуляция углеводного обмена. В результате этого уровень глюкозы в крови падал ниже
15 концентрации глюкозы, характерной для гипергликемии, как показано в примерах 1 и 2. Механизм, запускающий такие эффекты, подробно не изучен. Однако происходящая в результате регенерация клеток островков в дальнейшем действует при нарушениях метаболизма, включая глюкозурию, гиперлипидемию, а также тяжелый метаболический ацидоз и сахарный диабет, предупреждая или облегчая их осложнения.

20 В противоположность другим предложенным способам, известным в этой области, как, например, трансплантация клеток или ткани поджелудочной железы или обработка клеток поджелудочной железы ex vivo ГПП-1 или экзендином-4 с последующей реимплантацией обработанных клеток, настоящее изобретение не вызывает и не требует усложненного и дорогостоящего хирургического вмешательства и предусматривает доступную
25 пероральную терапию. Настоящее изобретение представляет собой новый подход к снижению повышенной концентрации глюкозы в крови. Этот способ коммерчески выгоден и особенно подходит для применения в схемах лечения заболеваний человека, многие из которых вызваны длительным повышением уровней глюкозы в крови.

Краткое описание чертежей

30 Настоящее изобретение далее будет рассмотрено со ссылкой на чертежи, где на фиг.1 графически представлена временная зависимость циркуляции биоактивного ГПП-1 у человека (n=36) от перорального применения ингибитора DP IV в виде композиции P32/98;

на фиг.2 графически представлена зависимость AUC циркулирующего биоактивного
35 ГПП-1 у человека (n=36) от перорального применения ингибитора DP IV в виде композиции P32/98;

на фиг.3 графически представлено улучшение утреннего содержания глюкозы в крови (УГК) после подострого монотерапевтического лечения композицией P32/98 в количестве 8,7 мг/кг/сутки тучных диабетических крыс fa/fa;

40 на фиг.4А графически представлено улучшение регуляции глюкозы вследствие лечения ингибитором DP IV после 16-дневного лечения тучных диабетических крыс;

на фиг.4В графически представлено снижение секреции инсулина вследствие лечения ингибитором DP IV после 16, дневного лечения тучных диабетических крыс;

на фиг.5А графически представлено содержание глюкозы в крови как функции времени
45 при поддержании улучшения гликемического состояния после 21 суток подострого лечения тучных диабетических крыс fa/fa включенным в композицию ингибитором DP IV p32/98;

на фиг.5В графически представлено содержание инсулина в плазме как функция времени при поддержании улучшенного гликемического состояния после 21 суток подострого лечения тучных диабетических крыс fa/fa включенным в композицию
50 ингибитором DP IV p32/98.

Подробное описание

Настоящее изобретение относится к новому способу дифференцировки и/или восстановления структуры клеток поджелудочной железы. Происходящая в результате

этого регенерация клеток островков Лангерганса окажет благоприятное влияние на синтез и высвобождение эндогенного инсулина и других гормонов островков, таких как глюкагон, таким образом стимулируя углеводный обмен.

5 Индуцированная глюкозой секреция инсулина регулируется множеством гормонов и нейротрансмиттеров. Особый интерес представляют собой два кишечных гормона, глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) и желудочный ингибиторный пептид (GIP), каждый из которых является инсулинотропным агентом. Инсулинотропные агенты обладают способностью стимулировать или вызывать стимуляцию синтеза или экспрессии гормона инсулина.

10 ГПП-1 представляет собой сильный кишечный инсулинотропный агент, который усиливает секрецию инсулина и резко снижает уровни глюкозы, включая уровни, которые наблюдаются при диабете I и II типа. ГПП-1 альтернативно образуется в результате тканеспецифического расщепления в L-клетках кишечника, L-клетках эндокринной части поджелудочной железы и нейронах головного мозга. GIP синтезируется и высвобождается 15 двенадцатиперстной кишкой и проксимальной частью тощей кишки после приема пищи. Его высвобождение зависит от нескольких факторов, включая характер питания и предшествующее состояние здоровья. Первоначально он был обнаружен и назван в связи с его ингибирующими свойствами по отношению к секреции желудочного сока. Однако по мере продвижения исследования этого гормона были объяснены его более релевантные 20 физиологические функции. Более конкретно, GIP представляет собой инсулинотропный агент со стимулирующим влиянием на синтез и высвобождение инсулина.

DP IV представляет собой фермент, являющийся экзопептидазой, которая селективно расщепляет пептиды по предпоследним N-концевым остаткам пролина и аланина. Эндогенные субстраты этого фермента включают в себя инкретины, такие как 25 глюкозозависимые инсулинотропные полипептиды, как GIP и ГПП-1. В присутствии DP IV эти гормоны ферментативно восстанавливаются в неактивные формы. Неактивная форма GIP и ГПП не может индуцировать секрецию инсулина, таким образом, уровни глюкозы в крови повышаются, особенно при гипергликемическом состоянии. Повышенные уровни глюкозы связываются с различными патологическими состояниями, включая сахарный 30 диабет (Тип 1 и 2) и осложнения, сопутствующие сахарному диабету.

Также было открыто, что DP IV играет роль в опосредованном T-клетками иммунном ответе, например, при трансплантации. Было показано, что ингибирование DP IV продлевает время жизни сердечных трансплантатов. Кроме того, ингибирование DP IV способствовало подавлению ревматоидного артрита. DP IV также была приписана роль в 35 проникновении ВИЧ в T-клетки (T-хелперные клетки).

Были разработаны агенты, такие как N-(N'-замещенный глицил)-2-циано-пирролидины, L-трео-изолейцилтиазолидин (P32/98), L-алло-изолейцилтиазолидин, L-трео-изолейцилпирролидин, и L-алло-изолейцилпирролидин, которые ингибируют ферментативную активность DP IV, и описаны в публикациях US 6001155, WO 99/61431, 40 WO 99/67278, WO 99/67279, DE 19834591, WO 97/40832, DE 19616486 C2, WO 98/19998, WO 00/07617, WO 99/38501 и WO 99/46272, содержание которых приведено здесь в качестве ссылки в полном объеме. Назначением этих агентов является ингибирование DP IV и тем самым снижение уровней глюкозы в крови, благодаря чему лечение гипергликемии и сопутствующих заболеваний, связанных с повышенными уровнями глюкозы в крови, 45 становится эффективным. Авторы этого изобретения неожиданно открыли, что такие агенты могут быть выгодно использованы в совершенно разных терапевтических целях, уже известных в то время специалистам в данной области.

Заболевания, для которых характерно проявление гипергликемии, включают в себя такие заболевания как сахарный диабет I и II типов. Сахарный диабет в общем может 50 быть охарактеризован как недостаточность выброса гормона β -клетками поджелудочной железы. В норме эти клетки синтезируют и секретируют гормон инсулин. При сахарном диабете I типа эта недостаточность возникает из-за разрушения бета-клеток аутоиммунным процессом. Сахарный диабет II типа возникает главным образом из-за

сочетания бета-клеточной недостаточности и периферической невосприимчивости к инсулину. У больных сахарным диабетом количество бета-клеток снижено, и проблемой является не только способность бета-клеток синтезировать и высвобождать физиологический инсулин, но и критическая масса этих инсулин-продуцирующих клеток поджелудочной железы. Известно, что при диабете наблюдается утрата бета-клеток. С утратой этих инсулин, продуцирующих клеток эндокринная функция поджелудочной железы испытывает напряжение, например, для выработки инсулина. При снижении выброса инсулина из-за гипергликемии могут обостриться патологические процессы.

ГПП-1 действует как гормон роста островков, стимулируя пролиферацию β -клеток, увеличивая клеточную массу и переводя недифференцированные клетки поджелудочной железы в специализированные клетки островков Лангерганса. Так, под действием ГПП-1 клетки поджелудочной железы осуществляют усиленную секрецию инсулина и глюкагона (Yaekura, K. et al., IN: VIP, PACAP, and Related Peptides, W.G. Forssmann and S.I. Said (eds.). New York: New York Academy of Sciences, 1998, p. 445-450; Buteau, J. et al., Diabetologia 42 (7): 856-864, 1999). Авторы изобретения обнаружили, что желательнее увеличить период полужизни ГПП-1, способствуя таким образом восстановлению структуры бета-клеток поджелудочной железы. Авторы изобретения также открыли способ, посредством которого может быть ослаблен катаболизм ГПП-1 для улучшения восстановления структуры клеток поджелудочной железы.

Способ согласно настоящему изобретению для лечения гипергликемии у млекопитающих, включая человека, но не ограничиваясь ими, включает в себя увеличение наличия ГПП-1 путем ингибирования DP IV или активности родственных ферментов с использованием ингибитора этого фермента. Пероральный прием ингибитора DP IV может быть предпочтительным в большинстве случаев. Однако в настоящем изобретении представлены и другие пути введения. При ингибировании ферментативной активности DP IV период полужизни активной формы ГПП-1 будет существенно продлеваться и поддерживаться в физиологических условиях. Продление присутствия активного ГПП-1, в частности, в ткани поджелудочной железы будет способствовать дифференцировке эпителиальных клеток поджелудочной железы до эффекторных клеток поджелудочной железы, таких как инсулин-продуцирующие Р-клетки. Более того, продление присутствия физиологически активного ГПП-1 в ткани поджелудочной железы будет способствовать регенерации тех β -клеток, которые уже имеются, но нуждаются в восстановлении. Как ни странно, это действие заметно только при повторной дозировке (см. пример 2). После отмены лекарственного средства восстанавливается метаболический статус, который был до лечения, подострое или хроническое введение определенных доз эффектора DP IV необходимо для поддержания достигнутого улучшенного содержания глюкозы в крови. Эти восстановленные инсулин-продуцирующие клетки могут затем эффективно участвовать в коррекции и поддержании нормальных физиологических уровней глюкозы.

В настоящем изобретении эндогенный ГПП-1 синтезируется и высвобождается нормальными физиологическими путями. Прием пищи может стимулировать высвобождение ГПП-1. С другой стороны, глюкоза или ее аналоги могут быть введены перорально в виде фармацевтически приемлемого носителя (например, «сахарное драже») для стимуляции высвобождения эндогенного ГПП-1. Так глюкозу можно принимать до, одновременно или после введения ингибиторов DP IV.

Данное изобретение относится также к фармацевтическим композициям. Такие композиции включают в себя терапевтически (или профилактически) эффективное количество ингибитора (и/или сахарное драже, сопутствующее введению ингибитора DP IV) и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Носитель и композицию рекомендуется производить в лабораторных условиях и стерильно. Технологию производства в идеальном случае выбирают соответственно способу введения в соответствии с общепринятыми методиками.

Подходящие фармацевтически приемлемые носители включают в себя, не ограничиваясь ими, воду, солевые растворы (например, NaCl), спирты, камедь,

растительные масла, безиловые спирты, полиэтиленгликоли, желатин, углеводы, такие как лактоза, амилоза или крахмал, стеарат магния, тальк, вязкий парафин, эфиры жирных кислот, гидроксиметилцеллюлозу, парфюмерные масла, поливинилпирролидон и т.д. Фармацевтические препараты могут быть стерилизованы и, если требуется, смешаны с вспомогательными агентами, например смазывающими веществами, консервантами, стабилизаторами, увлажняющими агентами, эмульгаторами, солями для воздействия на осмотическое давление, буферами, красящими, вкусовыми и/или ароматическими и им подобными веществами, которые не взаимодействуют разрушающе с активными компонентами, но которые улучшают стабильность, технологичность и/или эстетическую привлекательность.

Композиции, если требуется, могут также содержать малые количества увлажняющих или эмульгирующих агентов или агентов, удерживающих pH. Кроме того, композиция может представлять собой жидкий раствор, суспензию, эмульсию, таблетку, драже, капсулу, формы с замедленным высвобождением или порошок. Кроме того, композиция может быть в форме суппозитория, с обычными связующими и носителями, такими как триглицериды. Пероральные формы могут включать в себя стандартные носители, такие как фармацевтические сорта маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, поливинилпирролидона, сахарина натрия, целлюлозы, карбоната магния и т.п.

Далее, композиции могут быть изготовлены в соответствии с методами, хорошо известными в области фармацевтических композиций, пригодных для внутривенного введения человеку. Обычно композиции для внутривенного введения представляют собой стерильный изотонический водный буферный раствор. Когда необходимо, композиция может также включать в себя растворяющий агент и местный анестетик для ослабления боли в месте инъекции. Обычно ингредиенты подают либо отдельно, либо в смеси друг с другом в стандартной дозированной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметически запечатанном контейнере, таком как ампула или пакетик, показывающем количество активного соединения. Когда композицию вводят инфузионно, ее можно поместить в инфузионный флакон, содержащий фармацевтически приемлемую стерильную воду, физиологический раствор или раствор декстроза/вода. Когда композицию вводят путем инъекции, ампулу стерильной воды для инъекций или физиологический раствор можно установить таким образом, что ингредиенты могут быть смешаны непосредственно перед введением.

Наконец, композиции согласно изобретению могут быть изготовлены в нейтральном виде или в виде соли.

Фармацевтически приемлемые соли включают в себя такие соли, которые образованы свободными аминогруппами, как, например, полученные из соляной, фосфорной, уксусной, щавелевой, винной кислот и т.п. и полученные из натрия, калия, аммония, кальция, гидроксидов железа, изопропиламина, триэтиламина, 2-этиламиноэтанола, гистидина, новокаина и других солевых форм, которые известны в этой области.

Количество композиции согласно изобретению, которое будет эффективно в лечении конкретного нарушения или состояния, будет зависеть от природы расстройства или состояния и может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, необязательно могут быть проведены исследования *in vitro* и/или *in vivo* для определения оптимальных интервалов доз. Точная доза, используемая в композиции, также будет зависеть от пути введения и тяжести заболевания или расстройства. Дозу следует определять лечащему врачу для каждого конкретного пациента.

Квалифицированному специалисту в данной области будет очевидно, что могут быть сделаны многочисленные модификации приведенных здесь примеров и инструкций, включая получение других ингибиторов DP IV и других терапевтических композиций без отступления от сущности и не выходя за рамки объема настоящего изобретения. Следующие примеры, как описано, не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

DP IV-ингибитор P32/98 активно транспортируется через кишечный переносчик пептидов PerT1. Быстрый и активный транспорт P32/98 через слизистую кишечника объясняет быстрое начало действия, t_{max} является необходимым условием для эффективного

5 целенаправленного действия дипептидилпептидазы IV (DP IV). Пероральный прием P32/98 приводит к максимально направленному ингибированию от 15 до 20 мин и от 30 до 40 мин после приема пищи у крыс и людей соответственно. Следовательно, DP IV-ингибитор следует вводить за 10-20 мин до приема глюкозы или пищи.

В первом исследовании P32/98 на человеке фармакодинамические параметры, такие как

10 концентрация инсулина и концентрация ГПП-1 в плазме и содержание глюкозы в крови, были исследованы на 36 здоровых мужчинах-добровольцах.

Перорально вводимые дозы P32/98 составляли 7,5 мг, 15 мг, 30 мг, 60 мг, 120 мг и 240 мг. Результаты вышеуказанных фармакодинамических параметров приведены ниже в

Таблице 1.

36 здоровых лиц мужского пола были разделены на 3 индивидуальные группы по 12 человек в каждой. В каждой индивидуальной группе 9 человек получали активное

15 лекарственное средство P32/98 и 3 получали плацебо. Лицам, получавшим активное лекарственное средство, дозу вводили дважды в различные периоды и с различным содержанием активного вещества. Получаемые группами дозы P32/98 были следующими: I

20 группа получала 7,5 мг и 60 мг; II группа получала 15 мг и 120 мг; и III группа получала 30 мг и 240 мг. Лица во всех группах, получавших плацебо, получали плацебо в том и другом интервале доз.

Предварительное изучение лиц, принимавших участие в исследовании, проводили в течение 3-14 дней перед исследованием. Вторая часть исследования включала в себя

25 экспериментальную фазу и последующие шесть приемов однократных доз восходящих концентраций P32/98 (периоды от 1 до 6; Таблица 2), что завершалось последующей оценкой. Все лица, принимавшие участие в предварительном исследовании и экспериментальной фазе, были разделены фазой выведения по меньшей мере в 5 дней. Дальнейшее исследование было проведено по меньшей мере через 7 дней после

30 последнего введения исследуемого препарата. Методика исследования в шести периодах была идентичной, за исключением исследуемой дозы.

Методы

Пероральный тест толерантности к глюкозе («ПТТГ»):

Испытуемые должны были голодать по меньшей мере в течение 12 часов и 3 дня

35 соблюдать углеводную диету перед каждым ПТТГ. В каждом тесте толерантности к глюкозе обследуемые лица получали 300 мл моно-/дисахаридного раствора, эквивалентного 75 г глюкозы (Dextro® O.G.-T, Boehringer Mannheim, FRG). Образцы крови (по 1,2 мл в пробирки с фторидом натрия) брали непосредственно перед потреблением глюкозы и через 30, 60, 90 и 120 мин после этого. Любая концентрация глюкозы выше 126 мг/дл

40 (7,0 ммоль/л) в 0 мин и 120 мин рассматривалась как патологическое состояние толерантности к глюкозе.

Длительный ПТТГ проводили в 1 день каждого периода введения препарата. Испытуемые получали 300 мл моно-/дисахаридного раствора, эквивалентного 75 г глюкозы. Образцы крови (1,2 мл) брали в следующих интервалах: 1) за 5 минут до потребления

45 глюкозы; 2) через 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 и 180 мин после потребления глюкозы; 3) 4, 12, и 24 и 48 часов после потребления глюкозы.

Кроме того, были получены другие фармакодинамические параметры, хорошо известные в данной области

Инсулин: 4,7 мл крови собирали в пробирки, содержащие 4,9 мл ЭДТА. Образцы

50 центрифугировали (1500 g, 10 мин) и хранили замороженными при -70°C до лабораторного анализа.

Глюкоза: 1,2 мл крови собирали в пробирки, содержащие 1,2 мл фторида натрия. Образцы плазмы центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин и хранили

замороженными при -70°C до лабораторного анализа.

ГПП-1: 2,7 мл крови собирали в пробирки с ЭДТА и помещали на лед или замораживали и к ним добавляли ингибитор дипептидилпептидазы IV. Ингибитор исследователи готовили заранее. Кровь собирали в пробирки и сразу же центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин в охлажденной центрифуге или кровь помещали на лед и центрифугировали в течение 1 часа, и разливали на равные образцы. Кровь хранили в соответствующих количествах при -70°C (во избежание множественных циклов замораживания/размораживания) до лабораторного анализа.

Результаты

Концентрации активного ГПП-1 Был показан зависимый от дозы эффект P32/98 по сравнению с плацебо. Предельная индивидуальная концентрация варьировала между 2-68 пмоль/л. Средние значения в группе предварительной дозы составляли между $3,77 \pm 2,62$ пмоль/л и $6,67 \pm 9,43$ пмоль/л и возрастали на 4,22 и 7,66 пмоль/л после применения плацебо, но на 11,6 пмоль/л (15 мг) и 15,99 пмоль/л (240 мг P32/98) после применения ингибитора. Если относительное среднее возрастание устанавливали из абсолютных концентраций, концентрации активного ГПП-1 возрастали приблизительно на 200-300% после лечения плацебо, но приблизительно на 300-400% после лечения P32/98. Абсолютное возрастание в среднем после применения 15-240 мг P32/98 было в 2-3 раза выше по сравнению с плацебо и дозой 7,5 мг (см. Таблицу 1) и в основном показывает зависимость доза-ответ. Возрастание выше значений предварительной дозы имело место приблизительно вплоть до 3-4 часов относительно дозы P32/98.

Концентрация инсулина показала общий единичный интервал значений между 3,40 и 155,1 мкМЕ/мл. Средние значения ($\pm\text{CO}$) концентрации предварительной дозы варьировали между $7,96 \pm 1,92$ мкМЕ/мл (30 мг) и $11,93 \pm 2,91$ мкМЕ/мл (60 мг P32/98). После потребления 75 г глюкозы через 10 мин после дозы P32/98/плацебо средние значения концентрации инсулина возрастали на 30,12 мкМЕ/мл (120 мг P32/98)-56,92 мкМЕ/мл (группа 30 мг) в течение 40-55 мин. Не было явного различия между плацебо и группами, которым назначали P32/98, и, кроме того, нет доказательства дозозависимого эффекта P32/98. Интересно то, что абсолютное возрастание концентрации инсулина было наименьшим в двух группах, получавших самую высокую дозу P32/98 (см. Таблицу 1). Концентрации инсулина возрастали в течение 3-4 часов во всех группах, включая группу плацебо.

Концентрации глюкозы изменялись в предельном интервале от 2,47 до 11,7 ммоль/л при голодании, на протяжении OGGT или после приема пищи среди всех изучаемых лиц. Средние значения концентрации предварительной дозы между $4,55 \pm 0,41$ (15 мг) и $4,83 \pm 0,30$ ммоль/л (7,5 мг P32/98) близко подходили друг к другу и показывали небольшое различие. Средние значения максимальных концентраций достигались за 40-55 мин после потребления дозы, т.е. через 30-45 мин после приема 75 г глюкозы.

Абсолютные средние значения концентраций были самыми высокими в двух группах плацебо и в группе, получавшей дозу 7,5 мг P32/98. Самые низкие абсолютные средние значения наблюдались в группах, получавших дозу 15 мг, 60 мг и 240 мг. Соответствующие средние значения изменяются в интервале между 3,44 и 4,21 ммоль/л и 1,71 и 3,41 ммоль/л соответственно и близко подходят к средним величинам, приведенным в Таблице 1. Хотя строгой зависимости от дозы не наблюдалось, эти результаты показывают более слабое возрастание концентраций глюкозы с увеличением доз от 15-240 мг P32/98 по сравнению с плацебо.

Таблица 1:
Максимальные изменения фармакодинамических параметров (0-12 ч, средние значения)

	Плацебо	7,5 мг	15 мг	30 мг	Плацебо	60 мг	120 мг	240 мг
	(1-3)	P32/98	P32/98	P32/98	(4.6)	P32/98	P32/98	P32/98
ГПП-1, активный [пмоль/л]	3,90	4,10	10,00	10,60	5,30	12,20	11,10	14,50
	0:25 ч	1:10ч	0:25 ч	0:40 ч	0:40 ч	0:25 ч	0:25 ч	0:25 ч

Инсулин [мкИЕ/мл]	46,29 0:55 ч	41,86 0:55 ч	29,67 0:55 ч	59,84 0:40 ч	42,90 0:40 ч	43,35 0:40 ч	28,63 0:40 ч	33,36 0:40 ч
Глюкоза [ммоль/л]	3,43 0:55 ч	4,66 0:55 ч	2,43 0:55 ч	3,38 0:40 ч	5,33 0:55 ч	2,92 0:40 ч	2,39 0:40 ч	1,73 0:40 ч

5

10

15

20

Таблица 2: Скорректированная C_{max} и AUC концентрации глюкозы через 0-3 ч после ПТТГ						
	AUC _{0→180мин} [ММОЛЬ*МИН/Л]			C_{max} [ММОЛЬ]		
	Среднее ±SD	Оценка	95%-CI	Среднее ±80	Оценка	95%-CI
Периоды 1-3						
Плацебо	223,9±143,3			4,16±1,10		
7,5 мг P32/98	299,7±111,4	75,8	-48,1-199,7	4,94±1,58	0,78	-0,40-1,96
15 мг P32/98	130,9±125,2	-93,0	-216,9-30,9	2,92±1,10	-1,24*	-2,43-0,06
30 мг P32/98	116,1±134,0	-107,7	-231,6-16,2	3,26±1,07	-0,90	-2,08-0,28
Периоды 4-6						
Плацебо	252,9±103,3			4,91±1,14		
60 мг P32/98	151,8±99,2	-101,1	-204,8-2,6	3,50±1,66	-1,41*	-2,66-0,17
120 мг P32/98	126,7±147,3	-126-1*	-229,8-22,4	3,09±1,47	-1,82**	-3,07-0,58
240 мг P32/98	24,7±66,6	-228,2***	-331,8-124-5	1,99±0,69	-2,92***	-4,16-1,68
¹ Результаты сравнения данных ANOVA с плацебо * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$						

Скорректированное по отношению к контролю среднее максимальное значение (C_{max}) концентраций глюкозы превышало 4,0 ммоль/л только в двух группах: плацебо и 7,5 мг P32/98.

Эти значения также были ниже 3,0 ммоль/л в группах, получавших 15 мг и 240 мг P32/98. Статистически значимое различие с введением плацебо было в группах, получавших дозы 15 мг, 60 мг, 120 мг и 240 мг P32/98, но не в группах, получавших дозы 7,5 мг и 30 мг. Корректированные по сравнению с контролем средние значения AUC были >200 ммоль*мин/л после плацебо и 7,5 мг P32/98, но несомненно ниже 200 ммоль*мин/л после доз 15 мг и 240 мг P32/98. Уменьшение общего содержания глюкозы после ПТТГ было статистически значимо в группах, получавших дозы 15 мг, 60 мг, 120 мг и 240 мг P32/98, но не в группах, получавших дозы 7,5 мг и 30 мг (см. Таблицу 2). Оценка значений, скорректированных по отношению к контролю, была сходна со значениями, полученными по нескорректированным данным. Таким образом, данные свидетельствовали о несомненно более низком содержании глюкозы после ПТТГ у здоровых испытуемых, принимавших P32/98, которое приблизительно, но не точно, зависело от дозы.

Выводы

Результаты этого исследования позволяют сделать следующие фармакодинамические выводы:

Активный ГПП-1 возрастал приблизительно на 300-400% после введения P32/98 за 10 мин до ПТТГ, для уровня дозы 7,5 мг не было видно заметного результата при введении плацебо (см фиг. 1 и 2). Концентрации инсулина оказались сниженными при дозах 120-240 мг после стимуляции 75 г глюкозы. На протяжении ПТТГ у здоровых испытуемых концентрации глюкозы свидетельствовали о значительно более слабом возрастании после введения P32/98 (15-240 мг) по сравнению с плацебо, вводимым в аналогичной P32/98 дозировке.

Пример 2

У тучных крыс Zucker, P32/98 начальная секреция инсулина зависит от питания. Однако во время подострого лечения P32/98 снижается общая дневная секреция инсулина. По сравнению с контрольным глибенкламидом, который увеличивает выброс инсулина на 27%, P32/98 вызывает экономию инсулина, сохраняя 45% по сравнению с контролем.

Тестирование проводили для того, чтобы определить, является ли P32/98 первым кандидатом, влияющим на толерантность к глюкозе *in vivo*, увеличивая период полужизни

циркулирующих инкретинов GIP и ГПП-1.

Сравнительные исследования выполняли с глибенкламидом (Maninile® Berlin-Chemie, Berlin, Germany) в качестве контрольного вещества. Глибенкламид является одним из наиболее эффективных лекарственных средств для снижения уровня глюкозы в крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и одним из наиболее часто назначаемых сульфонилмочевинных препаратов.

Самцов крыс Zucker fa/fa, с аномалиями метаболизма глюкозы, а также представляющих собой модель сахарного диабета 2 типа на животных, исследовали следующим путем:

Р32/98 и глибенкламид давали однократно ежедневно перед приемом пищи в течение 21 дня. Контролируемыми параметрами были содержание утренней глюкозы в крови и инсулина плазмы. По профилю дневных и ночных концентраций отслеживали содержание глюкозы в крови и инсулина с 16 по 17 дни. Для оценки изменений толерантности к глюкозе проводили ПТТГ окончательно на 21 день, отслеживая кинетику глюкозы крови и инсулина плазмы. Глибенкламид (DAB 1996; R011150/33372) был подарен Berlin-Chemie (Berlin, Germany). Самцы крыс Zucker (fa/fa) весом около 300 г были куплены у Charles River (Sulzfeld, Germany).

Методы

Условия содержания: Животных содержали по отдельности в обычных условиях с контролируемой температурой ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) при 12/12-часовом цикле свет/темнота (освещение в 06:00 а. м.).

Стандартные подстилки (ssniff®, Soest, Germany) и водопроводная вода, подкисленная HCl, предоставлялись ad libitum.

Катетеризация каротидной артерии: после одной недели адаптации крысам имплантировали каротидные катетеры под общим наркозом (инъекция 0,25 мл/кг интраперитонеально Rompun® [2%], Bayer, Germany) и 0,5 мл/кг интраперитонеально Velonarkon® (Arzneimittelwerk Dresden, Germany). Животных оставляли на одну неделю для выздоровления. Катетер промывали физиологическим раствором с гепарином (100 МЕ/мл) три раза в неделю.

Повторное введение: 30 самцов недиабетических крыс Wistar и 30 самцов диабетических крыс Zucker были выбраны случайным образом для KB (Контрольное Вещество: глибенкламид)-, ТВ- (Тестируемое Вещество: Р32/98) и КО (Контроль) групп (N=10 в группе). После этого недиабетическим крысам Wistar ежедневно однократно вводили перорально KB (5 мг/кг веса тела) или ТВ (21,61 мг/кг веса тела) и диабетическим крысам Zucker ежедневно однократно вводили перорально KB (1 мг/кг веса тела) или ТВ (21,61 мг/кг веса тела) в течение 21 дня в 05.00 дня (перед обычным потреблением пищи в темновую фазу). Контрольным животным вводили перорально 1% раствор целлюлозы (5 мл/кг). Каждое утро в 07.30 утра из хвостовой вены брали образцы крови для измерения глюкозы крови и инсулина плазмы. Последние образцы крови этой части программы для измерения глюкозы крови и инсулина плазмы были взяты на 15 день в 07.30 утра.

Пероральную лекарственную терапию продолжали в течение одной недели. Данные профиля дневных и ночных концентраций глюкозы крови ($\Delta t=3$ ч) и инсулина плазмы ($\Delta t=3-6$ ч) при вышеупомянутом лечении отслеживали с 16-го дня (начало в 05.00 дня) по 17-й день (окончание в 02.00 дня).

ПТТГ: Заключительный ПТТГ проводили на 21 день с образцами крови из хвостовой вены. Образцы крови брали из хвостовой вены в 12 ч (ночь перед 21 днем), в 0 мин (непосредственно перед началом ПТТГ), в 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 и 120 мин. Образцы крови отбирали в стеклянные капилляры на 20 мкл для измерений глюкозы крови и в пробирки Эппендорф (100 мкл). Пробирки Эппендорф сразу же центрифугировали и фракции плазмы хранили при -20°C для анализа инсулина.

Содержание глюкозы в крови: Содержание глюкозы измеряли с использованием глюкозооксидазного метода. (Super G Glukosemeter; Dr. Müller Gerätebau, Freital, Germany).

Инсулин плазмы: Количественный анализ концентрации инсулина проводили

антительным РИА-методом (LINCO Research, Inc. St. Charles, Mo., USA).

Результаты

Профиль дневных и ночных концентраций содержания глюкозы в крови (см. фиг.4А):

Средняя концентрация глюкозы в крови в КО-группе на 16 день составляла $7,78 \pm 0,83$ ммоль/л перед введением лекарственного средства в 05.00 дня. После перорального введения плацебо и приема пищи в темновую фазу содержание глюкозы в крови возрастало до максимальных значений $12,18 \pm 1,34$ ммоль/л в 11.00 дня. После этого содержание глюкозы в крови очень медленно падало до самых низких значений $7,27 \pm 0,61$ ммоль/л в 11 час. утра с последующим возрастанием до $8,90 \pm 0,92$ ммоль/л в 02.00 дня следующего дня. В КВ-группе наблюдалась сходная картина содержания глюкозы в крови. Однако из сопоставимых по отношению к контрольным животным средних значений $7,96 \pm 1,13$ ммоль/л в 05.00 дня наблюдалось более сильное увеличение до $14,80 \pm 1,46$ ммоль/л (11.00 дня) и последующее снижение до $7,66 \pm 1,22$ ммоль/л (11.00 утра) и дальнейшее незначительное снижение до $7,34 \pm 0,77$ ммоль/л в 02.00 дня следующего дня соответственно. В ТВ-группе крысы Zucker имели нормальные средние значения глюкозы крови $5,25 \pm 0,16$ ммоль/л в 05.00 дня, и единичные значения находились в ряду от 4,34 до 6,07 ммоль/л. Содержание глюкозы в крови возрастало примерно от 3 ммоль/л до $8,34 \pm 0,47$ ммоль/л в 11.00 дня. Это сопровождалось постоянным снижением до основных значений, достигнутых в 08.00 утра ($5,64 \pm 0,23$), которые сохранялись в 11.00 утра ($5,33 \pm 0,14$ ммоль/л) и 02.00 дня следующего дня ($5,51 \pm 0,19$ ммоль/л) соответственно.

Профиль дневного и ночного содержания инсулина в крови: (см. фиг.4В): У крыс Zucker КО и КВ была сильная гиперинсулинемия. Средние значения инсулина оказались изменчивыми в 05.00 дня в КО-группе ($47,0 \pm 8,7$ нг/мл), 08.00 дня ($45,5 \pm 7,7$ нг/мл), 05.00 утра ($54,2 \pm 5,7$ нг/мл) и 02.00 дня следующего дня ($61,0 \pm 10,2$ нг/мл; NS), которые не имели отношения к колебаниям содержания глюкозы в крови. В КВ группе в темновую фазу с 06.00 дня до 06.00 утра было значительное возрастание значений инсулина плазмы с максимумом в 5.00 утра. Этот параметр увеличивался от высоких значений гиперинсулинемии $50,0 \pm 8,2$ нг/мл (05.00 дня) через $57,3 \pm 8,2$ нг/мл (08.00 дня) до $76,3 \pm 8,6$ нг/мл (05.00 утра; $p < 0,01$ по сравнению с начальным значением), которое сопровождалось снижением до $58,3 \pm 7,3$ нг/мл (02.00 дня следующего дня). В этой КВ группе содержание инсулина было сильно сдвинуто по фазе по отношению к колебаниям содержания глюкозы в крови. У крыс Zucker группы ТВ также была гиперинсулинемия. Инсулин плазмы в 05.00 дня был значительно ниже, чем в группе КВ ($p < 0,05$ по сравнению с группой КВ). Соответственно возрастанию глюкозы крови (Фиг.4А, В) возрастал показатель инсулина плазмы в 08.00 дня ($41,9 \pm 8,5$ нг/мл). Максимальное значение инсулина измеряли в 05.00 утра ($57,1 \pm 8,6$ нг/мл; $p < 0,01$ по сравнению с начальным значением). Концентрация инсулина в плазме снижалась, достигая исходной концентрации ($24,3 \pm 3,7$ нг/мл) примерно к 2.00 следующего дня, которая была значительно ниже, чем в группах КО или КВ ($p < 0,01$ по сравнению с группами КО или ТВ).

ПТТГ после 21 дня лечения, кривая глюкозы крови (см. Фиг.5А): Последний прием лекарственного средства в 05.00 дня и голодание в течение ночи на 21 день сопровождались значительным падением содержания глюкозы в крови в группе КО с $8,68 \pm 1,26$ ммоль/л (05.00 дня) до $5,08 \pm 0,24$ ммоль/л ($p < 0,05$), в группе КВ с $8,81 \pm 1,21$ ммоль/л до $4,91 \pm 0,37$ ммоль/л ($p < 0,01$) и в группе ТВ с $5,75 \pm 0,23$ ммоль/л до $4,88 \pm 0,13$ ммоль/л ($p < 0,01$). По этой причине пероральные нагрузки глюкозой осуществляли из сопоставимого основного уровня концентрации глюкозы во всех трех экспериментальных группах, определяемого утром (07.30 утра).

В группе КО содержание глюкозы в крови возрастало после перорального приема глюкозы до максимальных значений $14,64 \pm 1,42$ ммоль/л за 40 мин. Позже было значительное плавное снижение до $9,75 \pm 0,46$ ммоль/л к концу испытания (120 мин). В группе КВ наблюдалось резкое возрастание глюкозы крови до более высоких значений

16,33±0,98 и 16,24±1,09 ммоль/л в 50 мин и 80 мин соответственно. Высокие концентрации глюкозы сохранялись до конца исследования 120 мин (100 мин: 15,13±0,76 ммоль/л, 120 мин: 14,81±0,66 ммоль/л; NS из прежних максимальных значений). Были обнаружены аналогичные средние значения кривой глюкозы крови в группе ТВ и группе КО. Содержание глюкозы в крови возросло до 14,54±0,65 ммоль/л в 50 мин и значительно снизилось до значения 10,67 ± 0,62 ммоль/л (120 мин; NS из КО).

Площади под кривой концентрации глюкозы (G-AUC₀₋₁₂₀ мин) в группах КО и ТВ составляли 823±41 и 895±50 ммоль·мин/л соответственно (NS). В группе KB этот параметр составлял 1096±76 ммоль·мин/л, и это значение было значительно выше, чем в группах КО (p<0,01) или ТВ (p<0,05).

ПТТГ после 21 дня лечения, инсулин плазмы (см. фиг.5B): Голодание в течение ночи у крыс Zucker ведет к снижению концентраций инсулина в плазме у животных группы КО (14,6±3,7 нг/мл), в группе KB до 11,8±1,5 нг/мл и в группе ТВ до 9,3±1,5 нг/мл соответственно. Не было значительных различий между экспериментальными группами. После стимуляции глюкозой уровень инсулина плазмы большей частью оставался неизменным в группах КО, KB и ТВ. Несколько более высокие значения были обнаружены в 120 мин только в группе КО, составляя 21,3±3,0 нг/мл, что было значительно выше, чем в группе ТВ (p<0,05).

I-AUC_{0-120мин} в общем было низким. В ТВ группе этот параметр был ниже, чем в группах КО или KB (NS).

Выводы

Утреннее содержание глюкозы в крови: Контрольные животные, получавшие плацебо, имели повышенное содержание глюкозы в крови (около 7,5 ммоль/л).

Средняя концентрация не изменялась на протяжении исследования. Лечение KB повышало уровень глюкозы в крови примерно на 1,5 ммоль/л в течение двух дней. Содержание глюкозы в крови оставалось высоким. Введение ТВ снижало уровень глюкозы в крови до нормальных значений в течение 5 дней. Содержание глюкозы в крови оставалось в нормальных пределах до конца исследования.

Инсулин плазмы; у контрольных крыс Zucker была гиперинсулинемия и в дальнейшем показано некоторое возрастание инсулина в течение 14 дней наблюдения. У крыс Zucker, леченных KB, показано возрастание инсулина до значительно более высоких концентраций, чем у контрольных животных. Применение ТВ незначительно снижало концентрацию инсулина в течение 14 дней по сравнению с контрольными животными.

ПТТГ после 21 дня лечения, содержание глюкозы в крови: Голодание в течение ночи снижало уровень глюкозы в крови до нормальных значений в экспериментальных группах. У животных, получавших плацебо, показано возрастание глюкозы в крови примерно на 9 ммоль/л за 40 мин после нагрузки глюкозой и затем плавное снижение. У крыс Zucker, получавших KB, обнаружено повышение глюкозы в крови после нагрузки глюкозой примерно на 11 ммоль/л без снижения во время испытания. Средние значения кривой содержания глюкозы в крови животных, получавших ТВ, не отличались от контроля. Введение KB повышало G-AUC, прием ТВ не повышал G-AUC по сравнению с применением плацебо.

ПТТГ после 21 дня лечения, инсулин плазмы: У контрольных крыс Zucker натошак наблюдался наиболее высокий из трех экспериментальных групп инсулина, приблизительно 15 нг/мл. После нагрузки глюкозой инсулин значительно возрастал только к концу испытания (120 мин). У крыс, получавших KB, инсулин натошак был несколько ниже, -12,5 нг/мл в начале ПТТГ и более раннее увеличение в 40 мин без снижения к концу испытания. У крыс, получавших ТВ, было самое низкое содержание инсулина натошак ~9 нг/мл в начале ПТТГ, раннее умеренное увеличение в 20 мин по отношению к содержанию глюкозы в крови, повышение и снижение концентраций между 40 мин и 100 мин. I-AUC был несколько ниже у крыс, получавших ТВ.

Заключение

Ингибитор DP IV P32/98 (TP), вводимый однократно ежедневно, нормализовал уровень утренней глюкозы в крови, снижал гиперинсулинемию, удерживал концентрацию глюкозы в крови по профилю дневных и ночных концентраций ниже критического 8,3 ммоль/л (у пациентов, больных диабетом). Положительное влияние на метаболизм сохранялось ограниченное время после прекращения лечения.

Формула изобретения

1. Применение по меньшей мере одного ингибитора активности фермента дипептидилпептидазы IV в качестве активного компонента в производстве лекарственного средства для повторного введения для повышения функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток у животного с недостаточностью инсулин-продуцирующей способности.
2. Применение по п.1, где указанное повышение функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток включает в себя обеспечение более эффективной продукции инсулина клетками - эндогенными продуцентами инсулина.
3. Применение по любому из предшествующих пунктов, где указанное повышение функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток включает в себя обеспечение дифференцировки эпителиальных клеток поджелудочной железы в инсулин-продуцирующие клетки.
4. Применение по любому из предшествующих пунктов, где указанный ингибитор активности фермента дипептидилпептидазы IV выбран из группы, состоящей из N-(N'-замещенный глицил)-2-цианопирролидинов, N-аминоацилтиазолидинов, N-аминоацилпирролидинов, таких, как L-трео-изолейцилтиазолидин, L-алло-изолейцилтиазолидин, L-трео-изолейцилпирролидин и L-алло-изолейцилпирролидин, и их фармацевтических солей.
5. Применение по любому из предшествующих пунктов, где указанное лекарственное средство приспособлено для перорального приема.
6. Применение по любому из пп.1-4, где указанное лекарственное средство приспособлено для внутривенной или внутримышечной инъекции.
7. Применение по любому из пп.1-5, где указанное лекарственное средство приспособлено для долгосрочного перорального введения.
8. Применение по любому из пп.1-4, где указанное лекарственное средство приспособлено для долгосрочного введения путем внутривенной или внутримышечной инъекции.
9. Применение по любому из предшествующих пунктов, где указанное лекарственное средство приспособлено для введения до введения глюкозы или потребления пищи.
10. Применение по любому из предшествующих пунктов, где лекарственное средство содержит терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного ингибитора активности фермента дипептидилпептидазы IV.
11. Способ повышения функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток у животного с недостаточностью инсулин-продуцирующей способности, включающий в себя повторное введение указанному животному терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного ингибитора активности фермента дипептидилпептидазы IV.
12. Способ по п.11, где указанное повышение функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток включает в себя обеспечение более эффективной продукции инсулина клетками - эндогенными продуцентами инсулина.
13. Способ по п.11 или 12, где указанное повышение функциональной активности инсулин-продуцирующих клеток обеспечивается дифференцировкой эпителиальных клеток поджелудочной железы в инсулин-продуцирующие клетки.
14. Способ по любому из пп.11-13, где указанный ингибитор активности фермента дипептидилпептидазы IV выбран из группы, состоящей из N-(N'-замещенный глицил)-2-цианопирролидинов, N-аминоацилтиазолидинов, N-аминоацилпирролидинов, таких как L-трео-изолейцилтиазолидин, L-аллоизолейцилтиазолидин, L-трео-изолейцилпирролидин и

L-алло-изолейцилпирролидин, и их фармацевтически приемлемых солей.

15. Способ по любому из пп.11-14, где указанное введение включает в себя пероральный прием.

5 16. Способ по любому из пп.11-14, где указанное введение включает в себя внутривенную или внутримышечную инъекцию.

17. Способ по любому из пп.11-14, где указанное введение включает в себя долгосрочное пероральное введение.

18. Способ по любому из пп.11-14, где указанное введение включает в себя долгосрочное введение путем внутривенной или внутримышечной инъекции.

10 19. Способ по любому из пп.11-18, где введение глюкозы или прием пищи осуществляют до, во время или после введения ингибитора активности фермента дипептидилпептидазы IV.

15 20. Способ по п.19, где указанное введение указанного ингибитора активности фермента дипептидилпептидазы IV происходит до указанного введения глюкозы или приема пищи.

20

25

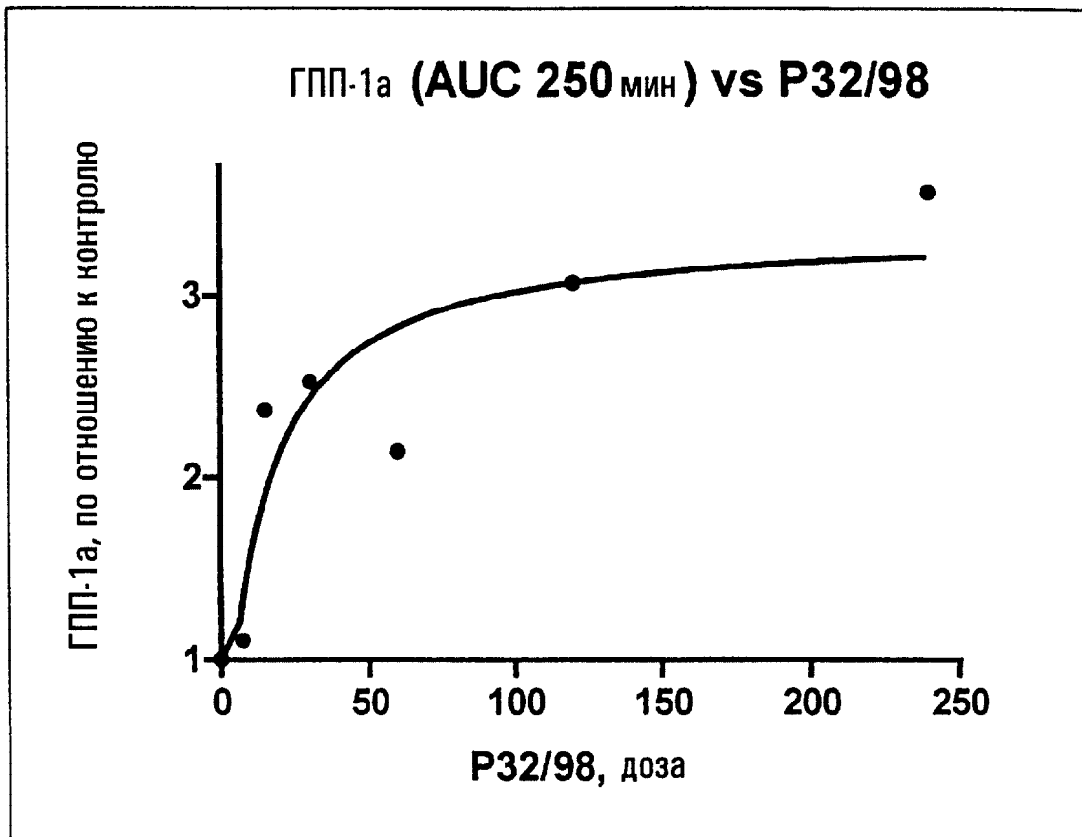
30

35

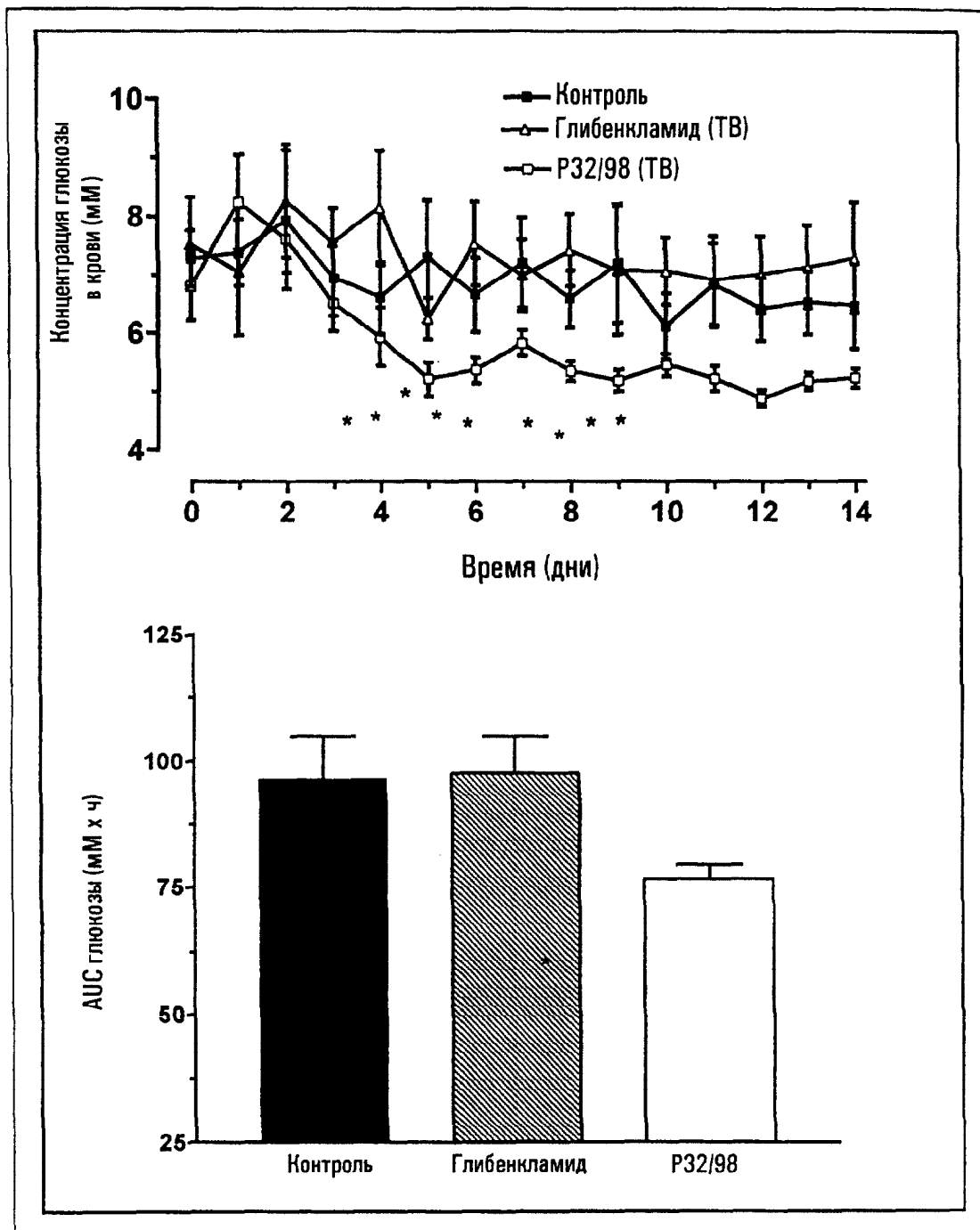
40

45

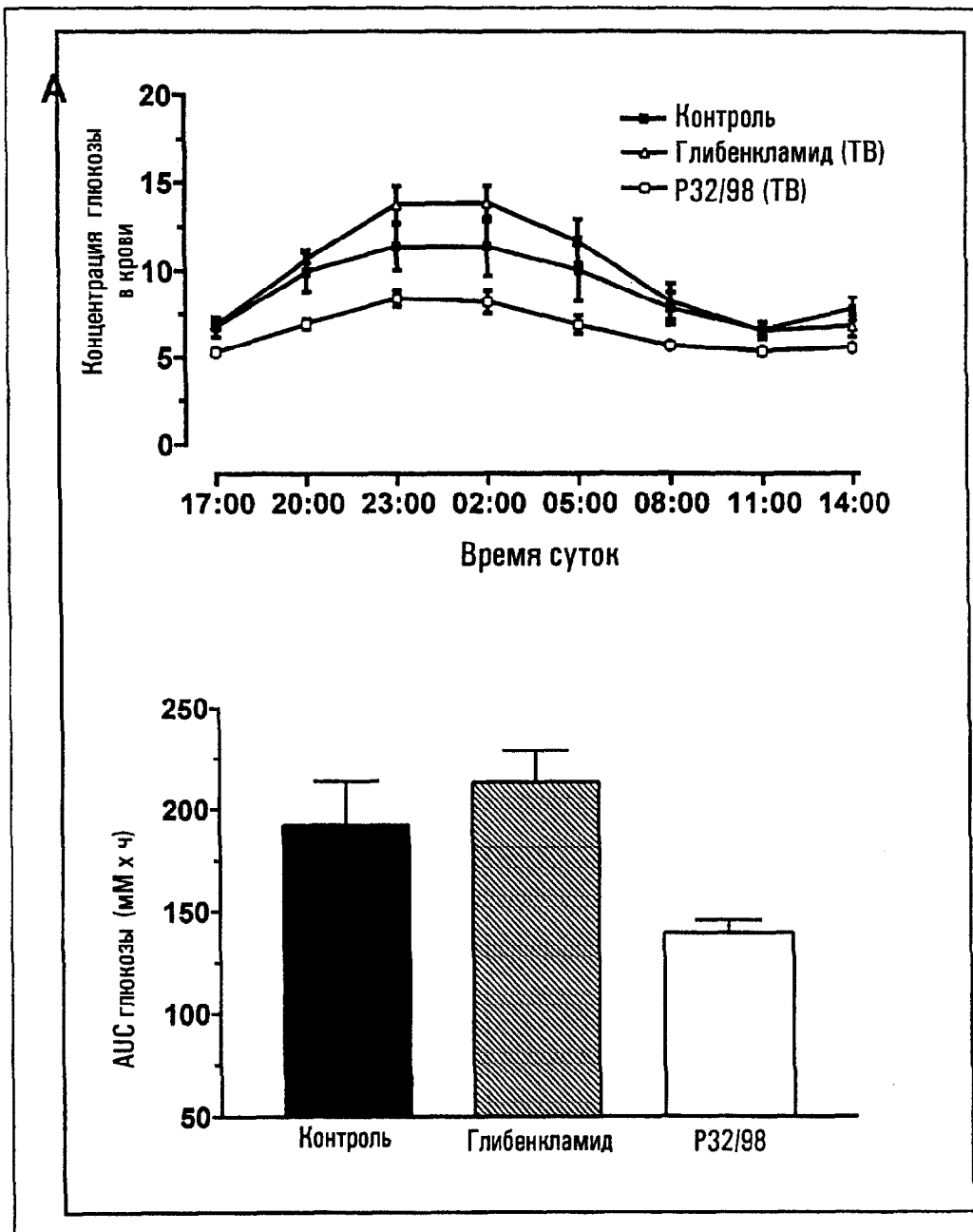
50



Фиг. 2

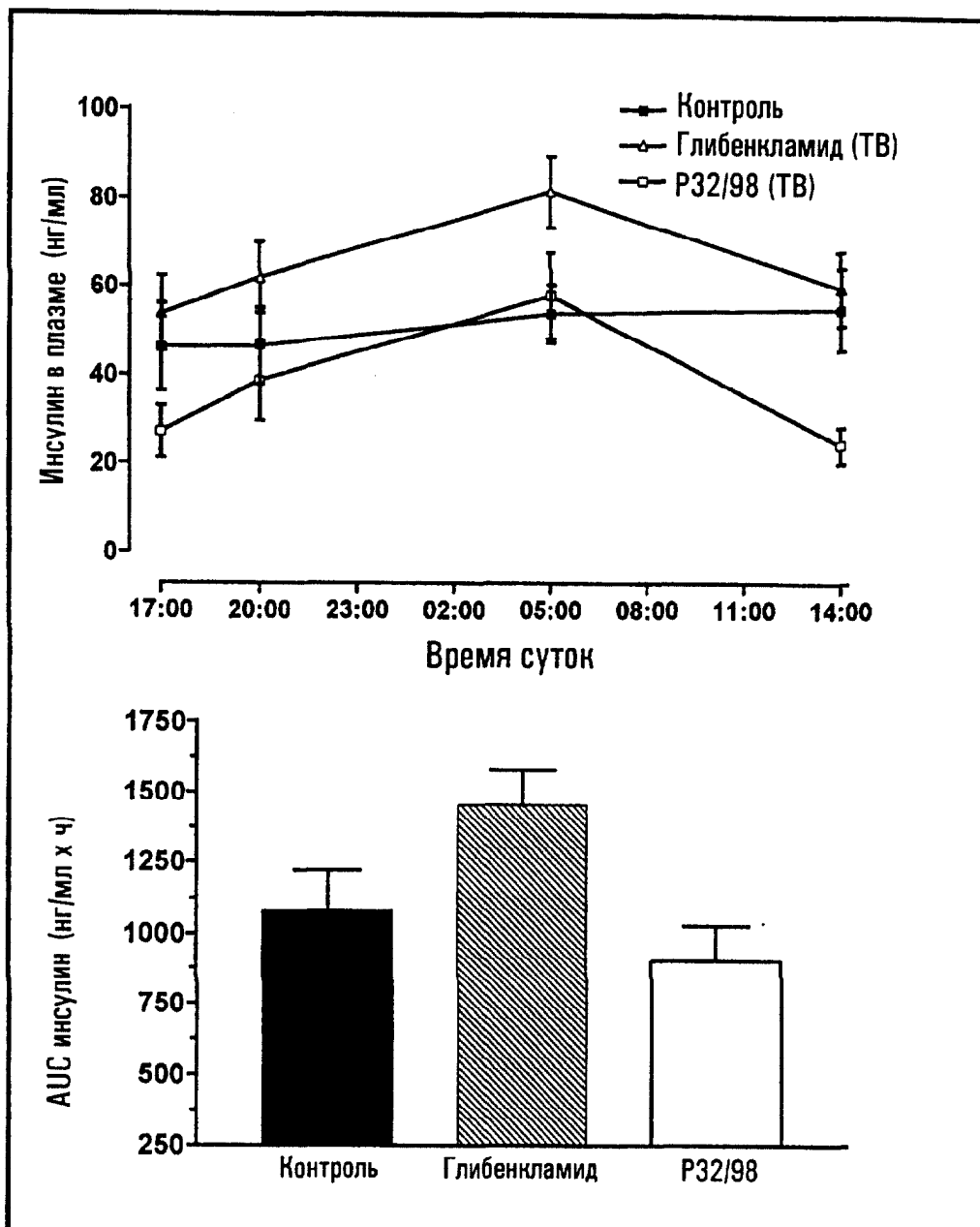


Фиг. 3

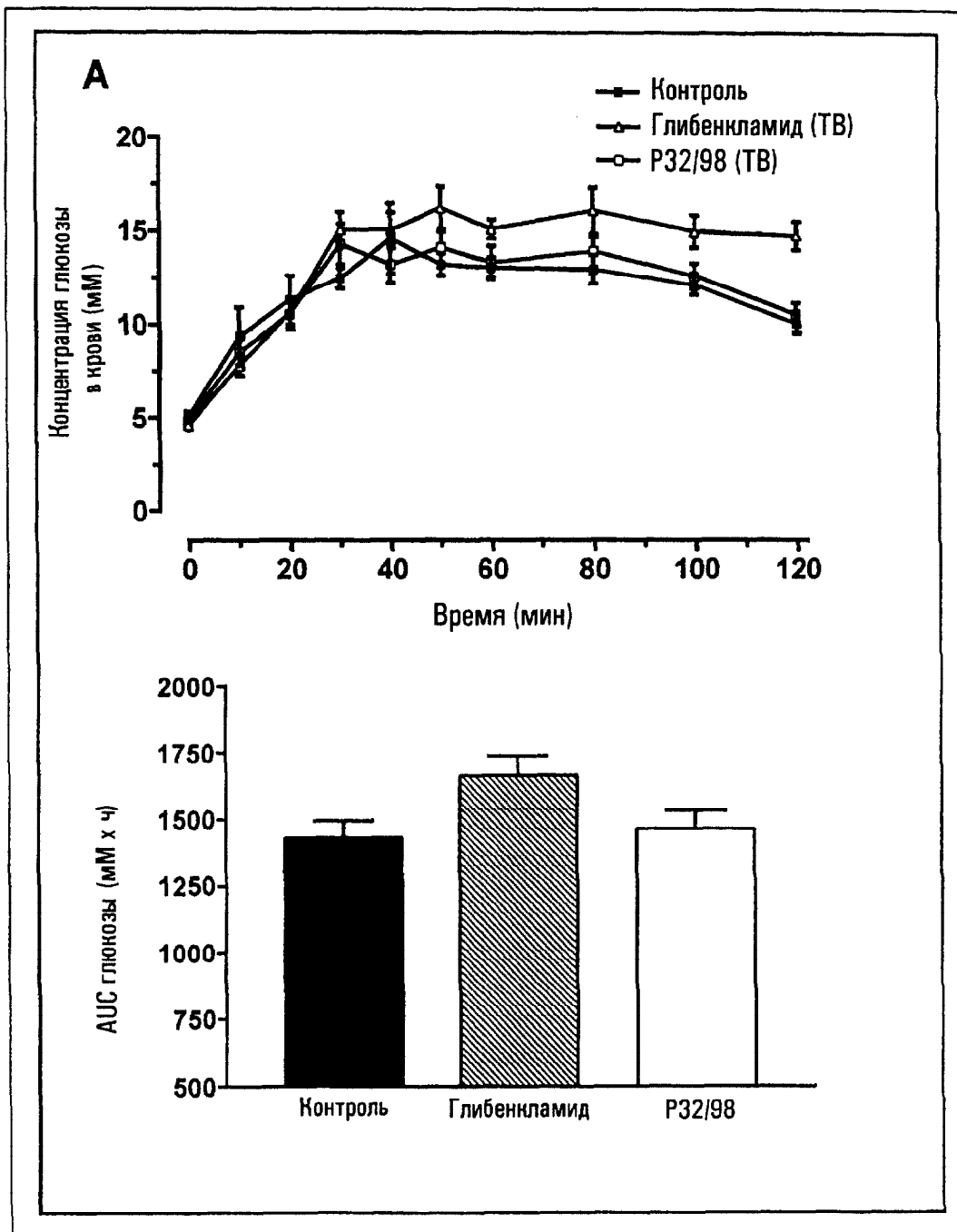


Фиг.4А

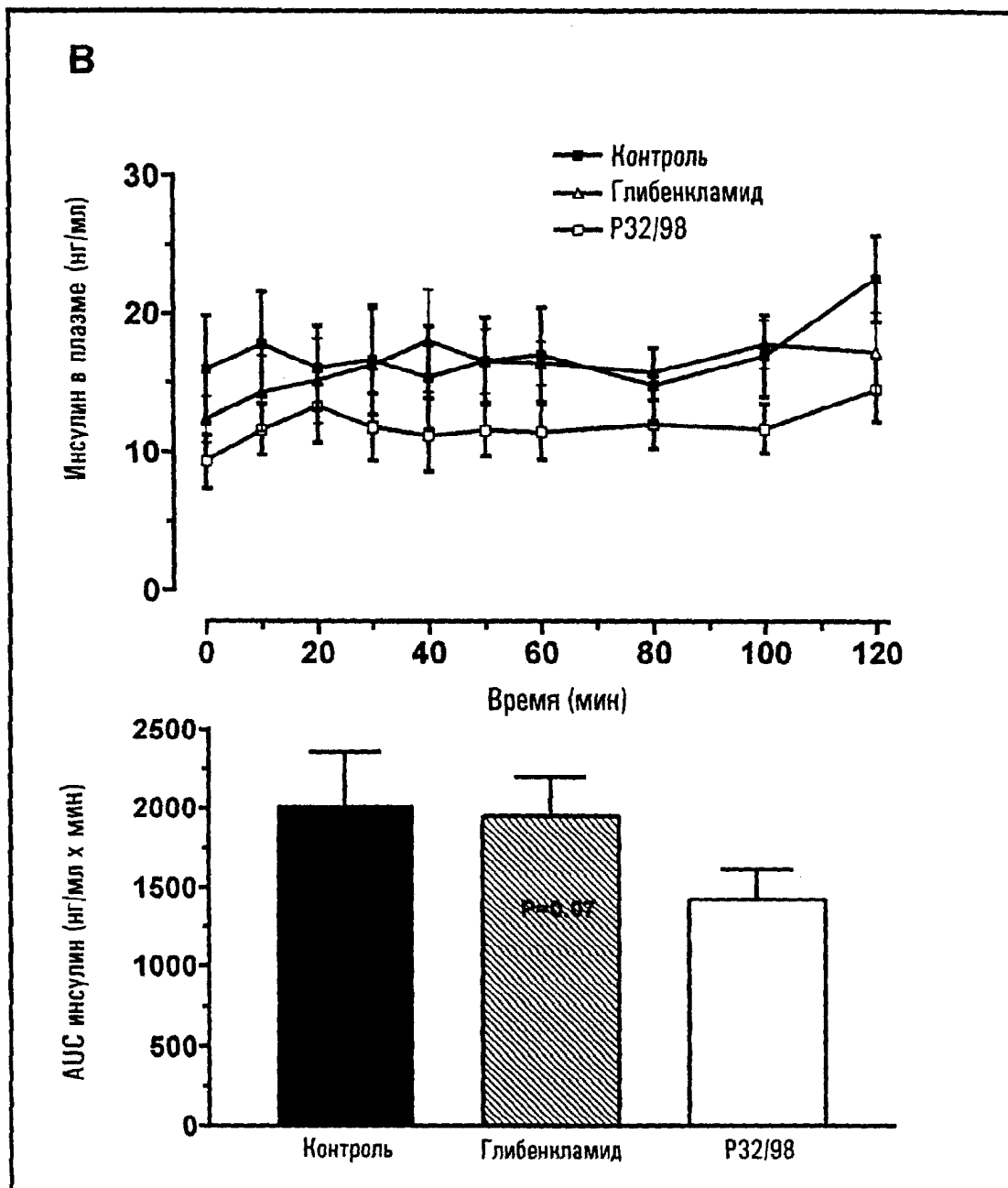
B



Фиг. 4B



Фиг. 5А



Фиг. 5В