



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118000419 A

(43) 申请公布日 2024. 05. 10

(21) 申请号 202311628291.4

A61K 9/107 (2006.01)

(22) 申请日 2018.08.10

A61K 35/60 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/23 (2006.01)

62/543,437 2017.08.10 US

A61K 31/202 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61K 31/355 (2006.01)

201880058296.9 2018.08.10

A61K 47/10 (2017.01)

(71) 申请人 儿童医疗中心有限公司

A61K 47/12 (2006.01)

地址 美国马萨诸塞州

A61K 47/24 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(72) 发明人 马克·布德 凯瑟琳·古拉

(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理  
有限责任公司 11290

专利代理师 孙雪 张淑珍

(51) Int.Cl.

A23L 33/115 (2016.01)

A23L 33/12 (2016.01)

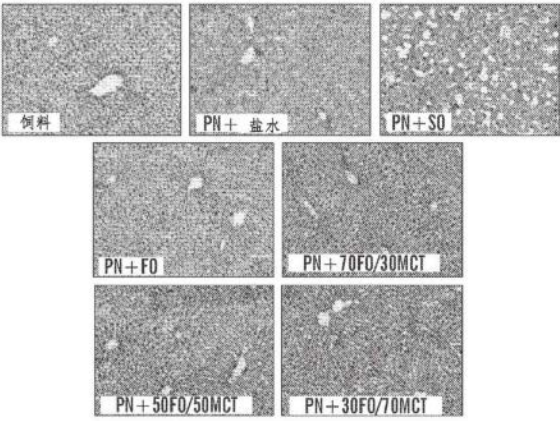
权利要求书1页 说明书49页 附图25页

(54) 发明名称

与包含鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸的乳剂有关的方法和组合物

(57) 摘要

本文描述了包含鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)和/或 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的乳剂组合物。在一些实施方式中,组合物进一步包含例如 $\alpha$ -生育酚或一种或多种脂肪酸。本文进一步提供了使用该组合物例如向受试者提供营养(例如肠外营养)和/或对本文所述的某些病症进行治疗或预防的方法。



1. 一种乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:  
鱼油和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为30:70至70:30;或者  
 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为30:70至70:30;  
其中,所述乳剂包含:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,以及c) 一种或多种乳化剂、磷脂、卵磷脂、甘油和油酸钠。
2. 根据权利要求1所述的乳剂组合物,所述乳剂包含10%-30%的MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸、0.5%-2.5%的卵磷脂、0.5%-5%的甘油和0.005%-0.1%的油酸钠。
3. 根据权利要求2所述的乳剂组合物,其中,使用蛋黄卵磷脂作为所述乳化剂。
4. 根据权利要求3所述的乳剂组合物,其中,所述乳化剂包含80%-85%的磷脂酰胆碱和小于3.5%的脂肪。
5. 根据权利要求4所述的乳剂组合物,其中,所述乳化剂中甘油三酸酯和游离脂肪酸的总浓度小于3.5%。
6. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述MCT包含90%以上的C8脂肪酸和/或C10脂肪酸。
7. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述MCT包含30%-50%的C10脂肪酸和45%-65%的C8脂肪酸。
8. 根据权利要求1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:  
鱼油和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为50:50至70:30;或者  
 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为50:50至70:30。
9. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸中的二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸的总含量为25重量%-50重量%。
10. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸提供制剂的1.1kcal/mL至5kcal/mL。
11. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸的胆固醇含量小于2500ppm。
12. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述受试者需要全肠外营养,其中,所述肠外营养是静脉内给予大量营养素和微量营养素,包括碳水化合物、氨基酸形式的蛋白质、脂质、维生素和微量元素。
13. 根据权利要求1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂中的油小球的粒度在0.4 $\mu$ m-1.0 $\mu$ m的尺寸范围内或低于该范围。

## 与包含鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸的乳剂有关的方法和组合物

[0001] 本申请是申请日为2018年08月10日、发明名称为“与包含鱼油和/或  $\omega$ -3脂肪酸的乳剂有关的方法和组合物”的申请号为201880058296.9的专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 根据35 U.S.C. §119(e), 本申请要求2017年8月10日提交的美国临时申请No. 62/543,437的优先权, 以引用的方式将其内容整体并入本文。

[0004] 政府支持

[0005] 本发明是在由美国国立卫生研究院授予的T35HL110843、1F32DK104525-01以及5T32HL007734-22的政府支持下完成的。美国政府对本发明享有一定的权利。

### 技术领域

[0006] 本文描述的技术涉及用于例如口服或肠外给予患者的脂质乳剂。

### 背景技术

[0007] 长期和短期PN依赖型患者可能易受炎性侵害。对于长期PN依赖型患者而言, 慢性疾病状态和长期留置的用于递送PN的中心静脉导管可能会突然发生促炎性状态。短期PN依赖型患者(例如创伤患者、术后患者和需要重症监护室的急性病患者)也面临促炎性挑战。

[0008] 除了PN本身的使用之外, 通过PN给予的特定脂质乳剂可以对炎性反应进行调节并影响PN依赖型患者的炎性状态。大豆油基脂质乳剂富含促炎性  $\omega$ -6脂肪酸, 而鱼油脂质乳剂则含有大量的更具抗炎性  $\omega$ -3脂肪酸。鱼油脂质乳剂已被用于对与患者的肠外营养相关性肝病(PNALD)进行治疗, 这种病症的特征在于肝部炎症和胆汁淤积。

### 发明内容

[0009] 开发进一步降低发生炎性反应和/或肝脏疾病的风险的脂质乳剂可以改善许多不建议正常营养摄取或正常营养摄取不充足的患者的治疗。如本文所述, 发明人已经发现, a) MCT与b) 鱼油和/或  $\omega$ -3脂肪酸(例如,  $\omega$ -3为主的脂肪酸油)的混合乳剂提供了比单独的鱼油或MCT更好的抗炎性能。本文进一步描述了通过特定比例的a) MCT和b) 鱼油和/或  $\omega$ -3脂肪酸(例如,  $\omega$ -3为主的脂肪酸油)获得的令人惊讶的效果。

[0010] 特别地, 本文证明了与单独的FO相比, FO与MCT的混合乳剂提供了响应于炎性刺激的改善的抗炎益处。特别地, 相较于不平衡的混合物, 比例在30:70至70:30之间的混合物惊人地提供了肝保护与减弱炎症反应的改善的平衡。出人意料地, 50:50的比例在提供此类效果方面最佳。如本文所用, MCT与鱼油或  $\omega$ -3脂肪酸彼此之间的比例以w/w单位提供。本发明组合物中MCT、鱼油和/或  $\omega$ -3脂肪酸的w/v量在本文别处进行描述。

[0011] 此外, 许多现有技术制剂明确需要植物油, 因为其开发者认为缺乏植物油将导致必需脂肪酸缺乏症(EFAD)(参见, 例如, 美国专利公开2010/0233280)。相反, 尽管专家陈述会导致这种结果, 但是本文所述的制剂和方法的实施方式不包含植物油, 主要是  $\omega$ -6脂肪酸, 并且也不诱发EFAD。

[0012] 在任意实施方式的一个方面,本文描述了一种乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约30:70至约70:30;或 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约30:70至约70:30。在任意实施方式的一个方面,本文描述了一种乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合或 $\omega$ -3脂肪酸和MCT的组合,其比例介于30:70至70:30,但不包括这两者。在任意方面的一些实施方式中,组合物包含鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约40:60至约60:40;或 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约40:60至约60:40。在任意方面的一些实施方式中,组合物包含鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50;或 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50。在任意方面的一些实施方式中,组合物包含鱼油与中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50;或 $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50。在任意方面的一些实施方式中, $\omega$ -3脂肪酸的组合物以 $\omega$ -3为主的脂肪酸油形式提供。在任意方面的一些实施方式中, $\omega$ -3脂肪酸的组合物以未经再酯化的 $\omega$ -3为主的脂肪酸油形式提供。

[0013] 如本文所用,“ $\omega$ -3为主的脂肪酸油”是指包含比 $\omega$ -6脂肪酸更大比例的 $\omega$ -3脂肪酸的脂肪酸油。在任意方面的一些实施方式中,在 $\omega$ -3为主的脂肪酸油中的脂肪酸是超过50%,例如超过50%、超过60%、超过70%、超过80%、超过90%、超过95%或超过98%的 $\omega$ -3脂肪酸(前述百分比是脂肪酸油中脂肪酸的以重量计的%)。

[0014] 在任意方面的一些实施方式中,所述组合物进一步包含 $\alpha$ -生育酚。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以整个组合物的至少100mg/L的水平存在。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少120mg/L的水平存在。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E(例如, $\beta$ -生育酚、 $\gamma$ -生育酚、 $\delta$ -生育酚、 $\alpha$ -生育三烯酚、 $\beta$ -生育三烯酚、 $\gamma$ -生育三烯酚和/或 $\delta$ -生育三烯酚),其在整个组合物中的重量比至少为2:1。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E,其比例为至少10:1。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物不包含除 $\alpha$ -生育酚外的维生素E形式。

[0015] 在任意方面的一些实施方式中,所述组合物中不存在植物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,所述组合物中存在植物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,植物甾醇以小于50mg/L的浓度存在于组合物中。植物甾醇可以包括植物甾醇和植物甾烷醇,例如 $\beta$ -谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、麦角甾醇、谷甾烷醇、菜油甾烷醇、燕麦甾醇和/或豆甾烷醇。

[0016] 在任意方面的一些实施方式中,花生四烯酸以至少900mg/L的浓度存在于所述组合物中。在任意方面的一些实施方式中,二十二碳六烯酸以至少13.4g/L的浓度存在于所述组合物中。在任意方面的一些实施方式中,二十碳五烯酸以至少11.6g/L的浓度存在于所述组合物中。

[0017] 在任意方面的一些实施方式中,将组合物配制成用于口服给予。在任意方面的一些实施方式中,将组合物配制成用于肠外或静脉内给予。在任意方面的一些实施方式中,所述组合物进一步包含一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。在任意方面的一些实施方式中,添加剂包含对疾病有治疗性的一种或多种脂肪酸。

[0018] 在任意实施方式的一个方面,本文描述了一种方法,所述方法包括将本文描述的乳剂制剂给予对其有需要的受试者。在任意方面的一些实施方式中,给予是肠外给予。在任

意方面的一些实施方式中,给予是完全肠外给予。在任意方面的一些实施方式中,给予是口服给予。在任意方面的一些实施方式中,所述受试者是需要对选自于由以下所组成的组的病症进行治疗或预防的受试者:肝脂肪变性;肠衰竭;肠外营养相关性肝病(PNALD);败血症;囊性纤维化;镰状细胞性贫血;胰腺炎;炎性肠病;克罗恩病;胆管闭锁;原发性硬化性胆管炎;炎症感染;炎症病症;全身性炎症反应综合征(SIRS);高甘油三酯血症;严重高甘油三酯血症;严重肝脂肪变性;早产儿视网膜病变;急性肾小管坏死;IgA肾病;缺血再灌注损伤;创伤性脑损伤;多系统器官衰竭;呼吸窘迫综合征;急性心肌梗塞;心肌梗塞;心绞痛持续状态;哮喘持续状态;癫痫持续状态;腔隙持续状态(status lacunaris);炎性肠病;局限性肠炎;溃疡性结肠炎;严重或衰弱性关节炎(debilitating arthritis);关节炎;银屑病;严重银屑病;烧伤;三度烧伤;胰腺炎;急性胰腺炎;肠衰竭相关的肝病(IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积(PNAC)、必需脂肪酸缺乏症(EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏,所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。在任意方面的一些实施方式中,所述受试者是需要对肠外营养相关性肝病(PNALD)进行治疗或预防的受试者。

[0019] 在任意方面的一些实施方式中,受试者需要肠外营养。在任意方面的一些实施方式中,所述受试者需要完全肠外营养。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受口服营养。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受其它肠外制剂。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受足以维持营养平衡的口服营养。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受足以维持营养平衡的其它肠外制剂。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受足以维持营养平衡的其它局部用制剂。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受脂肪酸的其它营养来源。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受脂肪酸的其它肠外营养来源。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受必需脂肪酸的其它营养来源。在任意方面的一些实施方式中,患者未接受必需脂肪酸的其它肠外营养来源。

[0020] 在任意方面的一些实施方式中,作为单一疗法,对乳剂制剂进行给予。在任意方面的一些实施方式中,作为用于治疗益处的单一疗法,对乳剂制剂进行给予。在任意方面的一些实施方式中,作为用于营养需要的单一疗法,对乳剂制剂进行给予。

[0021] 在任意方面的一些实施方式中,患者是需要对选自于由以下所组成的组的病症进行治疗的患者:肝脂肪变性;肠衰竭;肠外营养相关性肝病(PNALD);败血症;囊性纤维化;镰状细胞性贫血;胰腺炎;炎性肠病;克罗恩病;胆管闭锁;原发性硬化性胆管炎;炎症感染;炎症病症;全身性炎症反应综合征(SIRS);高甘油三酯血症;严重高甘油三酯血症;严重肝脂肪变性;早产儿视网膜病变;急性肾小管坏死;IgA肾病;缺血再灌注损伤;创伤性脑损伤;多系统器官衰竭;呼吸窘迫综合征;急性心肌梗塞;心肌梗塞;心绞痛持续状态;哮喘持续状态;癫痫持续状态;腔隙持续状态;炎性肠病;局限性肠炎;溃疡性结肠炎;严重或衰弱性关节炎;关节炎;银屑病;严重银屑病;烧伤;三度烧伤;胰腺炎;急性胰腺炎;肠衰竭相关的肝病(IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积(PNAC)、必需脂肪酸缺乏症(EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏,所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。

[0022] 在任意方面的一些实施方式中,给予剂量为乳剂中约0.5g总脂肪酸/kg/天至乳剂中约5g总脂肪酸/kg/天。在任意方面的一些实施方式中,给予剂量为乳剂中约1g总脂肪酸/kg/天至乳剂中约3g总脂肪酸/kg/天。在任意方面的一些实施方式中,给予剂量是乳剂中约

2g总脂肪酸/kg/天。在前述剂量中,“kg”是指被给予所述组合物的受试者的质量。在任意方面的一些实施方式中,该方法进一步包括给予一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。

### 附图说明

[0023] 图1A-图1B表明,在处理组之间,生长(图1A)或器官质量(图1B)无差异。每组N=9-10只小鼠,统计分析:单因素方差分析。

[0024] 图2A-图2C描绘了必需脂肪酸的血清水平。图2A:接受脂肪来源的组中,没有组发展为生化EFAD,仅有接受盐水的PN饲喂组发展为EFAD。\*=相较于饲料(chow), $p<0.05$ 。图2B:S0和S0+AT包含比F0处理组更多的 $\omega$ -6脂肪酸。\*=相较于F0, $p<0.05$ 。图2C:F0和F0+P包含比S0处理组更多的 $\omega$ -3脂肪酸。# = 相较于F0, $p<0.05$ 。所有统计分析均采用单因素方差分析进行。

[0025] 图3A-图3B表明 $\alpha$ -生育酚赋予S0肝保护特性。相较于S0(图3A和图3B,顶行,中间列),S0+AT使肝结构正常化(图3A,底行,中间列)并减少肝脂肪蓄积(图3B,底行,中间列)。植物甾醇(F0+P)不会损害F0的肝保护特性(图3A和图3B,右列,两行)。

[0026] 图4描绘了PPAR $\gamma$ 和ACC2的基因表达谱。无脂肪的PN饲喂小鼠和给予S0的PN饲喂小鼠的PPAR $\gamma$ 和ACC2表达增加。F0处理组与S0+AT组一样,这些基因均表达正常。\*=通过单因素方差分析,相较于饲料, $p<0.05$ 。结果显示为与饲料饮食对照相比的倍数差异。

[0027] 图5A-图5B描绘了PPAR $\gamma$ 和ACC的蛋白质表达。图5A:ACC、PPAR $\gamma$ 和管家基因 $\beta$ -肌动蛋白的蛋白质印迹图像。图5B:将每个组的蛋白质表达定量标准化至 $\beta$ -肌动蛋白并与饲料进行比较。

[0028] 图6A描绘了肝的苏木精和曙红染色,图6B描绘了肝的油红O染色。F0,70:30和50:50显示类似于饲料的正常肝结构。相较于盐水和S0组,30:70改善了肝结构,并伴有轻度脂肪变性(图6A)。F0,70:30、50:50和30:70无可观察到的肝脂肪蓄积(图6B)。

[0029] 图7表明F0、S0以及F0和MCT的所有混合物均有效地阻止了生化EFAD。\*=通过单因素方差分析,相较于饲料, $p<0.0001$ 。

[0030] 图8A描绘了TNF $\alpha$ 水平,图8B描绘了盐水或LPS刺激(challenge)后的IL-6水平。通过单因素方差分析,3A:\*=相较于饲料, $p<0.05$ ;#=相较于F0, $p<0.05$ 。通过单因素方差分析,3B:\*=相较于饲料, $p<0.002$ ;#=相较于F0, $p<0.05$ 。

[0031] 图9A描绘了来自每个处理组的肝脏的苏木精和曙红分析,图9B描绘了来自每个处理组的肝脏的油红O分析。盐水和S0处理的小鼠发展为肝脂肪变性(4A),并蓄积了肝脂肪(图9B)。F0、F0E、F0/MCT和F0E/MCT保持了正常的肝结构(图9A),并且无可观察到的肝脂肪蓄积(图9B)。

[0032] 图10A描绘了LPS处理的小鼠中的血清TNF $\alpha$ ,图10B描绘了LPS处理的小鼠中的血清IL-6。在F0E、F0/MCT和F0E/MCT处理组中,两种指标均相较于F0降低。F0E、F0/MCT和F0E/MCT组之间无显著差异。通过单因素方差分析,\*=相较于饲料, $p<0.003$ ;#=相较于F0, $p<0.006$ 。

[0033] 图11A-图11D表明,给予PN饮食的组和给予在实验室中配制的脂肪乳剂的组之间,生长参数无差异。图11A:在PN方案的过程中每隔一天监测一次体重,两组之间的生长无统

计学差异。PN饮食19天后,安乐死,称量肝脏(图11B)、脾脏(图11C)和右肾(图11D)质量。组之间的器官质量无差异。每个处理组N=10只小鼠。使用单向方差分析进行统计分析。

[0034] 图12A-图12C描绘了PN饮食并给予在实验室中配制的脂肪乳剂19天后的血清脂肪酸谱。图12A:三烯与四烯的比例。仅接受无脂肪来源(PN+盐水)的小鼠符合EFAD的生化标准。主要 $\omega$ -6脂肪酸(图12B)和 $\omega$ -3脂肪酸(图12C)的分布反映了给予每个组的脂肪来源。每个处理组随机选择N=3个样本。使用单向方差分析进行统计分析。

[0035] 图13A-图13B描绘了伴随给予PN饮食,通过在静脉内脂肪源中向S0添加 $\alpha$ -生育酚使肝结构和肝脂肪蓄积正常化。代表性的苏木精和曙红(H&E,图13A)以及油红O(图13B)图像分别显示了肝结构和肝脂肪蓄积。H&E的每个处理组,N=10个样品(图13A),油红O n=3个代表性样品(图13B)。图像放大100倍(物镜10倍,目镜10倍)。

[0036] 图14A-图14B描绘了通过无脂肪PN饮食和以S0作为脂肪源的PN饮食造成的ACC(图14A)和PPAR  $\gamma$  (图14B)的表达失调,以及通过F0和通过将 $\alpha$ -生育酚添加至S0作为脂肪来源时的正常化。基因表达以与饲料饲喂组相比的倍数差异来测量。每个处理组N=5个样本,每个样本技术重复进行两次。使用单向方差分析进行统计分析。结果显示为与饲料饮食对照相比的倍数差异。

[0037] 图15A-图15C描绘了通过无脂肪PN饮食和以S0作为脂肪源的PN饮食上调的ACC(图15A)和PPAR  $\gamma$  (图15B)的蛋白水平,以及通过F0和通过将 $\alpha$ -生育酚添加至S0作为脂肪来源的正常化。通过将各组标准化为相应的 $\beta$ -肌动蛋白水平,并与饲料饲喂组进行比较,对蛋白质水平进行相对地定量。对每个组进行生物学重复的蛋白质印迹法。使用单向方差分析进行统计分析。图15C:蛋白质印迹图像。

[0038] 图16表明在PN诱导的肝损伤鼠模型中,在实验室中配制的脂肪乳剂重现了类似的市售静脉内脂肪乳剂的效果。不含脂肪的PN会导致在19天之内发展为脂肪变性(左下图)。实验室配制的F0(PN+F0)和市售的F0乳剂(OM)通过PN饮食保持正常的肝结构,而实验室配制的S0(PN+S0)和市售的S0(IL)则不能。

[0039] 图17和图18描绘了实施例3中使用的脂质乳剂的含量和粒度表。

## 具体实施方式

[0040] 如本文所述,发明人发现a) 鱼油或 $\omega$ -3脂肪酸与b) 中链甘油三酯(MCT)的特定乳剂作为营养来源提供令人惊讶的效果,并且与单独使用任何一种组分相比,表现出更好地例如预防和减轻炎性反应。另外,本文所述的乳剂具有改进的稳定性。最后,与该领域中较早的工作相反,本文所述的乳剂不引起必需脂肪酸缺乏症,并且可以就患者的营养脂肪来源而言用作单一疗法。在任意实施方式的一个方面,本文描述了一种乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约70:30至约30:70;或者b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约70:30至约30:70。

[0041] 如本文所用,术语“乳剂”是指包含至少两种以上的基本上不混溶的液体的多相体系,其中一种液体以液滴的形式分散在另一种液体中。仅作为示例,乳剂可以是包含两个彼此紧密混合和分散的不混溶液相的双相体系。乳剂的示例包括但不限于油包水型乳剂、水包油型乳剂、水包水型乳剂、水包油包水型乳剂和油包水包油型乳剂。在任意方面的一些实施方式中,乳剂的连续相是水。

[0042] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂包含水。在一些实施方式中,以重量/体积计,乳剂是水中约20%的总脂肪。在一些实施方式中,以重量/体积计,乳剂是水中约10%的总脂肪至水中约50%的总脂肪。在一些实施方式中,以重量/体积计,乳剂是水中约20%的总脂肪。在一些实施方式中,以重量/体积计,乳剂是水中10%的总脂肪至水中50%的总脂肪。

[0043] 乳剂通常是不稳定的混合物,不会自发形成,因此,为了将连续相和分散相混合并形成乳剂,需要能量输入。该能量例如可以通过震荡、搅拌、均质化、喷雾处理、高压泵送和超声乳化来施加。本文所述的乳剂制剂可以通过将本文所列的脂肪组分与任何蛋白质、碳水化合物和/或其它额外的添加剂混合,并将混合物均质化成稳定的乳剂来制备。在任意方面的一些实施方式中,MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸均被乳化,例如,不仅仅混合或混合到其它乳剂中。然而,随着时间的流逝,形成的乳剂可能趋于恢复到分开的油层和水层的稳定状态。因此,在一些实施方式中,本文所述的乳剂制剂可进一步包含本领域已知的任何天然或合成乳化剂。乳化剂的添加可以增加乳剂的动力学稳定性,使得一旦形成,乳剂在长期储存中不会显著改变。

[0044] 如本文所述的乳剂可以通过本领域技术人员已知的许多常规技术来制备。例如,首先将核心脂质与一种或多种乳化剂和抗氧化剂(如果使用的话)混合。然后通过恒定搅拌下将该油相缓慢加入水中来制备乳剂。如果使用重量摩尔渗透压浓度调节剂(osmolality modifier),则在与油相混合之前将其添加到水中。如果需要,可以在此阶段对pH进行调节,并且如果需要,用水调节至最终体积。

[0045] 在任意方面的一些实施方式中,例如当配制用于肠外给予时,乳剂中的油小球的粒度在天然乳糜微粒的尺寸范围0.4-1.0 $\mu$ m内或低于该范围。如果粒度大于该尺寸,则脂质颗粒可能会沉积在肝脏、脾脏和肺部,导致输注后明显的脂肪负荷(Rahui C.M.等, Am.Hosp.Pharm.1992,49:2749-2755)。小粒度的脂质在乳剂中的分散性更好,并且倾向于生产更安全、更稳定的乳剂。选择用于制备根据本发明的乳剂的合适条件被认为是本领域技术人员的普通技能。

[0046] 在一些实施方式中,乳剂是稳定的乳剂。如本文所用,术语“稳定的乳剂”是指其中液滴在包括存储和使用时间在内的长时间(例如,至少约1个月以上)内,保持基本上均匀地分散在整个连续相(或载液)中的乳剂。例如,在长时间(例如,至少约1个月以上)之后,液滴不会聚集或沉降。

[0047] 如本文所用,术语“基本上不溶混的”是指在彼此接触时不形成均质混合物的两种以上液体。在一些实施方式中,当两种以上基本上不混溶的液体彼此接触时,一种液体在另一种基本上不混溶的液体中可以具有部分溶解度(例如,不大于10%或更低)。如本文所用,术语“均匀的混合物”是指混合物中的所有组分和/或液体容易以单相存在。例如,即使混合物长时间(例如,至少约6小时以上,包括例如至少约12小时、至少约18小时、至少约24小时或更长时间)保持静止,一种或多种组分和/或液体也不会分离成不同的相。当提及液滴和载液的可混溶性时,术语“基本上不溶混的”是指形成载液和液滴的至少外表面的液体(例如,薄的液体层),当它们彼此接触时不形成均匀的混合物。

[0048] 如本文以及整个说明书中所使用的,术语“液滴”是指有限体积的物质,其包含至少一种液体或至少一种液相,包括例如至少两种以上液体或液相。液滴可以具有任何尺寸、构造和/或形状。在本文所述的各个方面的一些实施方式中,所述液滴的液滴尺寸可小于用



于给予包含所述液滴的乳剂的针的内径(例如,小至少50%)。本领域普通技术人员将理解,液滴通常在所指定的“尺寸”周围呈现液滴尺寸的分布。除非另有说明,否则本文所用的术语“液滴尺寸”或“尺寸”是指液滴尺寸分布的模式,即在尺寸分布中最频繁出现的值。用于测量液滴尺寸的方法是本领域技术人员已知的,例如通过动态光散射(例如光相关光谱法、激光衍射、低角度激光散射(LALLS)和中角度激光散射(MALLS)、光阻法(例如Coulter分析方法)或其它技术(例如流变学以及光显微镜或电子显微镜)。

[0049] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂制剂是约10%-50%的乳剂,这意味着本文所述的MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以每100mL制剂约10g至约50g的量存在。在任意方面的一些实施方式中,乳剂制剂为约20%-40%的乳剂。

[0050] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂制剂为约10%-50%的乳剂。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸提供1.1kcal/mL至5kcal/mL的制剂。

[0051] 虽然本文所述的用于全肠或肠外营养的组合物旨在以乳剂形式给予,但是本发明也涵盖其它形式的制剂。例如,使用本领域技术人员众所周知的方法,通过增加配方中的总固体百分数,也可以将本文所述的作为乳剂的组合物制成粉末形式。可以通过添加水(自来水或去离子灭菌水)将浓缩物或粉末重构为进料,以形成乳剂。

[0052] 如本文所用,“鱼油”是指来源于鱼或鱼组织的油。鱼油是可商购的,例如10%(wt/wt)的鱼油甘油三酸酯可获得自位于日本日新的日新制粉有限公司(Nisshin Flour Milling Co.)。OMEGAVEN(Fresenius Kabi)适合用于本文所述的方法和组合物中。在任意方面的一些实施方式中,鱼油可包含 $\omega$ -3脂肪酸、DHA和/或EPA。在任意方面的一些实施方式中,鱼油可以是来源于一种或多种冷水鱼的鱼油,已知其具有高的 $\omega$ -3脂肪酸含量。冷水鱼的非限制性示例可包括深海鱼、鲨鱼、鲑鱼、鳕鱼、鲑鱼、鲱鱼、鲭鱼、大西洋鲭鱼、黑线鳕、鲱鱼(herring)、鲱鳕鱼、鲱鱼(menhaden)、鲭鱼、毛鳞鱼、罗非鱼、秋刀鱼、磷虾、凤尾鱼、狭鳕鱼(pollock)、鳟鱼、白鲑鱼(whitefish)、金枪鱼、胡瓜鱼(smelt)、河鲱和沙丁鱼。在任意方面的一些实施方式中,鱼油可以是来源于一种或多种盐水冷水鱼的鱼油。在任意方面的一些实施方式中,鱼油可以是来源于以下鱼类的鱼油:鲨鱼、鲑鱼、鳕鱼、鲑鱼、鲱鱼、鲭鱼、大西洋鲭鱼、黑线鳕、鲱鱼(herring)、鲱鳕鱼、鲱鱼(menhaden)、鲭鱼、毛鳞鱼、罗非鱼、秋刀鱼、磷虾、凤尾鱼、狭鳕鱼、鳟鱼、白鲑鱼、金枪鱼、胡瓜鱼、河鲱、沙丁鱼或它们的任意组合。

[0053] 如本文所用,术语“脂肪酸”包括诸如不饱和脂肪酸(例如,单不饱和的、多不饱和的)或饱和脂肪酸的脂肪酸,以及药学上可接受的酯、游离酸,甘油单酸酯、甘油二酸酯和甘油三酸酯,其衍生物、缀合物、前体、盐及混合物。

[0054] 如本文所用,术语“ $\omega$ -3脂肪酸”包括天然和合成的 $\omega$ -3脂肪酸,及其药学上可接受的酯、游离酸、甘油三酸酯、衍生物、缀合物、前体、盐以及混合物。 $\omega$ -3脂肪酸可包括但不限于十六碳三烯酸(HTA); $\alpha$ -亚麻酸(ALA);硬脂酸(SDA);二十碳三烯酸(ETE);二十碳四烯酸(ETA);二十碳五烯酸(EPA);二十一碳五烯酸(HPA);二十二碳五烯酸(DPA);鲫鱼酸;二十二碳六烯酸(DHA);二十四碳五烯酸;和二十四碳六烯酸(鲱酸)。用于本文所述乳剂中的 $\omega$ -3脂肪酸可以具有高含量的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)。 $\omega$ -3-脂肪酸可以来自海洋或合成来源。例如, $\omega$ -3脂肪酸的合适来源是鱼或海豹油。合适的鱼油来源包括深海鱼、鲨鱼、鲑鱼、鳕鱼、鲑鱼、鲱鱼、鲭鱼、大西洋鲭鱼、黑线鳕、鲱鱼(herring)、鲱鳕鱼、鲱

鱼(menhaden)、鲭鱼、毛鳞鱼、罗非鱼、秋刀鱼、磷虾、凤尾鱼、狭鳕鱼、鳟鱼、白鲑鱼、金枪鱼、胡瓜鱼、河鲱和沙丁鱼,如本文别处所述的冷水鱼等。

[0055] 根据本公开的脂肪酸可以来源于动物油和/或非动物油。在本公开的一些实施方式中,脂肪酸来源于选自于海产油、藻油、植物基油和微生物油的至少一种油。海产油包括例如鱼油,诸如金枪鱼鱼油、磷虾油和源自鱼的脂质组合物。植物基油包括例如亚麻籽油、菜籽油、芥子油和大豆油。微生物油包括例如Martek生产的产品。在本公开的至少一个实施方式中,脂肪酸来源于海产油,例如鱼油。在至少一个实施方式中,海产油是纯化的鱼油。

[0056] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的 $\omega$ -3脂肪酸可包含EPA、DHA或其组合。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的 $\omega$ -3脂肪酸可以基本上由EPA、DHA或其组合组成。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的 $\omega$ -3脂肪酸可以由EPA、DHA或其组合组成。

[0057] 本公开涵盖的其它 $\omega$ -3脂肪酸(例如 $\omega$ -3为主的油)及其混合物的示例包括欧洲药典 $\omega$ -3甘油三酸酯或富含 $\omega$ -3酸的鱼油专著中定义的 $\omega$ -3脂肪酸,将它们的全部内容以引用方式并入本文。本公开涵盖的其它 $\omega$ -3脂肪酸(例如 $\omega$ -3为主的油)及其混合物的示例包括欧洲药典 $\omega$ -3甘油三酸酯、欧洲药典 $\omega$ -3酸乙酯60或富含 $\omega$ -3酸的鱼油专著中定义的 $\omega$ -3脂肪酸,将它们的全部内容以引用方式并入本文。

[0058] 适用于本公开的 $\omega$ -3脂肪酸的市售示例包括不同的脂肪酸混合物(例如,可以处于甘油三酸酯(TG)、乙酯(EE)、游离脂肪酸形式(FA)和/或作为磷脂)包括但不限于: Incromega<sup>TM</sup> $\omega$ -3海产油浓缩物,诸如Incromega<sup>TM</sup>E1070、Incromega<sup>TM</sup>TG7010 SR、Incromega<sup>TM</sup>E7010 SR、Incromega<sup>TM</sup>TG6015、Incromega<sup>TM</sup>EPA500TG SR、Incromega<sup>TM</sup>E400200SR、Incromega<sup>TM</sup>E4010、Incromega<sup>TM</sup>DHA700TG SR、Incromega<sup>TM</sup>DHA700E SR、Incromega<sup>TM</sup>DHA500TG SR、Incromega<sup>TM</sup>TG3322 SR、Incromega<sup>TM</sup>E3322 SR、Incromega<sup>TM</sup>TG3322、Incromega<sup>TM</sup>E3322、Incromega<sup>TM</sup>Trio TG/EE(Croda International PLC, Yorkshire, 英国); EPAX6000FA、EPAX5000TG、EPAX4510TG、EPAX2050TG、EPAX7010EE、EPAX5500EE、EPAX5500TG、EPAX5000EE、EPAX5000TG、EPAX6000EE、EPAX6000TG、EPAX6000FA、EPAX6500EE、EPAX6500TG、EPAX4510TG、EPAX1050TG、EPAX2050TG、EPAX 7010TG、EPAX7010EE、EPAX6015TG/EE、EPAX4020TG和EPAX4020EE(EPAX是挪威公司Austevoll Seafood ASA的全资子公司); MEG-3® EPA/DHA鱼油浓缩物(加拿大海洋营养公司); DHA FNO“功能性营养油”和DHA CL“清液(Clear Liquid)”(Lonza); Superba<sup>TM</sup>磷虾油(Aker); 由Martek生产的包含DHA的 $\omega$ -3产品; Neptune磷虾油(Neptune); 由Møllers生产的鱼肝油产品和抗回流鱼油浓缩物(TG)产品; Lysi $\omega$ -3鱼油; Seven Seas Triomega® Cod Liver Oil Blend(Seven Seas); 以及Fri Flyt $\omega$ -3(Vesterålen)。

[0059] 本文使用的鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸可以进行纯化,例如,以达到肠外给予的质量标准。在任意方面的一些实施方式中,鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸可以富含额外的或其它的 $\omega$ -3脂肪酸甘油三酸酯,例如可以将另一来源的纯化或合成的 $\omega$ -3脂肪酸甘油三酸酯添加到鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸中,以增加 $\omega$ -3脂肪酸甘油三酸酯的含量。对油进行提取和精制的方法是本领域众所周知的。无需对油进行再酯化以对它们进行纯化、提取或精制。

[0060] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸可包含0-100%的DHA和0-100%的EPA。

[0061] 在本文所述的任意方面的一些实施方式中,  $\omega$ -3脂肪酸和/或鱼油可以被高度精制,例如,作为此特定方法的一部分,高度富集超过 $\omega$ -3脂肪酸及其甘油三酸酯化合物的初始含量。在任意方面的一些实施方式中,这些组合物可包含最小95重量%,例如96重量%、97重量%、98重量%以上的单体甘油三酸酯。在任意方面的一些实施方式中,这些组合物可包含小于1重量%的氧化甘油三酸酯,小于0.2重量%的三聚和低聚甘油三酸酯,和小于0.8重量%的二聚甘油酯,以及小于1.5重量%的不可乳化的、尤其是碳水化合物和甾烷。在任意方面的一些实施方式中,鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸中二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸的总含量为约25重量%-50重量%。在任意方面的一些实施方式中,鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸中二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸的总含量为约35重量%-50重量%。虽然鱼油通常可具有4000ppm至12000ppm的胆固醇含量,但本文中使用的鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸的胆固醇含量(例如,在精制或富集后)包括小于2500ppm,例如小于1500ppm。

[0062] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的组合物的鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸是天然甘油三酸酯,例如,它们未被蒸馏或再酯化。甘油三酸酯的蒸馏和/或再酯化用于本领域已知的某些组合物中(例如,用于除去肉豆蔻酸或棕榈油酸),但是在本文中特别考虑到此类方法改变了甘油三酸酯以在其中诱导毒性并增加了甘油二酸酯、甘油单酸酯和游离脂肪酸的存在。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的组合物的 $\omega$ -3脂肪酸是甘油三酸酯,例如,它们不是在别处描述的甘油二酸酯。例如以总的甘油二酸酯+甘油三酸酯含量的比例计,例如本文所述的组合物的 $\omega$ -3脂肪酸可包含不超过10%、不超过9%、不超过8%、不超过7%、不超过6%、不超过5%、不超过4%、不超过3%、不超过2%、不超过1%、或更少的甘油二酸酯,或不含甘油二酸酯。

[0063] 如本文所用,“中链甘油三酸酯”或“MCT”是指具有6-12个碳原子链的脂肪酸的甘油三酸酯。MCT具有饱和脂肪酸。甘油三酸酯(“TG”) (也称为三酰甘油或三酰甘油酯)是其中甘油被三种脂肪酸酯化的甘油酯。MCT可包含选自于例如辛酸、癸酸、月桂酸和己酸的脂肪酸。MCT可以来源于诸如水果或蔬菜的植物,例如多种植物。在本公开中使用的MCT的描述可以例如满足EP专著0868,题为“甘油三酸酯,中链”(甘油三酸酯饱和介质)(EP 0868,2008)的要求;通过引用将其全部内容并入本文。

[0064] 在任意方面的一些实施方式中,MCT可包含90%以上的C8和/或C10脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,MCT可包含95%以上的C8和/或C10脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,MCT可包含30%-50%的C10脂肪酸和45%-65%的C8脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,MCT可包含约41%的C10脂肪酸和约54%的C8脂肪酸。

[0065] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为70:30至30:70;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为70:30至30:70。在任意方面的一些实施方式中,乳剂可包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约60:40至约30:70;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约60:40至约30:70。在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为60:40至30:70;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为60:40至30:70。

[0066] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50至约30:70;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比

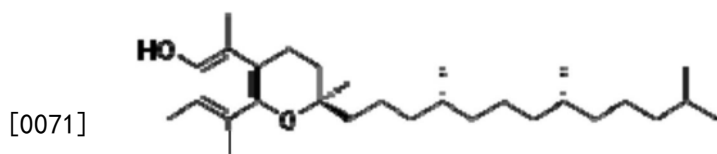
例为约50:50至约30:70。在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50至30:70;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50至30:70。

[0067] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约40:60至约60:40;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约40:60至约60:40。在任意方面的一些实施方式中,乳剂可包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为40:60至60:40;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为40:60至60:40。

[0068] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50。在任意方面的一些实施方式中,乳剂可以包含:a) 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50;或b)  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50。

[0069] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占约5%w/v至约50%w/v的总脂肪。总脂肪总体上可以指MCT和鱼油/ $\omega$ -3脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占约15%w/v至约25%w/v的总脂肪。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占约5%w/v至约50%w/v的总脂肪。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占约20%w/v的总脂肪。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占5%w/v至50%w/v的总脂肪。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占15%w/v至25%w/v的总脂肪。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占5%w/v至50%w/v的总脂肪。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂组合物包含在组合物的总体积中占20%w/v的总脂肪。

[0070] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可进一步包含 $\alpha$ -生育酚。如本文所用,“ $\alpha$ -生育酚”是指在其任何立体异构体中具有式I结构的维生素E的形式。



式 I

[0072] 在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少50mg/L的水平存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少75mg/L的水平存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少100mg/L的水平存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少120mg/L的水平存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少150mg/L的水平存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\alpha$ -生育酚以至少200mg/L的水平存在于乳剂中。

[0073] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E(例如, $\beta$ -生育酚、 $\gamma$ -生育酚、 $\delta$ -生育酚、 $\alpha$ -生育三烯酚、 $\beta$ -生育三烯酚、 $\gamma$ -生育三烯酚和/或 $\delta$ -生育三烯酚),其重量比至少为2:1。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物包含 $\alpha$ -

生育酚和其它形式的维生素E,其重量比至少为3:1。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E,其重量比至少为5:1。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E,其重量比至少为10:1。在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物不包含除 $\alpha$ -生育酚外的维生素E形式。

[0074] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT和b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可基本上由a) MCT和b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸组成。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由a) MCT和b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸组成。在任意方面的一些实施方式中, $\omega$ -3脂肪酸以 $\omega$ -3为主的脂肪酸油提供。

[0075] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,以及c) 乳化剂(例如卵磷脂) 磷脂、甘油和油酸钠中的一种或多种。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可基本上由a) MCT和b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸组成。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,和c) 乳化剂(例如磷脂和/或卵磷脂)、甘油和油酸钠中的一种或多种。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由a) MCT和b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸组成。

[0076] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,以及c) 乳化剂、磷脂、卵磷脂、甘油和油酸钠中的一种或多种。

[0077] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,以及c)  $\alpha$ -生育酚。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以基本上由a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,以及c)  $\alpha$ -生育酚组成。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸,以及c)  $\alpha$ -生育酚组成。

[0078] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c)  $\alpha$ -生育酚,以及d) 乳化剂、磷脂、卵磷脂、甘油和油酸钠中的一种或多种。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以基本上由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c)  $\alpha$ -生育酚,以及d) 乳化剂(例如,磷脂或卵磷脂)、甘油和油酸钠中的一种或多种。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c)  $\alpha$ -生育酚,以及d) 乳化剂(例如磷脂和/或卵磷脂)、甘油和油酸钠中的一种或多种。

[0079] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠中的一种或多种,以及任选地e)  $\alpha$ -生育酚和/或植物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以基本上由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠中的一种或多种,以及任选地e)  $\alpha$ -生育酚和/或植物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠中的一种或多种,以及任选地e)  $\alpha$ -生育酚和/或植物甾醇。

[0080] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠,以及任选地e)  $\alpha$ -生育酚和/或植物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以基本上由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠,以及任选地e)  $\alpha$ -生育酚和/或植

物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠,以及任选地e)  $\alpha$ -生育酚和/或植物甾醇。

[0081] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠,以及e)  $\alpha$ -生育酚。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以基本上由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠,以及e)  $\alpha$ -生育酚。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以由以下组成:a) MCT, b) 鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸, c) 水, d) 卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠,以及e)  $\alpha$ -生育酚。

[0082] 在某些情况下,例如在TPN期间,植物甾醇(例如 $\beta$ -谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、谷甾醇和菜油甾醇)可诱发炎症病症和PNALD。在任意方面的一些实施方式中,乳剂不包含植物甾醇。在任意方面的一些实施方式中,乳剂不包含 $\omega$ -6脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,乳剂不包含从植物来源获得的脂肪和/或脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,乳剂不包含从植物来源获得的长链脂肪酸。

[0083] 如本文所述,本发明的制剂可以抵消植物甾醇(例如, $\beta$ -谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、谷甾醇和菜油甾醇)的负面副作用。因此,在任意方面的一些实施方式中,植物甾醇和/或 $\omega$ -6脂肪酸存在于本文所述的乳剂中。在任意方面的一些实施方式中,植物甾醇以小于50mg/L的浓度存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\omega$ -6脂肪酸以小于50mg/L的浓度存在于乳剂中。

[0084] 在任意方面的一些实施方式中,植物甾醇以小于100mg/L的浓度存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\omega$ -6脂肪酸以小于100mg/L的浓度存在于乳剂中。

[0085] 在任意方面的一些实施方式中,植物甾醇以小于25mg/L的浓度存在于乳剂中。在任意方面的一些实施方式中, $\omega$ -6脂肪酸以小于25mg/L的浓度存在于乳剂中。

[0086] 在任意方面的一些实施方式中,从植物来源获得的脂肪和/或脂肪酸以小于100mg/L,例如小于100mg/L、小于50mg/L或小于25mg/L的浓度存在于乳剂中。

[0087] 如本文所用,“植物甾醇”是指植物来源的甾醇和甾醇,例如植物甾体。植物甾醇的非限制性示例可包括 $\beta$ -谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、谷甾醇和菜油甾醇。

[0088] 如本文所用,“ $\omega$ -6脂肪酸”包括天然和合成的 $\omega$ -6脂肪酸,及其药学上可接受的酯、游离酸、甘油三酸酯、衍生物、缀合物、前体、盐以及混合物。 $\omega$ -6脂肪酸可包括但不限于亚油酸(LA);  $\gamma$ -亚麻酸(GLA); 十八碳三烯酸; 二十碳二烯酸; 二高- $\gamma$ -亚麻酸(DGLA); 花生四烯酸(AA、ARA); 二十二碳二烯酸; 二十二碳四烯酸; 二十二碳五烯酸; 二十四碳四烯酸; 和二十四碳五烯酸。 $\omega$ -6脂肪酸可以来自植物或合成来源。

[0089] 在任意方面的一些实施方式中,花生四烯酸以至少900mg/L的浓度存在于组合物中。在任意方面的一些实施方式中,二十二碳六烯酸以至少13.4g/L的浓度存在于组合物中。在任意方面的一些实施方式中,二十碳五烯酸以至少11.6g/L存在于组合物中。

[0090] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可进一步包含乳化剂(例如,磷脂和/或卵磷脂)、甘油和油酸钠中的一种或多种。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含10%-30%的MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸、0.5%-2.5%的卵磷脂、0.5%-5.0%的甘油和0.005%-0.1%的油酸钠。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含

约20%的MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸、约1.2%的卵磷脂、约2.5%的甘油和约0.03%的油酸钠。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可包含20%的MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸、1.2%的卵磷脂、2.5%的甘油和0.03%的油酸钠。

[0091] 本文所述的乳剂可以例如口服、肠外或静脉内给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂被配制用于口服给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂被配制用于肠外和/或静脉内给予。

[0092] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的组合物可通过以下步骤制备:首先将每种组分乳化为单独的乳剂,然后将那些乳剂混合或合并在一起,例如,通过将 $\omega$ -3脂肪酸油源(例如,以 $\omega$ -3脂肪酸为主的油)和/或鱼油乳化,将MCT乳化,然后将这两种乳化液混合或合并在一起,从而获得在上述组合中的最终组合的MCT和鱼油(或 $\omega$ -3脂肪酸)乳剂。

[0093] 在任意方面的一些实施方式中,可以通过高压均质化以以下方式分别配制每种乳剂:首先使用卵磷脂乳化剂制备脂质分散体,然后在高速剪切混合条件下,将其加入到加热的(75°C-90°C)USP级无菌注射用水(SWFI)中。使温度降至40°C-45°C。然后加入油酸钠,并在3900-4000RPM下继续剪切混合40分钟。然后依次添加加热的SWFI,以将温度保持在40°C-45°C。在连续剪切混合下添加甘油。这样得到的分散液包含12%的卵磷脂、25%的甘油和0.3%的油酸钠。然后将粗分散液转移到均质器中,在9000psi下于40°C-45°C均质20个循环,通过0.45 $\mu$ m膜过滤,并用0.5N氢氧化钠(NaOH)将pH调节至10.4。所有步骤均在氮气气氛下进行。为了混合乳剂,在连续剪切混合条件下,将油(例如鱼油或MCT油)以细流的形式加入分散剂中,以3500-4500RPM混合40-45分钟,温度保持在40°C-45°C。将生成的粗乳剂转移到均质器中,并在5000psi和40°C-45°C下均质化不少于9个乳剂周期。使用0.1N NaOH将乳剂的pH缓冲至>8.8。混合过程的所有步骤均在氮气气氛下进行。将成品乳剂等分到玻璃血清小瓶中,并在密封之前用氮气充满顶部空间。将所有小瓶加热灭菌。这样可以使每种油类最佳地均质化,以提高对美国药典(USP)第<729>章的下述要求的遵从性:肠外脂肪乳剂的平均脂肪小球尺寸<500nm,且脂肪小球>5 $\mu$ m的百分比(PFAT5) $\leq$ 0.05%。

[0094] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的脂质乳剂可以是两种以上乳剂的混合物。该方法的优点可在于,在脂质的初始乳化之后,可以容易地将额外组分添加到混合物中。作为非限制性示例,根据需要,针对病人的具体情况可以在给药时而非生产时,对20%的鱼油乳剂与20%的MCT油乳剂的50:50混合物进行进一步补给例如额外的鱼油乳剂、甘油三酸酯、DHA、亚油酸或其它脂质。这为处方者提供了更大的灵活性,可以根据患者的具体情况滴定油的混合物,并降低了从业人员保存成品MCT和鱼油(或 $\omega$ -3脂肪酸)乳剂组合的多种组合的需要。

[0095] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的组合物可通过以下步骤制备:首先将组分混合在一起,然后制备混合物的乳化物,例如,通过将 $\omega$ -3脂肪酸油源和/或鱼油与MCT混合,然后对混合物进行乳化。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的脂质乳剂可以是脂质制剂的混合物的乳化物。

[0096] 为了制备根据本发明的脂质乳剂,可以将一种或多种乳化剂与例如MCT或 $\omega$ -3脂肪酸源混合。为此目的的乳化剂通常是天然、合成或半合成来源的磷脂。多种合适的乳化剂是本领域已知的。合适的乳化剂的示例包括但不限于卵磷脂酰胆碱、蛋黄卵磷脂、L- $\alpha$ -二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、DL- $\alpha$ -二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)和二油酰基磷脂酰胆碱

(DOPC)。根据本发明,乳化剂中甘油二酸酯和甘油单酸酯以及游离脂肪酸的总浓度应降低,以使对乳剂的总油浓度的贡献最小。在本发明的一个实施方式中,乳化剂中甘油三酸酯以及游离脂肪酸的总浓度小于约3.5%。在任意方面的一些实施方式中,卵磷脂被用作脂质乳剂中的乳化剂。可选择地,蛋黄卵磷脂可以用作乳化剂。包含80%-85%的磷脂酰胆碱和少于约3.5%的脂肪的蛋黄卵磷脂也可以用作乳化剂。本领域技术人员将理解,其它组分可以存在于蛋黄卵磷脂中,而不会不利地影响乳化性能。例如,蛋黄卵磷脂可以包含磷脂酰乙醇胺、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺、鞘磷脂和其它天然组分中的一种或多种。

[0097] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂包含约0.5%至约5% (w/v) 的乳化剂。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂包含约0.6%至约2% (w/v) 的乳化剂。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂包含约0.8%至约1.8% (w/v) 的乳化剂。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂包含约1.0%至约1.5% (w/v) 的乳化剂。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂包含约1.2% (w/v) 的乳化剂。

[0098] 乳剂中卵磷脂与油(例如MCT、鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸)的比例对于确定乳剂中形成的油小球的尺寸很重要。在任意方面的一些实施方式中,卵磷脂与油的比例在约1:4至约1:20之间。在任意方面的一些实施方式中,该比例在约1:4至约1:18之间。在任意方面的一些实施方式中,该比例在约1:4至约1:15之间。在任意方面的一些实施方式中,该比例在约1:4至约1:10之间。

[0099] 根据本发明的脂质乳剂可进一步包含额外的组分,例如改善了乳剂的稳定性、均匀性和/或其它性质的抗氧化剂、螯合剂、重量摩尔渗透压浓度调节剂、缓冲剂、中和剂等。可以添加到脂质乳剂中的合适的抗氧化剂包括但不限于 $\alpha$ -生育酚(维生素E)和生育三烯酚。如本领域中已知的,生育三烯酚是生育三烯酚和从米糠油馏出物中浓缩的维生素E提取物的天然混合物。生育三烯酚的结构与维生素E相似,并且在分子的碳侧链中包含三个双键。在任意方面的一些实施方式中,添加到乳剂中的抗氧化剂的浓度通常在约0.002%至约1.0% (w/v) 之间。在任意方面的一些实施方式中,在乳剂中使用的抗氧化剂的浓度在约0.02%至约0.5% (w/v) 之间。在任意方面的一些实施方式中,生育三烯酚作为抗氧化剂添加到乳剂中。在任意方面的一些实施方式中,将约0.5% (w/v) 的生育三烯酚加入到乳剂中。在任意方面的一些实施方式中,维生素E作为抗氧化剂添加到乳剂中。在任意方面的一些实施方式中,将约0.02% (w/v) 的维生素E添加到乳剂中。

[0100] 乳剂可以进一步包含螯合剂,以改善乳剂的稳定性并减少氧化脂肪酸的形成。合适的螯合剂是本领域已知的,并且是通常被认为是安全(GRAS)化合物的那些。示例包括但不限于EDTA。在任意方面的一些实施方式中,乳剂包含EDTA。在任意方面的一些实施方式中,乳剂包含浓度约 $1 \times 10^{-6}$ M至 $5 \times 10^{-5}$ M的EDTA。

[0101] 也可以将重量摩尔渗透压浓度调节剂掺入乳剂中,以将乳剂的重量摩尔渗透压浓度调节至适合肠外给予的值。用于肠外乳剂的重量摩尔渗透压浓度调节剂的量和类型在本领域中是众所周知的。合适的重量摩尔渗透压浓度调节剂的示例是甘油。重量摩尔渗透压浓度调节剂的浓度通常在约2%至约5% (w/v) 的范围内。在任意方面的一些实施方式中,添加到乳剂中的重量摩尔渗透压浓度调节剂的量在约2%至约4%之间。在任意方面的一些实施方式中,添加到乳剂中的重量摩尔渗透压浓度调节剂的量在约2%至约3%之间。在任意方面的一些实施方式中,将约2.25% (w/v) 的甘油作为重量摩尔渗透压浓度调节剂添加至



乳剂中。在任意方面的一些实施方式中,最终产物是等渗的,以允许通过中央或外周静脉导管输注乳剂。

[0102] 可以通过使用缓冲剂或中和剂对乳剂的pH进行调节。已显示pH值接近生理pH或更高的乳剂不易发生脂肪酸过氧化。本领域的技术人员将理解,可以通过使用对脂肪酸上的负电荷进行中和的适当碱,通过使用适当的缓冲剂或其组合对乳剂的pH进行调节。多种碱和缓冲剂适用于本发明的乳剂。本领域技术人员将理解,向乳剂中添加缓冲剂不仅会影响最终pH,还会影响乳剂的离子强度。高离子强度可能会对乳剂的 $\zeta$ 电势产生负面影响(即,油小球的表面电荷),因此是不希望的。选择合适的缓冲强度以提供合适的pH被认为是本领域技术人员的普通技能。在任意方面的一些实施方式中,使用氢氧化钠对乳剂的pH进行调节。在任意方面的一些实施方式中,使用缓冲剂对pH进行调节。在任意方面的一些实施方式中,缓冲剂是磷酸盐缓冲剂。在任意方面的一些实施方式中,将氢氧化钠和磷酸盐缓冲剂两者均添加到乳剂中。在任意方面的一些实施方式中,乳剂的最终pH在约6.0至约9.0之间。在任意方面的一些实施方式中,乳剂的pH在约7.0至约8.5之间。在任意方面的一些实施方式中,乳剂的pH在约7.0至约8.0之间。

[0103] 在任意方面的一些实施方式中,脂质乳剂可进一步包含用于调节乳剂稳定性的组分,例如氨基酸或者诸如果糖或葡萄糖的碳水化合物。也可以将脂质乳剂配制成包含营养素,所述营养素例如葡萄糖、氨基酸、维生素或其它肠外营养补给物。掺入治疗剂的脂质乳剂的制剂也被认为在本发明的范围内。如本文所用,“治疗剂”是指在动物中产生局部或全身作用的生理或药理活性物质,并且通常指药物、营养补给物、维生素、矿物质、酶、激素、蛋白质、多肽、抗原和其它在治疗或诊断上有用的化合物。

[0104] 在任意方面的一些实施方式中,乳剂组合物可进一步包含一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的方法可进一步包括给予一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。所述添加剂可包含对疾病有治疗性(例如受试者需要治疗的疾病)的一种或多种脂肪酸。例如,DHA可对患有囊性纤维化的患者有治疗性,并且用于患有囊性纤维化的受试者的添加剂可以包含例如超出营养平衡所必需的DHA。在任意方面的一些实施方式中,添加剂以治疗性的比例或共混物包含脂肪酸。在任意方面的一些实施方式中,添加剂以几ng/kg/天至几g/kg/天的剂量提供。在任意方面的一些实施方式中,添加剂以1ng/kg/天至10g/kg/天的剂量提供。在任意方面的一些实施方式中,添加剂以1ng/kg/天至100g/kg/天的剂量提供。在任意方面的一些实施方式中,添加剂以1ng/kg/天至1000g/kg/天的剂量提供。

[0105] 在任意方面的一些实施方式中,该组合物包含a) 添加剂(例如,额外的脂肪酸)的乳剂与b) 一种或多种下述乳剂的混合物,所述乳剂为i) 所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸与ii) MCT的乳剂。这种方法(即乳剂混合物)允许在给药期间或给药前立即制备混合物(例如,在患者的床边或在现场药剂服务中),因此可以根据临床指征(例如根据他们的症状、病理和/或年龄)根据患者需要定制添加剂的浓度和/或特性。在任意方面的一些实施方式中,添加剂可以是例如额外的鱼油乳剂、甘油三酸酯、DHA、亚油酸或根据需要的其它脂质。

[0106] 一方面,本文描述的是包含本文所述的组合物、例如本文所述的乳剂的试剂盒。试剂盒是包含至少一种试剂(例如乳剂)的任何制品(例如包装或容器),所述试剂被作为实施本文所述方法的单位而被推出、分配或出售。本文所述的试剂盒可任选地包含可用于实施

本文所述方法的额外组分,例如可用于通过所需途径给药的针、管等。举例来说,试剂盒可包含适合与本文所述的乳剂一起使用的流体(例如缓冲液),描述本文所述方法的实施的指导材料等。试剂盒可进一步包含用于递送如本文所述的组合物的装置和/或试剂。另外,该试剂盒可包含说明书和/或可提供关于剂量、给药频率等的信息。

[0107] 本发明的试剂盒包含一个或多个装有乳剂的包装或容器,以及与乳剂的使用和剂量有关的一组说明、一般书面说明。试剂盒可进一步包括含有一种或多种营养素或者治疗或诊断化合物的另外的容器,可在给药前将其添加到乳剂中。包含乳剂的包装可以是单位剂量或药房散装包装(pharmacy bulk package)的形式。剂量可以以下述形式进行包装:使得每个剂量与例如一周中的一天相关联。还可以在试剂盒中附加政府机构(该机构调控生物制品的生产、使用或销售)规定的形式的通知,该通知反映了人或动物给药的生产、使用或销售机构的批准。

[0108] 容器设计也是制造脂肪乳剂时的重要因素。例如,如果将乳剂包装在玻璃中,则可以在添加实际乳剂之前用氮气填充容器。添加乳剂后,可以在玻璃容器上再次装满氮气,以在盖上盖子后去除死角。这种氮气填充防止过氧化物的形成。如果产品用塑料包装,则可以使用不透气的含DEHP的容器。容器还可以具有适当的外包装,以最大程度地降低脂质中过氧化物的形成,以及增塑剂从容器中渗入产品本身。此外,如果使用塑料,则包装袋中可包含干燥剂,以及用于指示外包装中是否漏气的指标。在任意方面的一些实施方式中,容器可以是不含胶乳的。

[0109] 在任意实施方式的一个方面,本文描述的方法包括:将本文所述的乳剂制剂给予对其有需要的受试者。对本文所述的乳剂制剂有需要的受试者可以是需要补充营养(口服或肠外)的受试者,需要肠外营养、完全肠外营养的受试者,需要治疗炎症病症的受试者,和/或需要治疗或减轻炎症的受试者。本领域技术人员可以容易地识别出对本文所述的乳剂制剂有需要的受试者,例如接受肠外营养的下述受试者,所述受试者正在表现出炎症症状和/或正在表现出被认为是因副作用风险而应减少或停止传统PN或TPN的指标的症状(包括炎症和/或肝病)。此类受试者及其症状例如在Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine(SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition(A.S.P.E.N.), Taylor等中进行详细描述,通过引用将其全部内容并入本文(万维网上

[0110] [journals.lww.com/ccmjournals/Fulltext/2016/02000/Guidelines\\_for\\_the\\_Provision\\_and\\_Assessment\\_of.20.aspx](http://journals.lww.com/ccmjournals/Fulltext/2016/02000/Guidelines_for_the_Provision_and_Assessment_of.20.aspx)可获得)。

[0111] 在任意方面的一些实施方式中,给予本文所述的乳剂制剂的患者可以是需要治疗选自于由以下组成的组的病症的受试者:肝脂肪变性;肠衰竭;肠外营养相关性肝病(PNALD);败血症;囊性纤维化;镰状细胞性贫血;胰腺炎;炎性肠病;克罗恩病;胆管闭锁;原发性硬化性胆管炎;炎性感染;炎症病症;全身性炎症反应综合征(SIRS);高甘油三酯血症;严重高甘油三酯血症;严重肝脂肪变性;早产儿视网膜病变;急性肾小管坏死;IgA肾病;缺血再灌注损伤;创伤性脑损伤;多系统器官衰竭;呼吸窘迫综合征;急性心肌梗塞;心肌梗塞;心绞痛持续状态;哮喘持续状态;癫痫持续状态;腔隙持续状态;炎性肠病;局限性肠炎;溃疡性结肠炎;严重或衰弱性关节炎;关节炎;银屑病;严重银屑病;烧伤;三度烧伤;胰腺

炎;急性胰腺炎;肠衰竭相关的肝病(IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积(PNAC)、必需脂肪酸缺乏症(EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏,所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。在任意方面的一些实施方式中,给予本文所述的乳剂制剂的患者可以是患有或被诊断患有选自于由以下组成的组的病症的受试者:肝脂肪变性;肠衰竭;肠外营养相关性肝病(PNALD);败血症;囊性纤维化;镰状细胞性贫血;胰腺炎;炎性肠病;克罗恩病;胆管闭锁;原发性硬化性胆管炎;炎症感染;炎症病症;全身性炎症反应综合征(SIRS);高甘油三酯血症;严重高甘油三酯血症;严重肝脂肪变性;早产儿视网膜病变;急性肾小管坏死;IgA肾病;缺血再灌注损伤;创伤性脑损伤;多系统器官衰竭;呼吸窘迫综合征;急性心肌梗塞;心肌梗塞;心绞痛持续状态;哮喘持续状态;癫痫持续状态;腔隙持续状态;炎性肠病;局限性肠炎;溃疡性结肠炎;严重或衰弱性关节炎;关节炎;银屑病;严重银屑病;烧伤;三度烧伤;胰腺炎;急性胰腺炎;肠衰竭相关的肝病(IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积(PNAC)、必需脂肪酸缺乏症(EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏,所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。

[0112] 在任意方面的一些实施方式中,给予本文所述的乳剂的受试者患有或需要治疗肝脏疾病,例如脂肪肝疾病。如本文所用,“脂肪肝疾病”是指其中脂肪(肝细胞)在肝脏中过度蓄积并且可以引起严重疾病(例如慢性肝炎和肝硬化)的疾病。在患有脂肪肝疾病的患者中,脂质(特别是中性脂肪)在肝细胞中蓄积至如下程度:其量超过了生理上允许的范围。从生化的角度来看,判断脂肪肝的标准是中性脂肪的重量约占肝组织湿重的10%(100mg/g湿重)以上。尽管通常需要活检进行确诊,但脂肪肝疾病通常是通过观察肝特异性酶(例如转氨酶ALT和AST,这些酶可以作为肝细胞损伤的指标)的血清水平升高,以及通过症状的表现(包括肝脏区域的疲劳和疼痛)来检测的。

[0113] 在任意方面的一些实施方式中,给予本文所述的乳剂的受试者患有或需要治疗PN相关性或诱发性肝病。该疾病包括生化病变(即升高的血清转氨酶、胆红素和碱性磷酸酶)和组织学病变(例如脂肪变性、脂肪性肝炎、脂质变性、胆汁淤积、纤维化和肝硬化)。该疾病可能随着PN给药的过程中逐渐发展并加重,并在儿科人群中更为普遍。这种情况的另外的危险因素包括早产、低出生体重、长期使用、缺乏相应的口服摄入、败血症和多种手术过程。总的来说,PN诱导的肝病理的严重程度被认为与患者年龄成反比。

[0114] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂通过肠外给予(PN)而被给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂通过完全肠外给予(TPN)而被给予。在任意方面的一些实施方式中,给予本文所述乳剂的受试者需要肠外给予(PN)。在任意方面的一些实施方式中,给予本文所述的乳剂的受试者需要完全肠外给予(TPN)。出于PN应用或治疗益处而向患者给予脂质乳剂的方法是本领域已知的。通常,在合适的时间内通过输注来给予乳剂。临床领域的技术人员可以容易地确定适当的剂量和给药方式、治疗方案。

[0115] 在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许任何口服营养。在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许任何包含脂肪和/或脂肪酸的口服营养。

[0116] 在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的

几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予任何其它肠外制剂。在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予任何包含脂肪和/或脂肪酸的其它肠外制剂。

[0117] 在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许脂肪和/或脂肪酸的任何其它营养来源。

[0118] 在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许必需脂肪酸的任何其它营养来源。在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许必需脂肪酸的任何其它口服营养来源。在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许必需脂肪酸的任何其它肠外营养来源。

[0119] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂通过口服给予而给予。

[0120] 在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许足以维持营养平衡的任何其它营养来源。在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许足以维持营养平衡的其它任何口服/肠内营养来源。在任意方面的一些实施方式中,在给予乳剂的治疗期间(例如,向他们给予乳剂的几天或几周的时间内),给予本文所述的乳剂的受试者不给予和/或不允许足以维持营养平衡的任何其它肠外营养来源。如本文所用,“营养平衡”是指通过提供适当的营养来维持生长、发育和消除营养缺乏。营养平衡满足了每个人的要求,而无需过量提供可能产生不良后果的任何特定营养素。

[0121] 如本文别处所述,已证明本文所述的乳剂适用于单一疗法,例如,当作为单一疗法给予时,它们不引起必需的脂肪酸缺乏症、炎症和/或其它营养缺乏。这并非是所有脂肪/脂肪酸组合物都共有的特征,否则该脂肪/脂肪酸组合物可能适合于给予(例如,肠外给予)。因此,在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂作为单一疗法进行给予,以用于受试者需要治疗的病症。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂作为单一疗法进行给予,以用于营养需要,例如,可以同时给予无显著营养价值的抗炎药,但是就营养需要而言,所述乳剂仍将是单一疗法。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂作为脂肪酸的单一疗法进行给予,例如,不将脂肪酸的其它来源给予受试者或无其它脂肪酸来源被受试者消耗。

[0122] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以以约0.5g脂肪酸/kg/天至约5g脂肪酸/kg/天的剂量给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以以0.5g脂肪酸/kg/天至5g脂肪酸/kg/天的剂量给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以以约1g脂肪酸/kg/天至约3g脂肪酸/kg/天的剂量给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以以1g脂肪酸/kg/天至3g脂肪酸/kg/天的剂量给予。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂可以以约2g脂肪酸/kg/天的剂量给予。

[0123] 在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的给予持续至少3天,例如3天以

上、4天以上、5天以上、7天以上、2周以上、3周以上、4周以上、6周以上、2个月以上、或3个月以上。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的给予持续至少3周。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的给予持续至少6周。在任意方面的一些实施方式中,本文所述的乳剂的给予持续至少3个月。

[0124] 本文所述的组合物和方法可以给予患有或诊断为患有本文所述的病症的受试者。在一些实施方式中,本文所述的方法包括给予有效量的本文所述的组合物,例如,将乳剂给予受试者以减轻本文所述病症的症状。如本文所用,“减轻症状”是缓解任何病症或与该病症相关的症状。与等效的未治疗对照相比,按任何标准技术测得的这一减少为至少5%、10%、20%、40%、50%、60%、80%、90%、95%、99%以上。用于将本文所述的组合物给予受试者的多种方式是本领域技术人员已知的。这样的方法可以包括但不限于口服、肠外或静脉内给予。

[0125] 如本文所用,术语“有效量”是指减轻疾病或紊乱的至少一种或多种症状所需的本文所述的乳剂的量,并且关乎提供所需效果的药理组合物的足够的量。因此,术语“治疗有效量”是指当向典型的受试者给药时,足以提供特定作用(例如,营养或抗炎作用)的本文所述的乳剂的量。在各种情况下,本文使用的有效量还应包括足以延迟疾病症状发展、改变症状疾病进展(例如但不限于减缓疾病症状的进展)或逆转疾病症状的量。因此,通常无法指定确切的“有效量”。然而,对于任何给定的情况,本领域普通技术人员可以仅使用常规实验来确定合适的“有效量”。

[0126] 可以通过细胞培养或实验动物中的标准药理学程序来确定有效量、毒性和治疗效果,例如,用于确定LD50(对50%的人群致死的剂量)和ED50(在50%的人群中的治疗有效剂量)。剂量可以根据所采用的剂型和所使用的给药途径而变化。毒性和治疗效果之间的剂量比是治疗指数,可以表示为LD50/ED50之比。表现出大的治疗指数的组合物和方法是优选的。最初可以从细胞培养测定中对治疗有效剂量进行估计。同样,可以在动物模型中制定剂量以达到循环血浆浓度范围,该范围包括在细胞培养中或在合适的动物模型中确定的IC50(即,达到症状的半数最大抑制的乳剂或其组分的浓度)。血浆中的水平可以例如通过高效液相色谱法测量。可以通过合适的生物测定法,例如炎症或肝功能测定法来监测任何特定剂量的效果。剂量可以由医生确定,并根据需要进行调整以适合所观察到的治疗效果。

[0127] 在一些实施方式中,本文所述的技术涉及药物组合物,其包含本文所述的乳剂和任选的药学上可接受的载体。在一些实施方式中,如本文所述,药物组合物的活性成分包含本文所述的乳剂。在一些实施方式中,如本文所述,药物组合物的活性成分基本上由本文所述的乳剂组成。在一些实施方式中,如本文所述,药物组合物的活性成分由本文所述的乳剂组成。药学上可接受的载体和稀释剂包括盐水、缓冲水溶液、溶剂和/或分散介质。这种载体和稀释剂的使用是本领域众所周知的。可以用作药学上可接受的载体的材料的一些非限制性示例包括:(1)糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素和醋酸纤维素;(4)粉状黄芪胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)润滑剂,例如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石粉;(8)赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡;(9)二醇,例如丙二醇;(10)多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇(PEG);(11)酯,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(12)琼脂;(13)缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;(14)海藻酸;(15)无热原水;(16)等渗盐水;(17)林格氏溶

液; (18) 乙醇; (19) pH缓冲溶液; (20) 聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐; (21) 填充剂, 例如多肽和氨基酸; (22) 血清组分, 例如血清白蛋白、HDL和LDL; (23)  $C_2$ - $C_{12}$ 醇, 例如乙醇; 以及 (24) 药物制剂中使用的其它无毒相容性物质。制剂中还可存在润湿剂、着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂、加香剂、防腐剂和抗氧化剂。诸如“赋形剂”、“载体”、“药学上可接受的载体”等的术语在本文中可互换使用。在一些实施方式中, 载体抑制如本文所述的活性剂的降解。需要注意的是, 乳剂本身可以包含水。该乳剂可以与肠外营养液中使用的其它组分 (例如葡萄糖、结晶氨基酸、微量元素、多种维生素、电解质和矿物质) 一起给予。

[0128] 在一些实施方式中, 如本文所述, 包含本文所述的乳剂的药物组合物可以是肠外剂型。由于肠外剂型的给予通常绕过患者对污染物的天然防御, 因此肠外剂型优选是无菌的或能够在给予患者之前进行灭菌。肠外剂型的示例包括但不限于制备用于注射的溶液、制备待溶解或悬浮在用于注射的药学上可接受的载体中的干燥产品、制备用于注射的悬浮液、以及乳剂。另外, 可以制备用于患者给药的控释肠外剂型, 包括但不限于 **DUROS<sup>®</sup>** 剂型和剂量倾卸。

[0129] 包含本文所述的乳剂的药物组合物也可以配制为适合口服给予, 例如作为分散剂型, 例如但不限于片剂 (包括但不限于刻痕片剂或包衣片剂)、丸剂、囊片、胶囊剂、咀嚼片、粉剂小包、扁囊剂、锭剂、圆片或液体 (例如但不限于糖浆剂、酏剂、在水性液体中的溶液或分散液、非水性液体)、水包油型乳剂、或油包水型乳剂。这样的组合物包含预定量的所公开化合物的药学上可接受的盐, 并且可以通过本领域技术人员众所周知的药学方法来制备。一般地参见 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, Lippincott, Williams和Wilkins, Philadelphia PA. (2005)。

[0130] 本文所述的方法可以进一步包括向受试者给予第二药剂和/或治疗, 例如作为组合疗法的一部分。作为非限制性示例, 如果受试者需要根据本文所述的方法治疗疼痛或炎症, 则还可以向受试者给予已知对患有疼痛或炎症的受试者有益的第二药剂和/或治疗。此类药剂和/或治疗的示例包括但不限于非甾体抗炎药 (NSAID-例如阿司匹林、布洛芬或萘普生); 皮质类固醇, 包括糖皮质激素 (例如皮质醇、泼尼松、泼尼松龙、甲基泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、曲安西龙和倍氯米松); 甲氨蝶呤; 柳氮磺吡啶; 来氟米特; 抗TNF药物; 环磷酰胺; 前消散 (pro-resolving) 药物; 霉酚酸酯; 或鸦片制剂 (例如内啡肽、脑啡肽和强啡肽)、类固醇、镇痛药、巴比妥酸盐、羟考酮、吗啡、利多卡因等。

[0131] 在某些实施方式中, 如本文所述, 可将有效剂量的包含本文所述乳剂的组合物一次给予患者。在某些实施方式中, 可将有效剂量的包含本文所述的乳剂的组合物重复给予患者, 例如每天一次或每天几次, 持续至少3天、至少4天、至少5天、至少6天、至少1周、至少2周、至少3周、至少4周、至少6周、至少2个月或至少3个月。

[0132] 如本文所述的组合物的剂量可以由医生确定, 并根据需要进行调整以适合所观察到的治疗效果。关于治疗的持续时间和频率, 熟练的临床医生通常对受试者进行监测以确定治疗何时提供治疗益处, 并确定是否增加或减少剂量, 是否增加或减少给药频率, 中止治疗, 恢复治疗, 或对治疗方案进行其它更改。给药时间表可以由一周一次至每天一次, 这取决于许多临床因素, 例如受试者对乳剂组分的敏感性。活性作用所需的剂量或量可以一次给予或分成亚剂量 (例如2-4个亚剂量) 并在一段时间内 (例如以一天中的适当间隔或其它合适的时间表) 给予。在一些实施方式中, 给药可以是长期的, 例如在几周或几个月的时间

内每天一次或多次剂量和/或治疗。给药和/或治疗方案的示例是在1周、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月或6个月以上的时间段内,每天、每天两次、每天三次、或每天四次以上给予。包含本文所述的乳剂的组合物可以在一段时间内给予,例如在5分钟、10分钟、15分钟、20分钟或25分钟内。

[0133] 根据本文所述的方法,本文所述的乳剂的给予剂量范围取决于,例如乳剂的形式,其效力,以及本文所述病症的症状、标志物或指标期望减少的程度。剂量不应过大以致引起不良副作用。通常,剂量将根据患者的年龄、状况和性别而变化,并且可以由本领域技术人员确定。在发生任何并发症的情况下,剂量也可以由个别医生进行调整。

[0134] 熟练的临床医生可以确定本文所述乳剂的效果,例如,本文所述病症的治疗或诱发本文所述的反应。然而,如本文所用的术语,如果以有益的方式改变了本文所述病症的一种或多种体征或症状,其它临床可接受的症状得到改善或甚至减轻,或者根据本文所述方法在治疗后诱发例如至少10%的期望反应,则治疗被认为是“有效治疗”。例如,可以通过对根据本文所述方法治疗的病症的标志物、指标、症状和/或发病率,或任何其它可测量的适当参数(如营养平衡、炎症和/或肝功能)进行测量,来对效果进行评估。也可以通过住院治疗或需要医疗干预对个体未发生恶化(即疾病进展被停止)进行评估,来对效果进行测量。测量这些指标的方法是本领域技术人员已知的和/或已在本文中描述的。治疗包括个体或动物(一些非限制性示例包括人或动物)中疾病的任何治疗,并且包括:(1)抑制疾病,例如阻止症状(例如疼痛或炎症)恶化;或(2)减轻疾病的严重程度,例如引起症状消退。治疗疾病的有效量是指当给予对其有需要的受试者时,足以产生对该疾病如本文所定义的有效治疗的量。可以通过评估病症或期望反应的生理指标来确定试剂的效果。通过测量这些参数中的任意一个或参数的任意组合,来监测给药和/或治疗的效果完全在本领域技术人员的能力范围内。可以在本文所述病症的动物模型中对效果进行评估。当使用实验动物模型时,当观察到指标的统计学显著变化时,证明了治疗的效果。

[0135] 本文提供了体外和动物模型试验,其允许对如本文所述乳剂的给定剂量进行评估。作为非限制性示例,可以通过口服或肠外给予乳剂,然后评估血清脂肪酸水平,炎性标志物(例如循环TNF- $\alpha$ 和/或IL-6)以及肝脏、脾脏和/或肾脏的组织学,来评估乳剂剂量的效果。

[0136] 为方便起见,以下提供在说明书、实施例和所附权利要求中使用的一些术语和短语的含义。除非另有说明或从上下文中隐含,否则以下术语和短语包括下面提供的含义。提供这些定义以帮助对特定的实施方式进行了描述,并且不旨在对要求保护的发明进行限制,因为本发明的范围仅由权利要求书限定。除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。如果术语在该领域中的使用与本文提供的定义之间存在明显的差异,则以本说明书中提供的定义为准。

[0137] 为方便起见,在说明书、实施例和所附权利要求书中本文采用的某些术语均收集在此处。

[0138] 术语“减少”、“减小”、“降低”或“抑制”在本文中全部用于表示统计学上显著量的减少。在一些实施方式中,“减少”、“减小”或“降低”或“抑制”通常是指相较于参考水平(例如,不存在给定的治疗或试剂)减少至少10%,并且可以包括例如,减少至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约



55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%以上。如本文所用,“减少”或“抑制”不包括相较于参考水平完全抑制或减少。“完全抑制”是相较于参考水平100%的抑制。降低可以优选降低至无给定紊乱的个体的正常范围内所接受的水平。

[0139] 术语“增加”、“增高”、“增强”或“活化”在本文中全部用于表示以静态显著量增加。在一些实施方式中,术语“增加”、“增高”、“增强”或“活化”可表示相较于参考水平增加至少10%,例如相较于参考水平增加至少约20%、或至少约30%、或至少约40%、或至少约50%、或至少约60%、或至少约70%、或至少约80%、或至少约90%、或高达和包括100%或10%-100%之间的任何增加,或相较于参考水平增加至少约2倍、或至少约3倍、或至少约4倍、或至少约5倍、或至少约10倍,或在2倍至10倍以上之间的任何增加。在标志物或症状的上下文中,“增加”是该水平的统计学显著增加。

[0140] 如本文所用,“受试者”是指人或动物。通常,动物是脊椎动物,例如灵长类动物、啮齿动物、家畜或野生动物。灵长类动物包括黑猩猩、食蟹猴、蜘蛛猴和猕猴,例如恒河猴。啮齿动物包括小鼠、大鼠、土拨鼠、雪貂、兔子和仓鼠。家畜和野生动物包括牛、马、猪、鹿、野牛、水牛、猫科动物(例如家猫)、犬科动物(例如狗、狐狸、狼)、禽类(例如鸡、鹌鹑、鸵鸟)以及鱼类(例如鳟鱼、鲑鱼和鲑鱼)。在一些实施方式中,受试者是哺乳动物,例如灵长类动物,例如人。术语“个体”、“患者”和“受试者”在本文可互换使用。

[0141] 优选地,所述受试者是哺乳动物。哺乳动物可以是人类、非人类的灵长类动物、小鼠、大鼠、狗、猫、马或牛,但不限于这些实例。除人类以外的哺乳动物可以有利地用作代表本文所述疾病和病症的动物模型的受试者。受试者可以是雄性或雌性。

[0142] 受试者可以是先前已经被诊断出患有,或被识别为患有或具有需要治疗的病症或与该病症有关的一种或多种并发症,并且可选地,已经接受了对该病症或与该病症有关的一种或多种并发症的治疗的受试者。或者,受试者还可以是先前未被诊断为患有该病症或与该病症有关的一种或多种并发症的患者。例如,受试者可以是表现出对该病症或与该病症有关的一种或多种并发症的一种或多种危险因素的受试者,或者是不呈现危险因素的受试者。

[0143] 针对特定病症进行治疗“有需要的受试者”可以是患有该病症、被诊断为患有该病症、或处于发展该病症的风险中的受试者。

[0144] 如本文所用,术语“治疗(treat/treatment/treating)”或“改善(amelioration)”是指治疗性治疗,其中目的是逆转、减轻、改善、抑制、减慢或停止与疾病或紊乱(例如如本文所述的病症、疾病或紊乱)有关的病症的进展或严重程度。术语“治疗”包括降低或减轻病症、疾病或紊乱的至少一种不良作用或症状。如果降低一种或多种症状或临床标志物,则治疗通常是“有效的”。或者,如果疾病的进展降低或停止,则治疗是“有效的”。即,相较于不治疗时预期的结果,“治疗”不仅包括症状或标志物的改善,而且包括症状进展或恶化的停止或至少减慢。有益或期望的临床结果包括但不限于减轻一种或多种症状、疾病程度的减轻、疾病状态的稳定(即不恶化)、疾病进展的延迟或减慢、疾病状态的改善或缓和、缓解(无论是部分还是全部)和/或死亡率降低(无论可检测或不可检测)。疾病的术语“治疗”还包括减轻疾病的症状或副作用(包括姑息治疗)。

[0145] 如本文所用,术语“药物组合物”是指与药学上可接受的载体(例如制药业常用的



载体)组合的活性剂。本文所用的短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内,适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激性、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的获益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。在任意方面的一些实施方式中,药学上可接受的载体可以是除水以外的载体。在任意方面的一些实施方式中,药学上可接受的载体可以是乳剂、凝胶、脂质体、纳米颗粒和/或软膏。在任意方面的一些实施方式中,药学上可接受的载体可以是人工载体或工程载体,例如,在自然界中找不到活性成分的载体。

[0146] 如本文所用,术语“给予”是指通过使得试剂被至少部分递送至所需部位的方法或途径,将如本文所公开的化合物置于受试者体内。包含本文公开的化合物的药物组合物可以通过使得受试者有效治疗的任何适当途径进行给予。

[0147] 术语“统计学上显著地”或“显著地”是指统计学上的显著性,并且通常是指两个标准偏差(2SD)或更大的差异。

[0148] 除了的操作实施例或在别处指出,本文中使用的表示成分的量或反应条件的所有数字应理解为被术语“约”修饰。当用于百分比时,术语“约”可以表示 $\pm 1\%$ 。

[0149] 如本文中所用,术语“包括/包含/含有”是指除了所呈现的定义的要素之外还可以存在其它要素。“包括/包含/含有”的使用表示涵盖而非限制。

[0150] 术语“由……组成”是指本文所述的组合物、方法及其相应的组分,其排除了在该实施方式的描述中未列举的任何要素。

[0151] 如本文所用,术语“基本上由……组成”是指给定实施方式所需的那些元素。该术语允许存在实质上不影响本发明的该实施方式的基本特征、以及新颖性特征或功能特征的额外的元素。

[0152] 除非上下文另外明确指出,否则单数术语“一”、“一个”和“该/所述”包括复数指示物。类似地,除非上下文另外明确指出,否则单词“或”旨在包括“和”。尽管与本文描述的方法和材料类似或等同的方法和材料可以在本公开的实践或检验中使用,但是下面对合适的方法和材料进行描述。缩写“e.g.”源自拉丁文例如(exempli gratia),在本文中用于指非限制性示例。因此,缩写“e.g.”是“例如(for example)”的同义词。

[0153] 本文公开的本发明的替代元素或实施方式的基团不应解释为限制。每个基团成员可以被单独引用或要求保护,也可以与该基团的其它成员或本文找到的其它元素任意组合而被引用或要求保护。出于方便和/或可专利性的原因,基团中的一个或多个成员可以包含在基团中、或从基团中删除。当发生任何这样的包含或删除时,说明书在本文中被认为包含经修饰的基团,从而满足所附权利要求中使用的所有马库什基团的书面描述。

[0154] 除非本文另有定义,否则与本申请结合使用的科学和技术术语应具有本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义。应当理解,本发明不限于本文描述的特定方法、方案和试剂等,并且因此可以改变。本文所使用的术语仅出于对特定实施方式进行描述的目的,并且无意于限制本发明的范围,本发明的范围仅由权利要求书限定。免疫学和分子生物学中常用术语的定义可在以下文献中找到:The Merck Manual of Diagnosis and Therapy,第19版,Merck Sharp&Dohme Corp.出版,2011(ISBN 978-0-911910-19-3);Robert S.Porter等主编,The Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine,Blackwell Science Ltd.出版,1999-2012(ISBN 9783527600908);以及Robert

A.Meyers主编,Molecular Biology and Biotechnology:a Comprehensive Desk Reference,VCH Publishers,Inc.出版,1995 (ISBN 1-56081-569-8);Immunology by Werner Luttmann,Elsevier出版,2006;Janeway's Immunobiology,Kenneth Murphy, Allan Mowat,Casey Weaver主编,Taylor&Francis Limited,2014 (ISBN 0815345305, 9780815345305);Lewin's Genes XI,Jones&Bartlett Publishers出版,2014 (ISBN-1449659055);Michael Richard Green and Joseph Sambrook,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第四版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,USA (2012) (ISBN 1936113414);Davis等,Basic Methods in Molecular Biology,Elsevier Science Publishing,Inc.,New York,USA (2012) (ISBN044460149X); Laboratory Methods in Enzymology:DNA,Jon Lorsch主编,Elsevier,2013 (ISBN 0124199542);Current Protocols in Molecular Biology (CPMB),Frederick M.Ausubel 主编,John Wiley and Sons,2014 (ISBN 047150338X,9780471503385);Current Protocols in Protein Science (CPPS),John E.Coligan主编,John Wiley and Sons, Inc.,2005;以及Current Protocols in Immunology (CPI) (John E.Coligan,ADA M Kruisbeek,David H Margulies,Ethan M Shevach,Warren Strobe主编,John Wiley and Sons,Inc.,2003 (ISBN 0471142735,9780471142737),通过引用将其全部内容整体并入本文。

[0155] 本文在本发明的各个方面的描述中定义了其它术语。

[0156] 为了描述和公开例如在这些出版物中描述的可以与本文描述的技术结合使用的方法,通过引用将在该申请中通篇引用的所有专利和其它出版物(包括参考文献、已发布的专利、已公开的专利申请和共同未决专利申请)明确地并入本文。提供这些出版物仅供在本申请的提交日期之前进行公开。在这方面,任何内容都不应被解释为承认发明人无权因在先发明或任何其它原因而将此种公开提前。关于这些文件的日期或内容呈现的所有陈述均基于申请人可获得的信息,并不构成对这些文件的日期或内容的正确性的承认。

[0157] 本公开的实施方式的描述并非旨在穷举或将本公开限制为所公开的精确形式。尽管本文出于说明性目的描述了本公开的特定实施方式和实施例,但是如相关领域的技术人员将认识到的,在本公开的范围内可以进行各种等效修改。例如,虽然方法步骤或功能以给定的顺序呈现,但是替代实施方式可以以不同的顺序执行功能,或者可以基本上同时执行功能。本文提供的公开的教导可以适当地应用于其它过程或方法。本文描述的各种实施方式可以组合,以提供进一步的实施方式。如果需要,可以对本公开的各方面进行修改,以采用上述参考文献和申请的组成、功能和概念来提供本公开的又一实施方式。可以根据详细描述对本公开进行这些和其它改变。所有这些修改旨在被包括在所附权利要求的范围内。

[0158] 前述实施方式中任一个特定元素可以与其它实施方式中的元素组合,或替代其它实施方式中的元素。此外,尽管已经在这些实施方式的上下文中对与本公开的某些实施方式相关联的优点进行了描述,但是其它实施方式也可以表现出这样的优点,并且并非所有实施方式都需要表现出这些优点以落入本公开的范围内。

[0159] 通过以下实施例进一步对本文描述的技术进行说明,这些实施例决不应解释为进一步限制。

[0160] 可以根据以下任何编号的段落来限定本文描述的技术的一些实施方式:

- [0161] 1. 一种乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:
- [0162] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约30:70至约30:70;或者
- [0163]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约30:70至约30:70。
- [0164] 2. 根据段落1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:
- [0165] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约40:60至约60:40;或者
- [0166]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约40:60至约60:40。
- [0167] 3. 根据段落1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含
- [0168] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50;或者
- [0169]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为约50:50。
- [0170] 4. 根据段落1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含
- [0171] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50;或者
- [0172]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT)的组合,其比例为50:50。
- [0173] 5. 根据段落1-4中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述组合物进一步包含 $\alpha$ -生育酚。
- [0174] 6. 根据段落1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述 $\alpha$ -生育酚以至少100mg/L的水平存在。
- [0175] 7. 根据段落1-6中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述 $\alpha$ -生育酚以至少120mg/L的水平存在。
- [0176] 8. 根据段落1-7中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物以至少2:1的比例包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E。
- [0177] 9. 根据段落1-8中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物以至少10:1的比例包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E。
- [0178] 10. 根据段落1-9中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物不包含 $\alpha$ -生育酚以外的维生素E形式。
- [0179] 11. 根据段落1-10中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述组合物中存在植物甾醇。
- [0180] 12. 根据段落1-11中任一项所述的乳剂组合物,其中,植物甾醇以小于50mg/L的浓度存在于所述组合物中。
- [0181] 13. 根据段落1-12中任一项所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物被配制用于口服给予。
- [0182] 14. 根据段落1-12中任一项所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物被被配制用于肠外或静脉内给予。
- [0183] 15. 根据段落1-14中任一项所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物进一步包含一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。
- [0184] 16. 根据段落15所述的乳剂组合物,其中,所述添加剂包括对疾病有治疗性的一种或多种脂肪酸。
- [0185] 17. 一种方法,所述方法包括向对其有需要的受试者给予段落1-16中任一项所述的乳剂组合物。
- [0186] 18. 根据段落17所述的方法,其中,所述给予是肠外给予。

- [0187] 19.根据段落17所述的方法,其中,所述给予是完全肠外给予。
- [0188] 20.根据段落17所述的方法,其中,所述给予是口服给予。
- [0189] 21.根据段落17-20中任一项所述的方法,其中,所述受试者需要肠外营养。
- [0190] 22.根据段落17-21中任一项所述的方法,其中,所述受试者需要完全肠外营养。
- [0191] 23.根据段落17-22中任一项所述的方法,其中,患者未接受口服营养。
- [0192] 24.根据段落17-23中任一项所述的方法,其中,患者未接受其它肠外制剂。
- [0193] 25.根据段落17-24中任一项所述的方法,其中,患者未接受足以维持营养平衡的口服营养。
- [0194] 26.根据段落17-25中任一项所述的方法,其中,患者未接受足以维持营养平衡的其它肠外制剂。
- [0195] 27.根据段落17-26中任一项所述的方法,其中,患者未接受脂肪酸的其它营养来源。
- [0196] 28.根据段落17-27中任一项所述的方法,其中,患者未接受脂肪酸的其它肠外营养来源。
- [0197] 29.根据段落17-28中任一项所述的方法,其中,患者未接受必需脂肪酸的其它营养来源。
- [0198] 30.根据段落17-29中任一项所述的方法,其中,患者未接受必需脂肪酸的其它肠外营养来源。
- [0199] 31.根据段落17-30中任一项的方法,其中,作为单一疗法,对段落1-14中任一项所述的乳剂组合物进行给予。
- [0200] 32.根据段落17-31中任一项的方法,其中,作为用于营养需求的单一疗法,对段落1-14中任一项所述的乳剂组合物进行给予。
- [0201] 33.根据段落17-32中任一项所述的方法,其中,患者是需要对选自于由以下组成的组的病症进行治疗的患者:
- [0202] 肝脂肪变性;肠衰竭;肠外营养相关性肝病(PNALD);败血症;囊性纤维化;镰状细胞性贫血;胰腺炎;炎性肠病;克罗恩病;炎症感染;炎症病症;全身性炎症反应综合征(SIRS);肠衰竭相关的肝病(IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积(PNAC)、必需脂肪酸缺乏症(EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏,所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。
- [0203] 34.根据段落17-33中任一项所述的方法,其中,给予剂量为约0.5g脂肪酸/kg/天至约5g脂肪酸/kg/天。
- [0204] 35.根据段落17-34中任一项所述的方法,其中,给予剂量为约1g脂肪酸/kg/天至约3g脂肪酸/kg/天。
- [0205] 36.根据段落17-35中任一项所述的方法,其中,给予剂量为约2g脂肪酸/kg/天。
- [0206] 37.根据段落17-36中任一项所述的方法,所述方法进一步包括给予一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。
- [0207] 38.根据段落37所述的方法,其中,所述添加剂包括对疾病有治疗性的一种或多种脂肪酸。
- [0208] 可以根据以下任何编号的段落来限定本文描述的技术的一些实施方式:

- [0209] 1. 一种乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:
- [0210] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT),其比例介于30:70和约70:30之间,但不包括这两者;或者
- [0211]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为约30:70至约70:30。
- [0212] 2. 根据段落1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:
- [0213] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为约40:60至约60:40;或者
- [0214]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为约40:60至约60:40。
- [0215] 3. 根据段落1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:
- [0216] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为约50:50;或者
- [0217]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为约50:50。
- [0218] 4. 根据段落1所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物包含:
- [0219] 鱼油和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为50:50;或者
- [0220]  $\omega$ -3脂肪酸和中链甘油三酸酯(MCT),其比例为50:50。
- [0221] 5. 根据段落1-4中任一项所述的乳剂组合物,其中,乳剂是水包油型乳剂。
- [0222] 6. 根据段落1-5中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述组合物进一步包含 $\alpha$ -生育酚。
- [0223] 7. 根据段落1-6中任一项所述的乳剂组合物,其中, $\alpha$ -生育酚以每升所述乳剂组合物中至少100mg的水平存在。
- [0224] 8. 根据段落1-7中任一项所述的乳剂组合物,其中, $\alpha$ -生育酚以每升所述乳剂组合物中至少120mg的水平存在。
- [0225] 9. 根据段落1-8中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物以至少2:1的比例包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E。
- [0226] 10. 根据段落1-9中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物以至少10:1的比例包含 $\alpha$ -生育酚和其它形式的维生素E。
- [0227] 11. 根据段落1-10中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物不包含 $\alpha$ -生育酚以外的维生素E形式。
- [0228] 12. 根据段落1-11中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述组合物中存在植物甾醇。
- [0229] 13. 根据段落1-12中任一项所述的乳剂组合物,其中,植物甾醇以每升所述乳剂组合物中小于50mg的浓度存在于所述组合物中。
- [0230] 14. 根据段落1-13中任一项所述的乳剂组合物,其中,花生四烯酸以至少900mg/L的浓度存在于所述组合物中。
- [0231] 15. 根据段落1-14中任一项所述的乳剂组合物,其中,二十二碳六烯酸以至少13.4g/L的浓度存在于所述组合物中。
- [0232] 16. 根据段落1-15中任一项所述的乳剂组合物,其中,二十碳五烯酸以至少11.6g/L存在于所述组合物中。
- [0233] 17. 根据段落1-16中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述组合物包含鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸油的乳剂与MCT乳剂的混合物。
- [0234] 18. 根据段落1-17中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述组合物包含鱼油和/或

$\omega$ -3脂肪酸油与MCT的混合物的乳剂。

[0235] 19. 根据段落1-18中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸油未经蒸馏或再酯化。

[0236] 20. 根据段落1-19中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸油的总的甘油三酸酯+甘油二酸酯含量包含不超过10%的甘油二酸酯。

[0237] 21. 根据段落1-20中任一项所述的乳剂组合物, 所述乳剂组合物被配制用于肠外或静脉内给予。

[0238] 22. 根据段落1-21中任一项所述的乳剂组合物, 所述乳剂组合物进一步包含一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。

[0239] 23. 根据段落22所述的乳剂组合物, 其中, 所述添加剂包括对疾病有治疗性的一种或多种脂肪酸。

[0240] 24. 根据段落1-23中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 所述组合物包含a) 所述添加剂的乳剂与b) 一种或多种下述乳剂的混合物, 所述乳剂为i) 所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸与ii) 所述MCT的乳剂。

[0241] 25. 根据段落1-24中任一项所述的乳剂组合物, 所述乳剂组合物进一步包含卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠中的一种或多种。

[0242] 26. 根据段落1-25中任一项所述的乳剂组合物, 所述乳剂组合物进一步包含卵磷脂、甘油、油酸钠和氢氧化钠。

[0243] 27. 一种方法, 所述方法包括向对其有需要的受试者给予段落1-26中任一项所述的乳剂组合物。

[0244] 28. 根据段落27所述的方法, 其中, 所述给予是肠外给予。

[0245] 29. 根据段落28所述的方法, 其中, 所述给予是完全肠外给予。

[0246] 30. 根据段落27-29中任一项所述的方法, 其中, 所述受试者需要肠外营养。

[0247] 31. 根据段落27-30中任一项所述的方法, 其中, 所述受试者需要完全肠外营养。

[0248] 32. 根据段落27-31中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受口服营养。

[0249] 33. 根据段落27-32中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受其它肠外制剂。

[0250] 34. 根据段落27-33中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受足以维持营养平衡的口服营养。

[0251] 35. 根据段落27-34中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受足以维持营养平衡的其它肠外制剂。

[0252] 36. 根据段落27-35中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受脂肪酸的其它营养来源。

[0253] 37. 根据段落27-36中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受脂肪酸的其它肠外营养来源。

[0254] 38. 根据段落27-37中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受必需脂肪酸的其它营养来源。

[0255] 39. 根据段落27-38中任一项所述的方法, 其中, 患者未接受必需脂肪酸的其它肠外营养来源。

[0256] 40. 根据段落27-39中任一项的方法, 其中, 作为单一疗法, 对段落1-26中任一项所

述的乳剂组合物进行给予。

[0257] 41. 根据段落27-40中任一项的方法, 其中, 作为用于营养需求的单一疗法, 对段落1-26中任一项所述的乳剂组合物进行给予。

[0258] 42. 根据段落27-41中任一项所述的方法, 其中, 所述患者是需要对选自于由以下所组成的组的病症进行治疗的患者:

[0259] 肝脂肪变性; 肠衰竭; 肠外营养相关性肝病 (PNALD); 败血症; 囊性纤维化; 镰状细胞性贫血; 胰腺炎; 炎性肠病; 克罗恩病; 胆管闭锁; 原发性硬化性胆管炎; 炎症感染; 炎性疾病; 全身性炎症反应综合征 (SIRS); 高甘油三酯血症; 严重高甘油三酯血症; 严重肝脂肪变性; 早产儿视网膜病变; 急性肾小管坏死; IgA肾病; 缺血再灌注损伤; 创伤性脑损伤; 多系统器官衰竭; 呼吸窘迫综合征; 急性心肌梗塞; 心肌梗塞; 心绞痛持续状态; 哮喘持续状态; 癫痫持续状态; 腔隙持续状态; 炎性肠病; 局限性肠炎; 溃疡性结肠炎; 严重或衰弱性关节炎; 关节炎; 银屑病; 严重银屑病; 烧伤; 三度烧伤; 胰腺炎; 急性胰腺炎; 肠衰竭相关的肝病 (IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积 (PNAC)、必需脂肪酸缺乏症 (EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏, 所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油、 $\omega$ -3为主的脂肪酸油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。

[0260] 43. 根据段落27-42中任一项所述的方法, 其中, 给予剂量为约0.5g脂肪酸/kg/天至约5g脂肪酸/kg/天。

[0261] 44. 根据段落27-43中任一项所述的方法, 其中, 给予剂量为约1g脂肪酸/kg/天至约3g脂肪酸/kg/天。

[0262] 45. 根据段落27-44中任一项所述的方法, 其中, 给予剂量为约2g脂肪酸/kg/天。

[0263] 46. 根据段落27-45中任一项所述的方法, 其中, 给予剂量为约0.5g鱼油/kg/天至约5g鱼油/kg/天。

[0264] 47. 根据段落27-46中任一项所述的方法, 其中, 给予剂量为约1g鱼油/kg/天至约3g鱼油/kg/天。

[0265] 48. 根据段落27-47中任一项所述的方法, 其中, 给予剂量为约2g鱼油/kg/天。

[0266] 49. 根据段落27-48中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括给予一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。

[0267] 50. 根据段落49所述的方法, 其中, 所述添加剂包含对疾病有治疗性的一种或多种脂肪酸。

[0268] 51. 根据段落27-50中任一项所述的方法, 其中, 所述乳剂组合物包含a) 所述添加剂的乳剂与b) 一种或多种下述乳剂的混合物, 所述乳剂为i) 所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸与ii) 所述MCT的乳剂。

[0269] 52. 根据段落51所述的方法, 其中, 所述混合物是在给予时或在给予地点制备的。

[0270] 53. 根据段落52所述的方法, 所述方法进一步包括根据临床指征制备所述混合物。

[0271] 54. 用于向对其有需要的受试者提供肠外营养的用途的根据段落1-26中任一项所述的乳剂组合物。

[0272] 55. 根据段落54所述的乳剂组合物, 其中, 通过肠外给予, 对所述乳剂组合物进行给予。

[0273] 56. 根据段落54-55中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 通过完全肠外给予, 对所述

乳剂组合物进行给予。

[0274] 57. 根据段落54-56中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 所述受试者需要完全肠外营养。

[0275] 58. 根据段落54-57中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受口服营养。

[0276] 59. 根据段落54-58中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受其它肠外制剂。

[0277] 60. 根据段落54-59中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受足以维持营养平衡的口服营养。

[0278] 61. 根据段落54-60中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受足以维持营养平衡的其它肠外制剂。

[0279] 62. 根据段落54-61中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受脂肪酸的其它营养来源。

[0280] 63. 根据段落54-62中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受脂肪酸的其它肠外营养来源。

[0281] 64. 根据段落54-63中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受必需脂肪酸的其它营养来源。

[0282] 65. 根据段落54-64中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 患者未接受必需脂肪酸的其它肠外营养来源。

[0283] 66. 根据段落54-65中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 作为单一疗法, 对段落1-26中任一项所述的乳剂组合物进行给予。

[0284] 67. 根据段落54-66中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 作为用于营养需求的单一疗法, 对段落1-26中任一项所述的乳剂组合物进行给予。

[0285] 68. 根据段落54-67中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 所述患者是需要对选自于由以下所组成的组的病症进行治疗的患者:

[0286] 肝脂肪变性; 肠衰竭; 肠外营养相关性肝病 (PNALD); 败血症; 囊性纤维化; 镰状细胞性贫血; 胰腺炎; 炎性肠病; 克罗恩病; 胆管闭锁; 原发性硬化性胆管炎; 炎症感染; 炎症病症; 全身性炎症反应综合征 (SIRS); 高甘油三酯血症; 严重高甘油三酯血症; 严重肝脂肪变性; 早产儿视网膜病变; 急性肾小管坏死; IgA肾病; 缺血再灌注损伤; 创伤性脑损伤; 多系统器官衰竭; 呼吸窘迫综合征; 急性心肌梗塞; 心肌梗塞; 心绞痛持续状态; 哮喘持续状态; 癫痫持续状态; 腔隙持续状态; 炎性肠病; 局限性肠炎; 溃疡性结肠炎; 严重或衰弱性关节炎; 关节炎; 银屑病; 严重银屑病; 烧伤; 三度烧伤; 胰腺炎; 急性胰腺炎; 肠衰竭相关的肝病 (IFALD)、肠外营养相关的胆汁淤积 (PNAC)、必需脂肪酸缺乏症 (EFAD)、肠外营养依赖并发大豆过敏或对脂质乳剂的过敏, 所述脂质乳剂包含除了MCT和鱼油、 $\omega$ -3为主的脂肪酸油和/或 $\omega$ -3脂肪酸以外的成分。

[0287] 69. 根据段落54-68中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 给予剂量为约0.5g脂肪酸/kg/天至约5g脂肪酸/kg/天。

[0288] 70. 根据段落54-69中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 给予剂量为约1g脂肪酸/kg/天至约3g脂肪酸/kg/天。

[0289] 71. 根据段落54-70中任一项所述的乳剂组合物, 其中, 给予剂量为约2g脂肪酸/kg/天。



[0290] 72.根据段落54-71中任一项所述的乳剂组合物,其中,给予剂量为约0.5g鱼油/kg/天至约5g鱼油/kg/天。

[0291] 73.根据段落54-72中任一项所述的乳剂组合物,其中,给予剂量为约1g鱼油/kg/天至约3g鱼油/kg/天。

[0292] 74.根据段落54-73中任一项所述的乳剂组合物,其中,给予剂量为约2g鱼油/kg/天。

[0293] 75.根据段落54-74中任一项所述的乳剂组合物,其中,向所述患者进一步给予一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。

[0294] 76.根据段落54-74中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物进一步包含一种或多种额外的脂肪酸或其混合物的添加剂。

[0295] 77.根据段落54-76中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述添加剂包括对疾病有治疗性的一种或多种脂肪酸。

[0296] 78.根据段落54-77中任一项所述的乳剂组合物,其中,所述乳剂组合物包含a)所述添加剂的乳剂与b)一种或多种下述乳剂的混合物,所述乳剂为i)所述鱼油和/或 $\omega$ -3脂肪酸与ii)所述MCT的乳剂。

[0297] 79.根据段落78所述的乳剂组合物,其中,所述混合物是在给予时或在给予地点制备的。

[0298] 80.根据段落79所述的乳剂组合物,所述乳剂组合物进一步包括根据临床指征制备所述混合物。

[0299] 实施例

[0300] 实施例1: $\alpha$ -生育酚和植物甾醇在鱼油介导的免受肠外营养相关肝损伤的保护中的作用

[0301] 肠外营养相关性肝病(PNALD)具有长期肠外营养(PN)依赖性的风险,特征在于肝部炎症和胆汁淤积的发展。使用大豆油基静脉内脂质乳剂作为肠外脂肪来源可加剧发展PNALD的风险,然而由于必需脂肪酸缺乏的风险,无法消除PN依赖型患者的静脉内脂肪。静脉内鱼油脂质乳剂可有效治疗PNALD,同时提供足够的必需脂肪酸。然而,鱼油保护肝脏的机制尚不完全清楚。鱼油和大豆油之间的两个重要区别是植物甾醇含量和 $\alpha$ -生育酚含量。如本文所述,在实验室中配制静脉内脂质乳剂,以在肠外营养相关性肝损伤的鼠模型中探索植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚在调节肝保护中的作用。利用实验室中配制的脂质乳剂,大豆油乳剂(SO)不能保护小鼠免受PN诱导的肝脂肪变性,而添加了 $\alpha$ -生育酚的大豆油乳剂(SO+AT)则保持了正常的肝结构。鱼油乳剂(FO)和添加了植物甾醇的鱼油乳剂(FO+P)均能防止PN诱导的脂肪变性。给予SO的动物中,关键肝脂肪代谢基因、乙酰辅酶A羧化酶(ACC)和过氧化物酶体增殖物活化的受体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )的表达增加,而接受SO+AT、FO和FO+P的动物中ACC和PPAR $\gamma$ 的水平与饲料饲喂的对照相当。这项研究表明, $\alpha$ -生育酚在PN诱导的肝损伤中具有肝保护作用,且植物甾醇似乎并未损害鱼油的肝保护作用。

[0302] 肠外营养(PN)是大量营养素和微量营养素(包括碳水化合物、氨基酸形式的蛋白质、脂质、维生素和微量元素)的静脉内给予。肠衰竭(IF)的患者由于肠长不足或肠功能不全而无法吸收经口摄入的足够营养,PN是治疗这些患者的关键组成部分。尽管PN对于IF患者而言是维持生命的,但是存在与静脉内给予营养素有关的并发症。这样的并发症之一就

是发展为肠外营养相关性肝病 (PNALD),其特征是胆汁淤积性肝病,这可能发展为肝硬化和需要进行肝移植的终末期肝病。传统上,只有患者可以戒断PN并实现肠自主性时,才能阻止PNALD的进展。最近,已经证明在动物模型中使用鱼油作为肠外脂肪来源可以预防PN诱导的肝损伤并逆转胆汁淤积,并且可以阻止或减慢PNALD患者的肝病进展。

[0303] 脂肪是PN的重要组成部分。PN中的脂肪既是能量密集的卡路里来源,又是长链多不饱和必需脂肪酸(EFA)的来源,其包括 $\omega$ -3和 $\omega$ -6脂肪酸家族。无脂肪PN的给予需要过量的碳水化合物热量才能满足热量需求。提供无脂肪的PN也导致必需脂肪酸缺乏症(EFAD)的发展,其特征可以是皮炎、脱发、发育迟缓和生长缺陷。PN依赖的患者可以通过血清脂肪酸谱对EFAD进行生化监测,并测量非必需的 $\omega$ -9脂肪酸米德酸(mead acid,该酸为三烯)与必需的 $\omega$ -6脂肪酸花生四烯酸(该酸为四烯)的比。EFAD的生化定义是三烯与四烯之比大于0.2。

[0304] PN中的脂肪以水包油型乳剂的形式给予,其中,油以小球形式分散,并被磷脂单层包围在水性介质中。小球必须足够小,以在循环中转运而不会引起栓塞事件。在美国,美国药典(USP)制定了以下标准:静脉内脂肪乳剂必须具有直径小于500nm的平均小球尺寸,且直径大于5 $\mu$ m的脂肪小球的百分比(PFAT5)不超过0.05%。所给予的脂肪酸的类型和比例由用于配制乳剂的油的组成决定。油还可以包含天然存在的非甘油三酸酯成分或添加剂,它们被掺入用这种油配制的乳剂中。

[0305] 大豆油基脂肪乳剂是最常用的肠外脂肪来源。在美国,美国食品药品监督管理局(FDA)批准的唯一的肠外脂肪来源包含大豆油。静脉内大豆油乳剂(SO)可能会加剧发展PNALD的风险。在动物模型中,静脉内鱼油乳剂(FO)已显示出预防PN诱导的肝损伤。当作为唯一肠外脂肪来源给予发展为PNALD的患者时,FO可以逆转胆汁淤积并阻止肝病的进展。尽管尚不完全了解FO的肝保护特性和SO的肝毒性特性的机制,但鱼油和大豆油之间存在一些差异,这可能是SO和FO对肝脏的差异作用的重要原因。

[0306] 该研究的目的是检验以下假设: $\alpha$ -生育酚有助于肝保护特性,而植物甾醇则有助于静脉内脂肪乳剂的肝毒性特性。为了检验该假设,不可能使用可商购的静脉内脂肪乳剂,因为不存在具有不同植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚水平的SO和FO。因此,在实验室中配制乳剂,以控制每种乳剂中的 $\alpha$ -生育酚和植物甾醇的量,以及所有乳剂组分的均匀性,只是油类型有所不同。在实验室中配制的SO和FO在小鼠中是安全的且耐受性良好。在PN诱导的肝损伤鼠模型中,实验室生产的FO和SO与其商业对应物(commercial counterpart)对肝脏具有相同的作用。本文检验了在鱼油中添加植物甾醇是否导致FO肝毒性,在大豆油中添加 $\alpha$ -生育酚是否给予SO肝保护性。

[0307] 方法:

[0308] 鱼油可以保护鼠模型免受肠外营养诱导的肝脂肪变性。一种方法被用来检验向鱼油中添加植物甾醇是否会损害静脉内鱼油乳剂的肝保护特性,和/或向大豆油中添加 $\alpha$ -生育酚是否会使大豆油乳剂更具肝保护性。

[0309] 在实验室中,制备包含大豆油(SO)、鱼油(FO)、已向其中添加200mg/L $\alpha$ -生育酚的大豆油(SO+AT)、或已向其中添加450mg/L植物甾醇(85% $\beta$ -谷甾醇、15%豆甾醇)的鱼油(FO+P)的20%水包油型乳剂。使用高压均化配制乳剂。所有最终乳剂均包含20%的油、1.2%的卵磷脂、2.5%的甘油和0.03%的油酸钠。表2示出了用这些油制备的乳剂以及市售的FO

(OM)和SO(IL)中植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚的水平。用SO、SO+AT和FO+P配制的乳剂中的植物甾醇的水平相当。用FO、FO+P和SO+AT配制的乳剂中的 $\alpha$ -生育酚的水平相当。所有乳剂的平均小球尺寸和PFAT5分析均符合USP标准(表1)。

[0310] 在本文提供的实施例中,所使用的鱼油是Crystalpure 28/12TG™(产品号30572344;BASF Pharma,Florham Park NJ),其包含约38%的EPA+DHA的混合物,其中11.4%为DHA,26.9%为EPA(按面积)。除非另有说明,否则本文所述的每个实施例中使用的乳剂的每种组分均为药物级、食品级和/或工业级。

[0311] 在PN诱导的肝损伤鼠模型中,将乳剂用作脂肪来源。将小鼠置于标准的饲料饮食或由无脂肪的PN组成的口服流质饮食中,这与患者接受的饮食相当。向PN饲喂小鼠给予盐水(无脂肪来源)或配制的乳剂的一种(静脉内通过尾静脉注射2.4g/kg/天)。在它们各自饮食19天后,对小鼠实施安乐死。采集肝脏以进行组织学检查(苏木精、曙红和油红O),通过RT-PCR进行基因表达分析,以及通过蛋白质印迹进行蛋白质表达分析。还采集了右肾和脾脏以进行组织学检查。

[0312] 脂质乳剂制剂

[0313] 用于乳剂的材料:注射用无菌水(SWFI,Hospira,Lake Forest,IL)、卵磷脂(Lipoid LLC,Newark,NJ)、油酸钠(Lipoid LLC,Newark,NJ)和甘油(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)用于配制分散体。所使用的油为USP级大豆油(Spectrum Chemicals,New Brunswick,NJ)和CrystalPure EPA 28/12TG鱼油(BASF Ludwigshafen,德国)。所使用的添加剂是 $\alpha$ -生育酚(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)、 $\beta$ -谷甾醇(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)和豆甾醇(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)。用于分析的市售乳剂包括Omegaven(Fresenius Kabi,Bad Homburg,德国)和Intralipid(Fresenius Kabi,Uppsala,瑞典)。

[0314] FO+P油的制备:在恒定搅拌条件下,对CrystalPure EPA 28/12TG鱼油进行加热,以将温度维持在50℃-60℃之间。加入植物甾醇(85% $\beta$ -谷甾醇,15%豆甾醇)至终浓度为每克油2.25mg植物甾醇,并搅拌直至溶解。当用于配制20%的乳剂时,计算出的植物甾醇浓度为每升乳剂450mg植物甾醇。

[0315] SO+AT油的制备:在恒定搅拌条件下,对大豆油进行加热,以将温度维持在50℃-60℃之间。加入 $\alpha$ -生育酚至终浓度为每克油1mg $\alpha$ -生育酚,并搅拌10-15分钟。当用于配制20%的乳剂时,计算出的 $\alpha$ -生育酚含量为每升乳剂200mg $\alpha$ -生育酚。

[0316] 乳剂配制:如先前所述(Fell等,JPEN 2017 41:181-187),通过高压均化来配制乳剂。除非另有说明,所有步骤均在40℃-45℃下进行。所有步骤均在氮气气氛下进行。

[0317] 首先通过在高速剪切混合条件下向加热至75℃-90℃的SWFI中加入冷冻卵磷脂来配制分散体,并使混合物在40℃-45℃下平衡。加入油酸钠,并继续剪切混合(4000-4100RPM)40分钟,然后加入甘油。将粗分散体在9000psi下均质化(Panda Plus™均质器,GEA Niro Saovi,Columbia,MD),进行20个循环。将分散体通过0.45um膜过滤,并用0.5N氢氧化钠将pH调节至10.4。最终的分散体由12%的卵磷脂、25%的甘油和0.3%的油酸钠组成。一批分散体足以配制五个1升乳剂。

[0318] 通过在高速剪切混合条件(3800-4200RPM,调节以避免起泡)下将油添加到适当体积的分散体中持续混合40-45分钟,并用SWFI缓慢使其达到500mL的最终体积,保持温度40℃-45℃来配制乳剂。将粗乳剂在5000psi下均化至少9个循环。使用0.1N氢氧化钠将最终乳

剂的pH调节至9-9.5,包装在20mL血清瓶中,顶部空间充满氮气,然后对包装好的乳剂进行高压灭菌。最终的乳剂组合是20%的油、1.2%的卵磷脂、2.5%的甘油和0.03%的油酸钠。

[0319] 所有乳剂均按照USP<401>标准进行平均小球尺寸和PFAT5检验 (Micro Measurements, Deerfield, IL)。

[0320] 乳剂中植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚水平的测定:为了测定植物甾醇水平,将样品用2mol/L乙醇KOH皂化,并用正庚烷提取甾醇。对提取物进行蒸发并在毛细管气相色谱柱上分离。用火焰电离检测器进行测定。使用胆甾烷醇 (epicoprostanol) 作为内部对照进行定量。如 (Xu 等, Eur. J. Lipid Sci Technol. 2015 117:15-22) 所述对 $\alpha$ -生育酚水平进行测定,但是使用外部校准代替内部校准的使用。

[0321] PN诱导的肝损伤鼠模型。所有动物实验均获得波士顿儿童医院机构动物护理和使用委员会的批准。在波士顿儿童医院向六周龄C57BL/6小鼠 (杰克逊实验室, Bar Harbor, ME) 给予标准饲料饮食或由给予患者的PN组成的流质饮食 (20%葡萄糖、2%氨基酸、30mEq/L钠、20mEq/L钾、15mEq/L钙、10mEq/L镁、10mMol/L磷酸盐、36.67mEq/L氯化物、19.4mEq/L乙酸盐、儿童多维生素、儿童微量元素)。向PN饲喂小鼠静脉内 (IV) 给予盐水、IV F0、IV F0+P、IV S0或IV S0+AT (通过尾静脉注射2.4g/kg/天)。19天后,通过二氧化碳窒息使动物安乐死。抽血以收集血清。采集肝脏、脾脏和右肾以进行进一步分析。对于每个实验,该实验用不同批次的乳剂进行两次。在第一个实验中,每个处理组使用5只小鼠,在第二个实验中,每个处理组使用10只小鼠。

[0322] 器官加工和组织学检查。将脾脏、肾脏和每个肝脏的一部分置于10%福尔马林中,并在4℃下保存24小时,然后转移至70%乙醇中。将样品包埋在石蜡中,然后切片以进行苏木精和曙红 (H&E) 染色,以评估肝结构。将每个肝脏的第二部分置于最佳切割温度 (OCT) 培养基 (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) 中,并在液氮中冷冻。样品进行冷冻切片和油红O染色以评估肝脂肪蓄积。使用Zeiss Axiophot<sup>TM</sup>显微镜 (Oberkochen, 德国) 进行可视化。切片由对处理组不知情的董事会认证的病理学家进行分析。每个肝脏的第三部分在液氮中速冻,并在-80℃下储存以用于基因和蛋白质表达分析。

[0323] 血清脂肪酸谱分析。如先前所述进行血清脂肪酸提取 (Meisel等, JPediatr Surg 2011 46:666-673)。简而言之,用2:1的氯仿和甲醇对添加了二十三烷酸作为内标的血清样品 (每个样品30 $\mu$ L) 进行萃取,以分离脂质级分。用0.5N甲醇氢氧化钠对样品进行皂化。将样品在14%的BF<sub>3</sub>/甲醇中于100℃孵育30分钟。在氮气气氛下进行步骤以使氧化最小化。用气相色谱法 (Hewlett Packard 6890<sup>TM</sup>) 进行分析,并用火焰电离检测器进行检测。使用外部脂肪酸甲酯标准品 (NuCheck Prep<sup>TM</sup>, Elysian, MN) 来鉴定样品的脂肪酸峰。

[0324] 基因表达分析。将肝切成每个样品25mg,并根据制造商的说明使用Qiagen AllPrep<sup>TM</sup> DNA/RNA/蛋白质试剂盒 (Gaithersburg, MD) 提取RNA。对于每个反应,根据制造商的说明,使用Taqman引物 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 和试剂 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) 与200ng RNA。在ABI One Step Plus<sup>TM</sup>循环仪中使用两步循环RT-PCR方案。最初的逆转录步骤在50℃下进行30分钟,在95℃下进行10分钟,然后扩增步骤在95℃下进行15秒,并在60℃下进行1分钟,循环40次。将靶基因表达相对于GAPDH基因进行标准化,并使用2- $\Delta\Delta$ Ct方法与饲料饲喂对照组进行比较。

[0325] 蛋白质分析。将肝切成每个样品25mg,并在Bullet Blender™中使用不锈钢珠在具有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的放射免疫沉淀测定(RIPA)缓冲剂中进行均质化。使用Bradford Assay (Bio-Rad, Hercules, CA) 对蛋白质浓度进行测定。使用4% -12%的Bis Tris聚丙烯酰胺凝胶(Invitrogen, Carlsbad, CA)从每个样品分离10mg蛋白质,然后转移至硝酸纤维素膜上。将膜在5%的脱脂牛奶中封闭1小时。将膜在第一抗体中孵育过夜,然后在第二抗体中孵育1小时。ACC和PPAR  $\gamma$  抗体来自Cell Signaling technologies (Danvers, MA)。 $\beta$ -肌动蛋白抗体来自Santa Cruz Biotechnologies (Paso Robles, CA)。

[0326] 结果:

[0327] 所有乳剂均满足关于平均小球尺寸和PFAT5的USP标准(表1)。F0、F0和S0+AT的 $\alpha$ -生育酚水平相似,而S0含有很少的 $\alpha$ -生育酚,与市售S0乳剂(IL)相似(表2)。在植物甾醇水平的分析中,S0、S0+AT和F0+P包含相似量的植物甾醇,而F0和市售鱼油乳剂OM包含非常少的植物甾醇(表2)。

[0328] 任何使用的乳剂的给予均无不良临床作用,并且动物对所有乳剂耐受良好。各处理组之间的生长参数无差异,各组之间的总器官评估也无差异(图1A-图1B)。

[0329] 不稳定的静脉内乳剂可由于脂肪小球的沉积而导致器官肿大,特别是脾脏和肝脏的肿大。在任何处理组中均无器官肿大的证据。在所有处理组中,肝脏(图1B)、脾脏(图1B)和肾脏(图1B)质量相似。

[0330] 进行血清脂肪酸谱分析,以证实每种乳剂均能够预防EFAD,并为乳剂中使用的油提供了预期的EFA补给。S0的 $\omega$ -6脂肪酸含量很高,几乎不含 $\omega$ -3脂肪酸,而F0的 $\omega$ -3脂肪酸含量更高,并且含有少量的 $\omega$ -6脂肪酸。这些EFA平衡应反映在各个处理组的动物血清中。所有的乳剂都可以防止生化必需脂肪酸缺乏症(图2A)。相较于S0和S0+AT乳剂,F0和F0+P乳剂产生更低的 $\omega$ -6脂肪酸花生四烯酸的血清水平,以及更高的 $\omega$ -3脂肪酸二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)的血清水平(图2C)。

[0331] 血清脂肪酸分析表明,仅接受无脂肪源的PN的小鼠发展为必需脂肪酸缺乏症,定义为三烯与四烯之比大于0.2(图2A)。必需脂肪酸的平衡反映了每组接受的脂肪来源。接受S0和S0+AT的小鼠的血清 $\omega$ -6脂肪酸水平高于F0和F0+P组(图2B),接受F0和F0+P的小鼠的 $\omega$ -3脂肪酸水平高于接受S0和S0+AT的小鼠。

[0332] 为了评估每种乳剂对PN诱导的脂肪变性发展的影响,进行肝组织学分析。S0不能预防PN诱导的脂肪变性(图3A)。但是,在PN饲喂的动物中,向S0中添加 $\alpha$ -生育酚(S0+AT)产生正常肝结构的保持(图3A)。F0和F0+P也保持了正常的肝结构(图3A),表明向F0中添加植物甾醇不会损害F0保护肝免受PN诱导的脂肪变性的能力。通过油红O分析对肝脂肪蓄积进行评估,相较于S0,S0+AT导致肝脂肪蓄积减少(图3B),表明 $\alpha$ -生育酚赋予S0肝保护特性。F0和F0+P均具有最小的肝脏脂肪蓄积,再次表明向F0中添加植物甾醇不会损害F0的肝保护特性(图3B)。从组织学上讲,如前所示,接受盐水的PN饲喂组会发展成肝脂肪变性。S0乳剂不能保护肝脏免于PN诱导的脂肪变性。F0、F0+P和S0+AT能够预防PN诱导的肝脂肪变性(图3A-图3B)。

[0333] 由于PN饮食导致肝脂肪变性和肝脂肪蓄积,因此假设这些组织学变化可能与肝脂肪处理基因的改变的表达有关,并且鱼油可以保留这些基因的正常表达。在基因表达分析中,过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) (该受体为肝脂肪处理的转录调节因子)和乙

酰辅酶A羧化酶2 (ACC) (该酶催化脂肪从头合成的限速步骤) 在无脂肪PN饮食和接受S0的PN饲喂小鼠中增加,但是在接受F0、F0+P和S0+AT的小鼠中,它们标准化为接近饲料饲喂的对照水平(图4)。在蛋白质表达水平上也观察到了这种模式(图5A-图5B)。这表明添加 $\alpha$ -生育酚可以赋予S0以肝保护特性。F0和F0+P均导致ACC2和PPAR  $\gamma$  的正常化基因(图4)和蛋白质(图5)表达,表明在分子水平上添加植物甾醇不会损害F0的肝保护特性。

[0334] 该鼠模型在组织学上表明脂肪变性响应于PN+S0饮食。但是,与临床相关,PN相关性肝病以胆汁淤积为特征。因此,假设含植物甾醇的静脉内脂肪可能引起调节胆汁合成和运输的基因表达紊乱。在此证明:

[0335] a. 在PN诱导的肝损伤的这一鼠模型中,植物甾醇的添加不会损害鱼油的肝保护特性;

[0336] b.  $\alpha$ -生育酚的添加在组织学和分子水平上均赋予大豆油以肝保护特性,这表明 $\alpha$ -生育酚有助于鱼油的肝保护特性;

[0337] c. 已识别出分子标志物 (PPAR $\gamma$ 和ACC), 该分子标志物表征肝保护性脂质乳剂、并将此类乳剂与更多的肝毒性脂质乳剂区分开。

[0338] SHP (小异源二聚体伴侣受体) 与FXR一起作用以调节胆汁酸的转运。当存在植物甾醇时,其表达上调,而 $\alpha$ -生育酚的存在则使其趋于正常化。有趣的是,在存在植物甾醇的情况下,FXR本身的表达下调。MRP3 (MRP2和BSEP也是) 是FXR介导的基因表达的靶标。S0会下调MRP3,AT无法使MRP3水平正常化,但由于F0+P给予不会降低MRP3的表达,因此植物甾醇似乎无法调节这种表达的降低。Cyp7a1在胆汁淤积的情况下通常会降低。无论脂肪来源如何,在所有接受PN的小鼠中本文所述的治疗方案均有所降低。相较于其它组,接受PN+S0或PN+FOP的组的表达下降更为显著,并且似乎 $\alpha$ -生育酚能够部分使接受S0+AT的动物表达正常化。但是,添加到F0中 (F0+P与F0相比) 的植物甾醇似乎未对Cyp7a1表达产生不利影响 (某些数据未显示)。

[0339] 在这项研究中,使用了添加有 $\alpha$ -生育酚的大豆油的、在实验室中配制的静脉内脂质乳剂能够在PN诱导的肝损伤鼠模型中保持正常的肝结构和2种重要的肝脂肪处理基因的正常表达。使用不含添加的 $\alpha$ -生育酚的大豆油的、在实验室中配制的静脉内脂质乳剂无法防止PN诱导的肝脂肪变性和肝脂肪处理失调。在此,在配制乳剂之前,将 $\alpha$ -生育酚添加到大豆油中。

[0340] 该研究还识别出PPAR  $\gamma$  和ACC2是由PN饮食异常调节的基因,其由F0和含 $\alpha$ -生育酚的S0正常化,但不单独由S0正常化。PPAR  $\gamma$  是全身和肝脂肪代谢以及炎症的转录调节因子。有趣的是,这项研究未发现在PN诱导的肝损伤中向鱼油中添加植物甾醇具有肝毒性作用。一个可能的结论是,在PN诱导的肝损伤鼠模型中,大豆油中的植物甾醇与豆油相关的肝毒性作用无关。另一种解释是,植物甾醇确实具有肝毒性特性,但不能胜过鱼油的肝保护特性。鱼油中富含的 $\omega$ -3脂肪酸是抗炎脂质介体的前体,鱼油中也富含 $\alpha$ -生育酚。这些性质可以提供肝脏保护作用,该保护作用是植物甾醇的存在无法胜过的。第三种可能的解释是与植物甾醇相关的肝毒性特性的发生需要特定浓度的特定植物甾醇,或需要一定的植物甾醇平衡。在这项研究中,添加到鱼油中的植物甾醇的成分近似于大豆油中发现的植物甾醇的类型和量。

[0341] 在本研究中配制的所有乳剂均防止了EFAD的发展。传统上,亚油酸 (LA) 和 $\alpha$ -亚麻

酸(ALA)分别为母体 $\omega$ -6和 $\omega$ -3脂肪酸,它们被认为是EFA。有趣的是,这项研究发现血清ARA、EPA和DHA反映了由给予乳剂(而非血清LA和ALA的水平)所提供的EFA平衡。

[0342] 在PN诱导的肝损伤模型中, $\alpha$ -生育酚降低S0肝毒性的能力表明, $\alpha$ -生育酚可用于PNALD和其它类似肝病的临床治疗。

[0343] 表1:USP<729>乳剂分析

乳剂	平均小球尺寸(nm)	PFAT5(%)
F0	238.7	0.032
F0+P	242.3	0.015
S0	252.8	0.009
S0+AT	252.8	0.013

[0345] 表2:乳剂的植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚的含量

乳剂	植物甾醇(mg/L)	$\alpha$ -生育酚(mg/L)
OM	10	193
IL	570	12
F0	46	133
F0+P	424	129
S0	461	7
S0+AT	446	164

[0347] 实施例2:具有对PN依赖型患者有抗炎益处的脂质乳剂的配方

[0348] 长期和短期PN依赖型患者可能易受炎性侵害。对于长期PN依赖型患者而言,慢性疾病状态和长期留置的用于递送PN的中心静脉导管可能会突然发生促炎性状态。短期PN依赖型患者也面临促炎性挑战,所述患者包括创伤患者、术后患者和需要重症监护室的急性病患者。

[0349] 肠外脂质乳剂可以调节炎性反应,并影响PN依赖型患者的炎性状态。大豆油基脂质乳剂富含促炎性 $\omega$ -6脂肪酸,而鱼油脂质乳剂则含有大量的更具抗炎性 $\omega$ -3脂肪酸。鱼油脂质乳剂已被用于治疗患者的肠外营养相关性肝病(PNALD),其以肝部炎症和胆汁淤积为特征。但是,在研究口服脂肪来源对炎性反应的影响时,已证明鱼油作为唯一的脂肪来源未提供比大豆油更大的抗炎作用。相反,随着鱼油与MCT的比的降低,鱼油和中链甘油三酸酯(MCT)的混合物提供了增强的抗炎益处。

[0350] 尽管 $\alpha$ -生育酚是鱼油中阻止脂肪酸氧化降解的重要组成部分,但是 $\alpha$ -生育酚是否可以在减弱PN依赖型患者的炎性反应中发挥作用尚不清楚。由于存在许多可以从减弱炎性反应中受益的PN依赖型患者,因此本研究的目标是开发静脉内脂质乳剂,该乳剂为PN依赖型人群提供抗炎益处,同时还提供足够量的必需脂肪酸。

[0351] 已检验:

[0352] a. 鱼油和MCT的混合乳剂组合物是否在鼠模型中响应于脂多糖的刺激提供比单独的鱼油更多的抗炎益处;

[0353] b. 含有鱼油和其它 $\alpha$ -生育酚的乳剂组合物是否比单独的鱼油提供更多的抗炎益处。

[0354] 方法

[0355] 大豆油(SO)、鱼油(FO)或MCT的20%的水包油型乳剂组合物,在PN诱导的肝损伤鼠模型中,对作为脂肪来源的SO、FO和FO:MCT的不同比进行检验,并对它们对炎性标志物肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF $\alpha$ )和白介素6(IL-6)以及随后的脂多糖(LPS)刺激的作用进行检验。如Ling PR, Malkan A, Le HD, Puder M, Bistrain BR中所述,进行LPS刺激。向必需脂肪酸缺乏的饮食补给的花生四烯酸和二十二碳六烯酸会改变大鼠对内毒素的反应。Metabolism, 2012年3月, 61(3):395-406。

[0356] 所使用的MCT是获得自雀巢健康科学公司(Nestle Health Science)(Bridgewater, NJ, HCPCS代码B4155)的MCT OIL™, 其为包含获得自椰子和/或棕榈仁油的中链甘油三酸酯的油乳剂。脂肪酸为:<1%短于C8、54% C8(辛酸)、41% C10(癸酸)、5%以下长于C10。

[0357] 使用高压均化配制包含20%的SO、20%的FO或20%的MCT的乳剂组合物。所有乳剂均包含20%的油、1.2%的卵磷脂、2.5%的甘油和0.03%的油酸钠。

[0358] 向小鼠给予标准饲料或口服流质饮食(该饮食由无脂肪PN患者接受的所组成)。向PN饲喂小鼠给予盐水(无脂肪)或静脉内通过尾静脉注射以下脂肪乳剂组合物之一(2.4g/kg/天):SO、FO、70%FO:30%MCT(70:30)、50%FO:50%MCT(50:50)、30%FO:70%MCT(70:30)。处理19天后,向动物给予盐水或LPS(150 $\mu$ g/kg腹膜内)。腹膜内注射后四小时,使动物安乐死。收集血清进行脂肪酸分析,并通过ELISA测定TNF $\alpha$ 和IL-6。采集肝脏、脾脏和右肾进行组织学分析。

[0359] 由SO、FO、已经添加了500mg/L的 $\alpha$ -生育酚的FO(FOE)、或MCT的100%纯油组合物配制20%的水包油型乳剂组合物。然后制备前述不同体积比的混合物,例如,100mL的如本文所述的MCT:FO的50:50混合物是通过将50mL的20%MCT乳剂和50mL的20%FO乳剂混合来制备的。因此,如按照w/v所测量的,本文实施例中使用的乳剂组合物总是20%的总脂肪组合物。

[0360] 在PN诱导的肝损伤鼠模型中,对SO、FO、FOE以及FO:MCT和FOE:MCT的50%:50%混合物作为脂肪来源进行检验,并对它们对炎性标志物TNF $\alpha$ 和IL-6的影响及LPS刺激进行检验。

[0361] 使用高压均化配制包含20%的SO、20%的FO、20%的FOE或20%的MCT的乳剂。所有乳剂均包含20%的油、1.2%的卵磷脂、2.5%的甘油和0.03%的油酸钠。其余的乳剂组合物包含水。

[0362] 向小鼠给予标准饲料或口服流质饮食(该饮食由无脂肪PN患者所接受的组成)。向PN饲喂小鼠给予盐水(无脂肪)或静脉内通过尾静脉注射以下脂肪乳剂组合物之一(2.4g/kg/天):SO、FO、FOE、50%FO:50%MCT(FO/MCT)、或50%FOE:50%MCT(FOE/MCT)。处理19天后,向动物给予LPS(150 $\mu$ g/kg腹膜内)。腹膜内注射后四小时,使动物安乐死。收集血清进行脂肪酸分析,并通过ELISA测定TNF $\alpha$ 和IL-6。采集肝脏、脾脏和右肾进行组织学分析。

[0363] 结果:

[0364] 所有乳剂均满足关于平均小球尺寸和直径大于0.5 $\mu$ m的颗粒的百分比(PFAT5)的美国药典标准(表3)。

[0365] 从组织学上讲,虽然无脂肪源的PN饲喂小鼠和以SO为脂肪源的PN饲喂小鼠发展为肝脂肪变性(图6A),以及在油红O下的肝脂肪蓄积(图6B),但用FO或任意比FO:MCT处理的PN



饲喂小鼠改善了肝结构(图6A)并使肝脂肪蓄积最小化(图6B)。F0、70:30和50:50表现出完全正常的肝结构,而30:70则表现出痕量的脂肪变性(图6B)。

[0366] 由于MCT不包含必需脂肪酸,因此检验了F0:MCT混合物是否包含足够浓度的必需脂肪酸以预防必需脂肪酸缺乏症(EFAD)。S0、F0和F0:MCT的所有混合物均能够预防生化EFAD的发展(图7)。

[0367] 在评估血清TNF $\alpha$ 和IL-6时,在安乐死之前注射盐水的小鼠在这些标志物中均未显示明显升高(图8A和图8B,左图)。在注射LPS的小鼠中,注射LPS后的IL-6和TNF $\alpha$ 水平都随着F0:MCT比的降低而降低(图8A和图8B,右图)。50:50和30:70均显示IL-6明显低于F0,并且相较于F0,30:70具有显著降低的TNF $\alpha$ 。

[0368] 所有乳剂均满足关于平均小球尺寸和PFAT5的美国药典标准(表4)。基于以上结果,决定在该实验中使用50%F0:50%MCT比,用于F0或FOE和MCT的混合乳剂组合物。在上述结果中,50:50组在正常肝结构和抗炎益处之间提供了最有利的平衡。

[0369] 鉴于前述结果,检验了F0:MCT的另外的比,包括40:60和60:40。鱼油含量超过30%时,肝脏结构得到了改善,随着鱼油百分比的提高,可以检测到进一步的改善,高达50%。如上述测定的,包含30%以上的MCT提供了抗炎谱的改善。因此,本文预期具有大于30%且小于70%的鱼油(并且因此小于70%且大于30%的MCT)的F0和MCT的组合物提供了对肝结构和抗炎活性的令人惊讶的有利混合。

[0370] 根据组织学分析,无脂肪的PN饲喂的动物和给予S0的PN饲喂的动物发展为脂肪肝(图9A),以及在油红O染色下的肝脂肪蓄积(图9B)。F0、FOE、F0/MCT和FOE/MCT组保持了与饲料饲喂对照组相似的正常肝结构(图9A),并且无明显的肝脂肪蓄积(图9B)。

[0371] 在LPS刺激的血清TNF $\alpha$ 和IL-6评估中,相较于F0,FOE、F0/MCT和FOE/MCT的两种标志物的水平显著较低。在FOE、F0/MCT和FOE/MCT组之间,这些标志物的水平无显著差异(图10A-图10B)。

[0372] 本文证明:

[0373] a. 响应于炎性刺激,相较于单独的F0,F0和MCT的混合乳剂组合物提供了抗炎益处。F0和MCT以50:50的比例混合后,使得在保留肝保护和减弱炎性反应之间达到最佳平衡;

[0374] b. 相较于单独的F0,添加到F0中的 $\alpha$ -生育酚改善了响应于炎症刺激的抗炎益处。

[0375] 表3:在假设1中检验的乳剂的USP<729>分析

[0376]

乳剂	平均小球尺寸 (nm)	PFAT5 (%)
S0	273.3	0.025
F0	238.3	0.033
MCT	235.4	0.025

[0377] 表4:在假设2中检验的乳剂的USP<729>分析

[0378]

乳剂	平均小球尺寸 (nm)	PFAT5 (%)
S0	273.3	0.025
F0	238.3	0.033
FOE	235.9	0.013
MCT	235.4	0.025

[0379] 实施例3

[0380] 肠外营养相关性肝病 (PNALD) 是肠外营养 (PN) 依赖性的风险。静脉内大豆油作为肠外脂肪来源可能加剧发展PNALD的风险,而静脉内鱼油则可以阻止肝病的进展。但是,大豆油伤害肝脏和鱼油保护肝脏的机制尚不确定。区分大豆油和鱼油的两个特性是 $\alpha$ -生育酚和植物甾醇含量。大豆油富含植物甾醇,含有很少的 $\alpha$ -生育酚,而鱼油则含有大量的 $\alpha$ -生育酚,仅含有少量的植物甾醇。这项研究旨在检验 $\alpha$ -生育酚是否赋予静脉内脂肪乳剂以肝保护特性,而植物甾醇是否赋予静脉内脂肪乳剂以肝毒性特性。利用在实验室中配制的脂质乳剂,大豆油乳剂 (S0) 不能保护小鼠免受PN诱导的肝脂肪变性,而已添加 $\alpha$ -生育酚的大豆油乳剂组合物 (S0+AT) 则保持了正常的肝结构。鱼油乳剂 (F0) 和添加了植物甾醇的鱼油乳剂 (F0+P) 均能防止PN诱导的脂肪变性。在给予S0的动物中,主要的肝脂肪处理基因乙酰辅酶A羧化酶 (ACC) 和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ ) 的基因和蛋白质表达增加,而在接受S0+AT、F0和F0+P的动物中ACC和PPAR  $\gamma$  的水平与饲料饲喂对照相当。这项研究表明, $\alpha$ -生育酚在PN诱导的肝损伤中具有肝保护作用,而植物甾醇似乎并未损害鱼油的肝保护作用。

[0381] 肠外营养 (PN) 是大量营养素和微量营养素 (包括碳水化合物、氨基酸形式的蛋白质、脂质、维生素和微量元素) 的静脉内给予。肠衰竭 (IF) 的患者由于肠长不足或肠功能不全而无法吸收经口摄入的足够营养,PN是治疗这些患者的关键组成部分。尽管PN对于IF患者而言是维持生命的,但是存在与静脉内给予营养素有关的并发症。这样的并发症之一就是发展为肠外营养相关性肝病 (PNALD),其特征是胆汁淤积性肝病,这可能发展为肝硬化和需要进行肝移植的终末期肝病。传统上,只有患者可以戒断PN并实现肠自主性时,才能阻止PNALD的进展。最近,已经证明在动物模型中使用鱼油作为肠外脂肪来源可以预防PN诱导的肝损伤 (1、2) 并逆转胆汁淤积,并且可以阻止PNALD患者的肝病进展 (3-9)。

[0382] 脂肪是PN的重要组成部分。PN中的脂肪既是能量密集的卡路里来源,又是长链多不饱和和必需脂肪酸 (EFA) 的来源,其包括 $\omega$ -3和 $\omega$ -6脂肪酸家族。无脂肪PN的给予需要过量的碳水化合物热量才能满足热量需求。提供无脂肪的PN也导致必需脂肪酸缺乏症 (EFAD) 的发展,其特征可以是皮炎、脱发、发育迟缓和生长缺陷 (10、11)。PN依赖的患者可以通过血清脂肪酸谱对EFAD进行生化监测,并测量非必需的 $\omega$ -9脂肪酸米德酸 (该酸为三烯) 与必需的 $\omega$ -6脂肪酸花生四烯酸 (该酸为四烯) 的比。EFAD的生化定义是三烯与四烯之比大于0.2 (12)。

[0383] PN中的脂肪以水包油型乳剂的形式给予,其中,油以小球形式分散,并被磷脂单层包围在水性介质中。小球必须足够小,以在循环中转运而不会引起栓塞事件。在美国,美国药典 (USP) 制定了以下标准:静脉内脂肪乳剂必须具有直径小于500nm的平均小球尺寸,且直径大于5 $\mu$ m的脂肪小球的百分比 (PFAT5) 不超过0.05% (13、14)。所给予的脂肪酸的类型和比例由用于配制乳剂的油的组成决定。油还可以包含天然存在的非甘油三酸酯成分或添加剂,它们被掺入用这种油配制的乳剂中。

[0384] 大豆油基脂肪乳剂是最常用的肠外脂肪来源。在美国,美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的唯一的肠外脂肪来源包含大豆油。静脉内大豆油乳剂 (S0) 可能会加剧发展PNALD的风险 (15)。在动物模型中,静脉内鱼油乳剂 (F0) 已显示出预防PN诱导的肝损伤 (1、2)。当作为唯一肠外脂肪来源给予发展为PNALD的患者时,F0可以逆转胆汁淤积并阻止肝病的进展 (3-9)。尽管尚不完全了解F0的肝保护特性和S0的肝毒性特性的机制,但鱼油和大豆

油之间存在一些差异,这可能是S0和F0对肝脏的差异作用的重要原因。

[0385] 大豆油天然富含植物甾醇,植物甾醇是植物基的固醇化合物。市售的S0含有约450mg/L的植物甾醇(16)。市售S0中主要的植物甾醇是 $\beta$ -谷甾醇,占总植物甾醇的~70%(16)。豆甾醇和菜油甾醇的含量较小,但数量显著,分别为~15%和~13%(16)。体外研究表明,豆甾醇可以抑制胆汁酸转运蛋白Farsenoid X受体(FXR)以及由FXR调节的基因的表达(17)。在PNALD的鼠模型中,豆甾醇可能加剧肝损伤,抑制胆汁酸转运蛋白的活化,并引起肝巨噬细胞活化(18)。与S0相比,F0仅包含痕量的植物甾醇。

[0386]  $\alpha$ -生育酚是抗氧化剂,它是鱼油中的重要添加剂,其防止长链多不饱和 $\omega$ -3脂肪酸的氧化。大豆油比鱼油所含的 $\omega$ -3脂肪酸更少,不需要添加 $\alpha$ -生育酚来保持稳定性。

[0387] 本文描述了以下假设的检验: $\alpha$ -生育酚有助于肝保护特性,而植物甾醇则有助于静脉内脂肪乳剂的肝毒性特性。为了检验该假设,不可能使用可商购的静脉内脂肪乳剂,因为不存在具有不同植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚水平的S0和F0。因此,在实验室中配制乳剂,以控制每种乳剂组合物中的 $\alpha$ -生育酚和植物甾醇的量,以及所有乳剂成分的均匀性,只是油类型有所不同。在实验室中配制的S0和F0在小鼠中安全且耐受性良好(22)。在PN诱导的肝损伤鼠模型中,实验室生产的F0和S0乳剂与其商业对应物对肝脏具有相同的作用(图16)。本文检验了在鱼油中添加植物甾醇是否导致F0肝毒性,在大豆油中添加 $\alpha$ -生育酚是否给予S0肝保护性。

[0388] 结果

[0389] 乳剂分析。以下油用于制备20%的水包油型乳剂:鱼油、已添加植物甾醇的鱼油(F0+P)、大豆油和已添加 $\alpha$ -生育酚的大豆油(S0+AT)。图17示出了用这些油制成的乳剂以及市售的F0(OM)和S0(IL)中植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚的水平。用S0、S0+AT和F0+P配制的乳剂中的植物甾醇水平相当。用F0、F0+P和S0+AT配制的乳剂中的 $\alpha$ -生育酚水平相当。所有乳剂的平均小球尺寸和PFAT5分析均符合USP标准(图18)。

[0390] 生长参数和脂肪酸谱。任何所使用的乳剂的给予均无不良临床作用,动物对所有乳剂耐受良好。各处理组之间的生长无差异(图11A)。

[0391] 不稳定的静脉内乳剂可由于脂肪小球的沉积而导致器官肿大,特别是脾脏和肝脏的肿大(23)。在任何处理组中均无器官肿大的证据。在所有处理组中,肝脏(图11B)、脾脏(图11C)和肾脏(图11D)质量相似。

[0392] 进行血清脂肪酸谱分析,以证实每种乳剂均能够预防EFAD,并为乳剂中使用的油提供了预期的EFA补给。S0中 $\omega$ -6脂肪酸含量很高,几乎不含 $\omega$ -3脂肪酸,而F0中 $\omega$ -3脂肪酸含量更高,并且含有少量的 $\omega$ -6脂肪酸。这些EFA平衡应反映在各个处理组的动物血清中。所有乳剂均阻止了生化必需脂肪酸缺乏症(图12A)。与S0和S0+AT乳剂相比,F0和F0+P乳剂产生更低的 $\omega$ -6脂肪酸花生四烯酸的血清水平,以及更高的 $\omega$ -3脂肪酸二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)的血清水平(图12B和图12C)。

[0393] 组织学分析。为了评估每种乳剂对PN诱导的脂肪变性发展的影响,对肝脏进行组织学分析。S0不能预防PN诱导的脂肪变性(图13A,上排,中图)。但是,在PN-饲喂的动物中,向S0中添加 $\alpha$ -生育酚(S0+AT)可保持正常肝结构(图13A,下排,中图)。F0和F0+P也保留了正常的肝结构(图13A,右图),这表明向F0中添加植物甾醇不会损害F0保护肝脏免于PN诱导的脂肪变性的能力。通过油红O分析对肝脂肪蓄积进行评估,相较于S0,S0+AT导致的肝脂肪蓄

积减少(图13B, 中图), 表明 $\alpha$ -生育酚赋予S0肝保护特性。F0和F0+P均具有最小的肝脂肪蓄积, 再次表明向F0中添加植物甾醇不会损害F0的肝保护特性(图13B, 右图)。

#### [0394] 分子评估

[0395] 鉴于给予以S0作为脂肪源的PN饮食的小鼠发生脂肪变性, 而以F0作为脂肪源的PN饮食的小鼠则无脂肪变性, 推测S0和F0可能差异地影响肝脂肪的处理。为了检验每种乳剂对肝脂肪处理的影响, 进行了关键肝脂肪处理基因的基因表达分析。乙酰辅酶A羧化酶2 (ACC2) (该酶催化脂肪从头合成的限速步骤) 和过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ ) (该受体使肝脂肪处理的转录调节因子) 被识别为其表达随着不含脂肪的PN饮食而增加的基因, 该表达通过提供F0进行正常化, 而不通过提供S0进行正常化(图14A和图14B)。S0+AT在基因表达水平(图14A和图14B) 和蛋白质表达水平(图15A-图15C) 显示出ACC2和PPAR  $\gamma$  的正常化, 表明添加 $\alpha$ -生育酚可以赋予S0肝保护特性。F0和F0+P均产生ACC2和PPAR  $\gamma$  的正常化基因(图14A和图14B) 和蛋白质(图15A-图15C) 表达, 表明在分子水平上, 添加植物甾醇不会损害F0的肝保护特性。

#### [0396] 讨论

[0397] 已经证实, 在接受含大豆油的静脉内脂质乳剂的PN依赖型患者中, 血清和肝植物甾醇水平高于已戒断PN的患者(24)。此外, 在PN依赖型患者中, 血清和肝植物甾醇水平与肝功能实验室以及门静脉炎症和肝纤维化程度在组织学分析中呈正相关(24)。在新生儿PN依赖型患者中, 符合PNALD生化标准的患者的血清植物甾醇水平要高于无PNALD的患者(25)。体外研究表明, 豆甾醇(S0中的主要植物甾醇之一)(16)抑制了胆汁酸反应性核受体FXR的靶基因表达(17)。相反, Ng等发现在PNALD早产仔猪模型中, 向市售F0中添加 $\beta$ -谷甾醇和豆甾醇对胆汁酸清除率无不利影响(21)。Muto等在PNALD的新生仔猪模型中进行的研究表明, 向市售S0乳剂中添加 $\alpha$ -生育酚后, 胆汁流量、血清胆汁酸浓度或血清直接胆红素水平无改善(26)。

[0398] 在这项研究中, 使用了添加有 $\alpha$ -生育酚的大豆油的、在实验室中配制的静脉内脂质乳剂能够在PN诱导的肝损伤鼠模型中保持正常的肝结构和2种重要的肝脂肪处理基因的正常表达。使用不含添加的 $\alpha$ -生育酚的大豆油的、在实验室中配制的静脉内脂质乳剂无法防止PN诱导的肝脂肪变性和肝脂肪处理失调。尽管使用实验室配制的静脉内脂质乳剂在PN诱导的肝损伤的不同的模型中, 但这些结果与Ng等的发现是一致的。实验室中静脉内脂质乳剂的配制允许对配制方案进行控制, 并使用相同的仪器和成分以确保研究中使用的所有乳剂以完全相同的方式制备。在此, 在配制乳剂之前将 $\alpha$ -生育酚添加到大豆油中, 这涵盖了配制市售F0乳剂的过程, 并且是将 $\alpha$ -生育酚整合到市售乳剂中的方式。

[0399] 该研究还识别出PPAR  $\gamma$  和ACC2作为由PN异常调节的基因, 其由F0和含 $\alpha$ -生育酚的S0正常化, 但不单独由S0正常化。PPAR  $\gamma$  是全身和肝脂肪处理以及炎症的转录调节因子。ACC编码催化脂肪从头合成的限速步骤的酶。已经证明, 在非酒精性脂肪性肝炎的甲硫氨酸和胆碱缺乏饮食小鼠模型中, PPAR  $\gamma$  激动剂罗格列酮可以减轻肝部炎症和相关的生物标志物(27)。在缺乏低密度脂蛋白受体的小鼠中, 罗格列酮已显示改善高脂饮食诱导的肝脂肪变性(28)。其它研究报告了, 在非酒精性脂肪肝疾病的鼠模型中, PPAR  $\gamma$  表达的增加与肝脂肪变性的发展和肝甘油三酸酯蓄积之间存在正相关(29-31)。拮抗PPAR  $\gamma$  时, 肝甘油三酸酯蓄积的STAT5敲除小鼠也表现出肝脂肪减少(32)。体外研究还表明, 成脂作用与PPAR  $\gamma$  表达

增加有关(33)。有趣的是,还表明, $\beta$ -谷甾醇是S0中的主要植物甾醇之一,在辐射诱导的氧化应激大鼠模型中上调PPAR  $\gamma$  的表达(34)。ACC2的表达已显示出响应于高果糖条件而上调,并通过用 $\omega$ -3脂肪酸二十二碳六烯酸(DHA)在原代鼠肝细胞中处理而正常化(35)。

[0400] 有趣的是,该研究未发现在PN诱导的肝损伤中向鱼油中添加植物甾醇具有肝毒性作用。一个可能的结论是,在PN诱导的肝损伤鼠模型中,大豆油中的植物甾醇与豆油相关的肝毒性作用无关。另一种解释是,植物甾醇确实具有肝毒性特性,但不能胜过鱼油的肝保护特性。鱼油中富含的 $\omega$ -3脂肪酸是抗炎脂质介体的前体(36、37),鱼油中也富含 $\alpha$ -生育酚。这些性质可以提供肝脏保护作用,该保护作用是植物甾醇的存在无法胜过的。虽然已经在PNALD的早产仔猪模型中观察到了与本研究一致的结果(21),但其它体内和体外研究表明植物甾醇确实具有肝毒性特性(17、18)。第三种可能的解释是与植物甾醇相关的肝毒性特性的发生需要特定浓度的特定植物甾醇,或需要一定的植物甾醇平衡。在这项研究中,添加到鱼油中的植物甾醇的成分近似于大豆油中发现的植物甾醇的类型和量。

[0401] 在本研究中配制的所有乳剂均防止了EFAD的发展。传统上,亚油酸(LA)和 $\alpha$ -亚麻酸(ALA)分别为母体 $\omega$ -6和 $\omega$ -3脂肪酸,它们被认为是EFA。最近的数据表明,提供LA和ALA的代谢产物,例如花生四烯酸(ARA)、二十碳五烯酸(EPA)和DHA足以阻止EFAD的发展(38)。有趣的是,这项研究发现血清ARA、EPA和DHA反映了由给予乳剂(而非血清LA和ALA的水平)所提供的EFA的平衡。

[0402] 在PN诱导的肝损伤模型中, $\alpha$ -生育酚降低S0的肝毒性的能力暗示 $\alpha$ -生育酚在PNALD和其它类似肝组织病理的临床管理中是有用的。目前,F0可用于PNALD的治疗,但是F0并非对所有患者都容易可行。 $\alpha$ -生育酚在PNALD管理中的益处尚待临床检验,并且F0可能具有其它特性,例如丰富的 $\omega$ -3脂肪酸,这使F0比单独使用 $\alpha$ -生育酚更有益。但是,这项研究的结果表明,对于无法获得F0的患者, $\alpha$ -生育酚是预防或治疗PNALD的一种选择。

[0403] 实验方法

[0404] 脂质乳剂制剂

[0405] 用于乳剂的材料:注射用无菌水(SWFI,Hospira,Lake Forest,IL)、卵磷脂(Lipoid LLC,Newark,NJ)、油酸钠(Lipoid LLC,Newark NJ)和甘油(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)用于配制乳剂。所使用的油是USP级大豆油(Spectrum Chemicals,New Brunswick,NJ)和CrystalPure EPA 28/12TG鱼油(BASF)。所使用的添加剂是 $\alpha$ -生育酚(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)、 $\beta$ -谷甾醇(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)和豆甾醇(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)。用于分析的市售乳剂包括Omegaven(Fresenius Kabi,Bad Homburg,德国)和Intralipid(Fresenius Kabi,Uppsala,瑞典)。

[0406] F0+P油的制备:在恒定搅拌条件下,对CrystalPure EPA 28/12TG鱼油进行加热,以将温度维持在50℃-60℃之间。加入植物甾醇(85% $\beta$ -谷甾醇,15%豆甾醇)至终浓度为每克油2.25mg植物甾醇,并搅拌直至溶解。当用于配制20%的乳剂时,计算出的植物甾醇浓度为每升乳剂450mg植物甾醇。

[0407] S0+AT油的制备:在恒定搅拌条件下,对大豆油进行加热,以将温度维持在50℃-60℃之间。加入 $\alpha$ -生育酚至终浓度为每克油1mg $\alpha$ -生育酚,并搅拌10-15分钟。当用于配制20%的乳剂时,计算出的 $\alpha$ -生育酚含量为每升乳剂200mg $\alpha$ -生育酚。

[0408] 乳剂配制:如先前所述(22),通过高压均化来配制乳剂。除非另有说明,所有步骤

均在40℃-45℃下进行。所有步骤均在氮气气氛下进行。

[0409] 首先通过在高速剪切混合条件下向加热至75℃-90℃的SWFI中加入冷冻卵磷脂来配制分散体,并使混合物在40℃-45℃下平衡。加入油酸钠,并继续剪切混合(4000-4100RPM)40分钟,然后加入甘油。将粗分散体在9000psi下均质化(Panda Plus均质器,GEA Niro Saovi,Columbia,MD),进行20个循环。将分散体通过0.45μm膜过滤,并用0.5N氢氧化钠将pH调节至10.4。最终的分散体由12%的卵磷脂、25%的甘油和0.3%的油酸钠组成。一批分散体足以配制五个1升乳剂。

[0410] 通过在高速剪切混合条件(3800-4200RPM,调节以避免起泡)下将油添加到适当体积的分散体中持续混合40-45分钟,并用SWFI缓慢使其达到500mL的最终体积,保持温度40℃-45℃来配制乳剂。将粗乳剂在5000psi下均化至少9个循环。使用0.1N氢氧化钠将最终乳剂的pH调节至9-9.5,包装在20mL血清瓶中,顶部空间充满氮气,然后对包装好的乳剂进行高压灭菌。最终的乳剂组合物是20%的油、1.2%的卵磷脂、2.5%的甘油和0.03%的油酸钠。

[0411] 所有乳剂均按照USP<401>标准进行平均小球尺寸和PFAT5检验(Micro Measurements,Deerfield,IL)。

[0412] 乳剂中植物甾醇和α-生育酚水平的测定:为了测定植物甾醇水平,将样品用2mol/L乙醇KOH皂化,并用正庚烷提取甾醇。对提取物进行蒸发并在毛细管气相色谱柱上分离。用火焰电离检测器进行测定。使用胆甾醇作为内部对照进行定量。

[0413] 如(39)所述对α-生育酚水平进行测定,但是使用外部校准代替内部校准的使用。

[0414] PN诱导的肝损伤鼠模型。所有动物实验均获得波士顿儿童医院机构动物护理和使用委员会的批准。在波士顿儿童医院向六周龄C57BL/6小鼠(杰克逊实验室,Bar Harbor,ME)给予标准饲料饮食或由给予患者的PN组成的流质饮食(20%葡萄糖、2%氨基酸、30mEq/L钠、20mEq/L钾、15mEq/L钙、10mEq/L镁、10mMol/L磷酸盐、36.67mEq/L氯化物、19.4mEq/L乙酸盐、儿童多维维生素、儿童微量元素)。向PN饲喂小鼠静脉内(IV)给予盐水、IV F0、IV F0+P、IV S0或IV S0+AT(通过尾静脉注射2.4g/kg/天)。19天后,通过二氧化碳窒息使动物安乐死。抽血以收集血清。采集肝脏、脾脏和右肾以进行进一步分析。对于每个实验,该实验用不同批次的乳剂进行了两次。在第一个实验中,每个处理组使用5只小鼠,在第二个实验中,每个处理组使用10只小鼠。

[0415] 器官加工和组织学检查。将脾脏、肾脏和每个肝脏的一部分置于10%福尔马林中,并在4℃下保存24小时,然后转移至70%乙醇中。将样品包埋在石蜡中,然后切片以进行苏木精和曙红(H&E)染色,以评估肝结构。将每个肝脏的第二部分置于最佳切割温度(OCT)培养基(Fisher Scientific,Pittsburgh,PA)中,并在液氮中冷冻。样品进行冷冻切片和油红O染色以评估肝脂肪蓄积。使用Zeiss Axiophot™显微镜(Oberkochen,德国)进行可视化。切片由对处理组不知情的董事会认证的病理学家进行分析。每个肝脏的第三部分在液氮中速冻,并在-80℃下储存以用于基因和蛋白质表达分析。

[0416] 血清脂肪酸谱分析。如先前所述进行血清脂肪酸提取(2)。简而言之,用2:1的氯仿和甲醇对添加了二十三烷酸作为内标的血清样品(每个样品30μL)进行萃取,以分离脂质级分。用0.5N甲醇氢氧化钠对样品进行皂化。将样品在14%的BF<sub>3</sub>/甲醇中于100℃孵育30分钟。在氮气气氛下进行步骤以使氧化最小化。用气相色谱法(Hewlett Packard 6890)进行

分析,并用火焰电离检测器进行检测。使用外部脂肪酸甲酯标准品 (NuCheck Prep™, Elysian,MN) 来鉴定样品的脂肪酸峰。

[0417] 基因表达分析。将肝切成每个样品25mg,并根据制造商的说明使用Qiagen AllPrep™DNA/RNA/蛋白质试剂盒 (Gaithersburg,MD) 提取RNA。对于每个反应,根据制造商的说明,使用Taqman™引物 (Invitrogen,Carlsbad,CA) 和试剂 (Agilent Technologies, Santa Clara,CA) 与200ng RNA。在ABIOne Step Plus循环仪中使用两步循环RT-PCR方案。最初的逆转录步骤在50℃下进行30分钟,在95℃下进行10分钟,然后扩增步骤在95℃下进行15秒,并在60℃下进行1分钟,循环40次。将靶基因表达相对于GAPDH基因进行正常化,并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法与饲料饲喂对照组进行比较 (40)。

[0418] 蛋白质分析。将肝切成每个样品25mg,并在Bullet Blender中使用不锈钢珠在具有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的放射免疫沉淀测定 (RIPA) 缓冲剂中进行均质化。使用Bradford Assay (Bio-Rad,Hercules,CA) 对蛋白质浓度进行测定。使用4%-12%的Bis Tris聚丙烯酰胺凝胶 (Invitrogen,Carlsbad,CA) 从每个样品分离10mg蛋白质,然后转移至硝酸纤维素膜上。将膜在5%的脱脂牛奶中封闭1小时。将膜在第一抗体中孵育过夜,然后在第二抗体中孵育1小时。ACC和PPAR  $\gamma$  抗体来自Cell Signaling technologies (Danvers, MA)。 $\beta$ -肌动蛋白抗体来自Santa Cruz Biotechnologies(Paso Robles,CA)。

#### [0419] 参考文献

[0420] 1.Alwayn,I.P.,Gura,K.,Nose,V.,Zausche,B.,Javid,P.,Garza,J.,Verbesey,J.,Voss,S.,Ollcro,M.,Andcrsson,C.,Bistrian,B.,Folkman,J.,and Pudcr,M. (2005) Omega-3 fatty acid supplementation prevcnts hepatic stcatosis in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease.Pediatr Res.57,445-452

[0421] 2.Meisel,J.A,Le,H.D.,de Meijer,VE.,Nose,V.,Gura,K.M.,Mulkem,R.V, Akhavan Sharif,M.R.,and Puder,M. (2011) Comparison of 5 intravenous lipid emulsions and their effects on hepatic steatosis in a murine model.J.Pediatr.Surg.46,666-73

[0422] 3.Diamond,l,R.,Stereseu,A.,Pencharz,P.B.,Kim,J.H,and Wales,P.W. (2009) Changing the Paradigm:omegaven for the treatment of liver failure in pediatric short bowel syndrome.J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.48,209-15

[0423] 4.Puder,M.,Valim,C.,Meisel,J.a,Le,H.D.,de Meijer,V.E.,Robinson,E.M., Zhou,J.,Duggan,C.,and Gnra,K.M. (2009) Parenteral fish oil improves outcomes in patients with parenteral nutrition-associated liver injury.Ann.Surg.250,395-402

[0424] 5.Gura,K.M.,Duggan,C.P.,Collier,S.B.,Jennings,R.W.,Folkman,J., Bistrian,B.R.,and Puder,M. (2006) Reversal of parenteral nutrition-associated liver disease in two infants with short bowel syndrome using parenteral fish oil:implications for future management.Pediatrics.118,e197-201

[0425] 6.Calkins,K.L.,Dunn,J.C.Y.,Shew,S.B.,Reyen,L.,Farmer,D.G.,Devaskar, S.U.,and Venick,R.S. (2013) Pediatric Intestinal Failure-Associated Liver Disease Is Reversed With 6 Months of Intravenous Fish Oil.JPEN.J,

Parenter. Enteral Nutr. 38, 682-692

[0426] 7. de Meijer, V.E., Gura, K.M., Le, H.D., Meisel, J.a, and Puder, M. (2009) Fish oil-based lipid emulsions prevent and reverse parenteral nutrition-associated liver disease: the Boston experience. JPEN. J. Parenter. Enteral Nutr 33, 541-7

[0427] 8. Sorrell, M., Moreira, A., Green, K., Jacobs, R., Tragus, R., Keller, L., Quinn, A., McCumin, D., Gong, A., El Sakka, A., Mittal, N., and Blanco, C. (2016) Favorable Outcomes of Preterm Infants with PNALD Treated with IV Fish Oil-Based Lipid Emulsion. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 10.1097/MPG.0000000000001397

[0428] 9. Lam, H.S., Tam, Y.H., Poon, T.C.W., Cheung, H.M., Yu, X., Chan, B.P.L., Lee, K.H., Lee, B.S.C., and Ng, P.C. (2014) A Double-Blind Randomised Controlled Trial of Fish Oil-Based versus Soy-Based Lipid Preparations in the Treatment of Infants with Parenteral Nutrition-Associated Cholestasis. Neonatology. 105, 290-296

[0429] 10. Jeppesen, P.B., Hoy, C.E., and Mortensen, P.B. (1998) Essential fatty acid deficiency in patients receiving home parenteral nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 68, 126-33

[0430] 11. Mascioli, E.A., Lopes, S.M., Champagne, C., and Driscoll, D.F. (1996) Essential fatty acid deficiency and home total parenteral nutrition patients. Nutrition. 12, 245-9

[0431] 12. HOLMAN, R.T. (1960) The ratio of trienoic:tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. J. Nutr. 70, 405-10

[0432] 13. Driscoll, D.F. (2007) Globule-size distribution in injectable 20% lipid emulsions: Compliance with USP requirements. Am. J. Heal. Pharm. 64, 2032-2036

[0433] 14. Pharmacopoeia, T.U.S. (2012) Chapter 729: Globule Size Distribution in Lipid Injectable Emulsions. in United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 36-NF 31), pp. 321-323

[0434] 15. Teng, J., Arnell, H., Bohlin, K., Nemeth, A., and Fischler, B. (2015) Impact of parenteral fat composition on cholestasis in preterm infants. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 60, 702-7

[0435] 16. Xu, Z., Harvey, K.A., Pavlina, T., Dutot, G., Hise, M., Zaloga, G.P., and Siddiqui, R.A. (2012) Steroidal compounds in commercial parenteral lipid emulsions. Nutrients. 4, 904-21

[0436] 17. Carter, B.A., Taylor, O.A., Prendergast, D.R., Zimmerman, T.L., Von Furstenberg, R., Moore, D.D., and Karpen, S.J. (2007) Stigmasterol, a soy lipid-derived phytosterol, is an antagonist of the bile acid nuclear receptor FXR. Pediatr. Res. 62, 301-6

[0437] 18. El Kasmi, K.C., Anderson, A.L., Devereaux, M.W., Vue, P.M., Zhang, W., Setchell, K.D.R., Karpen, S.J., and Sokol, R.J. (2013) Phytosterols promote liver injury and Kupffer cell activation in parenteral nutrition-associated liver



disease.Sci.Transl.Med.5,206ra137

[0438] 19.Saboori,S.,Shab-Bidar,S.,Speakman,J.R.,Yousefi Rad,E.,and Djafarian,K. (2015)Effect of vitamin E supplementation on serum C-reactive protein level:a meta-analysis of randomized controlled trials.Eur.J.Clin.Nutr.10.1038/ejcn.2014.296

[0439] 20.Shing,C.M.,Fassett,R.G.,Peake,J.M.,and Coombes,J.S. (2014)Effect of tocopherol on atherosclerosis,vascular fuuction,and inflammation in apolipoprotein E knockout mice with subtotal nephrectomy.Cardiovasc.Ther.32, 270-5

[0440] 21.Ng,K.,Stoll,B.,Chacko,S.,Saenz de Pipaon,M.,Lauridsen,C.,Gray,M., Squires,E.J.,Marini,J.,Zamora,I.J.,Olutoye,O.O.,and Burrin,D.G. (2015)Vitamin E in New-Generation Lipid Emulsions Protects Against Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease in Parcntcral Nutrition-Fed Prctcrn Pigs.JPEN.J.Parenter.Enter.Nutr.10.1177/0148607114567900

[0441] 22.Fell,G.L.,Cho,B.S.,Pan,A.,Nose,V.,Anez-Bustillos,L.,Dao,D.T., Baker,M.A.,Nandivada,P.,Gura,K.M.,and Puder,M. (2017)A Comparison of Fish Oil Sources for Parenteral Lipid Emulsions in a Murine Model.J.Parenter.Enter.Nutr.41,181-187

[0442] 23.Driscoll,D.F. (2006)Lipid injectable emulsions:Pharmacopeial and safety issues.Pharm.Res.23,1959-69

[0443] 24.Hukkinen,M.,Mutanen,A.,Nissinen,M.,Merras-Sahnio,L.,Gylling,H.,and Pakarineu,M.P. (2016)Parenteral Plant Sterols Accumulate in the Liver Reflecting Their Increased Serum Levels and Portal Inflammation in Children With Intestinal Failure.J.Parenter.Enter.Nutr.10.1177/0148607116637855

[0444] 25.Kurvinen,A.,Nissinen,M.J.,Andersson,S.,Korhonen,P.,Ruuska,T., Taimisto,M.,Kalliomäki,M.,Lchtoncn,L.,Sankilampi,U.,Arikoski,P.,Saarela,T., Miettincn,T.A.,Gylling,H.,and Pakarincn,M.P. (2012)Parcntcral Plant Sterols and Intestinal Failure-associated Liver Disease in Neonates.J.Pediatr.Gastro enterol.Nutr.54,803-811

[0445] 26.Muto,M.,Lim,D.,Soukvilay,A.,Field,C.,Wizzard,P.R.,Goruk,S.,Ball, R.O.,Pencharz,P.B.,Mi,S.,Curtis,J.,Wales,P.W.,and Tumer,J.M. (2015) Supplemental Parenteral Vitamin E Into Conventional Soybean Lipid Emulsion Does Not Prevent Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease in Full-Term Neonatal Piglets.J.Parenter.Enter.Nuitr.10.1177/0148607115612030

[0446] 27.Tahan,V.,Eren,F.,Avsar,E.,Yavuz,D.,Yuksel,M.,Emekli,E.,Imeryuz,N., Celikel,C.,Uzun,H.,Haklar,G.,and Tozun,N. (2007)Rosiglitazone attenuates liver inflammation in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis.Dig.Dis.Sci.52, 3465-72

[0447] 28.Gupte,A.A.,Liu,J.Z.,Ren,Y.,Minze,L.J.,Wiles,J.R.,Collins,A.R.,

Lyon,C.J.,Pratico,D.,Finegold,M.J.,Wong,S.T.,Webb,P.,Baxter,J.D.,Moore,D.D., and Hsueh,W.A. (2010) Rosiglitazone attenuates age- and diet-associated nonalcoholic steatohepatitis in male low-density lipoprotein receptor knockout mice *Hepatology*.52,2001-11

[0448] 29. Bedoucha, M., Atzpodiën, E., and Bockstæterli, U. A. (2001) Diabetic KKAy mice exhibit increased hepatic PPAR $\gamma$  gene expression and develop hepatic steatosis upon chronic treatment with antidiabetic thiazolidinediones. *J. Hepatol.* 35, 17-23

[0449] 30. Yu, S., Matsusue, K., Kashireddy, P., Cao, W.-Q., Yeldandi, V., Yeldandi, A. V., Rao, M. S., Gonzalez, F. J., and Reddy, J. K. (2003) Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) overexpression., *J. Biol. Chem.* 278, 498-505

[0450] 31. Jia, Y., Wu, C., Kim, J., Kim, B., and Lee, S.-J. (2016) Astaxanthin reduces hepatic lipid accumulations in high-fat-fed C57BL/6J mice via activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  and inhibition of PPAR  $\gamma$  and Akt. *J. Nutr. Biochem* 28, 9-18

[0451] 32. Hosui, A., Tatsumi, T., Hikita, H., Saito, Y., Hiramatsu, N., Tsujii, M., Hennighausen, L., and Takehara, T. (2016) Signal transducer and activator of transcription 5 plays a crucial role in hepatic lipid metabolism through regulation of CD36 expression. *Hepatol. Res.* 10.1111/hepr.12816

[0452] 33. Maruyama, H., Kiyono, S., Kondo, T., Sekimoto, T., and Yokosuka, O. (2016) Palmitate-induced Regulation of PPAR $\gamma$  via PGC1 $\alpha$ : a Mechanism for Lipid Accumulation in the Liver in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int. J. Med. Sci.* 13, 169-178

[0453] 34. Moustafa, E. M., and Thabet, N. M. (2017) Beta-sitosterol upregulated paraoxonase-1 via peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  in irradiated rats. *Can., J. Physiol. Pharmacol.* 10.1139/cjpp-2016-0397

[0454] 35. Zhcng, J., Peng, C., Ai, Y., Wang, H., Xiao, X., and Li, J. (2016) Docosahexaenoic Acid Ameliorates Fructose-Induced Hepatic Steatosis Involving ER Stress Response in Primary Mouse Hepatocytes. *Nutrients*. 8, 55

[0455] 36. Kalish, B. T., Le, H. D., Fitzgerald, J. M., Wang, S., Seamon, K., Gura, K. M., Gronert, K., and Puder, M. (2013) Intravenous fish oil lipid emulsion promotes a shift toward anti-inflammatory proresolving lipid mediators. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 305, G818-28

[0456] 37. Bagga, D., Wang, L., Farias-Eisner, R., Glaspy, J. a., and Reddy, S. T. (2003) Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc. Natl . Acad. Sci. U. S. A.* 100, 1751-6

[0457] 38.Le,H.D.,Meisel,J.A.,de Meijer,V.E.,Fallon,E.M.,Gura,K.M.,Nose,V.,Bistrián,B.R.,and Puder,M. (2012) Docosahexaenoic Acid and Arachidonic Acid Prevent Essential Fatty Acid Deficiency and Hepatic Steatosis.J.Parenter.Ent er.Nutr.36,431-441

[0458] 39.Xu,Z.,Harvcy,K.A.,Pavlina,T.M.,Zaloga,G.P.,and Siddiqui,R.A. (2015) Tocophcrol and tocotrienol homologs in parenteral lipid emulsions.Eur.J.Lipid Sci.Technol.117,15-22

[0459] 40.Schmittgen,T.D.,and Livak,K.J. (2008) Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method.Nat.Protoc.3,1101-1108

[0460] 实施例4

[0461] 在实施例1-实施例3中,如下制备油乳剂组合物混合物:使用Panda Plus GEA Niro Soavi<sup>TM</sup>研制所需浓度的水包油型乳剂。使用高Silverson高剪切混合器,使磷脂分散,同时仍然冷冻在一定体积的注射用水中,该注射用水预先加热到100℃,大约等于油重量的3倍。然后加入油酸钠,并在混合下溶解,直至将其精细地分散并形成粘稠的液体。然后将甘油加入分散体中,并使用Silverson高剪切混合器以3000rpm的速率混合10分钟,直至混合均匀。然后使该溶液通过Panda Plus GEA Niro Soavi<sup>TM</sup>均质器,该均质器在循环基础上设置为500psi(第二级)和4500psi(第一级),总压为5000psi(+或-400psi),时间等于该体积分散体通过均质器的10次完整通过。在整个过程中,分散体的温度保持在40℃左右。之后,记录pH,并在40℃(38℃-42℃)下用0.5N的普通氢氧化钠溶液将其pH调节至10.2至10.8。将油在氮气气氛下加热至约40℃,以细流的方式与约200mL注射用水(加热至100℃)加入至pH调节后的分散体中,并使用Silverson高剪切混合器,以3000rpm总共混合10分钟,然后以4000rpm总共混合5分钟。然后将注射用水(加热至100℃)添加至粗乳剂浓缩物中,使其达到100%的最终乳剂体积。然后将稀释的乳剂添加到Panda Plus GEANiro Soavi<sup>TM</sup>料斗中,并以900psi(第二级)和8100psi(第一级)通过均质器,总压为9000psi(压力比为1:10的第二级:第一级),时间不少于连续9次完整通过所需的时间。用设置为1功率和8速度的Heidolph RZR 2020<sup>TM</sup>混合器使料斗中的乳剂连续循环。通过将Thermo Cube<sup>TM</sup>水冷却器设置为38℃,乳剂温度保持稳定在40℃左右。第9次通过后,将乳剂转移至干净的玻璃容器中。记录40℃(范围38℃-40℃)的pH,并用0.1N氢氧化钠溶液调节至9(范围8.8-9.2)。在生产过程中,将这种乳剂的所有成分保持在所有容器的顶部空间中的氮气气氛下。容器由316级不锈钢容器制成。调节pH后,将乳剂转移至无菌洗涤的小瓶中进行储存,高压灭菌15分钟,并在不超过30℃的冰箱中储存。

[0462] 在使用MCT、F0和/或S0的组的实施方式中,如前段所述,以水中20%w/v的浓度制备所示油的乳剂。然后将这些乳剂混合在一起以产生不同的比。例如,通过将50mL的20%MCT乳剂和50mL的20%F0乳剂混合来制备100mL的50:50的MCT:F0乳剂组合物。这样,最终的乳剂组合物为20%总脂肪/体积。

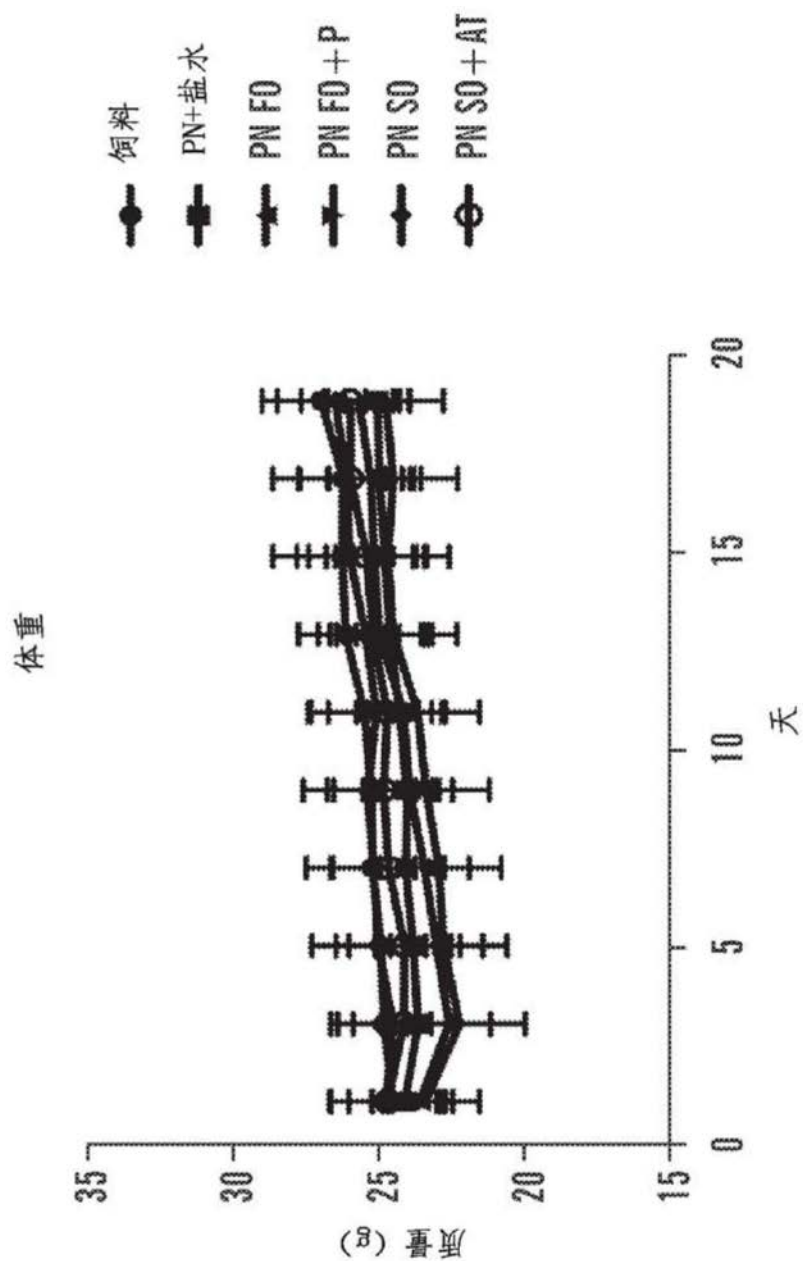


图1A

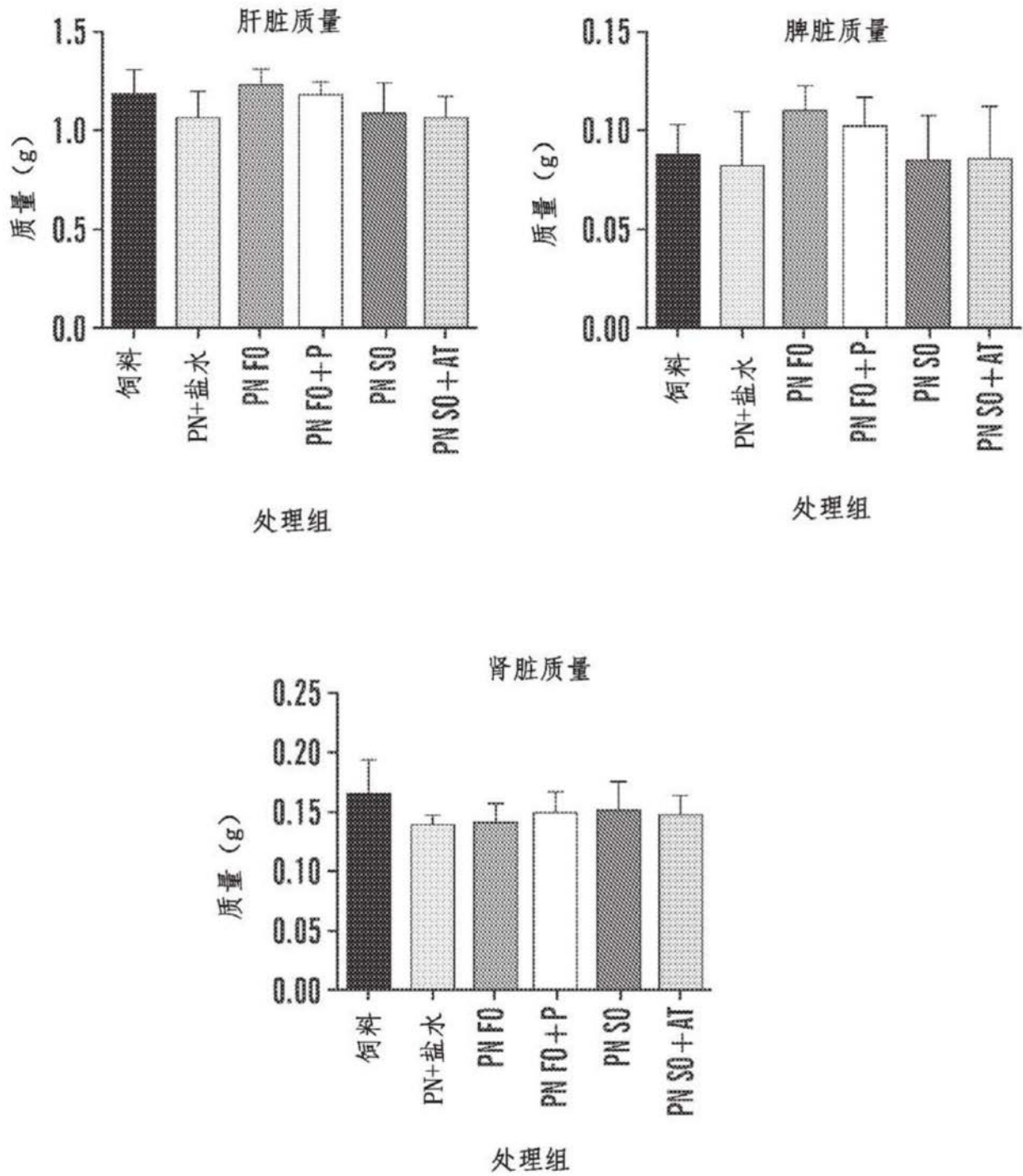


图1B

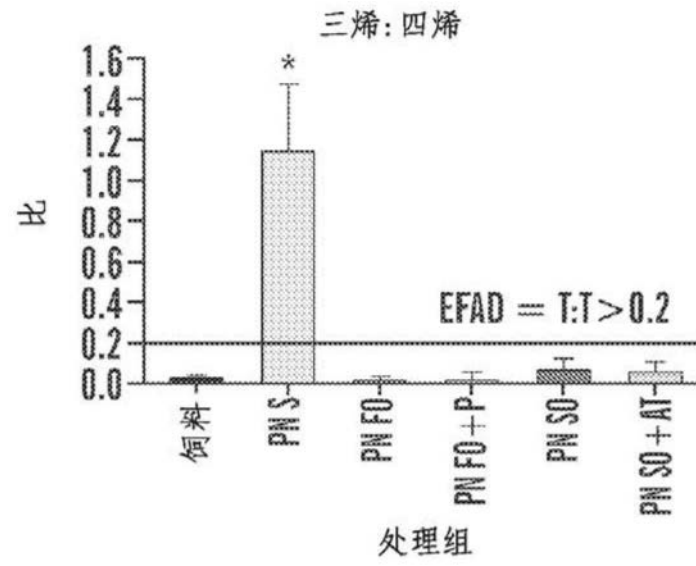


图2A

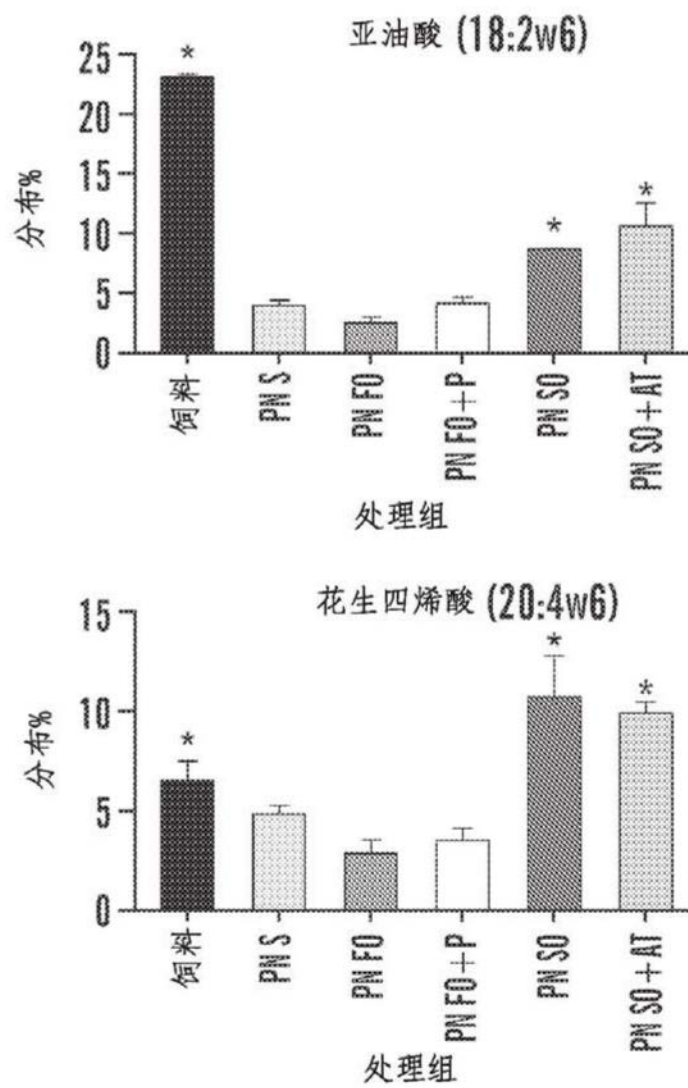


图2B

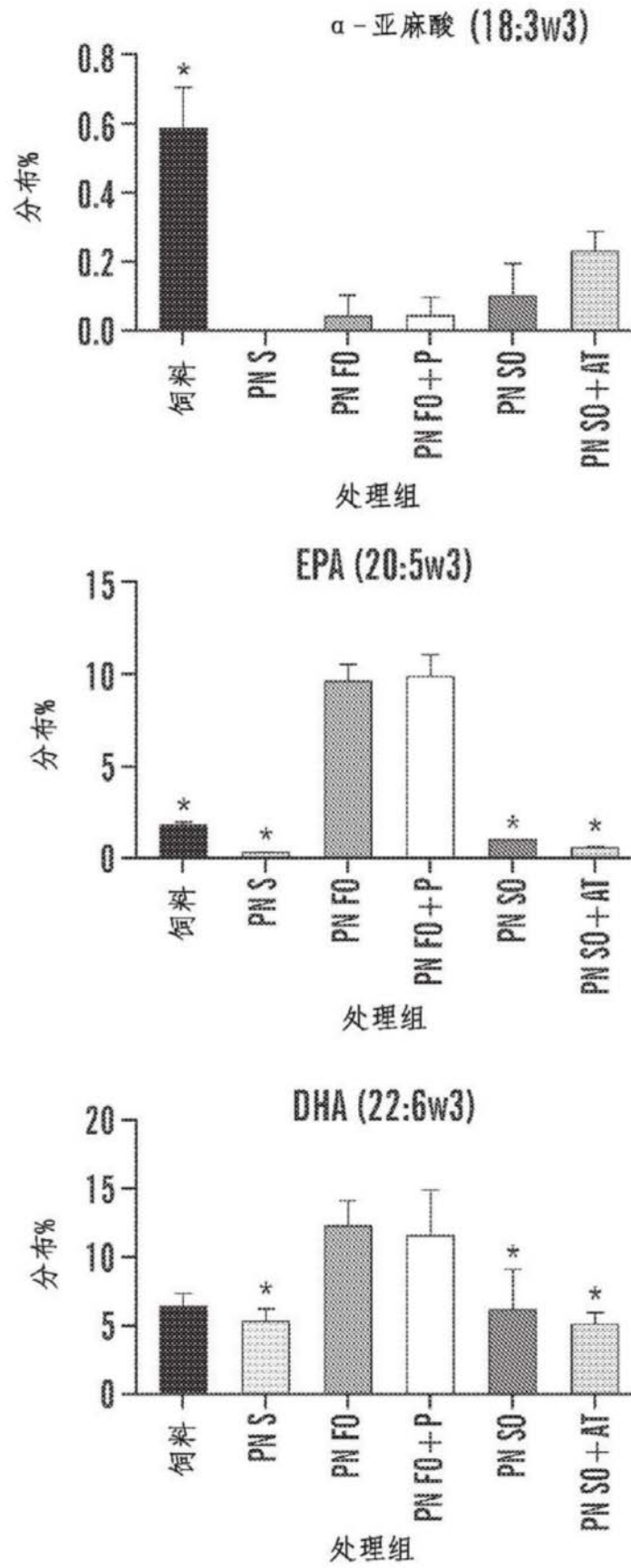


图2C



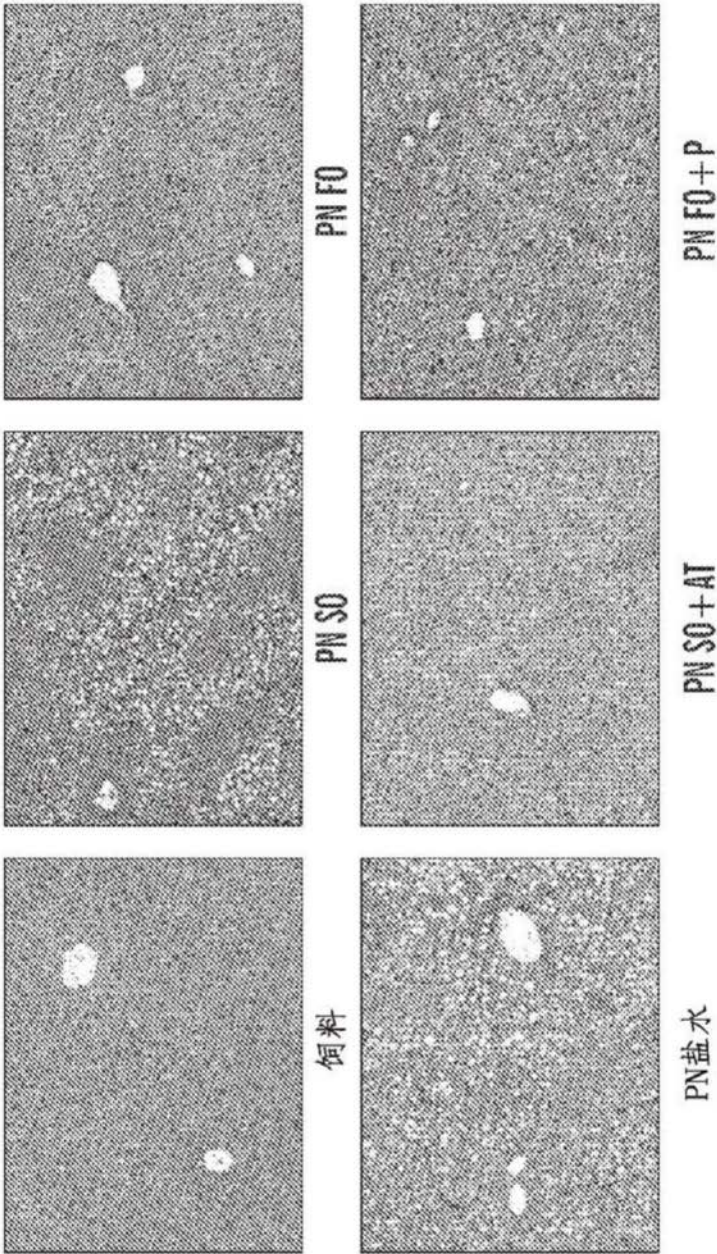


图3A

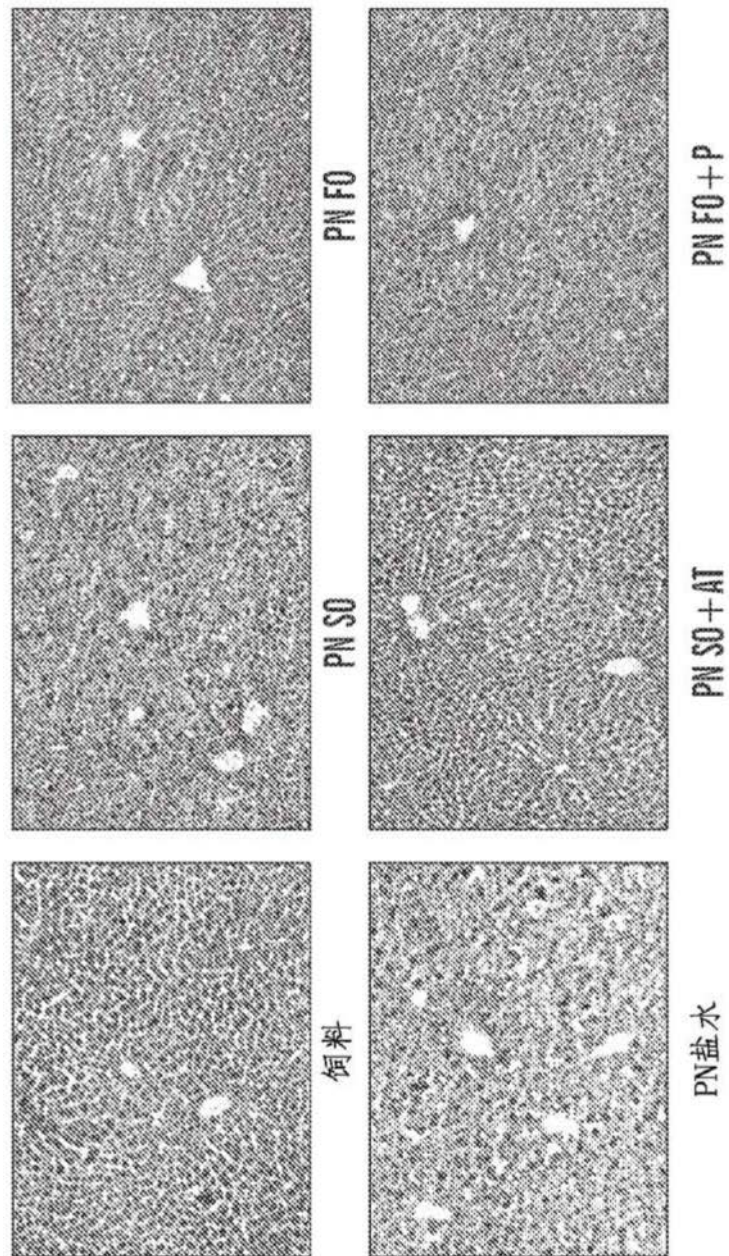


图3B

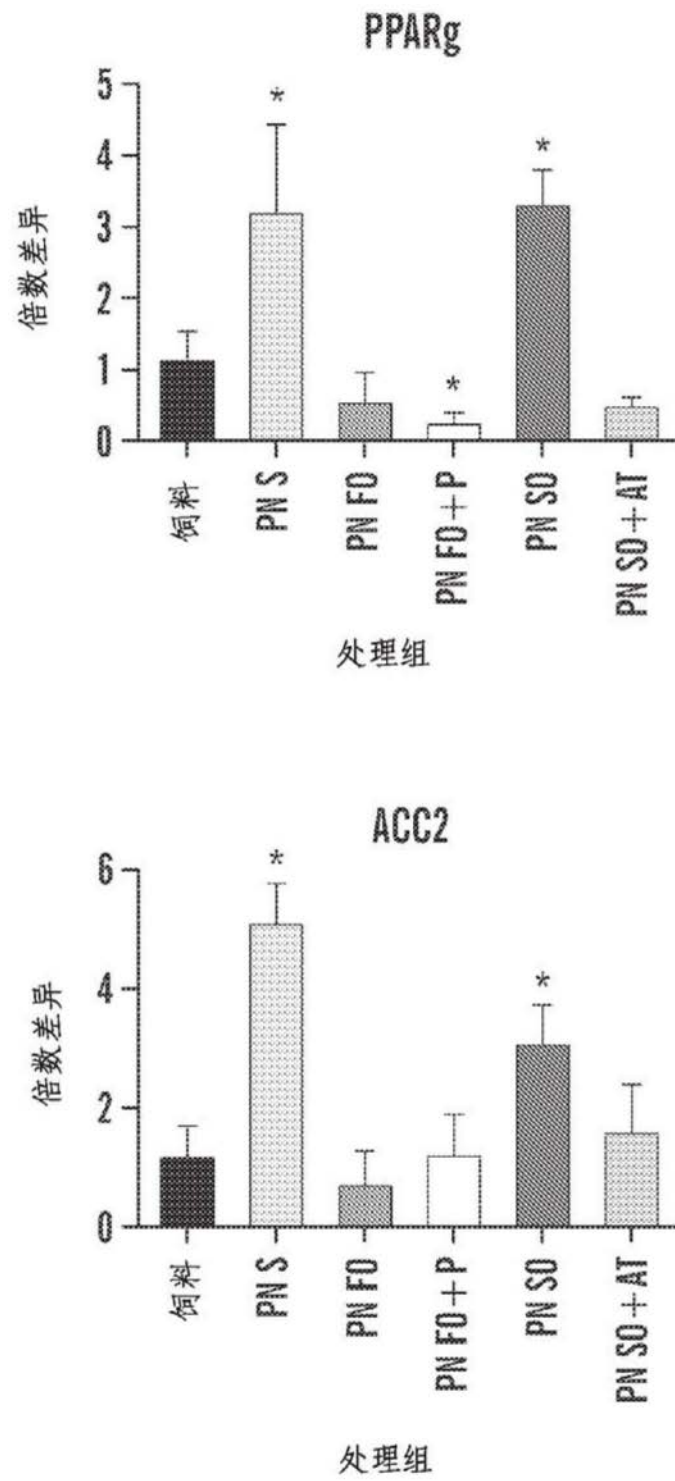


图4



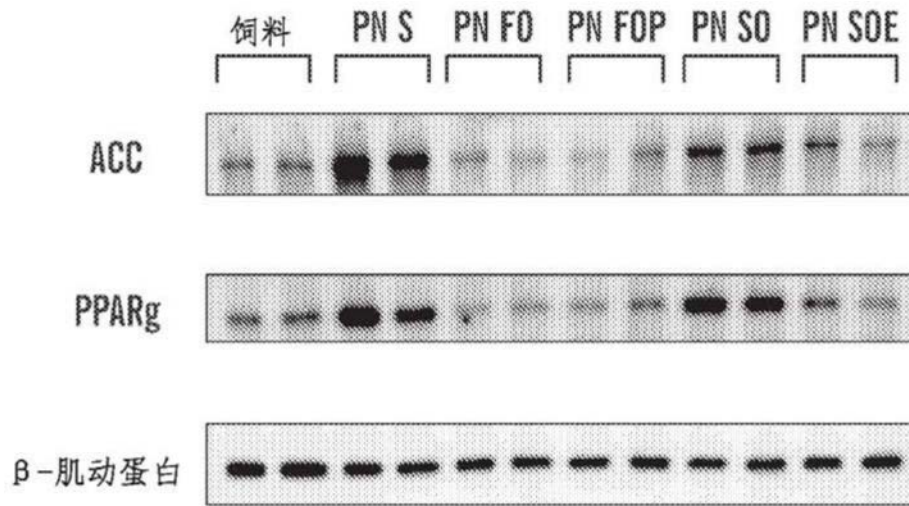


图5A

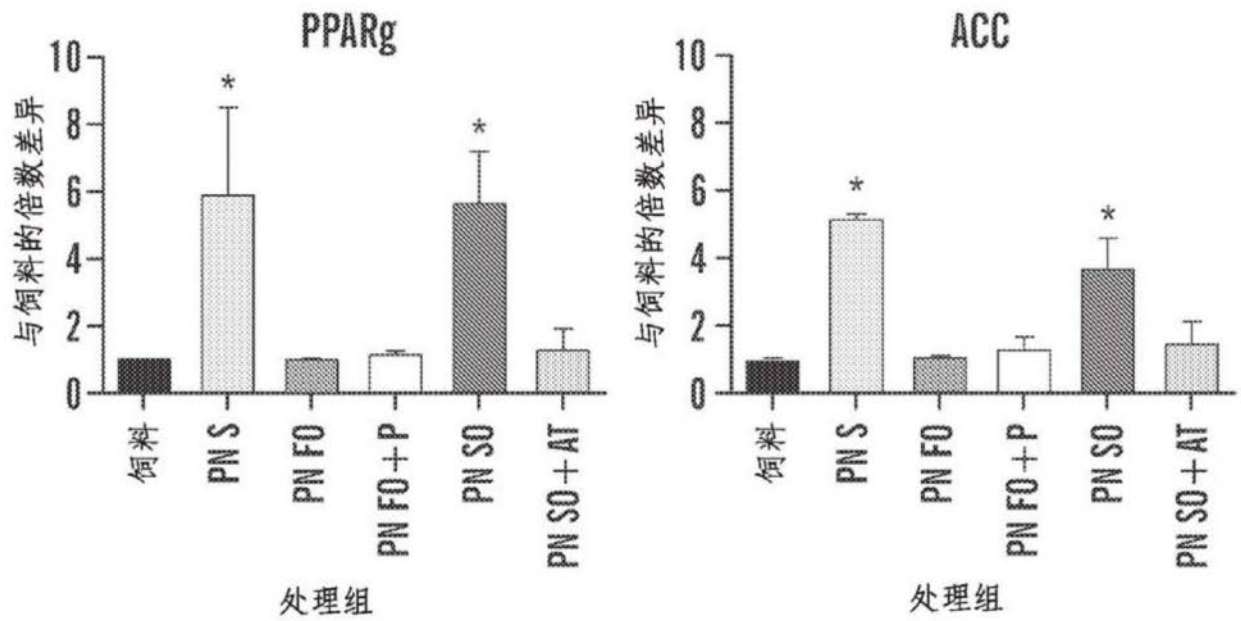


图5B

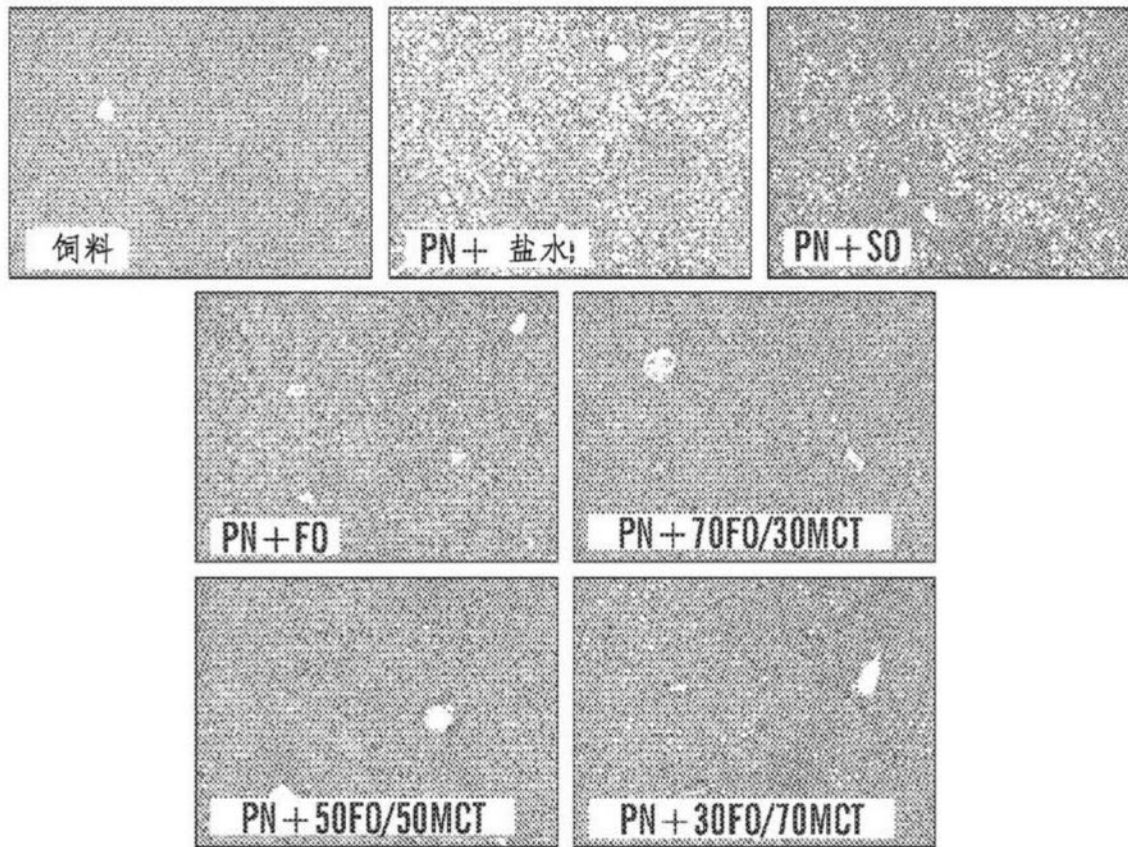


图6A

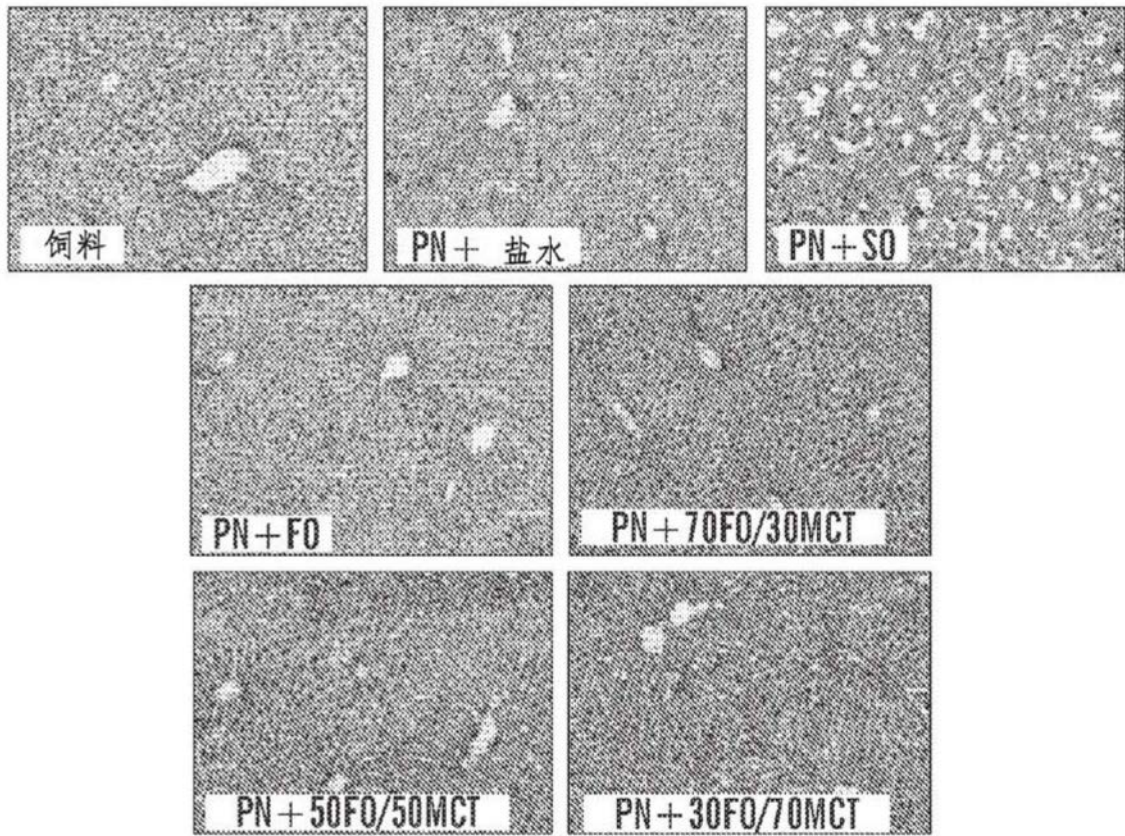


图6B

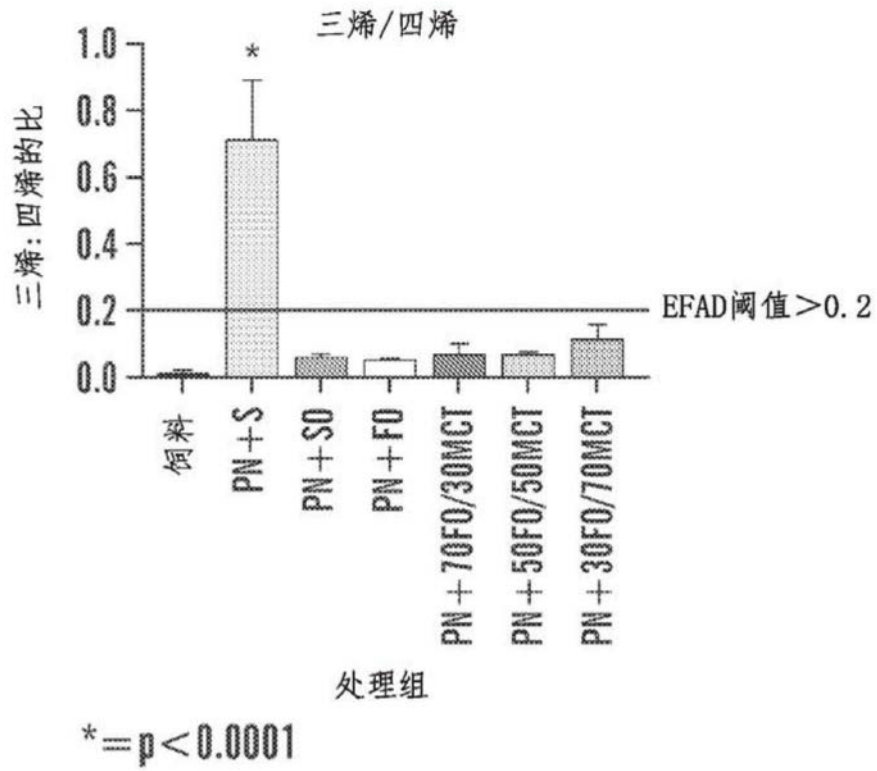


图7

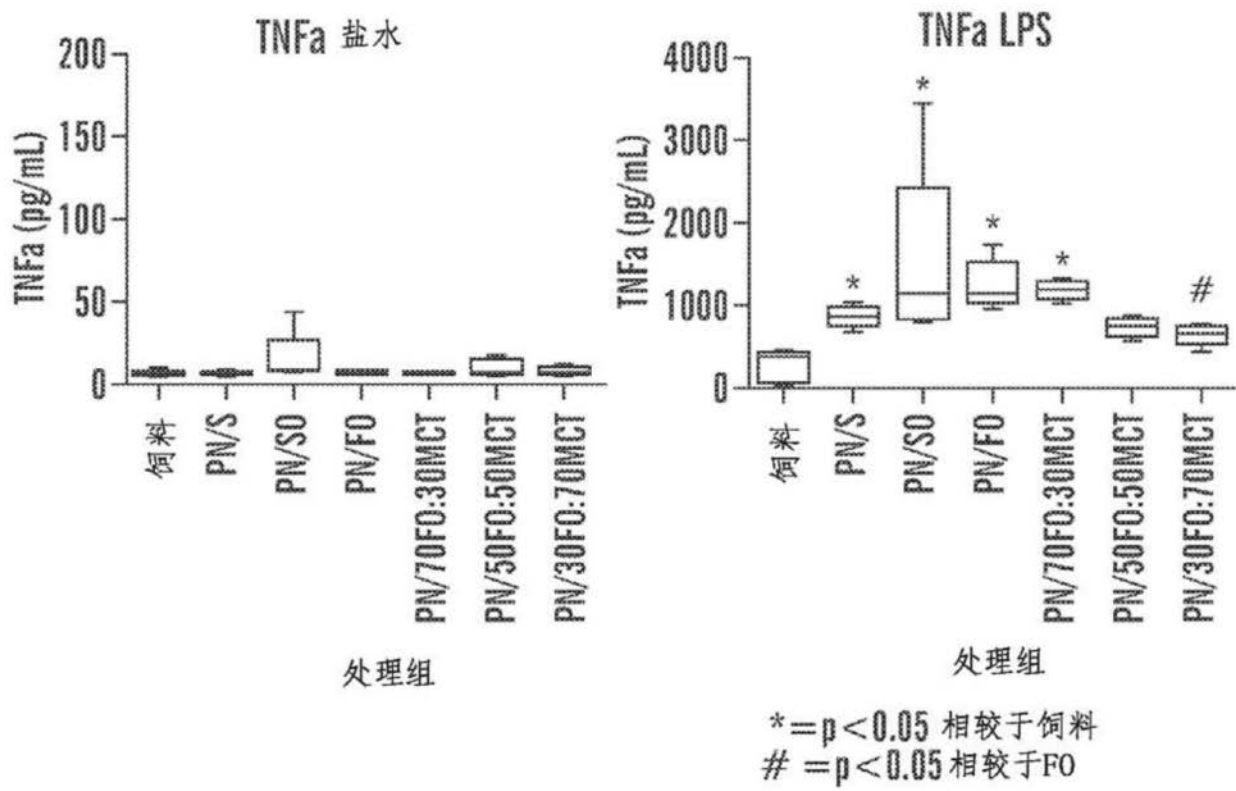


图8A

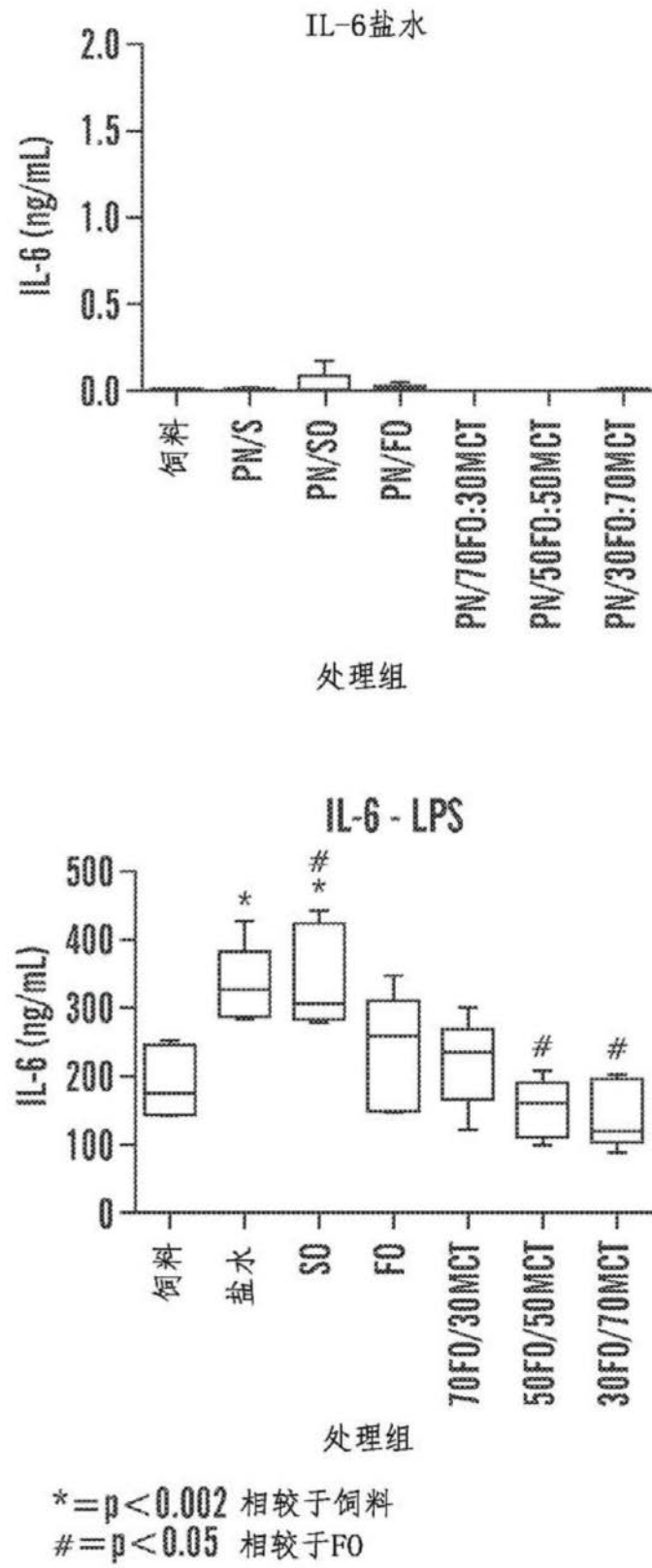


图8B



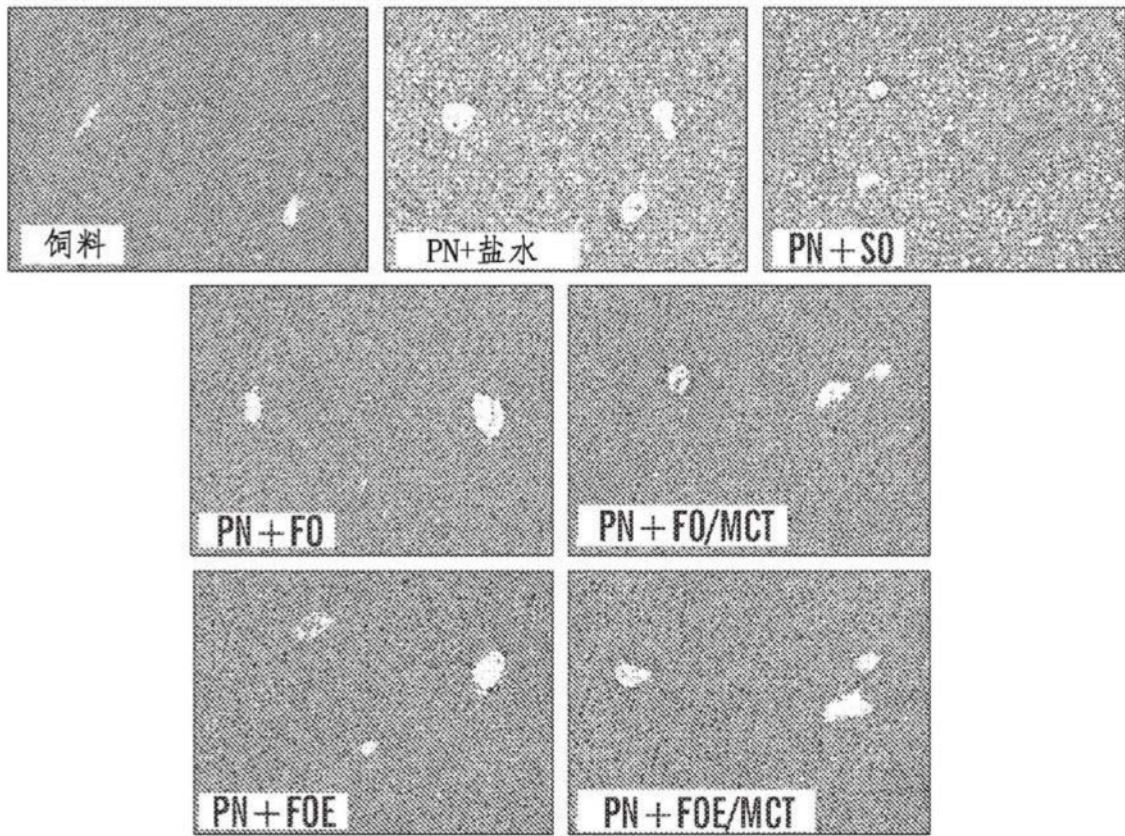


图9A

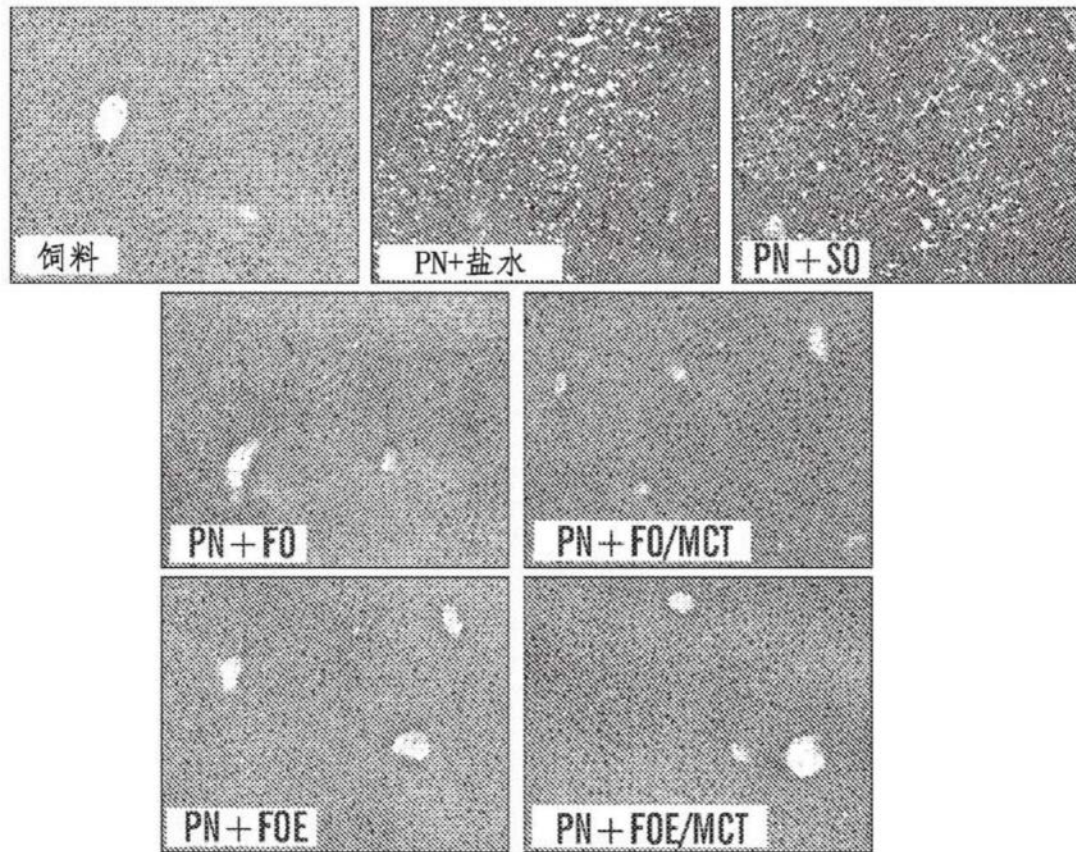


图9B

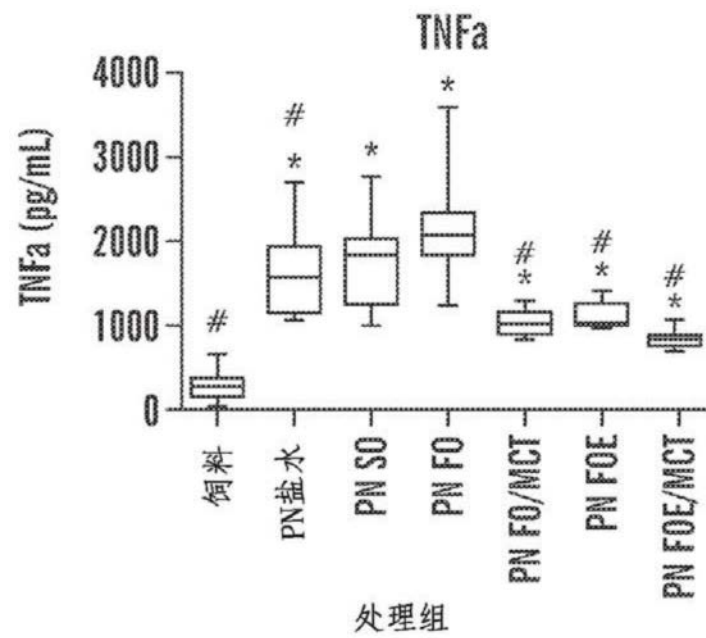


图10A

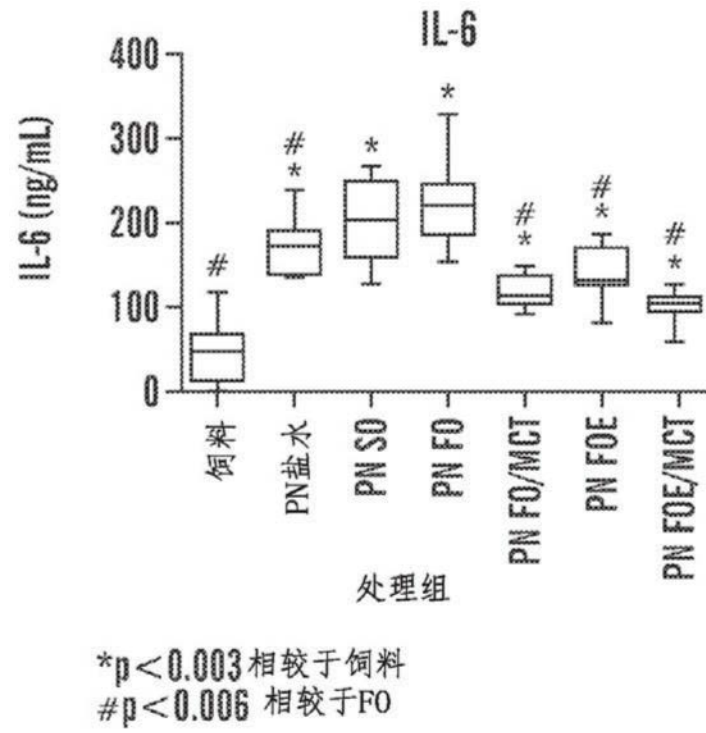


图10B

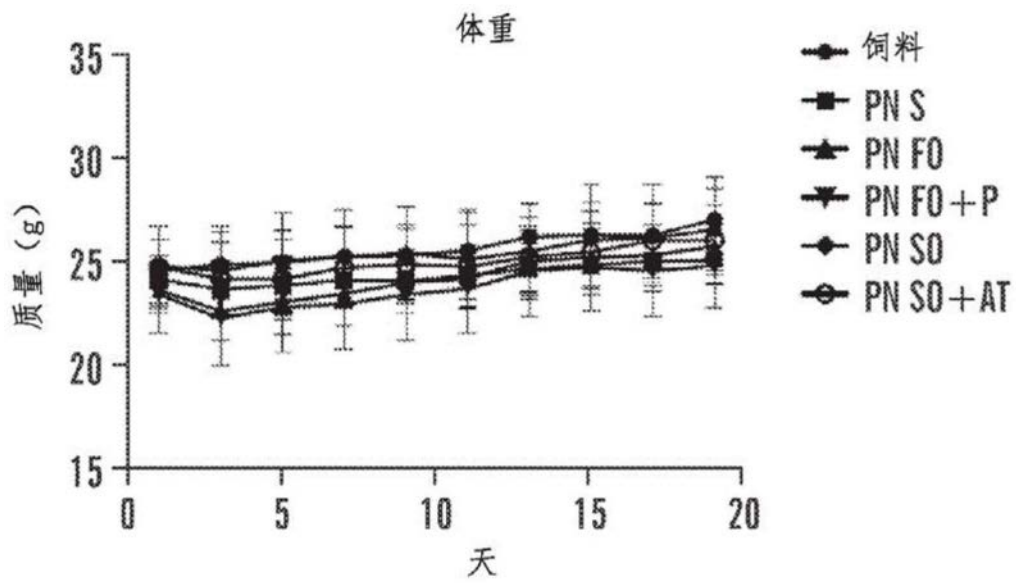


图11A



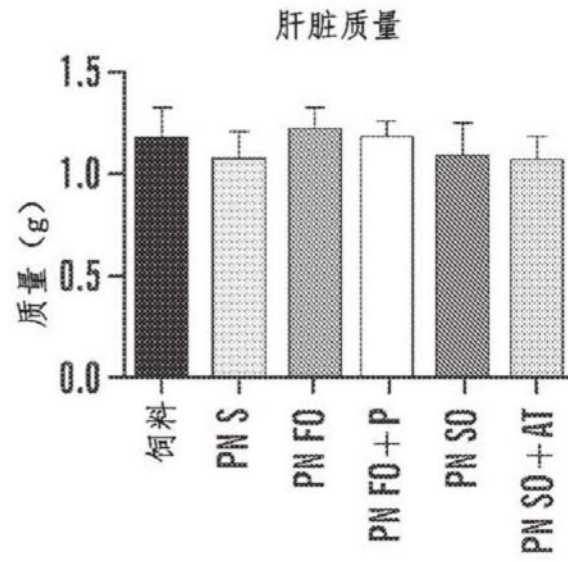


图11B

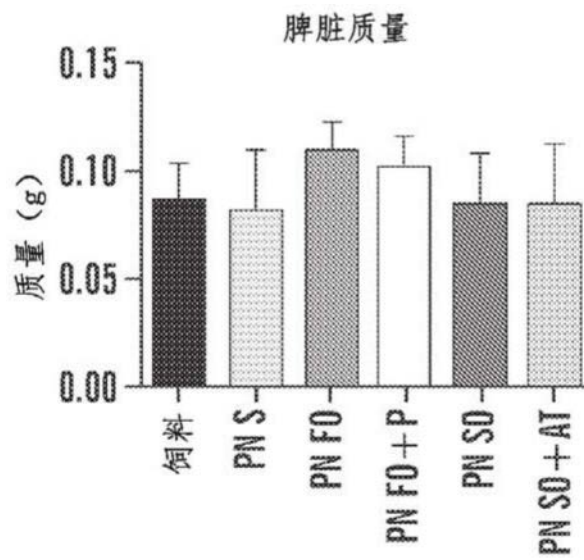


图11C

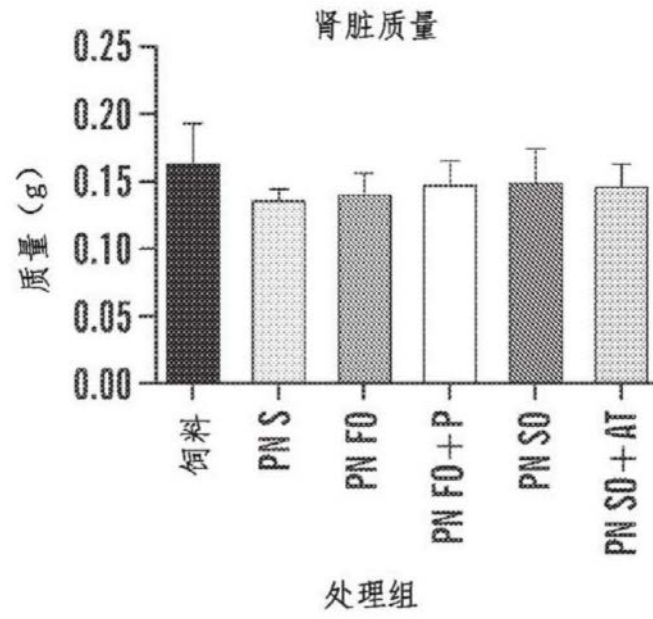


图11D

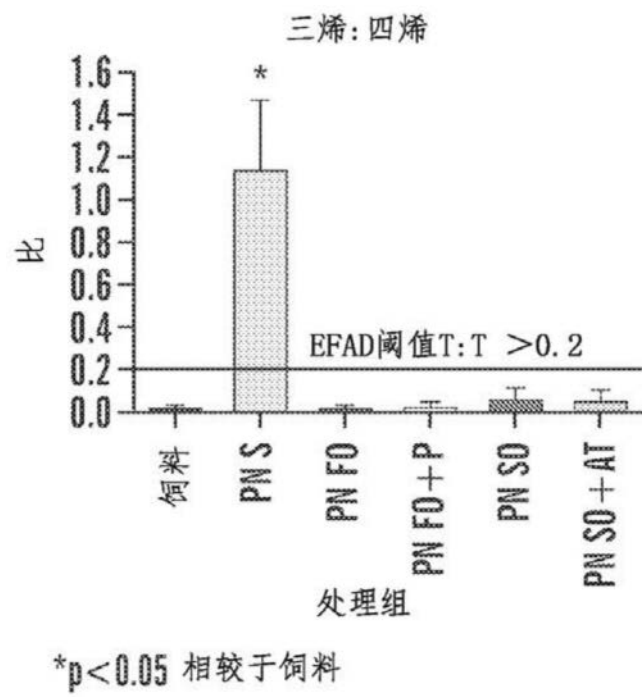


图12A

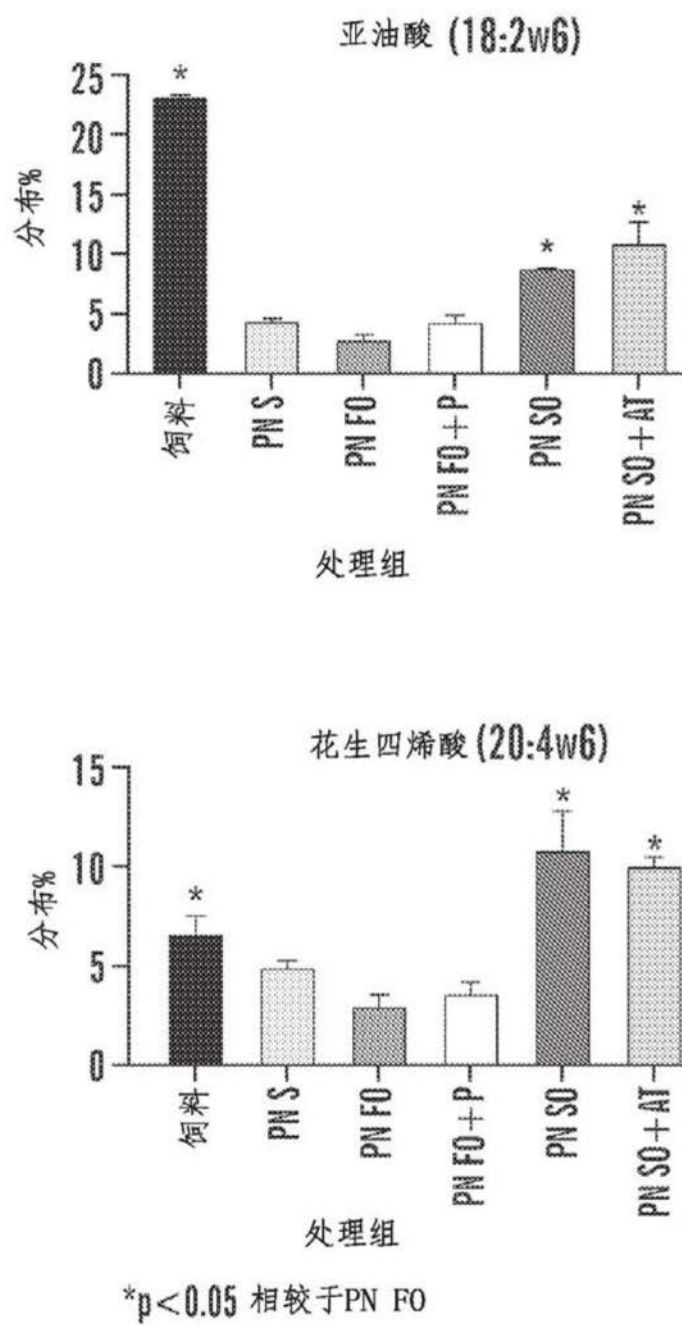


图12B

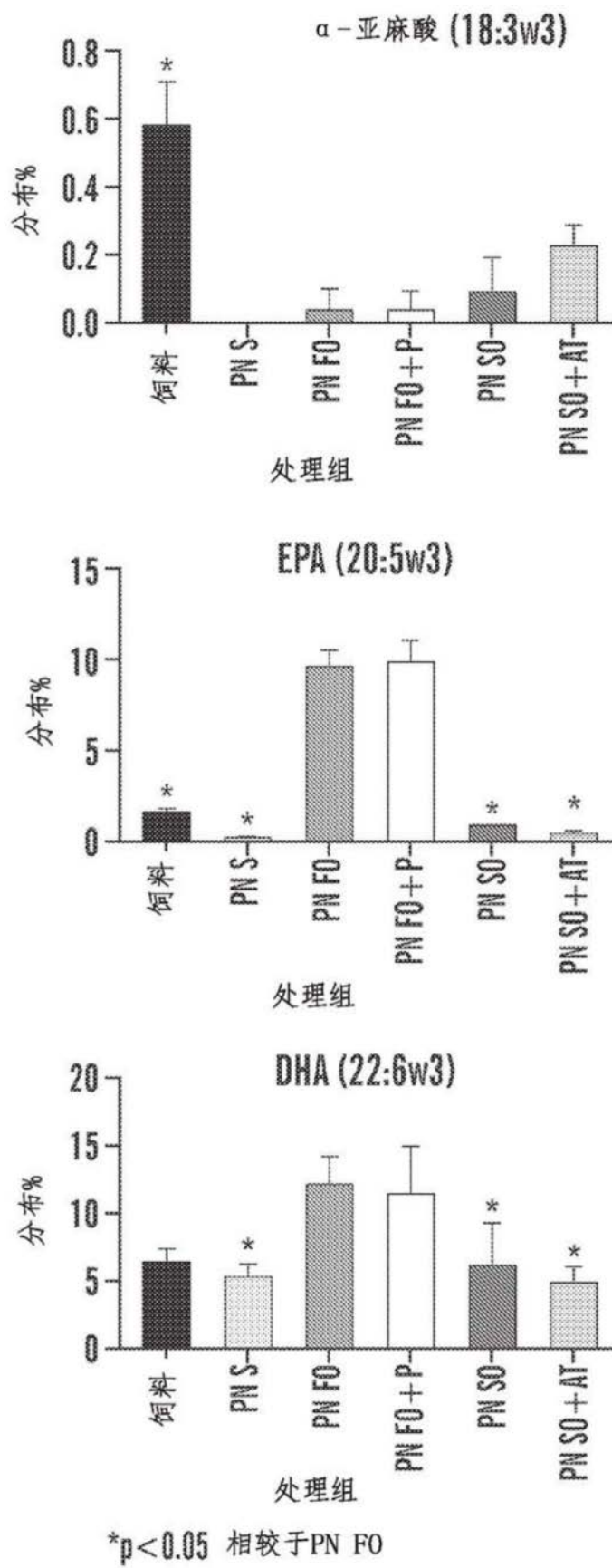


图12C

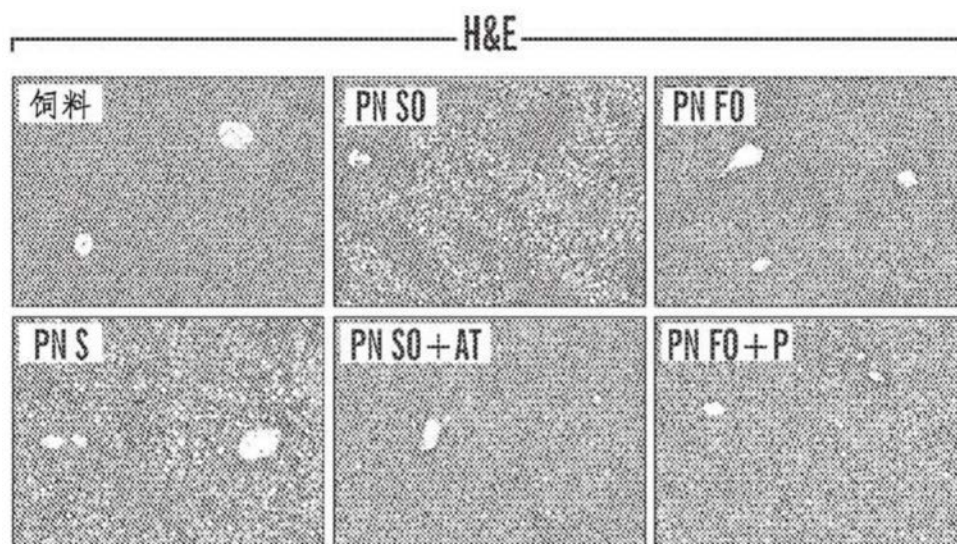


图13A

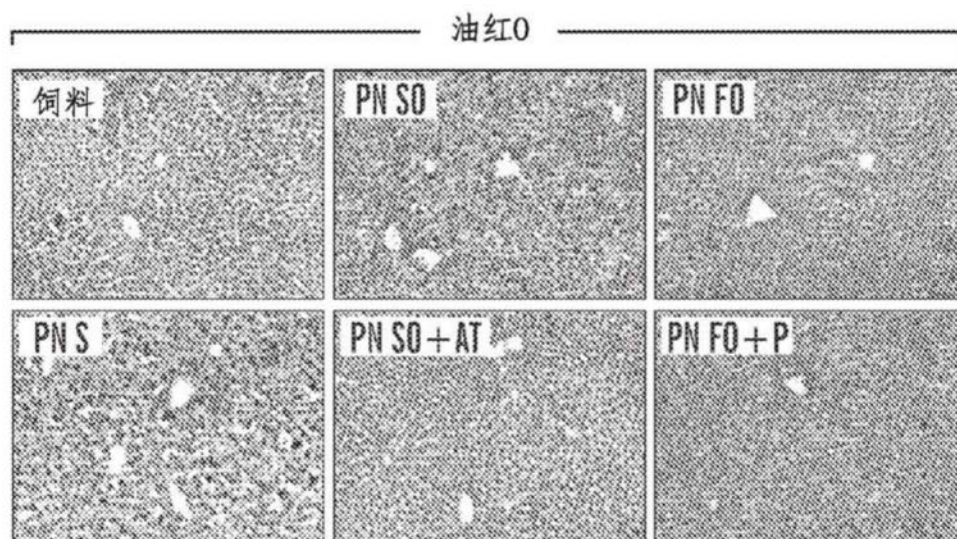


图13B



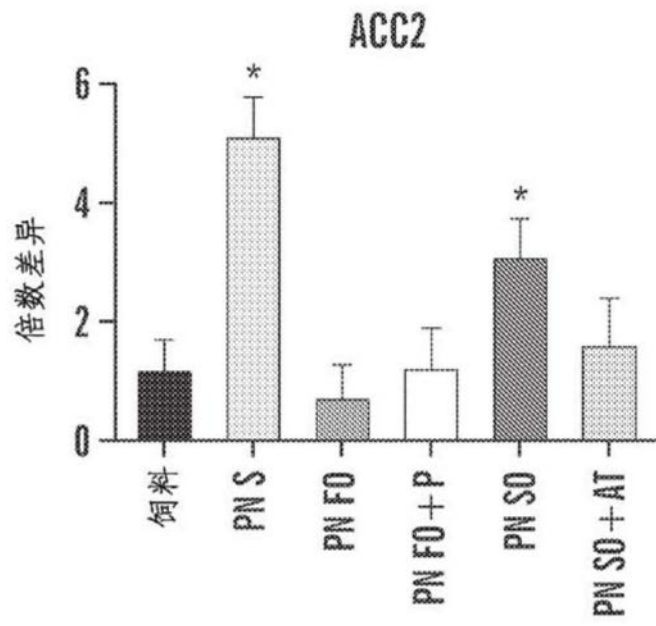


图14A

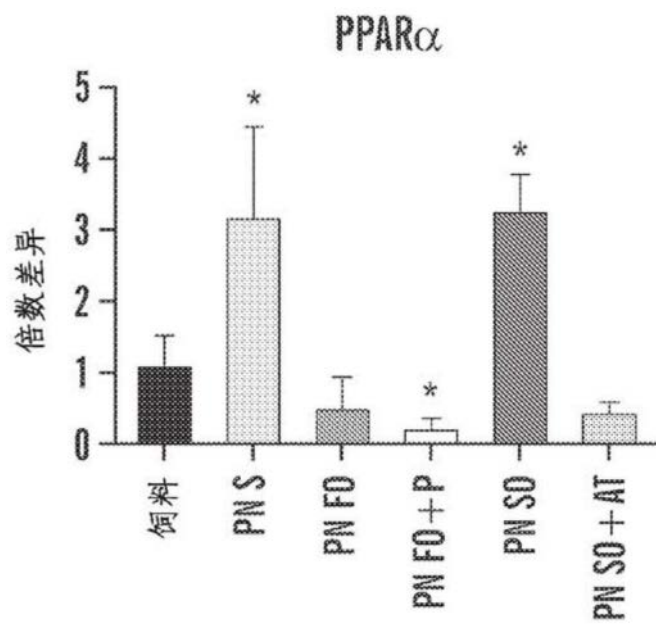


图14B

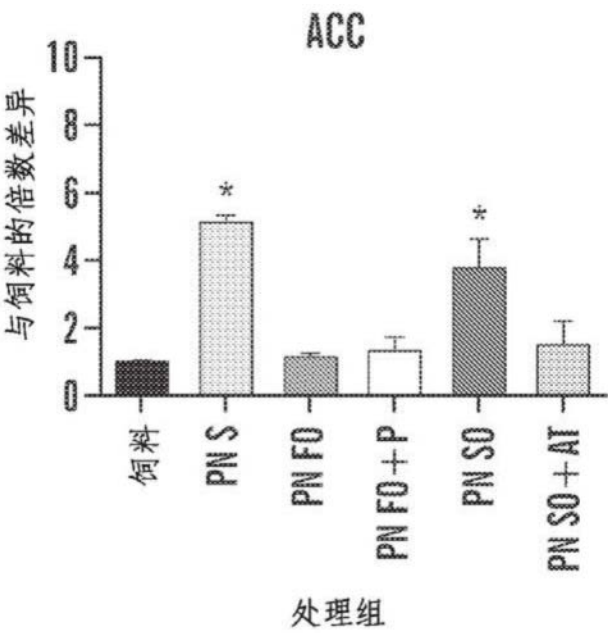


图15A

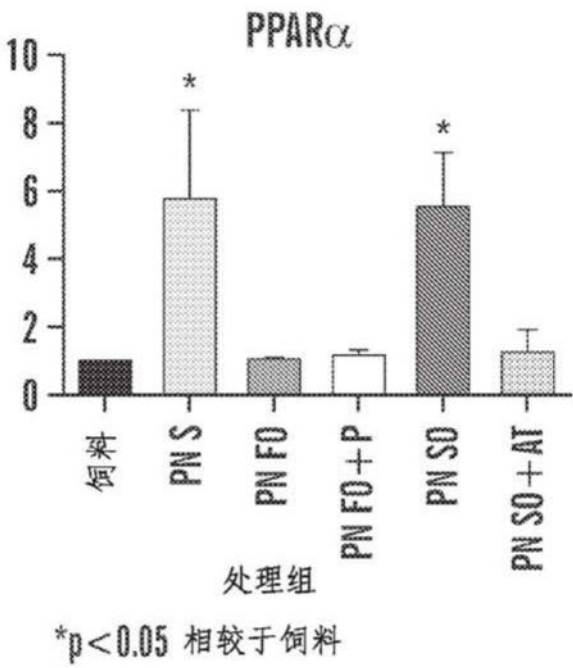


图15B

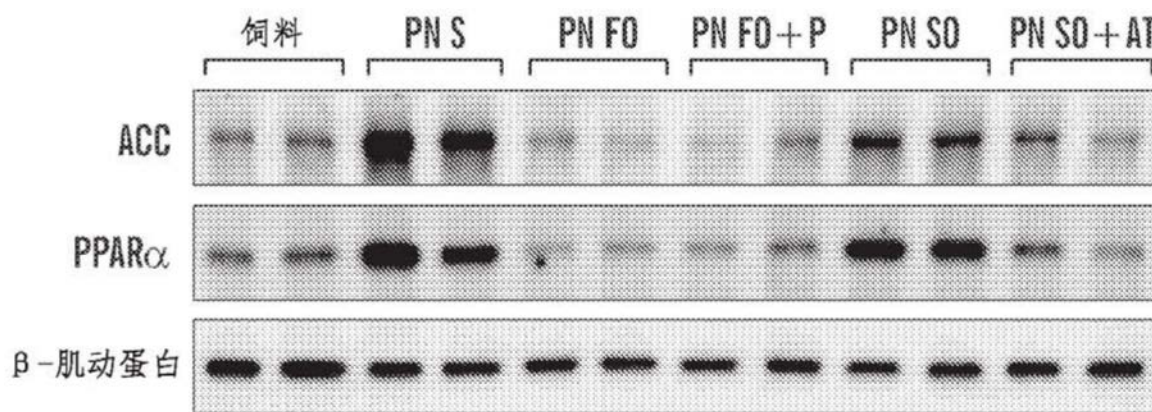


图15C

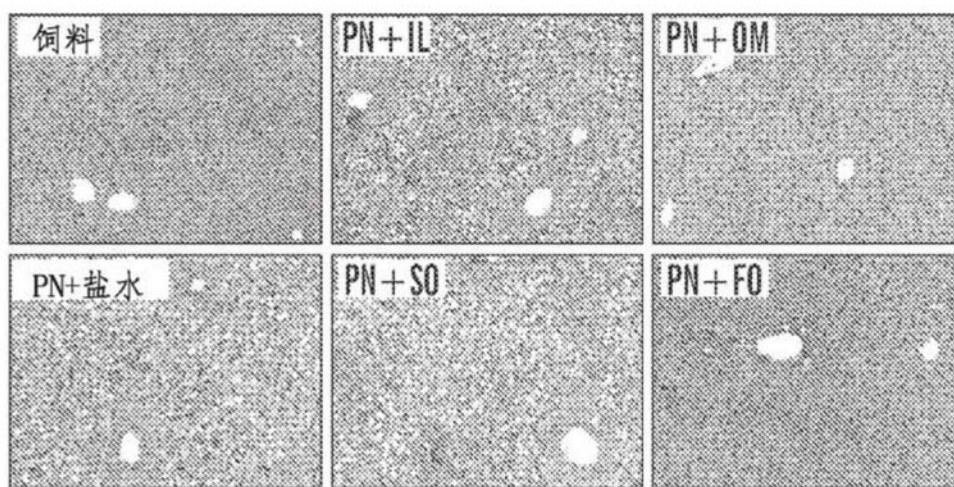


图16

乳剂中的植物甾醇和 $\alpha$ -生育酚水平

乳剂	植物甾醇 (mg/L)	$\alpha$ -生育酚 (mg/L)
OM	10	193
IL	570	12
FO	46	133
FO+P	424	129
SO	461	7
SO+AT	446	164

图17

乳剂USP&lt;729&gt;粒度分析

乳剂	平均小球尺寸 (nm)	PFAT5 (%)
FO	238.7	0.032
FO+P	242.3	0.015
SO	252.8	0.009
SO+AT	252.8	0.013

图18