



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108289879 A

(43)申请公布日 2018.07.17

(21)申请号 201680050456.6

(22)申请日 2016.08.26

(30)优先权数据

1515387.7 2015.08.28 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.02.28

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/070255 2016.08.26

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/036992 EN 2017.03.09

(71)申请人 阿马曾提斯公司

地址 瑞士洛桑

(72)发明人 P.安德鲁 C.林施

W.布兰科-博泽

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 张慧 罗文锋

(51)Int.Cl.

A61K 31/366(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

A61K 47/14(2006.01)

C07D 311/80(2006.01)

A61P 21/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书16页 附图2页

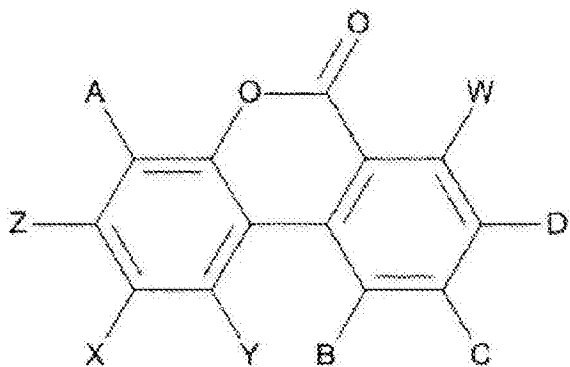
(54)发明名称

包含尿石素化合物的组合物

(57)摘要

本发明提供包含中链三酸甘油酯和尿石素(urolithin)的组合物。本发明还提供与所述组合物相关或使用所述组合物(如药剂、膳食增补剂、功能性食品或医疗食品)和用于治疗 and/或预防与肌肉相关的病理病况的用途和方法。

1. 一种组合物, 包含:
 - a) 中链三酸甘油酯; 和
 - b) 式 (I) 化合物或其盐:



(I)

其中:

- A、B、C和D各自独立地选自H和OH;
- W、X和Y各自独立地选自H和OH; 并且
- Z选自H和OH。
2. 根据权利要求1所述的组合物, 其中所述式 (I) 化合物为尿石素 (Urolithin) A。
3. 根据权利要求1或权利要求2所述的组合物, 其中所述式 (I) 化合物的 D_{50} 尺寸在0.5到50 μm 范围内并且 D_{90} 尺寸在5到100 μm 范围内。
4. 根据任一前述权利要求所述的组合物, 其中所述中链三酸甘油酯占所述组合物的20-99% w/w。
5. 根据权利要求4所述的组合物, 其中所述中链三酸甘油酯占所述组合物的20-60% w/w。
6. 根据权利要求4所述的组合物, 其中所述中链三酸甘油酯占所述组合物的30-80% w/w。
7. 根据权利要求1到6中任一项所述的组合物, 其中所述中链三酸甘油酯组分和所述尿石素之间的重量比在0.5:1到3:1范围内。
8. 根据权利要求1到7中任一项所述的组合物, 其中所述中链三酸甘油酯包含辛酸和/或癸酸。
9. 根据权利要求8所述的组合物, 其中所述中链三酸甘油酯衍生于选自椰子油、棕榈油和乳脂的来源。
10. 根据权利要求1到9中任一项所述的组合物, 进一步包含乳化剂。
11. 根据权利要求10所述的组合物, 其中所述乳化剂为磷脂酰胆碱的来源。
12. 根据权利要求11所述的组合物, 其中所述磷脂酰胆碱的来源为卵磷脂。
13. 根据权利要求12所述的组合物, 其中所述卵磷脂占所述组合物的0.5-80% w/w。
14. 根据权利要求13所述的组合物, 其中所述卵磷脂占所述组合物的1-40% w/w。
15. 根据权利要求1到14中任一项所述的组合物, 进一步包含稳定剂。
16. 根据权利要求15所述的组合物, 其中所述稳定剂为单硬脂酸甘油酯。

17. 根据权利要求1到16中任一项所述的组合物,其中所述组合物呈固体(例如棒)、半固体(例如软凝胶、胶囊(例如硬胶囊)或糖衣药丸)或液体(包括乳液)形式。

18. 根据权利要求17所述的组合物,其中所述组合物呈软凝胶形式。

19. 根据权利要求1到18中任一项所述的组合物,其用作药剂、膳食补充剂、功能性食品或医疗食品。

20. 根据权利要求19所述的组合物,其用作药剂。

21. 根据权利要求20所述的组合物,其用作供治疗和/或预防与肌肉有关的病理病况用的药剂。

22. 一种治疗与肌肉有关的病理病况的方法,包含向需要所述治疗的受试者施用根据权利要求1到18中任一项所述的组合物。

23. 根据权利要求21所述的组合物或根据权利要求所述22的方法,其中所述与肌肉有关的病理病况选自肌肉骨骼疾病或病症;肌肉萎缩;肌病;神经肌肉疾病,如杜氏肌营养不良和其他营养不良;肌肉减少症,例如急性肌肉减少症;肌肉萎缩症和/或恶病体质。

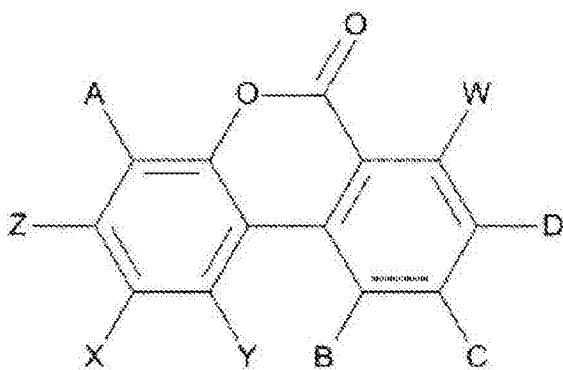
24. 根据权利要求23所述的组合物,或根据权利要求23所述的方法,其中所述与肌肉有关的病理病况为肌肉减少症,例如急性肌肉减少症。

25. 一种提高肌肉性能的方法,包含向受试者施用有效量的根据权利要求1到18中任一项所述的组合物。

26. 根据权利要求25所述的提高肌肉性能的方法,其中所述受试者患有与年龄有关的肌肉功能衰退、与年龄有关的肌肉减少症、与年龄有关的肌肉萎缩、身体疲劳、肌肉疲劳和/或衰弱或衰弱前期(pre-frail)。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述受试者为衰弱的或衰弱前期的。

28. 一种式(I)化合物或其盐:



(I)

其中:

A、B、C和D各自独立地选自H和OH;

W、X和Y各自独立地选自H和OH;并且

Z选自H和OH,

并且其中所述化合物或盐的D₅₀尺寸在0.5到50μm范围内并且D₉₀尺寸在5到100μm范围内。

29. 根据权利要求27所述的化合物或盐,其中所述化合物的D₉₀尺寸在8.2到16.0μm范围

内, D_{50} 尺寸在2.8到5.5 μm 范围内, 并且 D_{10} 尺寸在0.5到1.0 μm 范围内。

包含尿石素化合物的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及尿石素和中链三酸甘油酯的营养和药物制剂。

背景技术

[0002] 尿石素对改善多种健康状况具有强效作用,并且已展示其在体外和体内具有很高的生物活性。已提出将尿石素作为多种病况的治疗,包括与线粒体活性不足有关的病况(包括肥胖、记忆衰退、代谢速率降低、代谢综合症、糖尿病、心血管疾病、高脂质血症、神经退行性疾病、认知病症、情绪障碍、紧张、焦虑症、脂肪肝病(例如NAFLD或NASH)和用于改善肝脏功能以及体重管理。具体地说,已展示尿石素具有改善肌肉功能的有益作用。

[0003] 低肌肉量或不良肌肉性能是很多疾病和病况的特征。肌肉相关的病理病况包括肌病(myopathy)、神经肌肉疾病(neuromuscular disease),如杜兴氏肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy)、急性肌肉减少症(sarcopenia),例如肌肉萎缩症和/或恶病质(cachexia),其例如与烧伤、卧床休息、四肢固定或胸部、腹部、颈部和/或矫形外科大手术相关。与年龄有关的肌肉损失为尤其普遍的病况。因长期不动或其它疾病(例如癌症)所致的恶病质为通常通过不良肌肉性能表征的其它病况。

[0004] 良好的肌肉性能对于健康个体以及那些患有疾病的个体(尤其是老年人)在所有生命阶段的有效生活都是重要的。此外,运动员尤其关注提高的肌肉性能。举例来说,肌肉收缩强度的增加、肌肉收缩幅度的增加或使刺激与收缩之间的肌肉反应时间缩短对个体、尤其运动员是非常有益的。

[0005] 在严重的肌肉萎缩症情况下,向患者施用如美雄酮(methandrostenolone)的同化类固醇以辅助治愈过程。此类药物可具有多种副作用,因此避免长期使用它们是优选的。

[0006] 尿石素化合物具有使得其可用于治疗和预防不同病况(包括可用于改善肌肉功能)的性质。然而,以于盐水中的简单悬浮液形式的尿石素显示不利的药物动力学特征曲线,其在初次峰值之后某一时间具有延迟的血液含量第二次升高,使得此类悬浮液难以用于施用。

[0007] 经口施用化合物在血液中的多次达到峰值(随时间具有浓度的两个或多于两个峰值)可由于多种因素,包括:(i)调配物,诸如赋形剂的选择;(ii)胃肠道自身的生理,包括pH和胆汁成分,其由激素和膳食因素调节;(iii)胃肠道局部区域中的生物化学差异,其可能引起吸收窗的形成并且因此多次达到峰值;以及(iv)肠肝再循环。当经口施用生物活性化合物时,优选的是化合物的血浆浓度呈现单一峰值而非具有多个峰值概况。与在血液中引起多个峰值的调配物,相比较口服给药后允许活性化合物的单一峰值的调配物便于最佳化待施用的剂量以及施用频率。因此,产生单一峰值的调配物为所期望的并且便于建立治疗性剂量窗,化合物在所述剂量窗内可发挥其在哺乳动物中的健康益处。

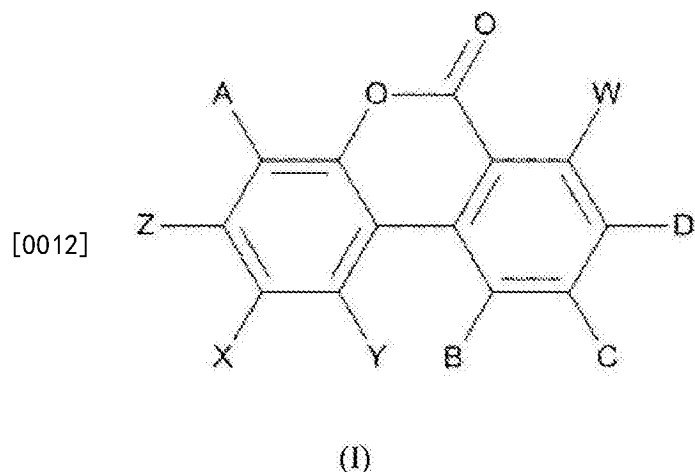
[0008] 除简单盐水悬浮液的不合需要的药物代谢动力学性质以外,在多种环境中化合物具有有限的生物可用性的缺点。由此需要具有可接受的药物动力学特征曲线及改进的生物可用性的尿石素调配物。

发明内容

[0009] 本发明提供一种组合物,所述组合物包含:

[0010] a) 中链三酸甘油酯;及

[0011] b) 式(I) 化合物或其盐:



[0013] 其中:

[0014] A、B、C和D各自独立地选自H和OH;

[0015] W、X和Y各自独立地选自H和OH;并且

[0016] Z选自H和OH。

[0017] 式(I) 化合物为尿石素家族的成员;具体地说,式(I) 化合物可为尿石素A。出人意料地发现与自身在简单盐水悬浮液中的尿石素A相比,在中链三酸甘油酯和尿石素A 的组合物中的尿石素A具有改进的生物可用性及药物动力学特征曲线。本发明的组合物由此可用于改善总体健康,并且可用于管理健康个体的总体健康以及治疗和预防不同的疾病和病况,尤其特征在于线粒体活性不足的病况。具体地说,组合物可用于治疗和管理将得益于改进的肌肉功能的健康个体,包括身体性能减弱、耐力减弱、和肌肉功能减弱的个体。组合物也可用于治疗、预防或管理特征在于低肌肉量或不良肌肉性能的疾病和病况,并且用于提高肌肉生长和/或肌肉性能。其还可用于维持肌肉功能。

[0018] 本发明进一步提供本发明组合物,其用于治疗多种病况(包括与线粒体活性不足有关的病况,包括肥胖、代谢速率降低、代谢综合症、糖尿病、心血管疾病、高脂质血症、记忆衰退、神经退行性疾病、认知病症、情绪障碍、紧张和焦虑症、脂肪肝疾病(例如 NAFLD或NASH))和用于改善肝脏功能和体重管理。具体地说,本发明提供用于治疗与肌肉有关的病理病况的组合物。本发明还提供一种治疗受试者的与肌肉有关的病理病况的方法,所述方法包含向受试者施用有效量的本发明组合物。本发明提供用于提高肌肉性能的本发明组合物。本发明还提供一种通过向受试者施用有效量的本发明组合物来提高肌肉性能的方法。

[0019] 本发明进一步提供D₅₀尺寸在0.5到50μm范围内并且D₉₀尺寸在5到100μm范围内的式(I) 化合物或其盐。优选地,化合物或盐的D₉₀尺寸在8.2到16.0μm范围内, D₅₀尺寸在2.8到5.5μm范围内,并且D₁₀尺寸在0.5到1.0μm范围内。已发现,具有那些粒径的本发明的化合物具有良好的分散和溶解特性以及提高的生物可用性。

附图说明

[0020] 图1展示实验结果,在所述实验中用包含尿石素A和盐水或多种其他组分(如中链三酸甘油酯)的调配物喂养大鼠,并且评估血液中尿石素A的含量。

[0021] 图2展示实验结果,在所述实验中用包含尿石素A和中链三酸甘油酯的调配物喂养大鼠和人类,并且评估血液中尿石素A的含量。

[0022] 图3展示实验结果,在所述实验中用处于多种不同粒径的包含尿石素A的调配物喂养大鼠,并且评估血液中尿石素A的含量。

具体实施方式

[0023] 如上文所述,本发明提供包含中链三酸甘油酯和尿石素的组合物。

[0024] 中链三酸甘油酯典型地占本发明组合物的至少1%w/w,例如至少5%w/w,例如至少10%w/w,例如至少15%w/w。中链三酸甘油酯优选地占组合物的20%w/w或多于20%w/w,例如按重量计25%w/w或多于25%w/w,例如按组合物的重量计30%w/w或多于30%w/w。举例来说,中链三酸甘油酯可占组合物的1-40%w/w、组合物的2-40%w/w、组合物的5-40%w/w;组合物的10-40%w/w、组合物的1-99%w/w、组合物的5-99%w/w、组合物的10-99%w/w、组合物的20-99%w/w、组合物的5-90%w/w、组合物的10-90%w/w,例如组合物的20-90%w/w;组合物的20-80%,例如组合物30-80%w/w、例如组合物该30-70%w/w、例如组合物的30-60%w/w、例如组合物的30-50%w/w、例如组合物的30-40%w/w、例如组合物的30-35%w/w。举例来说,中链三酸甘油酯可占组合物的40-70%w/w,例如组合物的50-70%w/w,例如组合物的55-65%w/w。

[0025] 中链三酸甘油酯组分对尿石素的重量比通常在0.01:1到100:1范围内,例如0.5:1到100:1、例如0.5:1到50:1、例如0.5:1到5:1;或例如1:1到75:1,例如1:1到50:1、例如1:1到20:1、例如1:1到10:1、例如1:1到2.5:1、例如1:1到2:1、例如1:1到1.5:1。中链三酸甘油酯组分对尿石素的重量比可在0.01:1到10:1的比率中,例如0.1:1到10:1或0.01:1到5:1,例如0.01:1到0.1:1。本发明组合物通常具有粘性液体或糊状物的稠度,并且其可作为单一辅助补充剂提供到受试者的一般饮食中(例如以棒、凝胶或软凝胶胶囊、硬胶囊或在饮料中稀释的形式);或者其可作为每餐的一部分或全部来提供。

[0026] 尿石素典型地占本发明组合物的0.1到80%w/w,例如0.1到60%w/w、例如0.25到50%w/w。举例来说,尿石素可占组合物的0.5-50%w/w。如果组合物作为一餐的一部分或全部来提供,那么尿石素可占例如组合物的0.25-5%w/w、例如组合物的0.3-3%w/w。如果本发明组合物作为单一辅助补充剂提供到受试者的一般饮食中,那么尿石素典型地占组合物的20到80%w/w,例如20到40%w/w、例如本发明组合物的25到35%w/w。举例来说,尿石素可占组合物的26-34%w/w,例如组合物的28-33%w/w;例如,组合物的29-32%w/w,例如组合物的29-31%w/w。

[0027] 中链三酸甘油酯:

[0028] 中链三酸甘油酯为式 $\text{CH}_2(\text{OR}^1)-\text{CH}(\text{OR}^2)-\text{CH}_2(\text{OR}^3)$ 的化合物,其中 R^1 、 R^2 和 R^3 为通常式 $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 的中链脂肪酸基团,其中n在4到10范围内,例如6到8。中链脂肪酸为具有6-12个碳原子的脂族尾部的脂肪酸。脂族尾部主要是饱和的。特定中链脂肪酸包括己酸

(caproic acid) (己酸(hexanoic acid), C6:0)、辛酸(caprylic acid) (辛酸(octanoic acid), C8:0)、癸酸(capric acid) (癸酸(decanoic acid), C10:0) 和月桂酸(十二烷酸, C12:0)。肉豆蔻酸(十四烷酸, C14:0) 也可以较小量存在。最常使用的中链三酸甘油酯通常具有辛酸和癸酸的三酸甘油酯混合物, 并且含有95%或高于95%的饱和脂肪酸。本发明组合物中的中链三酸甘油酯组分可由均匀、单一中链三酸甘油酯化合物类型构成; 更通常地, 本发明组合物中的中链三酸甘油酯组分为两种或多于两种不同中链三酸甘油酯化合物的混合物。

[0029] 欧洲药典将中链三酸甘油酯描述为从椰子(*Cocos nucifera* L./coconut) 胚乳的硬质、干燥组分或从油棕(*Elaeis guineensis* Jacq.) (非洲油棕) 的干燥胚乳提取的不挥发性油。欧洲药典和USPNF都具有对于中链三酸甘油酯的说明, 需要如下特定脂肪酸的存在: 己酸(C6) $\leq 2.0\%$; 辛酸(C8) 50.0–80.0%; 癸酸(C10) 20.0–50.0%; 月桂酸(C12) $\leq 3.0\%$; 和肉豆蔻酸(C14) $\leq 1\%$ 。

[0030] 具体地说, 用于本发明组合物的中链三酸甘油酯包含三酸甘油酯的混合物, 所述三酸甘油酯具有按以下比例存在的脂肪酸链: C6 $\leq 5\%$; C8 50–70%; C10 30–50%; 和 C12 $\leq 12\%$, 例如 C6 $\leq 0.5\%$; C8 55–65%; C10 35–45%; 和 C12 $\leq 1.5\%$ 。

[0031] 用于本发明组合物的中链三酸甘油酯可衍生自任何已知或其它合适的来源。中链三酸甘油酯可从天然来源提取, 或在适当条件下由甘油和合适的脂肪酸合成。用于萃取中链三酸甘油酯(或可用于合成中链三酸甘油酯的中链脂肪酸) 的商业来源非限制性实例包括椰子油和棕榈油, 以及乳脂(尤其黄油)。可使用中链三酸甘油酯的来源或类型的组合。

[0032] 用于本发明组合物的中链三酸甘油酯可作为液态或固态制剂以及作为与糖、维生素、必需脂肪酸和矿物质的简单或复合物组合而商业地获得。中链三酸甘油酯也可呈油或人造奶油形式获得。

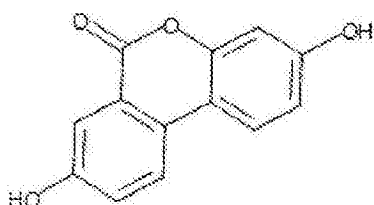
[0033] 尿石素:

[0034] 尿石素为通过哺乳动物(包括人类)、肠道微生物群对鞣花单宁(ellagitannin) 和鞣花酸(ellagic acid) 的作用产生的代谢物。鞣花单宁和鞣花酸为通常发现于食品(如石榴、坚果和浆果) 中的化合物。鞣花单宁在肠道自身中最低限度地被吸收。尿石素为具有上文所示的代表性结构(I) 的一类化合物。一些特别常见的尿石素的结构描述于下表 1 中, 参见结构(I)。

		结构 (I) 的取代基					
		A	B	C	D	W、X 和 Y	Z
[0035]	尿石素 A	H	H	H	OH	H	OH
	尿石素 B	H	H	H	H	H	OH
	尿石素 C	H	H	OH	OH	H	OH
	尿石素 D	OH	H	OH	OH	H	OH
	尿石素 E	OH	OH	H	OH	H	OH
	异尿石素 A	H	H	OH	H	H	OH
	异尿石素 B	H	H	OH	H	H	H
	尿石素 M-5	OH	OH	OH	OH	H	OH
[0036]	尿石素 M-6	H	OH	OH	OH	H	OH
	尿石素 M-7	H	OH	H	OH	H	OH

[0037] 在实践中,对于商业规模的产物,合成尿石素是方便的。合成途径描述例如于W02014/004902中。

[0038] 如结构(I)的任何结构的尿石素可用于本发明组合物。用于本发明组合物的尤其合适的化合物为天然存在的尿石素。因此,Z优选为OH并且W、X和Y优选都为H。当W、X和Y都为H,并且A和B都为H,并且C、D和Z都为OH时,那么化合物是尿石素C。当W、X和Y都为H,并且A、B和C都为H,并且D和Z都为OH时,那么化合物是尿石素A。优选地,用于本发明调配物的尿石素为尿石素A、尿石素B、尿石素C或尿石素D。最优选地,用于本发明调配物的尿石素为尿石素A。



[0039]

尿石素 A

[0040] 优选地,用于本发明组合物的尿石素被微粉化。微粉化使得尿石素能够更快速地分散或溶解。如果使用微粉化的尿石素,那么优选地尿石素的D₅₀尺寸低于100μm—也就是说,按质量计50%的尿石素的颗粒直径尺寸低于100μm。更优选地,尿石素的D₅₀尺寸低于75μm,例如低于50μm、例如低于25μm、例如低于20μm、例如低于10μm。更优选地,尿石素的D₅₀在0.5–50μm范围内,例如0.5到20μm、例如0.5到10μm、例如1.0到10μm、例如1.5到7.5μm、例如2.8到5.5μm。优选地,尿石素的D₉₀尺寸低于100μm。更优选地,尿石素的D₉₀尺寸低于75μm,例如低于50μm、例如低于25 μm、例如低于20μm、例如低于15μm。优选地尿石素的D₉₀在5到100μm范围内,例如5到50μm、例如5到20μm、例如7.5到15μm、例如8.2到16.0μm。优选地,尿石素的D₁₀在0.5–1.0μm范围内。优选地,尿石素的D₉₀在8.2到16.0μm范围内,D₅₀在2.8到5.5μm范围内,并且D₁₀在0.5到1.0μm范围内。微粉化可通过本领域中已获确认的方法来实现,例如可使用压缩力碾磨、锤磨(hammermilling)、万向或针式碾磨(universal or pin milling)、或喷射研磨(jet milling)(例如螺旋喷射研磨或流化床喷射研磨)。喷射研磨为尤其合适的。

[0041] 磷脂酰胆碱

[0042] 本发明组合物可有利地包含一种或多种磷脂。用于本发明组合物的尤其优选的磷脂为磷脂酰胆碱。由磷脂酰胆碱引起的优势可至少部分地由于其两亲性的性质。

[0043] 用于本发明的尤其适用的磷脂来源(尤其磷脂酰胆碱)为卵磷脂,并且本发明组合物有利地包含卵磷脂。卵磷脂,当存在于本发明组合物中时,典型地占本发明组合物的至少0.5%w/w,优选地至少本发明组合物的1%w/w。卵磷脂优选地占组合物的10%w/w或多于10%w/w,例如按重量计20%w/w或多于20%w/w,例如按组合物的重量计30% w/w或多于30%w/w。举例来说,卵磷脂可占组合物的0.5–80%w/w,例如1–80%w/w、例如20–80%w/w、例如40–80%w/w,或者例如组合物的0.5–75%w/w,例如组合物的1– 40%w/w、例如组合物的30–40%w/w、例如组合物的30–35%w/w、例如组合物的30– 75%w/w。或者,卵磷脂可占组合物的0.5–5%w/w,例如组合物的1–5%w/w、例如组合物的1–3%w/w、例如组合物的0.5–2%w/w、例如组合物的1–2%w/w。卵磷脂(当存在时)与尿石素之间的重量比通常在0.02:1到3:1范围内,例如0.03:1到1.2:1、例如1:1 到1.2:1、例如1.1:1到1.2:1。

[0044] ‘卵磷脂’标示以动物和植物组织形式存在的脂肪物质的任何基团,包括磷酸、胆碱、脂肪酸、甘油、糖脂、三酸甘油酯和磷脂(例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰环己六醇)。具体地说,获自大豆和葵花的商业卵磷脂包含磷脂:磷脂酰胆碱、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺和磷脂酸。卵磷脂可通过由其来源在如己烷、乙醇、丙酮、石油醚或苯的非极性溶剂中化学萃取或通过机械萃取来获得。具体地说,卵磷脂可萃取由包括大豆、蛋、奶、油菜籽、棉籽和葵花的来源来获得。可容易地购买用于可食性调配物的商业卵磷脂。

[0045] 可用于本发明调配物的商业生产的卵磷脂典型地含有以下主要成分:33-35%大豆油、20-21%肌醇磷脂、19-21%磷脂酰胆碱、8-20%磷脂酰乙醇胺、5-11%其他磷脂、5%游离碳水化合物、2-5%固醇和1%水分。

[0046] 可用于本发明调配物的商业生产的卵磷脂可富含磷脂酰胆碱,在所述卵磷脂中具有最低5%w/w的磷脂酰胆碱,例如在卵磷脂中具有最低10%w/w磷脂酰胆碱、例如在卵磷脂中具有最低15%w/w磷脂酰胆碱、例如在卵磷脂中具有最低20%w/w磷脂酰胆碱、例如在卵磷脂中具有最低25%w/w磷脂酰胆碱、例如在卵磷脂中具有最低30%w/w磷脂酰胆碱、例如在卵磷脂中具有最低32%w/w磷脂酰胆碱、例如在卵磷脂中具有最低40%w/w磷脂酰胆碱。

[0047] 卵磷脂还可由一个或多个以下方法改性以调整其性质:特定磷脂的醇萃取以产生具有不同磷脂的改性比率的卵磷脂;丙酮萃取以移除油,得到粉末状或颗粒状的磷脂共混物;于作为载体的蛋白质上喷雾干燥;与合成乳化剂(如难熔单甘油酯和二甘油酯)喷雾冷却以产生片状或粉末状产物;通过酶作用(磷脂酶,通常特定来说磷脂酶A2)来改性,具体地说部分水解以产生具有显著乳化特性的卵磷脂;通过酸和碱来水解脂肪酸基团;乙酰化;以及脂肪酸链和氨基的羟基化。

[0048] 组合物形式:

[0049] 本发明组合物可采取任何合适的物理形式。其可呈固体(例如棒)、半固体(例如软凝胶、胶囊(例如硬胶囊)或糖衣药丸)或液体(包括乳液)形式。在许多情况下,本发明组合物呈粘性流体或糊状物形式。通过选择合适的中链三酸甘油酯和赋形剂,可将组合物的物理形式调整成所讨论的产品的要求。本发明组合物可为医药组合物。本发明组合物可为营养组合物。

[0050] 软凝胶组合物可以具有外壳的胶囊形式提供外壳可为常规类型,例如其可为软明胶类外壳。本发明组合物也可在硬胶囊类型的外壳内。

[0051] 棒可为任何合适的类型,并且其可含有通常用于制备点心棒的成分。

[0052] 半固体形式同样可含有本领域中常规的赋形剂。赋形剂可例如提供所需硬度、贮藏期限和味道以使得组合物具有可接受的味道、有吸引力的外形和良好的存储稳定性。半固体形式可呈糊状物形式。

[0053] 液体组合物可呈药物、膳食补充剂或饮料形式,其各用于口服摄取。液体调配物可为溶液、乳液、浆液或其它半液体。液体组合物中的赋形剂可例如提供贮藏期限、外观(visual appearance)、味道和口感以使得组合物具有可接受的味道、有吸引力的外形和良好的存储稳定性。在特定稀释程度下,饮料可能需要在受试者饮用其之前经振荡,从而保持活性成份的均匀悬浮。

[0054] 本发明组合物中的额外组分:

[0055] 根据本发明的组合物可含有除尿石素和中链三酸甘油酯以外的额外组分。额外组

分可为提供健康益处的化合物(例如选自维生素、矿物质、多不饱和脂肪酸)和其他化合物。

[0056] 在维生素中,可特别提到的是维生素A、维生素C、维生素D、维生素E、维生素 B12和维生素K2。如本文所用,“维生素D”是指维生素D的任何已知形式,并且特别包括维生素D2(麦角钙化醇(ergocalciferol))、维生素D3(胆钙化醇(cholecalciferol))、维生素D前体、代谢物和另一类似物以及其组合,以及维生素D的各种活性和非活性形式。举例来说,维生素D3可以其未羟基化的非活性形式作为胆钙化醇提供,或可以其羟基化的活性形式作为骨化三醇(calcitriol)提供。

[0057] 肌酸(creatine)已描述为在治疗肌肉病症中具有有益的影响。其可包括于本发明组合物中。 β -羟基- β -丁酸甲酯(HMB)已描述为在治疗肌肉病症中具有有益的影响。其可包括于本发明组合物中。

[0058] 多不饱和脂肪酸是在主链中含有超过一个双键的脂肪酸。这一类别包括多种重要化合物。如必需脂肪酸,例如, ω -3和 ω -6脂肪酸。长链多不饱和脂肪酸是合适的,并且优选为在分子中具有至少20个碳原子的那些。这类长链 ω -3脂肪酸包括顺-11,14,17-二十碳三烯酸(ETE) C20:3、顺-8,11,14,17-二十碳四烯酸(ETA) C20:4、顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸(EPA) C20:5、顺-7,10,13,16,19-二十二碳五烯酸(DPA,鲱鱼酸(Clupanodonic acid)) C22:5、顺-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸(DHA) C22:6、顺-9,12,15,18,21-二十四碳五烯酸C24:5;顺-6,9,12,15,18,21-二十四碳六烯酸(尼生酸(Nisinic acid)) C24:6。具有至少20个碳原子的长链 ω -6脂肪酸包括顺-11,14-二十碳二烯酸C20:2、顺-8,11,14-二十碳三烯酸(二高- γ -亚麻酸)(DGLA) C20:3、顺-5,8,11,14-二十碳四烯酸(花生四烯酸(Arachidonic acid))(AA) C20:4、顺-13,16-二十二碳二烯酸C22:2、顺-7,10,13,16-二十二碳四烯酸(肾上腺酸(Adrenic acid)) C22:4、顺-4,7,10,13,16-二十二碳五烯酸(二十二碳五烯酸(Osbond acid)) C22:5。根据本发明的组合物优选地含有EPA、DHA或其组合,例如呈每份10到1,000mg的量;例如呈每份25 到250mg的量。

[0059] 本发明的医药组合物可包括额外的医药学上活性化合物。

[0060] 在一些示例性实施例中,除中链三酸甘油酯和尿石素之外,本发明的组合物可包含一种或多种额外的大量营养素,通常为脂肪或碳水化合物,或脂肪和碳水化合物。

[0061] 用于本文所述组合物的合适的脂肪或其来源的非限制性实例包括椰子油;分馏椰子油;大豆油;玉米油;橄榄油;红花油;高油酸红花油;葵花油;高油酸葵花油;棕榈油和棕榈仁油;棕榈油精;菜籽油;海产品油;棉籽油;多不饱和脂肪酸,如二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳四烯酸(ARA)、二十碳五烯酸(EPA);以及其组合。

[0062] 用于本文所描述的组合物的合适的碳水化合物或其来源的非限制性实例可包括麦芽糊精(maltodextrin)、水解或变性淀粉或玉米淀粉、葡萄糖聚合物、玉米糖浆、玉米糖浆固体、来源于米的碳水化合物、葡萄糖、果糖、乳糖、高果糖玉米糖浆、木薯糊精、异麦芽酮糖(isomaltulose)、sucromalt、麦芽糖醇粉末、甘油、果寡糖(fructooligosaccharides)、大豆纤维、玉米纤维、瓜尔胶(guar gum)、魔芋粉、聚葡萄糖、蜂蜜、糖醇(例如麦芽糖醇(maltitol)、赤藻糖醇(erythritol)、山梨糖醇(sorbitol))以及其组合。麦芽糊精、蔗糖和果糖为尤其优选的。

[0063] 脂肪和碳水化合物和其它组分的总浓度或总量视既定用户的营养需求而变化。

[0064] 本发明组合物中的额外组分可为不向受试者提供健康益处的化合物,但替代地以

某一其它方式改进组合物,例如如上文所提到的其味道、纹理或贮藏期限。本发明组合物可因此进一步含有一种或多种选自以下的化合物:乳化剂、着色剂、防腐剂、胶、硬化剂、增稠剂、甜味剂和调味剂。

[0065] 合适的乳化剂、稳定剂、着色剂、防腐剂、胶、硬化剂和增稠剂为制造乳液和其它半液体的领域中所熟知。乳化剂可包括以下中的一种或多种:磷脂酰胆碱、卵磷脂、聚山梨醇酯(如聚山梨醇酯60或聚山梨醇酯80(吐温-60和吐温-80)),以及单硬脂酸甘油酯(GMS)。单硬脂酸甘油酯(Glycerol monostearate)亦称为单硬脂酸甘油酯(glyceryl monostearate)。还可使用金属螯合剂或钳合剂,如乙二胺四乙酸(EDTA)的钠钙盐。可包括于本发明调配物中的其他组分包括聚乙二醇、二氧化硅、植物起酥油以及蜂蜡。

[0066] 稳定剂可用于本发明的组合物。许多本发明组合物为不需要所添加稳定剂的稳定悬浮液。稳定悬浮液为不会随时间经历相分离的悬浮液。对于特定本发明组合物,稳定性可通过包括添加的稳定剂来改进。用于本发明组合物的合适的稳定剂包括单硬脂酸甘油酯(GMS)、二氧化硅和植物起酥油。例示性稳定剂为GMS并且优选的本发明组合物含有GMS。其性质也使GMS为磷脂的良好溶剂,如例如在卵磷脂中所发现的。GMS以两种多晶型物存在:a-型为可分散并且泡沫状的,适用作乳化剂或防腐剂。P-型适用于蜡基质。在50℃下加热时a-型转化为P-型。

[0067] GMS属于两种不同级别:40-55%单甘油酸酯,和90%单甘油酸酯。由欧洲药典定义的40-55%单甘油酸酯将GMS描述为单酰甘油(主要硬脂酸单甘油酯)与一定量的双甘油和三甘油的混合物。具体地说,40-55级含有40-55%单酰甘油、30-45%二酰甘油和5-15%三酰甘油。99%级含有不低于90%的单甘油酸酯商业GMS产品中的单甘油酸酯为可变比例的单硬脂酸甘油酯和单棕榈酸甘油酯的混合物。欧洲药典进一步根据混合物中硬脂酸酯的比例将单硬脂酸甘油酯40-55分成三个类型。类型1含有40.0-60.0%硬脂酸,并且棕榈酸和硬脂酸的总和<90%。类型2含有60.0-80.0%硬脂酸,并且棕榈酸和硬脂酸的总和<90%。类型3含有90.0-99.0%硬脂酸,并且棕榈酸和硬脂酸的总和<96%。任何形式的GMS可用于本发明组合物。

[0068] 调味剂在本发明的组合物中可为尤其有益的。在液体或半液体组合物中,可通过包括果酱或果泥来提供水果味道。典型的调味剂包括草莓、树莓、越桔、杏、石榴、桃、菠萝、柠檬、橙和苹果。一般而言,水果调味剂包括水果提取物、蜜饯(fruit preserve)或果泥,与任何甜味剂、淀粉、稳定剂、天然和/或人造调味剂、着色剂、防腐剂、水和柠檬酸或其它合适的酸的组合以控制pH。

[0069] 给药

[0070] 待服用的组合物的有效量将视受试者的施用方式、年龄、体重和一般健康状况而变化。如受试者的疾病状态、年龄和重量的因素可具重要性,并且可调整给药方案以提供最佳反应。

[0071] 尿石素(例如尿石素A)组分的每日摄入典型地在每日10mg到5g的范围内,例如每日20mg到2500mg、例如每日50mg到1500mg、例如每日100mg到1,500mg、例如每日150mg到1,500mg、例如每日200mg到1,500mg、例如每日250mg到1500 mg、例如每日50mg到1000mg、例如每日250mg到1000mg。在一个实施例中,以提供0.2mg/kg/天到大于约100mg/kg/天范围内的尿石素剂量的量服用组合物。举例来说,尿石素的剂量可为0.2到100、0.2到50、0.2到40、

0.2到25、0.2到10、0.2到7.5、0.2到5、0.25到100、0.25到25、0.25到25、0.25到10、0.25到7.5、0.25到5、0.5到50、0.5到40、0.5到30、0.5到25、0.5到20、0.5到15、0.5到10、0.5到7.5、0.5到5、0.75到50、0.75到25、0.75到20、0.75到15、0.75到10、0.75到7.5、0.75到5、1.0到50、1到40、1到25、1到20、1到15、1到10、1到7.5、1到5、2到50、2到25、2到20、2到15、2到10、2到7.5或2到5mg/kg/天。

[0072] 本发明的单位剂量组合物优选地含有10mg到5g尿石素，例如20mg到2500mg、例如50mg到1500mg、例如250mg到1500mg、例如50mg到1000mg、例如100mg到1000mg、例如250mg到1000mg。单位剂量可呈点心棒形式：25到150g（例如40到100g）重量的点心棒可含有必要量的尿石素。单位剂量组合物或者可呈饮料形式，例如提供于适合于单一剂量的体积（例如100到300ml）的容器（例如小袋）中。25ml到500ml（例如50ml到300ml）的饮料可含有必要量的尿石素。提供本发明组合物的饮料可以每ml 0.1到50mg、每ml 0.25到25mg，例如每ml 0.5到10mg、例如每ml 1到5mg的浓度含有尿石素。单位剂量可或者呈一种或多种半固体剂量形式，如软凝胶或糊状物。单一软凝胶胶囊可含有例如25mg、50mg、75mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg或500mg，例如250mg的尿石素剂量。

[0073] 本发明组合物的组分的比率范围为上文所描述的。本发明组合物可含有10mg到15g中链三酸甘油酯和10到5000mg尿石素；例如20到7500mg中链三酸甘油酯和20到2500mg尿石素；例如25mg到2,500mg中链三酸甘油酯和50到1500mg尿石素；例如50mg到4500mg中链三酸甘油酯和50到1500mg尿石素；例如250到4500mg中链三酸甘油酯和250到1500mg尿石素；例如50到3000mg中链三酸甘油酯和50到1000mg尿石素；例如250到3000mg中链三酸甘油酯和250到1000mg尿石素。组合物优选地另外含有卵磷脂。组合物还另外优选地含有额外稳定剂，例如单硬脂酸甘油酯。

[0074] 代表性组合物展示于表1中：

[0075] 表1：代表性调配物A：

[0076]

组成	每100g
中链三酸甘油酯	10-85g
尿石素A	10-50g
卵磷脂（包含最低32%w/w的磷脂酰胆碱含量）	10-50g
单硬脂酸甘油酯	0-5g

[0077] 本发明组合物含有尿石素和中链三酸甘油酯。本发明组合物可含有例如20-85%w/w 中链三酸甘油酯和15-70%w/w尿石素、例如40-80%w/w中链三酸甘油酯和20-60%w/w尿石素、例如50-70%w/w中链三酸甘油酯和30-50%w/w尿石素、例如60-75%w/w中链三酸甘油酯和25-40%w/w尿石素。

[0078] 优选的本发明组合物包含尿石素、中链三酸甘油酯和乳化剂（如磷脂酰胆碱，例如卵磷脂。）例如，本发明组合物可含有10-80%w/w中链三酸甘油酯、5-70%w/w尿石素和0.5-65%w/w卵磷脂；本发明组合物可含有20-70%w/w中链三酸甘油酯、15-70%w/w尿石素和0.5-50%w/w卵磷脂；例如25-50%w/w中链三酸甘油酯、20-50%w/w尿石素和20-50%w/w卵磷脂；例如30-40%w/w中链三酸甘油酯、25-35%w/w尿石素和30-40%w/w卵磷脂。或者，包含尿石素、中链三酸甘油酯和卵磷脂的本发明组合物可含有例如60-75%w/w中链三酸甘油

酯、25-40%w/w尿石素和0.5-5%w/w卵磷脂。

[0079] 其它优选的本发明组合物可包含尿石素、中链三酸甘油酯、乳化剂(如卵磷脂)和稳定剂(如GMS)。举例来说,本发明组合物可含有25-75%w/w中链三酸甘油酯、20-50%w/w尿石素、0.5-50%w/w卵磷脂和0.5-5%w/w GMS;例如30-40%w/w中链三酸甘油酯、25-35%w/w尿石素、30-40%w/w卵磷脂和0.5-3%w/w GMS。或者,包含尿石素、中链三酸甘油酯、卵磷脂和GMS的本发明组合物可含有例如60-75%w/w中链三酸甘油酯、25-40%w/w尿石素、0.5-5%w/w卵磷脂和0.5-3%w/w GMS。

[0080] 其它本发明组合物可包含尿石素、中链三酸甘油酯、乳化剂(如卵磷脂及/或吐温(聚山梨醇酯))和稳定剂(如GMS)。举例来说,本发明组合物可含有25-75%w/w中链三酸甘油酯、20-50%w/w尿石素、0.5-50%w/w卵磷脂、0.5-5%w/w GMS和1-10%w/w 吐温-60,例如60-75%w/w中链三酸甘油酯、25-40%w/w尿石素、0.5-5%w/w卵磷脂、0.5-3%w/w GMS和1-5%w/w吐温-60。

[0081] 治疗:

[0082] 本发明的组合物可用作单一治疗或更通常作为一系列治疗。在一个实例中,受试者在锻炼前或在锻炼后服用一剂量。对于不能够锻炼的受试者,可例如每天一次、两次或三次或每周一次、两次、三次、四次、五次或六次服用一剂量的组合物。在另一实例中,干预可由受试者独立于受试者对于运动的能力或需要来进行。还应了解,化合物的有效剂量在特定疗程内可增加或减少。

[0083] 药物和非药物治疗:

[0084] 本发明的组合物可用作药剂。组合物可用作膳食补充剂、用作功能性食品和用作医疗食品。本发明组合物因此可用于治疗不同的疾病以及未被认为是疾病的健康状况。具体地说,疾病和非疾病健康状况可为特征在于线粒体活性不足。组合物可用于治疗疾病和疾病状态。组合物可用于管理通过不良身体性能、耐力减弱和肌肉功能减弱表征的病况的健康个体的正常生理功能。本发明组合物可提高患有疾病的个体(包括年轻个体和年老个体)的身体性能。本发明组合物可提高身体性能,例如健康个体(包括运动员、非运动员个体、久坐的个体和老年人)的短期性能或长期性能。性能的这一提高可通过行走或跑一定距离所花费的时间(例如在6分钟行走试验(MWT)期间提高的性能)、跑一定距离的改进的时间、根据国际身体活动问卷的改进IPAQ得分、一定时间内的增加数目的坐下-站起(chair-stand)或经设计以测量身体性能的另一试验来测量。

[0085] 本发明组合物进一步提供耐力的提高。耐力是指在恒定工作量下(通常在<80%最大 VO_2 的强度下)锻炼时达到疲劳的时间。本发明组合物可提高患有疾病的个体(包括年轻个体和年老个体)的耐力。本发明组合物可提高健康个体(包括运动员、非运动员个体、久坐的个体和老年人)的耐力。本发明提供一种在进行特定活动(例如,健身训练、步行、跑步、游泳或骑车)时延长达到疲劳的时间的方法。耐力的这一提高可用客观测量值(例如速度、耗氧量或心率)评估,或其可为自我报告的测量值(例如,使用经验证的问卷)。

[0086] 本发明进一步提供组合物以改善、维持或减轻肌肉功能损失。本发明组合物可改善、维持或减轻患有疾病的个体(包括年轻个体和年老个体)的肌肉功能损失。本发明组合物可改善、维持或减轻健康个体(包括运动员、非运动员个体、久坐的个体和老年人)的肌肉功能损失。举例来说,本发明组合物可增加肌肉强度,如通过进行身体活动(如锻炼,例

如,举重能力增加或手握力强度增加)来证明。此外,本发明组合物可例如通过在正常肌肉功能、降低的肌肉功能或受损的肌肉功能的情况中提高或维持肌肉量来改善肌肉结构。

[0087] 本发明进一步提供组合物以改善如由个体所感知的身体性能或耐力。举例来说,通过在锻炼期间所感知的运动或努力减少或如使用自我报告问卷所判定的活动性。

[0088] 本发明进一步提供本发明组合物,用于治疗多种病况(包括与线粒体活性不足有关的病况,包括肥胖、代谢速率降低、代谢综合症、糖尿病、心血管疾病、高脂质血症、记忆衰退、神经退行性疾病、认知病症、情绪障碍、紧张和焦虑症、脂肪肝疾病(例如 NAFLD或 NASH))和用于改善肝脏功能和体重管理。具体地说,本发明组合物可用于治疗与肌肉有关的病理病况。因此,本发明提供用于治疗与肌肉有关的病理病况的本发明组合物。本发明还提供一种治疗受试者的与肌肉有关的病理病况的方法,所述方法包含向受试者施用有效量的本发明组合物。与肌肉有关的病理病况包括通常影响健康个体的病况以及病理病况。这类肌肉病况发现于健康的人或受包括以下的疾病影响的人中:肌肉骨骼疾病或病症;恶病质;肌肉萎缩;肌病;与年龄有关的肌肉功能衰退;衰弱前期;衰弱;肌病;神经肌肉疾病,如杜兴氏肌营养不良和其它营养不良;与年龄有关的肌肉减少症;急性肌肉减少症;肌肉萎缩和/或恶病质,例如与烧伤、卧床休息、四肢固定、或大手术(包括胸部、腹部和/或矫形外科)相关的肌肉萎缩症和/或恶病质;和肌肉退行性疾病。

[0089] 可用本发明的组合物治疗的与年龄有关的病况的实例包括肌肉减少症和肌肉萎缩。

[0090] 肌病还可由肌肉萎缩综合症(如杜兴氏)所引起,已报告于W02014/111580中尿石素B(而非尿石素A)在体外增加肌管的平均直径。对于尿石素A未发现作用。

[0091] 非药物治疗:

[0092] 本发明组合物可用于提高肌肉性能。本发明因此提供本发明组合物以用于提高肌肉性能。本发明还提供一种通过向受试者施用有效量的本发明组合物来提高肌肉性能的方法。施用可为自我施用。增强的肌肉性能可为一种或多种改善的肌肉功能、提高的肌肉强度、改善的肌肉耐力和改善的肌肉恢复。

[0093] 本发明组合物可因此用于改善身体耐力的方法(例如进行如运动、体力劳动、体育活动的物理任务的能力)、抑制或延迟身体疲劳、增强工作能力和耐力、减轻肌肉疲劳、增强心脏和心血管功能。

[0094] 改善的肌肉功能在因与年龄有关的病况所致的肌肉功能减弱的年老受试者中可为尤其有益的。举例来说,可得益于改善的肌肉功能的受试者可经历肌肉功能衰退,其随后导致衰弱前期和衰弱。这类受试者除其肌肉功能衰退之外不一定经历肌肉损耗。一些受试者的确经历肌肉萎缩和肌肉功能衰退,例如患有肌肉减少症的受试者。本发明组合物可通过向衰弱或衰弱前期的受试者施用本发明组合物以用于提高肌肉性能。

[0095] 肌肉性能可为体育性能,也就是,运动员肌肉在参与体育活动时表现的能力。增强的体育性能、强度、速度和耐力通过肌肉收缩强度的增加、肌肉收缩幅度的增加或缩短刺激和收缩之间的肌肉反应时间来测量。运动员是指以任何程度参与体育和在其进行时力图获得提高的程度的强度、速度或耐力的个人,例如,健美者、骑自行车的人、长距离跑步者和短距离跑步者。提高的体育性能通过克服肌肉疲劳的能力、维持较长时间段的活动性和具有更有效的锻炼的能力来体现。

[0096] 实例

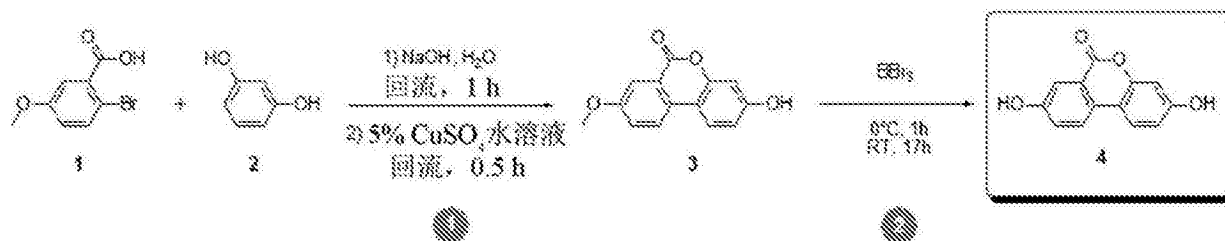
[0097] 以下实例说明本发明。

[0098] 化合物

[0099] 尿石素A制备如下：

[0100] 以2-溴基-5-甲氧基苯甲酸1和间苯二酚2为起始物在两个步骤中制备尿石素A (4)。获得呈淡黄色粉末状的纯化化合物。

[0101]



[0102] 步骤1：

[0103] 将2-溴基-5-甲氧基苯甲酸1 (27.6g; 119mmol; 1.0当量)、间苯二酚2 (26.3g; 239mmol; 2.0当量) 和氢氧化钠 (10.5g; 263mmol; 2.2当量) 于水 (120mL) 中的混合物在回流下加热1小时。然后添加5%硫酸铜水溶液 (于50mL水中的3.88g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 15.5mmol; 0.1当量) 并且使混合物再回流30分钟。使混合物冷却到室温并且在毕希纳过滤器 (Büchner filter) 上过滤固体。用冷水洗涤残留物, 得到浅红色固体, 将其在热MeOH中磨碎。使悬浮液在4°C下静置过夜。所得沉淀经过滤并且用冷 MeOH洗涤, 得到呈淡褐色固体状的标题化合物3。

[0104] 步骤2：

[0105] 在0°C下, 向3 (10.0g; 41mmol; 1.0当量) 于无水二氯甲烷 (100mL) 中的悬浮液中逐滴添加三溴化硼于无水二氯甲烷 (于110mL无水二氯甲烷中的11.93mL纯 BBr_3 ; 124mmol; 3.0当量) 中的1M溶液。在0°C下静置混合物1小时, 并且随后使其升温到室温。在所述温度下搅拌溶液17小时。随后向混合物中充分地添加冰。黄色沉淀经过滤并且用冷水洗涤, 得到黄色固体, 使所述黄色固体在乙酸中加热到回流, 持续3小时。迅速过滤热溶液并且相继用乙酸、乙醚洗涤沉淀, 得到呈黄色固体状的标题化合物4。 ^1H 和 ^{13}C NMR符合4的结构。

[0106] 实例1: 在存在或不存在中链三酸甘油酯的情况下调配的尿石素A的生物可用性研究。

[0107] 在禁食隔夜之后, 雄性Sprague-Dawley大鼠用无其它赋形剂的尿石素A的盐水悬浮液或具有不同赋形剂的尿石素A的其它调配物以对应于60mg/kg/天的剂量口服管饲施用。调配物中所用的尿石素经微粉化, 其中粒径分布为 $D_{90}=9\mu\text{m}$ 到 $15\mu\text{m}$ 并且 $D_{50}=2\mu\text{m}$ 到 $9\mu\text{m}$ 。实际粒径为 $D_{90}=11.5$, $D_{50}=3.9$ 并且 $D_{10}=0.7\mu\text{m}$ 。以调配物%w/w计所使用的组分展示于以下表2中。

[0108] 表2: 生物可用性研究中所用的调配物。

组分	调配物 65	调配物 66	调配物 67	调配物 68
尿石素 A	30.1	30.1	26.3	26.3
中链三酸甘油酯	64.3	34.2		
卵磷脂	1.1	34.2	72.9	70.3
单硬脂酸甘油酯	1.4	1.4	0.8	0.8
吐温-60	3.0			2.6

[0110] 中链三酸甘油酯以产品名CremerCOOR MCT 60/40EP自Cremer Oleo公司及Co KG获得,其含有C6≤0.5%;C8 55-65%;C10 35-45%;和C12≤1.5%。

[0111] 卵磷脂以产品名称Epikuron®135F IP自嘉吉公司(Cargill, Inc.)获得,其含有最低 32%磷脂酰胆碱。

[0112] 单硬脂酸甘油酯以产品名称IMWITOR®900 (F) P自Cremer Oleo公司及Co KG获得,其含有40.0-50.0%单酰甘油、30.0-45.0%二酰甘油和5.0-15.0%三酰甘油。

[0113] 通过颈静脉套管插入术在不同的时间点下自大鼠收集血液,并且定量血浆中的尿石素A以判定其在不同调配物中的药物动力学特征曲线。各调配物的研究对总计六只大鼠重复。图1展示所使用各调配物的所得药物动力学特征曲线。收集的资料概括在以下表 3 中。

[0114] 表3:生物可用性研究的结果

[0115]

参数	盐水	65	66	67	68
C _{最大值} (ng/ml)	3.417	3.177	7.670	2.130	1.606
相对 C _{最大值} (调配物 66 C _{最大值} %)	44.5%	41.3%	100%	27.7%	20.9%
T _{最大值} (h)	24	4	4	4	4
AUC	29.97	28.77	51.49	20.04	15.70

[0116]

相对生物可用性 (调配物 66 的%AUC)	58.20%	55.87%	100%	38.92%	30.49%
------------------------	--------	--------	------	--------	--------

[0117] 尿石素A在盐水中的悬浮液展示双峰值曲线,具有显著延迟的24h的T_{最大值}值,以及在4h处血液含量中的较小峰值。相比之下,包含赋形剂的各调配物65-68显示仅单一峰值,具有T_{最大值}为4h。65-68单一峰值药物动力学特征曲线比由盐水悬浮液调配物显示的双峰值对于经口施用远远更为有利,因为其便于最佳化施用的给药和频率。

[0118] 如表3和图1中所展示,当与中链三酸甘油酯调配(调配物65和66)时,尿石素 A也比不包含中链三酸甘油酯的调配物(调配物67和68)更为生物可用,如通过较高 C_{最大值}和AUC值所展示的。含有组合的中链三酸甘油酯和卵磷脂两者的调配物66具有显著更高的C_{最大值}和AUC,并且这一调配物的尿石素A比在仅含有卵磷脂而无中链三酸甘油酯(调配物67)的调配物中更为生物可用,添加吐温60到卵磷脂调配物不改善生物可用性(调配物68)。调配物65和68的主要差别为卵磷脂替代中链三酸甘油酯。使用中链三酸甘油酯导致C_{最大值}(ng/ml)由调配物68中的1.606升高到调配物65中的 3.177,或升高约98%。另外,调配物65展示和28.77的AUC,相较于AUC为15.7的调配物68,表明当使用中链三酸甘油酯替换卵磷脂时生物可用性升高83%。

[0119] 与未经调配的仅在盐水中的尿石素相比,根据本发明的调配物65和66因此显示更有利的药物动力学特征曲线,其包含在血液浓度中仅单一峰值以及提高的生物可用性,使得其可用于尿石素的口服施用。

[0120] 实例2:调配物66中的尿石素A在大鼠和人类两者中药物动力学特征曲线的比较

[0121] 将调配物66中的尿石素A在人类中的药物动力学特征曲线与在大鼠中观察到的那些相比较。当量剂量的尿石素A(如通过大鼠和人类之间的表面积比来确定)在人类中递送。利用调配物66以60mg/kg/d的剂量在大鼠中进行药物代谢动力学试验。人类当量剂量(遵循对基于表面比率的剂量转换的FDA指南)通过将这一剂量除以转换系数6.2来测定,得到对于人类的9.68mg/kg/d的人类当量剂量。假设成人的平均体重为60 到70kg,这将得到580和680mg之间的尿石素A的日剂量。人类接受500mg/天的在软凝胶中递送的尿石素A的类似当量剂量。在两种情况下,调配物中所用的尿石素A的粒径分布为 $D_{90}=8\mu\text{m}$ 到 $20\mu\text{m}$ 并且 $D_{50}=2\mu\text{m}$ 到 $8\mu\text{m}$ 并且 $D_{10}=0.5\mu\text{m}$ 到 $2\mu\text{m}$ 。

[0122] 调配物66的药物动力学特征曲线雄性Sprague-Dawley大鼠中确定,所述大鼠在隔夜禁食之后通过经口管饲以对应于60mg/kg/天的剂量施用调配物66中的尿石素A。以调配物%w/w计所使用的组分展示于以下表4中。

[0123] 表4:生物可用性研究中所用的调配物。

[0124]

组分	调配物66
尿石素A	30.1
中链三酸甘油酯	34.2
卵磷脂	34.2
单硬脂酸甘油酯	1.4

[0125] 中链三酸甘油酯以产品名CremerC00R MCT 60/40EP自Cremer Oleo公司及Co KG获得,其含有 $C6\leq 0.5\%$; $C8\ 55-65\%$; $C10\ 35-45\%$; 和 $C12\leq 1.5\%$ 。卵磷脂以产品名称Epikuron®135F IP自嘉吉公司(Cargill, Inc.)获得,其含有最低32%磷脂酰胆碱。

[0126] 单硬脂酸甘油酯以产品名称IMWITOR®900 (F) P自Cremer Oleo公司及Co KG获得,其含有40.0-50.0%单酰甘油、30.0-45.0%二酰甘油和5.0-15.0%三酰甘油。

[0127] 通过颈静脉套管插入术在不同的时间点下自大鼠收集血液,并且定量血浆中的尿石素A以判定其药物动力学特征曲线。调配物的研究在总计六只大鼠中重复。图2展示经标准化为相对 $C_{\text{最大值}}$ 为1的所得药物动力学特征曲线。

[0128] 在60mg/kg/d的剂量下比较人类中的药物动力学特征曲线与大鼠中观察到的药物动力学特征曲线,各含有调配物66中的250mg尿石素A的软凝胶胶囊通过标准方法制备。

[0129] 为确定由含有调配物66的软凝胶递送的尿石素A的药物动力学特征曲线是否类似于在大鼠中所观察到的,六名健康个体(3名男性和3名女性成人)用在两个软凝胶内递送的500mg尿石素A给药。个体禁食隔夜,并且在T0h下随着水经口施用各含有调配物66中的250mg尿石素A的两个软凝胶。

[0130] 表5:生物可用性研究的设计。

	测试物品	人类 N=	给药 (mg)	媒剂	血浆取样时间点
[0131]	尿石素 A	6	500 mg	两个软凝胶中的调 配物 66	给药前, 0.5、1、2、3、 4、6、8、12、24 和 36 小 时

[0132] 血液在以下时间点取样: 给药前、0.5、1、2、3、4、6、8、12、24和36小时。在各时间点处, 将6mL血液样本抽出到经K2-EDTA涂覆的管中。倒转血液样本以与抗凝剂完全混合。在血液收集后30分钟内, 各血液样本在4℃下以1500g离心10分钟。在离心之后30分钟内, 将人类血浆的上层转移到预标记的聚丙烯管中, 定量各时间点的血浆样品的尿石素A含量以确定其药物动力学特征曲线。图2展示对于大鼠和人类样本两者中调配物66的所得药物动力学特征曲线。为了比较这些曲线, 血液中所发现的最大浓度或C_{最大值}设定为值1。

[0133] 如在图2中观察到的, 通过软凝胶向人类递送的尿石素A显示类似于在大鼠中观察到的药物动力学特征曲线, 具有单一迅速峰值。大鼠的T_{最大值}为4h (对于啮齿动物) 并且人类的为6h。曲线中的这一偏移有可能由于施用调配物66中的差别, 在啮齿动物中通过简单管饲或在人类中通过软凝胶。另外, 在人类中我们发现尿石素A在血液中的持久含量, 其为由啮齿动物资料未预料到的, 进一步突显中链三酸甘油酯在将尿石素口服递送到人类中的实用性。

[0134] 这展示含有中链三酸甘油酯的调配物66, 可用于在人类和其它哺乳动物中递送尿石素A。这些结果展现当调配于含有MCT的调配物66中时, 尿石素A在人类和大鼠两者中显示有吸引力的生物可用性概况并且展示有利的药物动力学特征曲线, 使得其可用于尿石素的口服施用。

[0135] 实例3: 粒径对尿石素A生物可用性的影响

[0136] 使用MC50螺旋喷射式研磨机 (Spiral Jetmill)、使用过滤的氮气、以240g/hr的馈入速率、以12巴的文丘里 (Venturi) 压力和12巴的研磨机压力, 以受控制的方式减小尿石素A的粒径。尿石素A的不同粒径分布在马尔文 (Malvern) 粒度分析仪 (马尔文仪器公司 (Malvern Instruments), UK) 上测定。深入评估三个样品。尿石素A的样品#1 的粒径分布D₁₀为1.03μm, D₅₀为53.4μm并且D₉₀为365μm。尿石素A样品#2的粒径为, D₁₀为0.272μm、D₅₀为2.17μm并且D₉₀为6.84μm。尿石素A的样品#3的粒径为, D₁₀为0.597μm、D₅₀为5.67μm并且D₉₀为40.1μm。

[0137] 表6: 微粉化前后尿石素A的粒径测定

[0138]

尿石素A	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
样品#1	1.03μm	53.4μm	365μm
样品#2	0.272μm	2.17μm	6.84μm
样品#3	0.597μm	5.67μm	40.1μm

[0139] 为证明特定粒径分布对生物可用性的影响, 雄性Sprague-Dawley大鼠禁食隔夜, 并且随后通过口服管饲以对应于25mg/kg/天的剂量施用悬浮于15%DMSO、85% (于水中的0.5%甲基纤维素, 0.25%吐温80) 中的尿石素A的样品#1、样品#2或样品#3。

[0140] 表7: 生物可用性研究的设计。

[0141]

测试物品	动物 N=	给药 (mg/kg)	剂量 溶液 浓度 (mg/mL)	剂量 体积 (mL/kg)	媒剂	血浆取样时间点
尿石素 A 样品#1	3	25	5	5	15% DMSO 85% (于 水中的 0.5%甲基纤维 素/0.25%吐温 80)	给药前、0.25、 0.5、1、2、4、8、 12、24 和 48 小时
尿石素 A 样品#2	3	25	5	5	15% DMSO 85% (于 水中的 0.5%甲基纤维 素/0.25%吐温 80)	给药前、0.25、 0.5、1、2、4、8、 12、24 和 48 小时
尿石素 A 样品#3	3	25	5	5	15% DMSO 85% (于 水中的 0.5%甲基纤维 素/0.25%吐温 80)	给药前、0.25、 0.5、1、2、4、8、 12、24 和 48 小时

[0142] 用于管饲的溶液制备如下:在于水中的7ml的15%DMSO,0.5%甲基纤维素/0.25%吐温80中稀释35mg的尿石素A粉末,得到5mg/ml细悬浮液。DMSO自BDH获得,甲基纤维素自西格玛(Sigma)获得,并且吐温80自西格玛-阿尔德里奇(Sigma-Aldrich)获得。

[0143] 通过颈静脉套管插入术在不同的时间点下自大鼠收集血液,并且定量血浆中的尿石素A以确定在口服管饲样品#1、样品#2和样品#3之后的药物动力学特征曲线。研究对于各样品在三只大鼠上重复。图3展示尿石素样品#1和样品#2的所得药物动力学特征曲线。所收集的数据概括于下表8中。

[0144] 表8:具有不同粒径的尿石素A的生物可用性研究的结果

[0145]

参数	样品#1	样品#2	样品#3
$C_{\text{最大值}}$ (ng/ml)	17.1	37	17.4
相对 $C_{\text{最大值}}$ (%非微粉化 $C_{\text{最大值}}$)	100%	216%	102%
$T_{\text{最大值}}$ (h)	0.25	0.33	0.50
AUC	75.1	96.2	94.8
相对生物可用性 (非微粉化的尿石素 A 的 %AUC)	100%	128%	126%

[0146] 当粒径减小到 D_{90} 低于 $50\mu\text{m}$ 时,尿石素A展示提高的生物可用性。与样本#1相比,对于样本#2,存在116%的 $C_{\text{最大值}}$ 的相对增加(2.16倍的增加)和28%的AUC的增加。对于样本#3,存在26%的AUC的相对增加。

[0147] 这些结果证明,在与粒径为 $D_{90}>300\mu\text{m}$ 的尿石素A制剂相比时,粒径为 $D_{90}<50\mu\text{m}$ 的尿石素A制剂始终展示较高的生物可用性。此外,观察到粒径为 $D_{90}<20\mu\text{m}$ 的尿石素A制剂为尤其有利的,并且能获得显著较高的峰值尿石素A血液含量,如所获得的 $C_{\text{最大值}}$ 大于加倍。

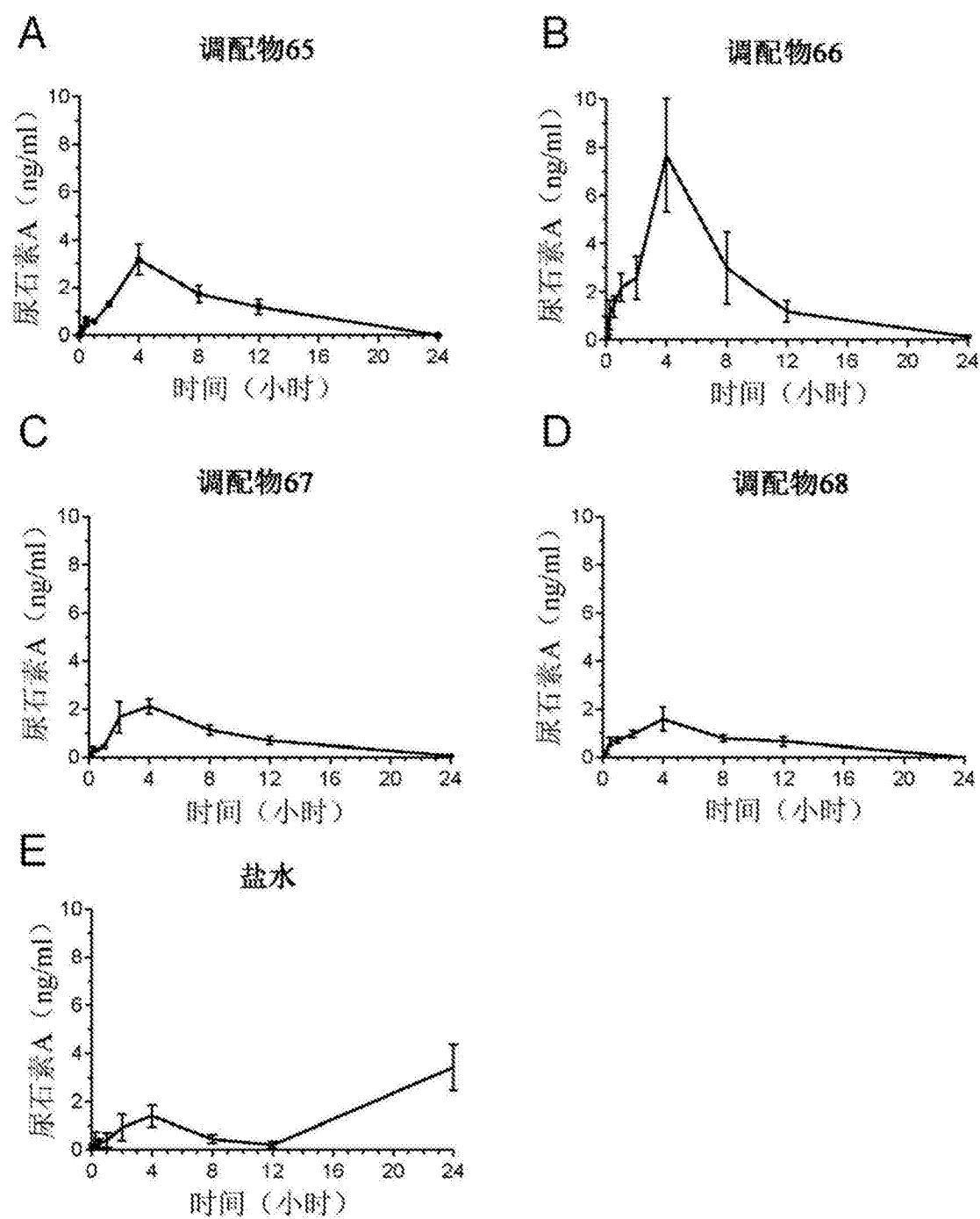


图1

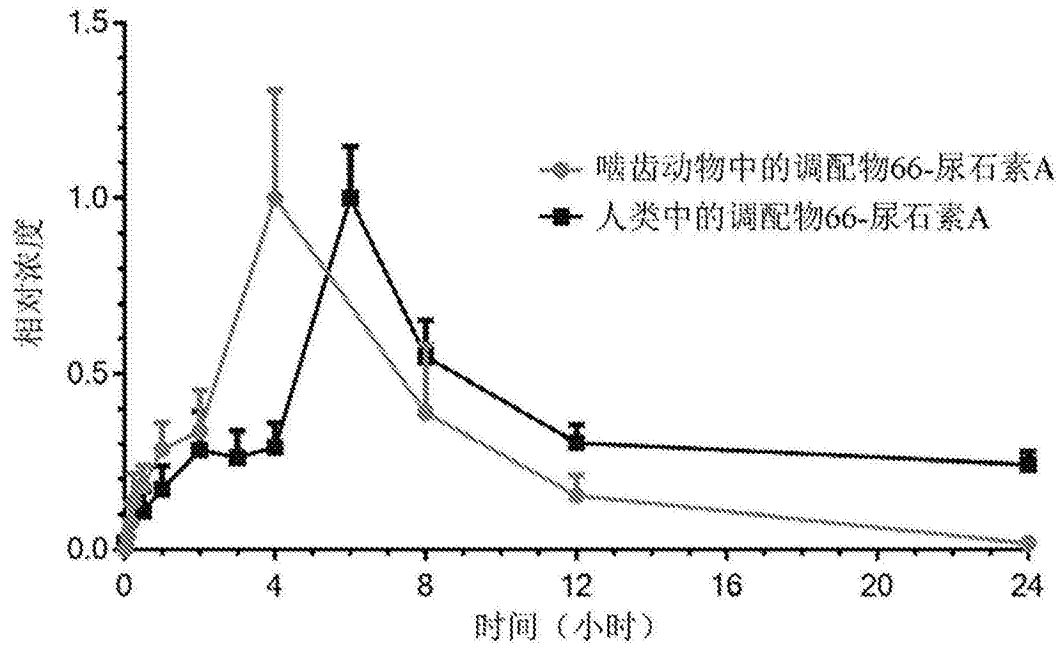


图2

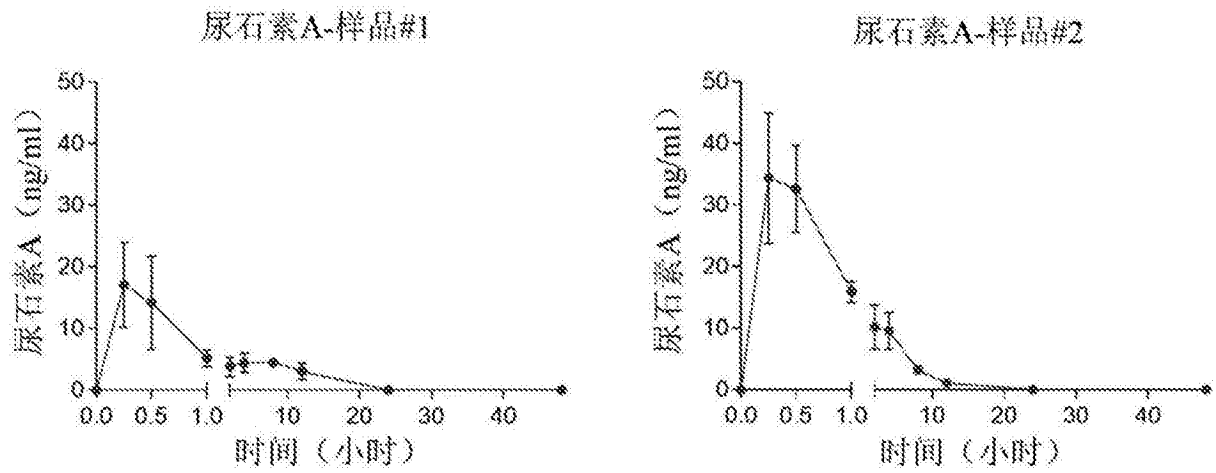


图3