(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108697674 B
(45)授权公告日 2021.09.14

(21)申请号 201680060797.1
(22)申请日 2016.09.16
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108697674 A
(43)申请公布日 2018.10.23
(30)优先权数据
62/219,208 2015.09.16 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.04.17
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/052146 2016.09.16
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/049093 EN 2017.03.23
(73)专利权人 代谢科技有限公司
地址 美国爱荷华州
(72)发明人 S·拜尔 N·阿布莱德
E·哈里斯
(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
代理人 张晓威
(51)Int.Cl.
A61K 31/19(2006.01)
A61K 31/00(2006.01)
A61K 31/185(2006.01)

(56)对比文件
CN 102762097 A,2012.10.31
US 2004253295 A1,2004.12.16
US 2014171854 A1,2014.06.19
US 4462988 A,1984.07.31
Deborah A. Kuhls et al..β-Hydroxy-β-Methylbutyrate Supplementation in Critically Ill Trauma Patients.《The Journal of TRAUMA》.2007,第62卷(第1期),第125-132页.
Rifat Kusabbi et al..Effects of the Oral Nutritional Supplement Containing Arginine, Glutamine, and Hydroxymethylbutyrate (Abound®) on Healing of Colonic Anastomoses in Rats.《Indian J Surg》.2015,第77卷(第Suppl 3期),第S1242-S1247页.
Jeremy Z. Williams et al..Effect of a Specialized Amino Acid Mixture on Human Collagen Deposition.《ANNALS OF SURGERY》.2002,第236卷(第3期),第369-375页.
Jacob M. Wilson et al..β-Hydroxy-β-methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men.《British Journal of Nutrition》.2013,第110卷(第3期),第538-544页.

审查员 曹寅秋

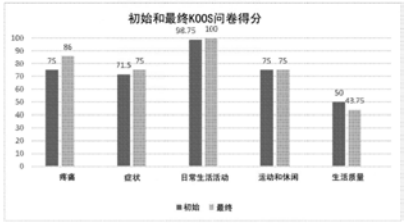
权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54)发明名称

用于增强从软组织创伤恢复的β-羟基-β-甲基丁酸(HMB)的组合物和使用β-羟基-β-甲基丁酸(HMB)的方法

(57)摘要

本发明提供包含HMB的组合物。并描述向动物施用HMB的方法。施用HMB以增强从软组织创伤恢复,软组织创伤包括急性和非急性软组织创伤。增强恢复包括减少恢复时间和增强软组织愈合。



CN 108697674 B

1.HMB在制备用于增强从急性软组织创伤恢复的组合物中的用途,所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB,其中所述软组织选自肌腱和韧带。

2.如权利要求1所述的用途,其中从所述软组织创伤恢复相对于未施用所述组合物的动物从软组织创伤恢复得到改善。

3.如权利要求1所述的用途,其中所述软组织创伤为手术。

4.如权利要求3所述的用途,其中所述组合物用于在手术后施用数日、数周或数月的时间。

5.如权利要求1所述的用途,其中所述HMB为游离酸、盐、酯或内酯的形式。

6.如权利要求5所述的用途,其中所述盐选自钠盐、钾盐、镁盐、铬盐和钙盐。

7.如权利要求1所述的用途,其中所述组合物用于在围手术期期间施用。

8.如权利要求1所述的用途,其中所述组合物用于以0.5g至30g的量施用。

9.HMB在制备用于减少从急性软组织创伤恢复的时间的组合物中的用途,所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB,其中所述软组织选自肌腱和韧带。

10.如权利要求9所述的用途,其中相对于未施用所述组合物的动物的恢复时间,施用所述组合物的动物的恢复时间更短。

11.如权利要求9所述的用途,其中所述软组织创伤为手术。

12.如权利要求11所述的用途,其中所述组合物用于在手术后施用数日、数周或数月的时间。

13.如权利要求9所述的用途,其中所述HMB为游离酸、盐、酯或内酯的形式。

14.如权利要求13所述的用途,其中所述盐选自钠盐、钾盐、镁盐、铬盐和钙盐。

15.如权利要求9所述的用途,其中所述组合物用于在围手术期期间施用。

16.如权利要求9所述的用途,其中所述组合物用于以0.5g至30g的量施用。

17.如权利要求9所述的用途,其中所述组合物用于在所述软组织创伤后施用数日、数周或数月的时间。

18.HMB在制备用于改善从急性软组织创伤愈合的组合物中的用途,所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB,其中所述软组织选自肌腱和韧带。

19.如权利要求18所述的用途,其中相对于未施用所述组合物的动物的软组织愈合,施用所述组合物的动物的软组织愈合得到改善。

20.HMB在制备用于有助于修复急性软组织创伤的组合物中的用途,所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB,其中所述软组织选自肌腱和韧带。

21.如权利要求20所述的用途,其中相对于未施用所述组合物的动物的软组织创伤的修复,施用所述组合物的动物的软组织创伤的修复得到改善。

22.如权利要求1、9、18和20中任一项所述的用途,其中所述急性软组织创伤选自手术、跟腱断裂或撕裂、前交叉韧带断裂或撕裂、内侧副韧带断裂或撕裂、肘韧带撕裂、肌腱撕裂、扭伤、拉伤、肩袖撕裂和肩部损伤。

23.HMB在制备用于增强从非急性软组织创伤恢复的组合物中的用途,所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB,其中所述非急性软组织创伤选自肌腱炎、滑囊炎、腕管综合征和跖筋膜炎。

24.如权利要求23所述的用途，其中从所述软组织创伤恢复相对于未施用所述组合物的动物从软组织创伤恢复得到改善。

25.HMB在制备用于减少从手术恢复的时间的组合物中的用途，所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB，其中手术的类型是矫形手术、肩部手术、肘部手术、手部手术、髋部手术、膝部手术、踝部手术或脊柱手术。

26.HMB在制备用于增强从手术恢复的组合物中的用途，所述组合物用于向有此需要的动物施用每千克体重约0.001-0.2g的HMB，其中手术的类型是矫形手术、肩部手术、肘部手术、手部手术、髋部手术、膝部手术、踝部手术或脊柱手术。

27.如权利要求26所述的用途，其中增强恢复还包括改善软组织的愈合、再生或修复。

28.如权利要求26所述的用途，其中从手术恢复相对于未施用所述组合物的动物从手术恢复得到改善。

29.如权利要求26所述的用途，其中所述HMB为游离酸、盐、酯或内酯的形式。

用于增强从软组织创伤恢复的β-羟基-β-甲基丁酸(HMB)的组合物和使用β-羟基-β-甲基丁酸(HMB)的方法

[0001] 本申请要求2015年9月16日提交的美国临时专利申请No.62/219,208的优先权,并且将该临时申请援引加入本文。

[0002] 发明背景

[0003] 1.领域

[0004] 本发明涉及包含β-羟基-β-甲基丁酸(β-hydroxy-β-methylbutyrate,HMB)的组合物和使用HMB来增强软组织愈合和/或减少从软组织创伤恢复的时间的方法。

[0005] 2.背景

[0006] 动物从软组织创伤(包括肌肉、肌腱和韧带损伤)中恢复通常需要大量的时间和费用。急性软组织损伤可发生在运动或体力活动中或简单的日常活动中。急性软组织创伤还包括在手术程序中发生的创伤,或与软组织损伤的修复有关,或与任何损伤无关而是切割和/或操作作为任何手术程序的部分的软组织的结果。非急性组织损伤(如扭伤)也往往需要长期的康复和恢复。即使由医疗专业人员进行适当的监督,软组织的愈合也会花费很长时间。这些损伤可能导致延迟恢复正常活动以及长期虚弱。

[0007] 由于创伤、手术程序和跌倒而导致的软组织损伤与老年人的发病率和死亡率增加有关。软组织损伤的恢复通常包括运动和物理治疗,恢复可能需要六个月或甚至更长的时间。长期治疗费用昂贵且耗时。需要营养补充剂,以减少恢复时间,增强软组织愈合并增强软组织创伤后的恢复。

[0008] 动物如马、狗和猫等经常遭受软组织创伤。作为非限制性实例,需要手术修复软组织损伤对于狗是很常见的。对动物常实施交叉韧带手术(如TPLO(胫骨平台水准截骨术)或TTA(胫骨粗隆前移术)手术)、髋关节置换术和椎间盘破裂术。从这些损伤和/或手术中恢复对宠物和主人来说都是困难的。在手术后的数周或数月,主人通常需要帮助宠物行走和爬楼梯。因此,需要营养补充剂来减少数日或数周的主人必须帮助宠物的时间。

[0009] α-酮异己酸(alpha-ketoisocaproate,KIC)是亮氨酸的第一主要活性代谢物。KIC代谢的副产物是β-羟基-β-甲基丁酸(HMB)。已经发现HMB可用于多种应用背景中。具体而言,在美国专利5,360,613(Nissen)中,记载HMB用于降低血液中总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的水平。在美国专利5,348,979(Nissen等人)中,记载HMB用于促进人体内的氮滞留。美国专利5,028,440(Nissen)中,讨论了HMB对增加动物中瘦组织发育的有用性。并且,在美国专利4,992,470(Nissen)中,记载HMB在增强哺乳动物免疫应答方面是有效的。美国专利6,031,000(Nissen等人)记载了HMB和至少一种氨基酸对治疗疾病相关的消瘦的用途。已经发现HMB与谷氨酰胺和精氨酸组合增加伤口胶原蛋白积聚并改善皮肤损伤修复。

[0010] HMB抑制蛋白质水解的用途源于亮氨酸具有蛋白质节约的特性的观察结果。必需氨基酸亮氨酸可用于蛋白质合成或转氨成α-酮酸(α-酮异己酸,KIC)。在一个通路中,KIC可以被氧化成HMB,并且这大约占亮氨酸氧化的5%。HMB在增强肌肉质量和力量方面优于亮氨酸。当以HMB钙盐形式给予时在每天3.0g或者每天0.038g/kg体重下可实现HMB的最佳效果,而亮氨酸的最佳效果则需要每天超过30.0g。

[0011] 一旦产生或摄入,HMB似乎有两种结果。第一种结果为简单的在尿液中排泄。在食用了HMB后,尿浓度增加,导致HMB约20-50％损失到尿液。另一种结果与HMB到HMB-CoA的活化有关。一旦转化为HMB-CoA,可能发生进一步的代谢,或为HMB-CoA脱水成MC-CoA,或为HMB-CoA直接转化为HMG-CoA,为细胞内胆固醇合成提供底物。几项研究已证明HMB参与到胆固醇合成通路中,并且可成为用于受损细胞膜再生的新细胞膜的来源。人体研究已证明,在最初的48小时内通过补充HMB减少了通过升高的血浆CPK(肌酸磷酸激酶)测定的剧烈运动后的肌肉损伤。在持续日常使用的情况下,HMB的保护作用持续多达三周。许多研究表明作为CaHMB(HMB钙)的HMB的有效剂量为每天3.0g(～38mg/kg体重-天$^{-1}$)。该剂量增加与抗阻训练相关的肌肉质量和力量增益,同时将与剧烈运动相关的肌肉损伤减到最小。已测试HMB的安全性,显示在健康的年轻人或老年人中没有副作用。HMB与L-精氨酸和L-谷氨酰胺组合,当对AIDS和癌症患者进行补充时也被证明是安全的。

[0012] 最近,HMB游离酸(新的HMB的递送形式)已经被开发出来。这种新的递送形式已被证明比CaHMB吸收更快并具有更高的组织清除率。在美国专利公开序列号20120053240中记载了这种新的递送形式,其整体援引加入本文。

[0013] 尽管已知HMB补充剂还可以预防或减少长时间不活动(如住院治疗)期间的肌肉损失,但是在本发明之前不知道将HMB施用给具有软组织创伤(无论是来自急性损伤如软组织撕裂或断裂或手术或非急性软组织损伤)的哺乳动物会导致更快的软组织创伤的修复和/或恢复以及增强从损伤或手术中的恢复。

[0014] 本发明包括HMB的组合物和使用HMB以导致增强的从软组织创伤恢复的方法。增强的恢复可以包括在创伤或损伤(包括由手术程序导致的软组织创伤)之后增强的软组织愈合。增强的恢复还包括比预期更快的恢复。本发明包括HMB的组合物和使用HMB以导致在软组织创伤或损伤(包括由手术程序导致的软组织创伤)之后软组织修复和再生的方法。

[0015] 发明概述

[0016] 本发明的一个目的在于提供组合物,其用于在遭受软组织创伤后减少恢复时间。

[0017] 本发明的进一步的目的在于提供组合物,其用于在遭受软组织创伤后增强恢复。

[0018] 本发明的另一个目的在于提供组合物,以在软组织损伤后增强软组织愈合。

[0019] 本发明的另外的目的在于提供组合物,其用于在软组织损伤后软组织的修复和再生。

[0020] 本发明的另一个目的在于提供施用组合物的方法,所述组合物用于在遭受软组织创伤后减少恢复时间。

[0021] 本发明的另外的目的在于提供施用组合物的方法,所述组合物用于在遭受软组织创伤后增强恢复。

[0022] 本发明的另一个目的在于提供施用组合物的方法,所述组合物用于在软组织损伤后增强软组织愈合。

[0023] 本发明的另外的目的在于提供施用组合物的方法,所述组合物用于在软组织损伤后软组织愈合的修复和再生。

[0024] 参照以下的说明书、附图和权利要求书,本发明的这些目的和其他目的对于本领域技术人员而言会变得显而易见。

[0025] 本发明旨在克服在此之前遇到的困难。为此,提供包含HMB的组合物。该组合物被

施用至有此需要的个体。所有的方法包括向动物施用HMB。本发明中包括的个体包括人类和非人类哺乳动物。

[0026] 附图简述

[0027] 图1为描述女性个体的初始和最终KOOS问卷得分的图表。

[0028] 图2为描述男性个体的初始和最终KOOS问卷得分的图表。

[0029] 发明详述

[0030] 令人惊讶且意外地发现，HMB增强从软组织创伤恢复，包括但不限于减少软组织创伤后的恢复时间和增强软组织的愈合。补充HMB修复和再生软组织，导致增强从软组织创伤恢复。本发明包括HMB的组合物和使用HMB的方法，以使得增强软组织创伤后的恢复，减少软组织创伤后的恢复时间，并增强和/或改善软组织创伤后的软组织愈合。在一个实施方案中，向患有软组织创伤的动物施用HMB，使得基本上从创伤恢复的物理治疗的时间比预期缩短，或者可以消除对物理治疗的需要。

[0031] 已知在长期不活动(例如术后的卧床休息)后HMB可以减轻或逆转肌肉消瘦。还已知HMB可以有助于伤口胶原蛋白积聚和皮肤修复。然而，在本发明之前，并不知道HMB可以增强软组织创伤后的恢复，包括通过减少软组织损伤后的恢复时间。

[0032] 该组合物可用于所有寻求增强软组织创伤后的恢复的年龄组，从婴儿、儿童和青少年到老年以及之间的各年龄段。该组合物也可以用于人类和非人类哺乳动物，如马和伴侣动物(如狗和猫)。哺乳动物、动物、个体和患者在本发明中可互换使用。

[0033] 在一个实施方案中，在遭受软组织创伤后，向哺乳动物施用HMB。软组织创伤包括急性创伤，如肌肉撕裂或断裂，或由于涉及切开或操作软组织的任何手术程序而发生的急性创伤。急性创伤包括但不限于跟腱断裂或撕裂、前交叉韧带断裂或撕裂、内侧副韧带断裂或撕裂、肘韧带撕裂、肌腱撕裂、扭伤、拉伤、肩袖撕裂和肩部损伤。急性创伤还包括由任何切割或操作软组织的手术程序而引起的急性创伤，包括矫形手术、软组织修复手术、心脏手术、妇科手术、整形手术、减肥手术、肩部手术、肘部手术、手部手术、髋部手术、膝部手术、踝部手术和脊柱手术。

[0034] 在本发明的一个实施方案中，在遭受任何非急性软组织损伤后向哺乳动物施用HMB。非急性软组织创伤包括但不限于肌腱炎、滑囊炎、腕管综合征和跖筋膜炎。

[0035] 在遭受软组织损伤后，向哺乳动物施用HMB。作为非限制性实例，HMB从大约手术发生时向动物施用。HMB施用持续到哺乳动物基本上从手术中恢复或由医疗专业人员释放。医疗专业人员包括但不限于医生、兽医、理疗师、医生助理和护士从业人员。

[0036] 在与手术无关的软组织创伤的实例中，在遭受创伤后的任何时间开始施用HMB，并持续到哺乳动物基本完全恢复或由医疗专业人员释放。

[0037] 本发明还包括实例，其中哺乳动物遭受随后需要手术修复的软组织损伤。本发明包括实例，其中HMB在初始软组织损伤之后施用并且在随后的手术修复之后在从手术恢复期间持续施用。其还包括实例，其中HMB仅在手术程序后施用，且不在发生软组织损伤和进行手术程序之间的时间段内施用。

[0038] 本发明可以在手术操作前和手术操作后期间、或手术程序前和手术程序后期间(“围手术期”)给予至个体。在一个实施方案中，组合物在手术操作或手术程序前施用，并且在手术操作或手术程序后持续施用一段时间。围手术期可包括手术发生后的数日、数周或

数月。

[0039] 软组织损伤后的增强恢复包括减少恢复时间。以本文所述的方式施用HMB导致恢复时间减少,其中恢复时间的减少包括与没有用HMB的哺乳动物的恢复时间相比更短的天数达到基本完全恢复或从医疗专业人员释放。

[0040] HMB

[0041] β-羟基-β-甲基丁酸或β-羟基-异戊酸可以其游离酸形式$(CH_3)_2(OH)CCH_2COOH$来表示。术语"HMB"是指具有前述化学式的化合物,可以为游离酸和盐形式及其衍生物。衍生物包括代谢物、酯和内酯。尽管任何形式的HMB都可以在本发明的范围内使用,但优选HMB选自游离酸、盐、酯和内酯。HMB酯包括甲酯和乙酯。HMB内酯包括异戊酰内酯。HMB盐包括钠盐、钾盐、铬盐、钙盐、镁盐、碱金属盐和碱土金属盐(earth metal salts)。

[0042] 生产HMB及其衍生物的方法在本领域是公知的。例如,HMB可以通过双丙酮醇的氧化来合成。Coffman等人.,J.Am.Chem.Soc.80:2882-2887(1958)记载了一个合适的程序。如其中所述,HMB是通过双丙酮醇的碱性次氯酸钠氧化来合成的。该产物以游离酸形式回收,可以转化为盐。例如,HMB可以通过类似于Coffman等人(1958)的程序制备为其钙盐,其中HMB的游离酸用氢氧化钙中和,并通过从乙醇水溶液中结晶而回收。HMB的钙盐可从Metabolic Technologies,Ames,Iowa商购获得。

[0043] β-羟基-β-甲基丁酸(HMB)钙的补充

[0044] 大量研究证明,补充CaHMB伴随抗阻运动训练可改善肌肉质量和力量增益,并减少病况(如癌症和AIDS)中肌肉质量的损失。Nissen和Sharp进行了一项伴随抗阻训练使用补充剂的元分析,发现HMB是临床研究证明与抗阻训练一起显著增加力量和瘦体重的仅有的两种补充剂之一。研究证明,每公斤体重38mg的CaHMB对于一般哺乳动物似乎是有效剂量。

[0045] 除了力量和肌肉质量增加外,CaHMB的补充还降低肌肉损伤和蛋白质降解的指标。人体研究证明,通过HMB的补充降低了通过升高的血浆CPK(肌酸磷酸激酶)测定的剧烈运动后的肌肉损伤。已证明通过持续每天使用,HMB的保护作用表现至少三周。离体大鼠肌肉的体外研究证明,HMB是肌肉蛋白水解的有效抑制剂,特别是在压力期间。这些发现已在人体中得到证实,例如,HMB在参与抗阻训练的个体中抑制肌肉蛋白水解。

[0046] HMB降低蛋白质分解和增加蛋白质合成的分子机制已经被报道。Eley等人进行的体外研究证明HMB通过mTOR磷酸化刺激蛋白质合成。其他研究证明,当肌肉蛋白质分解代谢被蛋白水解诱导因子(PIF)、脂多糖(LPS)和血管紧张素II刺激时,HMB通过减弱泛素-蛋白酶体蛋白水解途径的诱导来降低蛋白水解。还有其他研究证明HMB还减弱胱天蛋白酶-3和-8蛋白酶的活化。综上这些研究表明,补充HMB通过蛋白质水解减少和蛋白质合成增加导致瘦体重增加和伴随的力量增益。

[0047] HMB游离酸形式

[0048] 在大多数情况下,用于临床研究和作为增补剂销售的HMB为钙盐形式。最近的进展已经使HMB能以游离酸形式制造用作营养补充剂。最近,开发了新的HMB的游离酸形式,其显示出比CaHMB更快被吸收,导致更快和更高的血清HMB峰值水平和改善的组织血清清除率。

[0049] 因此HMB游离酸可能是比钙盐形式更有效的施用HMB的方法,特别是当直接在剧烈运动之前施用时。在剧烈较量运动之前30分钟开始的HMB游离酸在减轻肌肉损伤和改善炎症应答方面比CaHMB更有效。然而,本领域的普通技术人员会认识到,本发明包括任何形式

的HMB。

[0050] HMB本身可以以任何形式存在;例如,CaHMB通常是可以掺入到任何递送形式中的粉末,而HMB酸通常是可以掺入到任何递送形式中的液体或凝胶。

[0051] 任何形式的HMB都可以以一种方式掺入到递送和/或施用形式中,使得导致通常剂量为约0.5g HMB至约30g HMB。HMB也可以以每千克体重0.001-0.2g HMB的剂量存在。HMB可以以每天多份或单份向动物施用。

[0052] 递送形式的非限制性实例包括丸剂、片剂、胶囊、粒状胶囊(gelcap)、液体、饮料、固体和凝胶。可以用于施用本发明组合物的口服制剂的非限制性实例包括营养制剂、医疗食品、医疗饮料、运动性能补充剂、膳食或食品添加剂。

[0053] 当组合物以可食用形式口服施用时,组合物优选为饮食补充剂、食品或药物介质的形式,更优选为饮食补充剂或食品形式。在本发明的范围内,可以使用任何合适的包含该组合物的饮食补充剂或食品。本领域普通技术人员会明白,不管何种形式(如饮食补充剂、食品或药物介质),组合物可以包括氨基酸、蛋白质、肽、碳水化合物、脂肪、糖、维生素(包括但不限于维生素D)、矿物质和/或微量元素。

[0054] 为了将组合物制备成饮食补充剂或食品,组合物通常会以使组合物在饮食补充剂或食品中基本均匀分布的方式组合或混合。或者,可以将组合物溶解在液体中,如水。

[0055] 饮食补充剂的组合物可以是粉末、凝胶、液体或可以制成板状或包入胶囊。

[0056] 尽管在本发明的范围内可以使用包含该组合物的任何合适的药物介质,但该组合物可以与合适的药物载体(如葡萄糖或蔗糖)组合。

[0057] 此外,药物介质的组合物可以以任何合适的方式静脉内施用。对于通过静脉内输注施用,组合物优选为水溶性无毒形式。静脉内施用特别适合于正在接受静脉注射(IV)治疗的住院患者。例如,组合物可以溶解于向患者施用的IV溶液(例如生理盐水或葡萄糖溶液)中。而且,组合物可以添加到营养IV溶液中,其可以包括氨基酸、肽、蛋白质和/或脂质。静脉内施用的组合物的量可以与口服施用中使用的水平类似。

[0058] 计算施用组合物的频率的方法是本领域公知的,并且在本发明的范围内可以使用任何合适的施用频率(例如,每天一次6g剂量或每天两次3g剂量),并且可经任何合适的时间段(例如,可以经五分钟的时间段或经一小时的时间段施用单剂量,或者可选地,可以经长期的时间段施用多剂量)。HMB可以经长期的时间段施用,例如数周、数月或数年。

[0059] 在本发明的范围内可以使用任何合适的HMB剂量。计算合适剂量的方法在本领域中是公知的。

[0060] 通常,提供足以导致增强或改善从软组织损伤或创伤中恢复的水平的HMB的量。

[0061] 以下实施例会更详细地说明本发明。会容易理解本发明的组合物(如本文实施例中通常描述和说明的)可以以各种制剂和剂型合成。因此,下面本发明的方法、制剂和组合物的目前优选的实施方案的更详细的描述如声明的并不意在限制本发明的范围,而仅是本发明目前优选的实施方案的代表。

[0062] 案例研究1

[0063] 一名健康的39岁男性因左腿跟腱断裂修复而出现。跟腱断裂发生在手术前三天。进行修复的外科医生在手术时有大约15年的经验。

[0064] 手术后,服用三天Nucynta(50mg片剂,每4-6小时1-2片)和氢可酮/对乙酰氨基酚

(每片5mg/500mg,每4-6小时1-2片)。这种疼痛缓解方案对于这类手术是典型的。

[0065] 从手术日开始经约术后的4个月服用HMB。每天正常饮食服用3gHMB钙。

[0066] 手术后立即铸固(cast)腿部,且需要使用拐杖。大约十四天后,重新铸固该腿部。医生在重新铸固时注意到,其力量和活动范围高于平均水平。大约十四天后(手术后四周)将第二次的铸件移除,其力量和运动范围持续超前于医生的计划表。在去除铸件后,使用在跟下带有“楔子”的Bledsoe靴来保护和限制腿的活动范围。需要手杖。在大约一个月后的后续预约会面中,恢复持续超前于计划表,活动范围改善。此时不需要楔子,在户外进行活动需要手杖。在大约一个月后的后续探访中,只有在户外进行活动时才需要靴子,并且在2-3周后开始,如果没有疼痛或虚弱,患者可以恢复正常的体力活动。

[0067] 在第二次后续探访之后大约六周后,个体可以无碍进行所有的活动,这大约是在手术后的四个月。不再需要医生探访或治疗。在这种情况下,最后的医生探访未开具处方治疗,因为体能已经完全恢复。手术后约三个半月,患者恢复正常体力活动,包括步行、举重和正常日常活动。外科医生评论说,就他此前的实践而言,该患者的恢复是最快的恢复;该患者创造了跟腱断裂修复的最快恢复的新记录。

[0068] 本案例研究患者的恢复与如下通常的恢复进行比较。对于通常的跟腱断裂修复,手术后患者可能会戴上铸件、步行靴或类似装置6到12周。开始,因为肌腱愈合,定位铸件或靴子以保持脚向下。然后逐渐调整铸件或靴子,以使脚处于中位(不指向上或下)。许多健康专业人员推荐在脱离铸件或靴子之前尽早开始活动和负重练习。总恢复时间通常为六个月。

[0069] 案例研究2-3

[0070] 参与者

[0071] 为了测试HMB在ACL康复期间的有效性,在爱荷华州立大学收集了试验数据。参与者是从爱荷华州埃姆斯的泰伦学生健康中心招募的,如果他们是年龄为18到49岁的健康个体,在过去4个月内使用髌骨或半腱肌移植进行了ACL重建手术,并且定期参加物理治疗。如果个体有多处或双侧韧带撕裂、其他妨碍定期参与物理治疗或影响肌肉萎缩的健康状况、或者是NCAA学生运动员,则被排除在外。在从医疗机构获得许可后,三名参与者在首次就诊时来进行基线测定,并随机分配到HMB或安慰剂补充剂8周,然后返回我们实验室进行最终测定。由于时间限制,一名参与者退出研究,因此数据收集自一名男性和一名女性。

[0072] 补充

[0073] 两名参与者都被随机分配到8周的HMB补充。补充剂由Metabolic Technologies(美国爱荷华州埃姆斯)提供,并以胶囊形式分发,大小、颜色和外观相同。各HMB胶囊含有0.5g的HMB。在整个干预过程中,参与者会在早上早餐服用3粒补充剂,下午晚餐服用3粒,每天总计3g。参与者在坚持日志中记录任何遗忘补充剂来衡量依从性。

[0074] 结果评量

[0075] KOOS问卷:每位参与者完成了膝部损伤和骨关节炎结果得分(KOOS)问卷,以评估膝部的整体功能。KOOS是用于测定膝部完整性的感知功能差异的有效和可靠的工具(Roos&Lohmander,2003)。本问卷调查:疼痛程度(九项);其他症状,如肿胀、活动范围或机械症状(七项);日常生活中的功能(17项);运动和休闲功能(五项);以及膝部相关的生活质量(四项)。李克特量表用于收集有关每个项目的信息,0表示没有问题,4表示有极大问题。然后这

些回答用于为每个方面确定从0到100的分数，其中0表示膝部有极大问题，100表示无膝部问题。该评估测定了在初始到最终测试之间感知膝部功能的差异。

[0076] 大腿中部围长：在补充前和补充后使用标准圆周测量尺对双下肢测量大腿中部围长。大腿中部的位置是用腹股沟界限线的中点和髌骨边缘的近缘来确定的。对每侧下肢进行三次测量，四舍五入到最接近的0.1厘米，并记录平均值。大腿中部围长测量是量化ACL重建手术后下肢大小差异的可靠方法(Soderberg,Ballantyne,&Kestel,1996)。

[0077] 瘦体重：InBody 720被用于测量所涉及肢体和未涉及肢体之间的肌肉质量差异。首先，当参与者靠站在测距仪上时，将身高四舍五入到最接近的0.1厘米。使用InBody 720上的秤评估体重，测量精确至0.1kg。在阻抗测量之前，手动输入性别、年龄和身高。一旦输入，指示参与者将他们的赤脚放在秤的金属板上，并通过将拇指放在拇指板上并用其他手指握住另一个板而紧紧抓住握力器，像操作手册上指示的开始评估。一旦完成，InBody 720打印出如下组成的报告：每个频率的阻抗测量值以及对所有5个部分的FFM的评估值，包括左臂、右臂、躯干、左腿和右腿。生物电阻抗是测量人体组成的可靠和有效的工具(Hurst等，2015)。

[0078] Y平衡功能测试：Y平衡测试用于评估所涉及肢体的功能性缺陷。测量三次所涉及肢体和未涉及肢体的前侧、后内侧、后外侧，记录其平均值。Y平衡测试是可靠且有效的工具，常用于康复中以评估功能性能力。在之前的研究中，使用这一工具的缺陷识别出没有达到康复目标并且延迟恢复到正常活动水平的个体(Harrison,Bothwell,Wolf,Aryal,&Thigpen,2015)。结果

[0079] 女性案例研究

[0080] 第一位参与者是一名22岁的女性，她在滑雪时摔倒，左ACL断裂。参与者在加入研究前12周接受了手术。参与者特征概括在下表1中。所涉及的腿的初始瘦体重为5.6kg，在补充8周后降至5.5kg。整个研究中未涉及的肢体保持5.5kg不变。大腿中部围长测定值从47.5cm增加到49.2cm，将涉及的腿与未涉及的腿的差别从3.65％减少到1.4％。表2显示了Y平衡测试每次运动的所涉及腿的平均值。所涉及的肢体和未涉及的肢体从初始到最终探访均有所改善，所涉及的和未涉及的前侧运动的差别从最初的4.4cm降至最终的2cm。最后，KOOS问卷的补充前后的结果如图1所示(分数为百分比，100％表示无膝部问题，0％表示膝部有极大问题)。对疼痛的感知、症状和日常生活活动都增加了(即改善)。

[0081] 表1.参与者特征

[0082]

身高(cm)	151
体重(kg)	59.2
瘦体重(kg)	37.8
脂肪量(kg)	21.4
体脂(％)	36.1

[0083] 表2.初始和最终Y平衡测试结果

[0084]

Y平衡测试方向	初始	最终

[0085]

前侧(cm)	46.6	49.3
后内侧(cm)	80	81
后外侧(cm)	80.3	83.3

[0086] 男性案例研究

[0087] 第二名参与者是一名22岁的男性，他在打篮球上篮着陆时ACL断裂。他在膝部受伤后不到一个月内接受了使用半腱肌腱移植的手术，并在12周后加入了本研究。参与者的特征概括在表3中。受伤肢体的瘦体重从8.4kg增加到8.6kg，未受伤肢体的瘦体重从8.5kg增加到8.7kg。围长测定值也从49.2cm略微增加到50.1cm。Y平衡测试得分取平均值并示于表4中。虽然后内侧和后外侧运动保持相似，但所涉及的和未涉及的肢体的前侧运动的差别从4cm减小到1.7cm。

[0088] 最后，KOOS问卷得分如图2所示(分数为百分比，100％表示无膝部问题，0％表示膝部有极大问题)。功能感知的所有区域都增加，运动/休闲活动和整体生活质量得到最大改善。

[0089] 表3.男性参与者特征

[0090]

身高(cm)	170
体重(kg)	71.9
瘦体重(kg)	55.3
体脂量(kg)	16.6
体脂(％)	23

[0091] 表4.初始和最终Y平衡测试结果

[0092]

Y平衡测试方向	初始	最终
前侧(cm)	53.6	64.6
后内侧(cm)	100	104
后外侧(cm)	97	104

[0093] 分析

[0094] 两名参与者大腿中部围长、通过Y平衡测试评估的功能、通过KOOS问卷评估的感知功能均增加。

[0095] 实验例

[0096] 在卡尔加里大学(卡尔加里，亚伯达，加拿大)进行的为期8周的研究中，使用了15只雌性新西兰白兔(43周龄)(Covance Research Products，Inc.，Greenfield，IN)。肉毒杆菌素被用作复制软组织创伤的剂。

[0097] 将兔子随机分配到以下治疗组之一：

[0098] (1)对照组：单侧生理盐水注射(n＝5)；

[0099] (2)肉毒杆菌素组：单侧单次肉毒杆菌素注射(n＝5)；

[0100] (3)肉毒杆菌素+HMB组：单侧单次肉毒杆菌素注射+在整个实验期间CaHMB食物补充(n＝5)。HMB＝β-羟基-β-甲基丁酸的钙盐

[0101] 将第1组兔子作为对照组，并接受肌内生理盐水随机(右或左)注射到股四头肌肌

肉组织。注射的生理盐水的总体积与肉毒杆菌素的总体积相同。第2组和第3组兔子接受单次肌内肉毒杆菌素注射，在注射后8周收集数据。

[0102] 肉毒杆菌素注射：生理盐水组的兔子注射生理盐水0.175ml/kg体重。肉毒杆菌素和肉毒杆菌素+HMB组的兔子注射肉毒杆菌(Clostridium botulinum)A型(BTX-A)神经毒素复合物(Botox®,Allergan,Inc.多伦多，安大略，加拿大)。简言之，将冻干毒素(100U/小瓶)用0.9％氯化钠复原成至20U/ml的浓度。随机选择右腿或左腿，并注射3.5U/kg体重到股四头肌中。通过触诊分离大腿前腔室，并将股四头肌在视觉上分为上半部分和下半部分。然后每一半都被细分为内侧、外侧和中间部分。将六分之一的BTX-A剂量注射到每个部分中，以增加扩散并使BTX-A均匀分布通过股四头肌肌肉组织。(5;6)

[0103] 饮食：第1组和第2组兔子接受高纤维饮食(实验室兔饮食HF5326,LabDiet，里士满，印第安纳州)，而第3组兔子接受配以0.44％CaHMB的相同的基础饮食习惯(Metabolic Technologies,Inc.,爱荷华州埃姆斯，美国)。每周记录体重和摄食量。

[0104] 股四头肌肌肉质量：在8周饲喂期后，通过给予心脏过量的Euthanyl(MTC Pharmaceutical，剑桥，安大略，加拿大)而处死兔子。然后立即测定股四头肌的肌肉湿重。去除股四头肌肌肉群，并将股直肌(RF)、股内肌(VM)和股外肌(VL)分开并使用精度为0.01g商业天平单独称重。

[0105] 统计分析

[0106] 使用SAS中的Proc GLM(SAS for Windows 9.4,SAS Institute,Inc.,Cary,NC)分析数据。该模型使用治疗的主效果。对于实际的肌肉重量，兔子的体重被用作协变量。所报告的均值是最小二乘均值，均值的标准误差是根据主效果模型的误差项的均方来计算的。整体治疗给出的p值来自主效果模型，而其中使用最小二乘均值预测差异来比较个体均值。p值≤0.05表示有显著性，而0.05<p<0.10表示数据有向显著性的确定趋势。

[0107] 表5：对照组、肉毒杆菌素组和肉毒杆菌素+HMB组兔子的注射和对侧非注射肌肉质量的最小二乘均值。[a]

[0108]

	注射腿					对侧腿				
	对照组	肉毒杆菌素组	肉毒杆菌素+HMB组	SEM	P	对照组	肉毒杆菌素组	肉毒杆菌素+HMB组	SEM	P
股外肌	17.6	7.8	7.8	0.40	0.0001	18.1	18.0	18.9	0.31	0.45
股内肌	5.2	4.1	4.4	0.18	0.10	5.3	5.0	5.4	0.20	0.19
股直肌	9.8	6.9	5.8	0.35	0.002	10.2	10.3	11.1	0.13	0.47
小股外肌	6.1	6.5	6.9	0.16	0.17	6.1	6.3	6.7	0.16	0.37
总重量,g	38.6	25.3	24.8	0.55	0.0001	39.7	39.6	42.1	0.48	0.10

[0109] [a]每种治疗n＝5。补充HMB为以0.44％重量混合在全饲料中的β-羟基-β-甲基丁酸钙。

[0110] 结果

[0111] 用肉毒杆菌素注射导致测量的所有肌肉的肌肉尺寸减小约39％。只有小股外肌不受肉毒杆菌素注射的影响。所注射的腿的股内肌在肉毒杆菌素+HMB组中比在单独肉毒杆菌素组中大，且最小二乘均值差异的t-检验显示只有肉毒杆菌素组与对照组有显著差异(p<

0.05)。此外,所注射的腿的小股外肌在肉毒杆菌素+HMB组中有大于在对照组中的趋势(p<0.07)。肉毒杆菌素+HMB组股直肌的最小二乘均值分析有大于对照组的股直肌重量的趋势(p<0.10)。对侧腿中肉毒杆菌素+HMB组的所测量肌肉的总重量大于在单独肉毒杆菌素组中的所测量肌肉的总重量(p<0.06),并且有大于对照组中肌肉的总重量的趋势(p<0.07)。此外,受肉毒杆菌素注射影响最大的肌肉在对侧腿中肉毒杆菌素+HMB组比在肉毒杆菌素组更重(p<0.05),并有重于对照组的趋势(p<0.10)。将肌肉重量表示为体重的百分比显示出相同的效果,HMB与肉毒杆菌素组(p<0.07)和对照组(p<0.04)相比具有更大的对侧肌肉组织。

[0112] 补充HMB有助于保持肉毒杆菌素注射的兔子的肌肉质量。当与肉毒杆菌素组和对照组相比时,HMB大大增加了肉毒杆菌素+HMB组对侧腿的肌肉肥大。因此,尽管肉毒杆菌毒素性质严重,但HMB的确有助于保持并使肌肉肥大。这一观察加上案例研究证明,HMB增强从软组织创伤恢复并有助于软组织愈合。

[0113] 前述说明书和附图包括本发明的示例性实施方案。本文所述的前述实施方案和方法可基于本领域技术人员的能力、经验和偏好而变化。仅仅以某种顺序列出的方法的步骤并不构成对方法步骤顺序的任何限制。前述说明书和附图仅解释和说明本发明,并且本发明不限于此,除非权利要求有此限制。之前已获得本公开的本领域技术人员可以在不背离本发明的范围的情况下对其进行修改和变更。

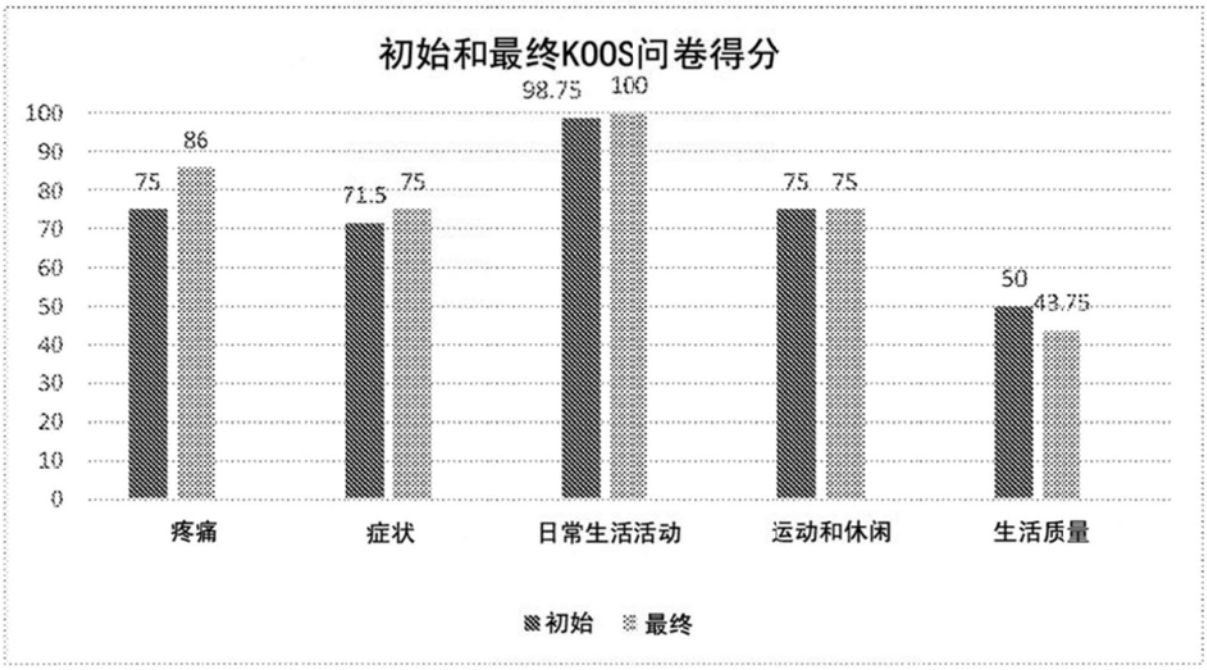

初始和最终KOOS问卷得分
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
75
86
71.5
75
98.75
100
75
75
50
43.75
疼痛
症状
日常生活活动
运动和休闲
生活质量
初始
最终

图1

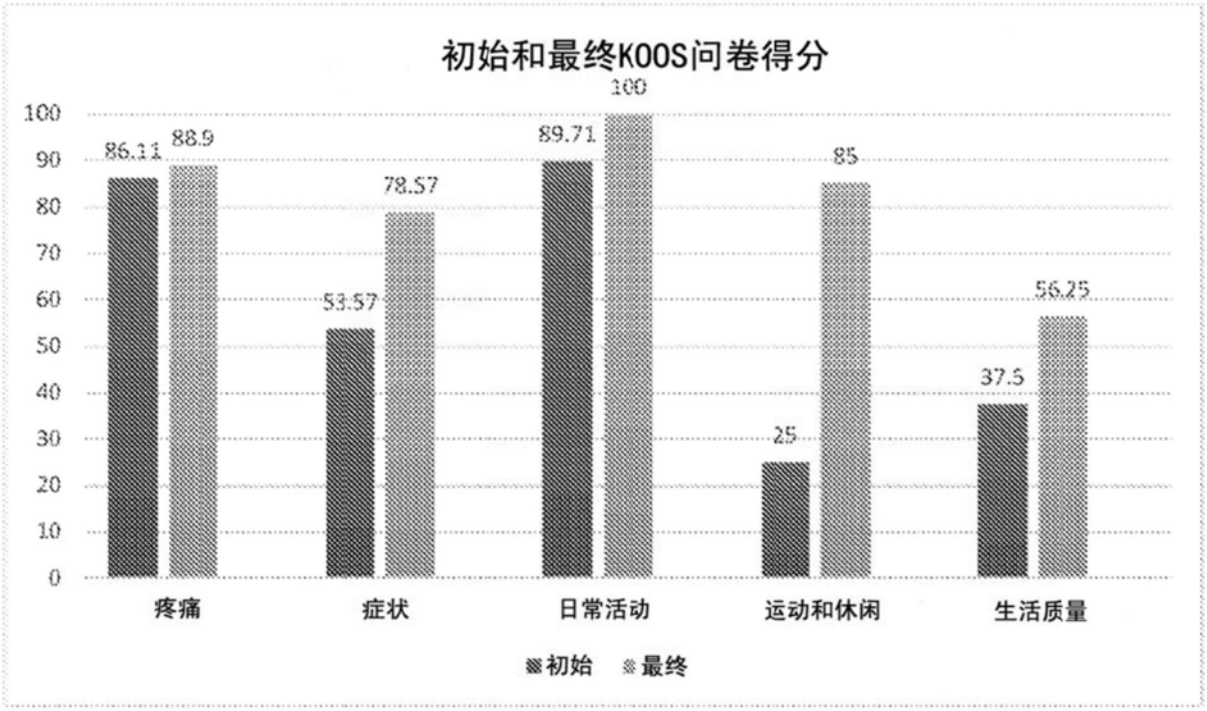

初始和最终KOOS问卷得分
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
86.11
88.9
53.57
78.57
89.71
100
25
85
37.5
56.25
疼痛
症状
日常活动
运动和休闲
生活质量
初始
最终

图2