



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102316752 B

(45) 授权公告日 2014. 12. 24

(21) 申请号 200980156861. 6

(22) 申请日 2009. 12. 17

(30) 优先权数据

12/337, 022 2008. 12. 17 US

PCT/US2008/087104 2008. 12. 17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 08. 17

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/068608 2009. 12. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/080557 EN 2010. 07. 15

(73) 专利权人 新世界医药有限责任公司

地址 美国新泽西

(72) 发明人 F·A·塞克斯顿 S·克里希南

V·K·文德拉

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

(51) Int. Cl.

A23L 1/0534 (2006. 01)

A23L 1/09 (2006. 01)

A23L 1/308 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 5795606 A, 1998. 08. 18, 第 1 栏 1, 15-16 行, 第 6 栏 45-48 行, 第 7 栏 7-10, 15-20, 60-66 行, 第 8 栏 32-36 行, 第 13 栏 64-66 行, 第 17 栏实施例 2.

US 5795606 A, 1998. 08. 18, 第 1 栏 1, 15-16 行, 第 6 栏 45-48 行, 第 7 栏 7-10, 15-20, 60-66 行, 第 8 栏 32-36 行, 第 13 栏 64-66 行, 第 17 栏实施例 2.

EP 1304044 A2, 2003. 04. 23, 说明书第 1 段.

US 4857331, 1989. 08. 15, 全文.

审查员 李辛晨

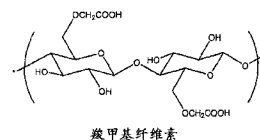
权利要求书2页 说明书63页 附图18页

(54) 发明名称

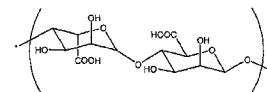
营养物的体内持续释放

(57) 摘要

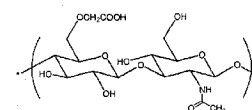
在体内以时间受控方式、在长的时间期限内可持续递送的营养组合物提供了增强的运动行为表现、增加的手/眼协调和对手边工作的注意力集中。



羧甲基纤维素



海藻酸



透明质酸

1. 用于体内消耗的组合物,其包含水性混悬液,所述水性混悬液包含:

(a) 营养补充剂;和

(b) 封装 (a) 的一种或多种营养补充剂的一种或多种水凝胶颗粒,其中所述一种或多种水凝胶颗粒:

(i) 为纳米颗粒或微粒,其中所述微粒具有 1 毫米至 1 微米的直径;

(ii) 包含一种或多种化合物,所述化合物是交联的,并且在体内以时间受控和持续的方式释放被封装的一种或多种营养补充剂;

(iii) 是 pH- 响应性的,其中所述一种或多种水凝胶颗粒在酸性胃环境中不溶胀,但在进入小肠后溶胀;和

(iv) 是温度响应性的,其中所述水凝胶颗粒的一种或多种化合物在水溶液中具有较低临界溶液温度,

其中该组合物的一种或多种营养补充剂的释放和吸收动力学不同于不使用用于营养补充剂的体内时间受控的和持续的释放的化合物的组合物。

2. 权利要求 1 的组合物,其中碳水化合物释放和吸收动力学包括血糖浓度的改变。

3. 权利要求 1 的组合物,其中水凝胶包含多糖。

4. 权利要求 3 的组合物,其中多糖选自:热响应性多糖、疏水改性多糖、pH 响应性多糖及其组合。

5. 权利要求 4 的组合物,其中多糖是羟丙基纤维素。

6. 权利要求 4 的组合物,其中多糖是海藻酸钠。

7. 权利要求 1 的组合物,其中该组合物,与等体积的不使用用于营养补充剂的体内时间受控的和持续的释放的化合物的组合物相比,可以在休息过程中在更长的持续时间内维持高于禁食状态水平的血糖浓度。

8. 权利要求 1 的组合物,其中该组合物,与等体积的不使用用于营养补充剂的体内时间受控的和持续的释放的化合物的组合物相比,可以在低-、中-或高强度运动过程中在更长的持续时间内维持高于禁食状态水平的血糖浓度。

9. 权利要求 1 的组合物,其中与体内给予不使用用于营养补充剂的时间受控的和持续的释放的化合物的组合物相比,体内给予该组合物导致较低的胰岛素响应。

10. 权利要求 1 的组合物,其中与体内给予不使用用于营养补充剂的时间受控的和持续的释放的化合物的组合物相比,体内给予该组合物导致增加的脂肪贮存利用。

11. 权利要求 1 的组合物,其中营养补充剂选自:碳水化合物、氨基酸、脂质、电解质和维生素。

12. 权利要求 11 的组合物,其中电解质选自:钠、钾、镁、氯化物、钙、碳酸氢盐、磷酸盐和硫酸盐。

13. 制备用于一种或多种营养补充剂的体内时间受控的和持续的释放的颗粒的方法,包括:

(a) 将羟丙基纤维素 (HPC) 溶液加热至高于较低临界溶液温度;

(b) 交联 HPC 的聚合物链以得到微粒水凝胶;

(c) 给微粒水凝胶装载一种或多种碳水化合物;和

(d) 用 pH- 响应性多糖涂敷微粒水凝胶,

其中颗粒导致对分配系数和相关颗粒释放和吸收动力学进行控制。

14. 权利要求 13 的方法,其中 (c) 中的一种或多种碳水化合物选自:单糖、二糖、多糖及其组合。

15. 权利要求 14 的方法,其中所述一种或多种碳水化合物选自:葡萄糖、果糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、聚葡萄糖、糊精、玉米糖浆固体、淀粉及其组合。

16. 权利要求 13 的方法,其中聚合物链与三偏磷酸三钠 (TSTMP) 交联。

17. 权利要求 13 的方法,其中分配系数和相关颗粒释放和吸收动力学包括,在酸性 pH 下用于颗粒内 (c) 的一种或多种碳水化合物分子的扩散屏障。

18. 权利要求 17 的方法,其中酸性 pH 低于 pH3.8。

19. 权利要求 13 的方法,其中 (d) 中的 pH- 响应性多糖为海藻酸钠。

20. 用于体内消耗的组合物,其包含水性混悬液,所述水性混悬液包含:

(a) 一种或多种碳水化合物;和

(b) 封装 (a) 的一种或多种碳水化合物的一种或多种水凝胶颗粒,其中所述一种或多种水凝胶颗粒:

(i) 为纳米颗粒或微粒,其中所述微粒具有 1 毫米至 1 微米的直径;

(ii) 包含一种或多种化合物,所述化合物是交联的,并且在体内以时间受控和持续的方式释放被封装的一种或多种碳水化合物;

(iii) 是 pH- 响应性的,其中所述一种或多种水凝胶颗粒在酸性胃环境中不溶胀,但在进入小肠后溶胀;和

(iv) 是温度响应性的,其中所述水凝胶颗粒的一种或多种化合物在水溶液中具有较低临界溶液温度。

21. 权利要求 20 的组合物,其中水凝胶颗粒螯合碳水化合物。

22. 权利要求 21 的组合物,其中碳水化合物以由碳水化合物在水凝胶颗粒内部扩散所确定的速率从水凝胶颗粒中释放。

23. 权利要求 20 的组合物,其中水凝胶颗粒包含多糖。

24. 权利要求 23 的组合物,其中多糖选自:热响应性多糖、疏水改性多糖、pH 响应性多糖及其组合。

25. 权利要求 24 的组合物,其中多糖是羟丙基纤维素。

26. 权利要求 24 的组合物,其中多糖是海藻酸钠。

27. 权利要求 20 的组合物,其中所述一种或多种水凝胶颗粒包含其为 pH- 响应性多糖的聚合物。

28. 权利要求 20 的组合物,其中碳水化合物具有高升胰岛素指数。

营养物的体内持续释放

[0001] 引入的参考文献

[0002] 本申请要求 2008 年 12 月 17 日提交的国际申请 No. PCT/US2008/087104 和 2008 年 12 月 17 日提交的美国申请系列 No. 12/337, 022 的优先权, 这两篇文献要求 2007 年 12 月 17 日提交的美国临时专利申请系列 No. 61/014, 251 的优先权利益。

[0003] 将上述申请和其中或在其实施过程中引述的全部文件(“申请引述的文件”)和在申请引述的文件中引述或参考的全部文件和本文引述或参考的全部文件(“本文引述的文件”)和本文引述的文件中引述或参考的全部文件, 以及本文或本文引入的任意文件中提及的任意制造商的说明书、描述、产品说明书和任意产品的产品插页通过引用并入本文, 并且其可以用于本发明的实施中。

发明领域

[0004] 本发明涉及通过提供营养物包括碳水化合物、氨基酸和电解质的适当择时释放和吸收增加来提高运动员表现行为的组合物。

[0005] 发明背景

[0006] 当代对体育运动涉及的营养需求的理解表明, 碳水化合物消耗在改善运动员耐力和行为方面起关键作用。由于在上世纪 60 年代中期开始进口 **Gatorade®** 和其他类似的运动饮料, 所以对各种营养物对运动事件中的人行为的作用的理解给予了更多关注。

[0007] 许多人已经研究了身体吸收和加工碳水化合物和其他营养物的能力(用于最大行为输出)。在 2003 年, 国际奥林匹克运动营养委员会提出了一个具体的说明, 即在竞赛前的数天内高碳水化合物膳食有助于提高运动表现行为, 特别是在训练持续约 60min 以上时, 且运动员应有目的地进行满足其训练规划的燃料需求的碳水化合物摄取, 并且在训练期间与竞赛之间的恢复过程中充分替代其碳水化合物贮存。然而, 这是一个困难的任務, 尤其是对这样的运动员而言, 其在训练中需要持续提供碳水化合物和其他营养物, 而没有摄取大量或少量食物的缺陷、但以更有规则的间隔, 以便满足维持增强的运动行为所必需的膳食需求。

[0008] 因此, 本领域需要提供碳水化合物和其他营养物的持续和受控供应(给个体)而无需摄取过量食物和零食。

[0009] 本申请中对任意文件的引述或确定并非承认, 此类文件是针对本发明的现有技术可得到的。

[0010] 发明概述

[0011] 发明人已经发现, 用于体内给予的组合物与常规食品例如 **GATORADE®** 相比, 令人意外地提供升高和延长的升胰岛素响应。本发明基于可以通过提供营养补充剂(例如碳水化合物和电解质)的受控释放来改善运动行为表现这一推定。

[0012] 本发明涉及包含营养补充剂(例如碳水化合物、氨基酸、维生素和/或电解质)的组合物, 其在对人体给予时在延长的时间期限内提供营养补充剂的持续释放。优选, 可以以持续和延长的方式递送营养补充剂, 用于峰值运动行为表现和恢复。例如, 组合物可释放营

养补充剂,使得外源性碳水化合物的吸收和氧化速率在运动过程中得以增加。根据一个实施方案,组合物释放营养补充剂,使得 SGLT1 和 GLUT-5 转运蛋白被外源性碳水化合物的饱和和在运动过程中得以维持。

[0013] 在一个优选的实施方案中,用于体内消耗的组合物可以包含营养补充剂和用于营养补充剂的体内持续释放的化合物。优选,营养补充剂可以包含碳水化合物、氨基酸、维生素和电解质。

[0014] 在另一个优选的实施方案中,用于营养补充剂的持续释放的化合物可以包含一种或多种选自生物可降解的聚合物、生物粘附剂、纳米颗粒、胶体混悬液和粘合剂的成分。

[0015] 根据一个实施方案,生物可降解聚合物和粘合剂可以选自聚(丙交酯)、聚(乙交酯)、聚(丙交酯-共-乙交酯)、聚(乳酸)、聚(羟乙酸)、聚(乳酸-共-羟乙酸)、聚己酸内酯、聚碳酸酯、聚酯酰胺、聚酐、聚(氨基酸)、聚原酸酯、聚缩醛(polyacetals)、聚腈基丙烯酸酯、聚醚酯、聚(二噁烷酮)、聚(烯烷基烷基化物)、聚乙二醇和聚原酸酯的共聚物、生物可降解聚氨基甲酸酯、水凝胶、其掺合物和共聚物。

[0016] 在一个有利的实施方案中,本发明包括包含水凝胶的纳米颗粒和微粒。有利地,水凝胶可以包含经修饰的多糖。多糖可以包含修饰,其使用化学基团,例如羧酸(如在羧甲基纤维素[CAS no. 9000-11-7]、羟基乙酸淀粉[CAS no. 9057-06-1]等中)、丙烯酰基或甲基丙烯酰基(如在淀粉丙烯酸酯[CAS no. 39316-65-9]、羟丙基纤维素丙烯酸酯[CAS no. 94187-94-7]、羟乙基淀粉丙烯酸酯等中)、羟基烷基(如在羟丙基纤维素[CAS no. 9004-64-2]、羟乙基淀粉[CAS no. 9005-27-0]、羟乙基纤维素[CAS no. 9004-62-0]等中)和酯(如在醋酸淀粉、磷酸淀粉等中)。修饰的淀粉还可以包含接枝的脂肪酸部分(如在淀粉己二酸酯[CAS no. 39347-22-3]等中)、寡(烯基氧化物)接枝物(如在羟丙基纤维素等中)、接枝的疏水物例如胆固醇、接枝的两亲化合物例如烯基琥珀酸酯(如在1-辛烯基琥珀酸酐修饰的淀粉等中)或引入醛基或羧基的侧链衍生物。

[0017] 在另一个有利的实施方案中,本发明还可以包含交联本发明的微粒和纳米颗粒以形成水凝胶的方法。可以使用自由基引发剂例如过硫酸盐或包含抗坏血酸的氧化还原系统或天然存在的交联剂例如京尼平进行交联。还可以使用离子交联,例如使用阴离子多糖例如胶凝糖。

[0018] 在另一个有利的实施方案中,本发明还可以包括水凝胶的制备。在一个有利的实施方案中,疏水修饰的多糖例如但不限于羟丙基纤维素和包含羧基的多糖例如但不限于海藻酸盐或羧甲基纤维素的掺合物可以用于制备本发明的水凝胶颗粒。在另一个有利的实施方案中,可以通过自我装配壳聚糖和羧甲基纤维素水解物,合成纳米颗粒混悬液,其中可以分别用壳聚糖酶和纤维素酶水解聚合物。

[0019] 在另一个实施方案中,可以由下列的混合物制备水凝胶:酸性多糖例如、但不限于海藻酸盐和碱性多糖例如、但不限于壳聚糖的寡糖衍生物;碱性多糖例如、但不限于壳聚糖和阴离子多糖例如、但不限于透明质酸;海藻酸盐和与壳聚糖掺合的氧化海藻酸盐;接枝琼脂和海藻酸钠与丙烯酰胺的掺合物;与小核菌葡萄聚糖共交联的胶凝糖;光交联的经修饰的葡聚糖;与甲基丙烯酸缩水甘油酯反应的淀粉;或可聚合的糖单体例如蔗糖,其通过糖与环氧丙烯酸酯,或甲基丙烯酰氯与乙酰氯的反应生成。可以使用聚合物自我装配(温度、pH 或离子强度诱导的沉淀;胶束形成;因带相反电荷的聚合物之间的静电相互作用导

致的胶体沉淀)或常规的基于乳化的方法制备纳米颗粒和微粒水凝胶。

[0020] 在另一个优选的实施方案中,与运动前和过程中无营养补充剂摄入的对照相比,营养补充剂在体内以持续方式和以有效增加运动持续时间和累积能量输出潜能至少约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%的浓度释放。

[0021] 在另一个优选的实施方案中,与运动前和过程中无营养补充剂摄入的对照相比,营养补充剂在体内以持续方式和以有效增加爆发能量持续时间和能量输出约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%的浓度释放。

[0022] 在另一个优选的实施方案中,与运动前和过程中无营养补充剂摄入的对照相比,营养补充剂在体内以持续方式和以有效增加爆发能量持续时间和能量输出达约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%的浓度释放。

[0023] 在另一个优选的实施方案中,与运动前和过程中无营养补充剂摄入的对照相比,营养补充剂在体内以持续方式和以有效增加有效爆发事件次数至少约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%的浓度释放。

[0024] 在另一个优选的实施方案中,与运动前和过程中无营养补充剂摄入的对照相比,营养补充剂在体内以持续方式和以有效减少爆发事件之间恢复时间的持续时间至少约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%的浓度释放。

[0025] 在另一个优选的实施方案中,与使用商购的增强行为表现的饮料时的表现行为相比,营养补充剂在体内以持续方式和以这样的浓度释放,所述浓度有效增加连续运动能量输出(瓦)达约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%,有利地约 50%(以约 VO_2 62%进行 90 分钟)和不低于约 25%的增加(在高强度(爆发)运动中,约 VO_2 86%,在 90min 连续运动后的能量输出和持续时间),并且增加有效“爆发”次数约 100%。

[0026] 在另一个优选的实施方案中,与在运动前和过程中不使用营养补充剂摄入的对照相比,用于营养补充剂的持续释放的化合物在体内以有效的量和浓度在延长的时间期限内释放营养补充剂,从而将运动持续时间和累积能量输出潜能增加约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500%或约 500% - 约 1000%,有利地至少约 10% - 约 70%,将爆发能量持续时间和能量输出增加至少约 10% - 约 70%,将有效爆发事件的次数增加约 10%至 100%,将爆发事件之间的恢复时间的持续时间减少至少约 10% - 约 100%。

[0027] 在另一个优选的实施方案中,与在运动前和过程中不使用营养补充剂摄入的对照相比,用于营养补充剂的持续释放的化合物在体内以有效的量和浓度在延长的时间期限内释放营养补充剂,从而将爆发事件之间的恢复时间的持续时间减少至少约 2%、约 5%、约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%或约 100%。

[0028] 在另一个优选的实施方案中,与使用商购的增强行为表现的饮料时的表现行为相比,用于营养补充剂的持续释放的化合物在体内以有效的量和浓度在延长的时间期限内释放营养补充剂,从而将连续运动能量输出(瓦)增加约 2%、约 5%、约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%或约 100%,有利地约 50%(以约 VO_2 62%进行 90 分钟)和不低于约 25%的增加(在高强度(爆发)运动中,约 VO_2 86%,在 90min 连续运动后的能量输出和持续时间),并且将有效爆发次数增加至少约 100%。

[0029] 在另一个优选的实施方案中,将所述的组合物配制成饮料、口香糖、零食、粉末或

任意其他消耗品。

[0030] 在另一个优选的实施方案中,改善运动表现行为和耐力的方法包括:对个体给予包含营养补充剂和用于营养补充剂体内持续释放的化合物的组合物,其中营养补充剂包含碳水化合物、氨基酸、维生素和电解质;和消耗该组合物,其中与运动前和过程中不使用营养补充剂摄入的对照相比,用于营养补充剂体内持续释放的化合物以有效的量和浓度在延长的时间期限内释放营养补充剂,从而将运动持续时间和累积能量输出潜能增加至少约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500% 或约 500% - 约 1000% 约 10% - 约 70%,将爆发能量持续时间和能量输出增加至少约 10% - 约 70%,将有效爆发事件的次数增加约 10% 至 100%,将爆发事件之间的恢复时间的持续时间减少至少约 10 - 约 100%。

[0031] 在另一个优选的实施方案中,用于体内消耗的组合物包含一种或多种营养补充剂和用于营养补充剂在体内时间受控和持续释放的化合物,其中该组合物的碳水化合物释放和吸收动力学不同于不含用于营养补充剂体内时间受控和持续释放的化合物的组合物。在一些实施方案中,碳水化合物释放和吸收动力学包括血糖浓度的改变。在一个优选的实施方案中,组合物包含水凝胶。在优选的实施方案中,营养补充剂选自:碳水化合物、氨基酸、脂质、电解质和维生素。电解质的实例包括钠、钾、镁、氯化物、钙、碳酸氢盐、磷酸盐和硫酸盐。

[0032] 在另一个优选的实施方案中,制备用于营养补充剂体内时间受控和持续释放的颗粒的方法包括:(a) 加热羟丙基纤维素(HPC)溶液至高于较低临界溶液温度(critical solution temperature);(b) 交联聚合物链以得到微粒水凝胶;和(c) 给微粒水凝胶装载一种或多种碳水化合物,其中颗粒导致对分配系数和相关颗粒释放和吸收动力学的控制。在一些实施方案中,(c)中的一种或多种碳水化合物选自单糖、二糖、多糖及其组合。适合的碳水化合物的实例包括葡萄糖、果糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、聚葡萄糖、糊精、玉米糖浆固体、淀粉及其组合。在一些实施方案中,聚合物链与三偏磷酸三钠(TSTMP)交联。在一些实施方案中,分配系数和相关颗粒释放和吸收动力学包括在酸性 pH 下颗粒内(c)的一种或多种碳水化合物分子的扩散屏障。在一些实施方案中,酸性 pH 低于 pH 3.8。

[0033] 在另一个优选的实施方案中,本发明的组合物包含水凝胶,其中水凝胶包含多糖。在一些实施方案中,多糖选自热响应性多糖、疏水修饰的多糖、pH 响应性多糖及其组合。适合的多糖的实例包括羟丙基纤维素和海藻酸钠。

[0034] 在另一个优选的实施方案中,用于体内消耗的组合物包含一种或多种碳水化合物;和用于碳水化合物体内时间受控和持续释放的化合物。在一个优选的实施方案中,组合物包含水凝胶颗粒。在另一个优选的实施方案中,水凝胶颗粒螯合碳水化合物。在另一个实施方案中,碳水化合物通过由碳水化合物在水凝胶颗粒内部扩散所确定的速率从水凝胶颗粒中释放。在一个优选的实施方案中,水凝胶颗粒包含多糖。适合的多糖的实例包括热响应性多糖、疏水修饰的多糖和 pH 响应性多糖及其组合。在一个具体的实施方案中,多糖是羟丙基纤维素。在另一个实施方案中,多糖是海藻酸钠。在一些实施方案中,碳水化合物具有高升胰岛素指数。

[0035] 在另一个优选的实施方案中,用聚合物涂敷本发明的水凝胶颗粒。在一些实施方案中,聚合物是 pH- 响应性多糖。

[0036] 在另一个优选的实施方案中,本发明的组合物,与等体积的不使用用于营养补充

剂的体内时间受控和持续释放的化合物的组合物相比,可以在休息过程中在更长的持续时间内维持高于禁食状态水平的血糖浓度。

[0037] 在另一个优选的实施方案中,本发明的组合物,与等体积的不使用用于营养补充剂的体内时间受控和持续释放的化合物的组合物相比,可以在低-、中-或高强度运动过程中在更长的持续时间内维持高于禁食状态水平的血糖浓度。

[0038] 在另一个优选的实施方案中,与体内给予不使用用于营养补充剂的时间受控和持续释放的化合物的组合物相比,体内给予本发明的组合物导致较低的胰岛素响应。

[0039] 在另一个优选的实施方案中,与体内给予不使用用于营养补充剂的时间受控和持续释放的化合物的组合物相比,体内给予本发明的组合物导致增加的脂肪贮存利用。

[0040] 注意,在本说明书中且特别是在权利要求和/或段落中,术语例如“包含”、“含有”、“包括”等可以具有美国专利法赋予它的含义;例如它们可以指“包括”、“包含”、“含有”等;且术语例如“主要由...组成”和“基本上由...组成”具有美国专利法赋予它的含义,例如它们允许未明确描述的要素,但不包括现有技术中发现的或影响本发明的基本或新特征的要素。

[0041] 这些和其他实施方案由下列详细描述公开,或根据下列详细描述是显而易见的并且包括在其中。

[0042] 附图简述

[0043] 作为实例给出、但不意欲将本发明限于所述具体实施方案的下列详细描述可以结合附图得到最好的理解,其中:

[0044] 图1描述了包含羧酸基团的多糖;

[0045] 图2描述了氧化的小核菌葡萄聚糖衍生物;

[0046] 图3描述了 Passerini 和 Ugi 多成分缩合反应;

[0047] 图4描述了京尼平 (genipin) 的结构;

[0048] 图5描述了角叉菜胶的结构;

[0049] 图6描述了乙烯基-官能化的葡聚糖;

[0050] 图7描述了因 (a) 转酯化和 (b) 环氧基开环而产生的淀粉的甲基丙烯酸缩水甘油酯加合物;

[0051] 图8A和8B描述了包含羟基的多糖的交联。P表示多糖区段;

[0052] 图9描述了交联的羟丙基纤维素大粒凝胶和羟丙基纤维素微凝胶颗粒在水中的胶体稳定的分散体;

[0053] 图10描述了使用 TSTMP 在氢氧化钠的存在下交联包含羟基的多糖;

[0054] 图11描述了丙烯酸化羟丙基纤维素的合成;

[0055] 图12描述了羟丙基纤维素的化学结构;

[0056] 图13描述了使用 TSTMP 的化学交联;pH = 11.5;T = 50°C;1h;R表示多糖链;

[0057] 图14描述了葡萄糖的酶测定;

[0058] 图15A-15C描述了 (A) 4.4% (w/v) HPC 分散体中的数字加权 (number-weighted) 粒度分布;(B) 4.4% (w/v) HPC 分散体中质量加权 (mass-weighted) 粒度分布和 (C) 交联的 HPC 微粒的扫描电子显微镜检查影像。

[0059] 图16描述了通过 HPC 颗粒和通过扩散池的膜的葡萄糖转运的动力学;实施例 2.1

的 HPC 分散体 ;和具有与 HPC 分散体 (8.7% w/w) 相同的总葡萄糖浓度的葡萄糖溶液 (无 HPC 颗粒) ;pH = 7 ;T = 28°C。

[0060] 图 17 描述了通过 HPC 颗粒和通过扩散池的膜的葡萄糖转运动力学 :实施例 2.9 的包含作为 pH- 响应扩散屏障的海藻酸钠的 HPC 分散体 ;和通过用蒸馏水 1 : 1 稀释该分散体而制备的分散体 ;pH = 3.8 ;T = 28°C。

[0061] 图 18 描述了通过 HPC 颗粒和通过扩散池的膜的葡萄糖转运动力学 :实施例 2.1 的 HPC 分散体 ;和具有与 HPC 分散体 (8.7% w/w) 相同的总葡萄糖浓度的葡萄糖溶液 (无 HPC 颗粒) ;pH = 7 ;T = 37°C。

[0062] 图 19 描述了通过 HPC 颗粒和通过扩散池的膜的葡萄糖转运动力学 :实施例 2.4 的 HPC 分散体 ;和具有与 HPC 分散体 (8.7% w/w) 相同的总葡萄糖浓度的葡萄糖溶液 (无 HPC 颗粒) ;pH = 2 ;T = 37°C。

[0063] 图 20 描述了 pH 对通过 HPC 颗粒和通过扩散池的膜的葡萄糖转运动力学的影响 :实施例 2.12 的包含作为 pH- 响应扩散屏障的海藻酸钠的 HPC 分散体 ;pH = 7、3.8 和 2 ;T = 28°C。

[0064] 图 21A 和 21B 描述了 (A) 消耗 380mL 实施例 2.4 的分散体和 380mL **GATORADE®** 对照后的血糖浓度与时间的关系和 (B) 相对于禁食状态血糖浓度的标准化血糖浓度曲线。受试者在本实验过程中保持就座于椅子上。

[0065] 图 22 描述了消耗 380mL 实施例 2.5 的分散体和 380mL **GATORADE®** 对照后的标准化血糖浓度与时间的关系。受试者在本实验过程中保持就座于椅子上。

[0066] 图 23 描述了消耗实施例 2.5 的两种不同的分散体后的标准化血糖浓度与时间的关系。第一种分散体包含纯葡萄糖,而第二种分散体包含 1 : 3 质量比的葡萄糖与果糖。在这两种分散体中的总糖浓度相同。受试者在本实验过程中保持就座于椅子上。

[0067] 图 24 描述了消耗 450g 实施例 2.7 的分散体和 450g 10wt% 葡萄糖的蒸馏水溶液后的标准化血糖浓度与时间的关系。受试者在本实验过程中保持就座于椅子上。

[0068] 图 25 描述了消耗 450g 实施例 2.7 的分散体后的标准化血糖浓度与时间的关系 :所述分散体作为 (a) 推注剂量 ;和 (b) 三个等分,其各自重 150g。所述等分在 t = 0、39 和 69min 时消耗。受试者在本实验过程中保持就座于椅子上。

[0069] 图 26 描述了消耗 380mL 下述物质后的标准化血糖浓度与时间的关系 :(a) 三个等分的实施例 2.7 的分散体 ;和 (b) 三个等分的**GATORADE®**。受试者在本实验过程中保持就座于椅子上。

[0070] 图 27 描述了在踏车上进行连续中等强度的运动(~60 % V_{O_2max})前消耗 380mL 实施例 2.4 的 HPC 分散体的效果。添加了葡萄糖和水的**GATORADE®**分别用作阳性对照和阴性对照。

[0071] 图 28 描述了血糖浓度曲线的定量分析中使用的参数。

[0072] 详细描述

[0073] 尽管在下文中详细讨论了本发明的不同实施方案的制备和应用,但是应理解本发明提供许多可适用的发明构思,其可以在各种具体环境中实施。本文所述的具体实施方案仅是制备和使用本发明的具体方式的示例,且不限本发明的范围或所附权利要求的范围。

[0074] 根据一个实施方案,本发明的组合物给个体提供碳水化合物和任选的其他营养物在延长的时间期限内的持续释放。优选,碳水化合物以维持最大碳水化合物吸收和氧化速率的方式从组合物中释放延长的时间期限。一般而言,个体中的最大碳水化合物吸收速率为约 1.2- 约 1.7g/min。例如,当将碳水化合物作为葡萄糖 (1.2g/min) 和果糖 (0.8g/min) 的掺合物给予时,可以实现约 1.75g/min 的峰值碳水化合物氧化速率。例如,参见 Azevedo, J. L. Jr. ;Tietz, E. ;Two-Feathers, T. ;Paull, J. ;Chapman, K. Lactate, Fructose and Glucose Oxidation Profiles in Sports Drinks and the Effect on Exercise Performance. PLoS ONE[Online]2007,2, pp e927-e927 (doi :10.1371/journal.pone.0000927),关于代表性的碳水化合物氧化特征。

[0075] 外源性碳水化合物吸收速率和程度不仅受限于可利用的碳水化合物的量,而且受限于葡萄糖和果糖的最大肠转运能力。葡萄糖的肠转运由位于刷状缘膜上的钠依赖性葡萄糖转运蛋白 (SGLT1) 介导。SGLT1 转运蛋白可以在 ~ 1g/min 的葡萄糖摄入速率下变饱和。另一方面,果糖通过 GLUT-5,即钠 - 不依赖性促进性果糖转运蛋白从肠中吸收。一般而言,具有不同吸收入血流的转运机制的碳水化合物的混合物的摄入同时增加碳水化合物和水的吸收。

[0076] 申请人已经估计了一些活动水平所需的卡路里的数量,如表 1 中所示。基于重量标准化的卡路里燃烧速率 (kcal/ 分钟活动 / 个体单位体重) 和葡萄糖卡路里含量 (~ 4kcal/g) 估计能量需求量。从外源性葡萄糖氧化得到的能量约为 396kcal。正如从表 1 中观察到的,该能量不足以满足所列出的活动的总能量需求量。本发明探求使用控释营养物制剂减少卡路里差。

[0077] 表 1 :基于活动水平的能量需求量

[0078]

	足球 竞赛	跑步 (8.5 min/英里)	跑步 (12 min/英里)	外部建 筑工作
卡路里燃烧速率 (kcal min ⁻¹ lb ⁻¹)	0.0757	0.0871	0.0606	0.0417
所需的总能量* (kcal)	1022	1176	818	563
所需的葡萄糖氧化速率 § (g min ⁻¹ lb ⁻¹)	0.0189	0.0218	0.0151	0.0104
所需的总葡萄糖* (g)	256	294	204	141
氧化的外源性葡萄糖# (g)	99	99	99	99
差 (g)	157	195	105	42
从外源性葡萄糖得到的能 量 (kcal)	396	396	396	396
卡路里差 (kcal)	627	780	422	167

[0079] * 基于 150-lb 个体和 90-min 活动。

[0080] § 维持第 1 行中所报道的卡路里燃烧速率所需的葡萄糖氧化速率。使用 1g 纯葡萄糖产生约 4kcal 能量的事实来估计数值。

[0081] # 基于 ~ 1.1g/min 的外源性葡萄糖氧化速率,其根据葡萄糖通过肠上皮的转运速率 (从肠腔至血流中) 来确定。

[0082] 本文所用的术语“持续释放”(即延长的释放和/或受控释放)意指营养补充剂,例如碳水化合物等的递送系统或组合物被导入人体,并在预先确定的时间期限内和以在整个该预先确定的时间期限内足以达到期望效果的水平连续释放一种或多种营养物的流。连续释放流意欲包括这样的释放,其作为成分从基质中的受扩散限制的释放,或组合物或基质或其成分的体内生物降解的结果,或作为添加的营养物或其他期望的试剂的代谢转化或溶解的结果而发生。可以通过将营养物俘获在具有粘膜粘着表面特征的颗粒载体内实现延迟释放。加载营养物的颗粒与肠粘膜的粘附将增加颗粒在肠腔内部的保留时间,由此提供营养物通过上皮进入血液的连续释放和转运,从而超过不粘附的组合物在胃肠道内部的正常保留时间。

[0083] 在一个优选的实施方案中,营养补充剂组合物是溶液、混悬液、凝胶胶囊、粉末、零食(例如小吃)形式、格兰诺拉麦片(granola)形式或片剂形式。营养物的“递送”包括,例如将营养物单独或以组合方式混悬于持续释放的颗粒微粒;以不同亲和力结合营养物的化合物等。根据一个实施方案,个体所消耗的必需体积约为 500mL(当是液体形式时),然而,还涉及增加和或降低浓度和量的制剂。

[0084] 营养物的实例包括、但不限于碳水化合物、蛋白质、氨基酸、维生素、辅酶、磷脂、矿物质和电解质。可以使用本发明递送的维生素和辅酶的实例包括、但不限于水溶性或脂溶

性维生素,例如硫胺、核黄素、烟酸、吡多辛、泛酸、生物素、黄素、胆碱、肌醇和对氨基苯甲酸、肉碱、维生素 C、维生素 D 及其类似物(例如麦角钙化醇、骨化三醇、度骨化醇和帕立骨化醇)、维生素 A 和类胡萝卜素、视黄酸、维生素 E 和维生素 K。

[0085] 在一个优选的实施方案中,营养组合物包含被不同受体例如 SGLT 和 GLUT 受体吸收的碳水化合物。适合的碳水化合物包括、但不限于单-、二-和多糖,例如葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和更复杂的可食用的碳水化合物,例如麦芽糖糊精。根据一个优选的实施方案,组合物包括葡萄糖和果糖的掺合物。葡萄糖与果糖的重量比优选在约 1 : 1-约 100 : 1、约 5 : 1-约 95 : 1、约 10 : 1-约 90 : 1、约 15 : 1-约 85 : 1、约 20 : 1-约 80 : 1、约 25 : 1-约 75 : 1、约 30 : 1-约 70 : 1、约 35 : 1-约 65 : 1、约 40 : 1-约 60 : 1、约 45 : 1-约 55 : 1 或约 50 : 1 的范围内。优选组合物包括约 0.1-约 99.9wt. %、约 1-约 99wt. %、约 5-约 95wt. %、约 10-约 90wt. %、约 15-约 85wt. %、约 20-约 80wt. %、约 25-约 75wt. %、约 30-约 70wt. % 的碳水化合物,约 35-约 65wt. %、约 40-约 60wt. %、约 45-约 55wt. % 或约 50wt. %,其基于组合物的 100%干物质计算。

[0086] 在另一个优选的实施方案中,组合物包括氨基酸。氨基酸可以是游离氨基酸或肽的形式,且优选的存在量的范围为约 0.1-约 99.9wt. %、约 1-约 99wt. %、约 5-约 95wt. %、约 10-约 90wt. %、约 15-约 85wt. %、约 20-约 80wt. %、约 25-约 75wt. %、约 30-约 70wt. % 的碳水化合物,约 35-约 65wt. %、约 40-约 60wt. %、约 45-约 55wt. % 或约 50wt. %,其基于组合物的 100%干物质计算。

[0087] 肽物质可以衍生自动物或植物来源的蛋白质,且这种蛋白质的实例是乳蛋白、肉蛋白、大豆蛋白、小麦蛋白、豌豆蛋白、稻米蛋白和玉米蛋白。优选蛋白质原料是小麦谷蛋白或其亚级分,例如麦醇溶蛋白。在本发明的上下文中,术语“肽物质”被理解为表示蛋白质水解物且可以包含所有类型的可以在长度上改变的肽和一定量的因水解产生的游离氨基酸。蛋白质原料被一种或多种水解酶所水解。水解酶可以是动物、植物、酵母、细菌或真菌来源的。优选使用具有低外肽酶活性的酶制品,以使游离氨基酸的释放最小化和改善蛋白质水解物的味道特性。本发明的优选水解蛋白质物质具有 1-40 个氨基酸残基且更优选 1-20 个氨基酸残基的平均肽链长度。可以使用 WO 96/26266 中所述的方法测定平均肽链。此外,肽物质的存在量约为 0.1-90wt. %,其基于组合物的干物质计算。

[0088] 本发明组合物的其他任选成分是维生素、矿物质、电解质、矫味剂、抗氧化剂、具有辅酶和抗氧化剂特性的成分、脂质包括乳化剂、和用于满足特定营养和 / 或生理需求的蛋白质。

[0089] 碳水化合物例如葡萄糖、果糖等及其组合可以在本发明组合物中以任意期望的量存在,例如组合物的约 1-20wt. %,例如组合物的 1wt. %、2wt. %、3wt. %、4wt. %、5wt. %、6wt. %、7wt. %、8wt. %、9wt. %、10wt. %、11wt. %、12wt. %、13wt. %、14wt. %、15wt. %、16wt. %、17wt. %、18wt. %、19wt. %,或 20wt. %。还有,20-25wt. %、25-30wt. %、30-35wt. %、35-40wt. %、40-45wt. %、45-50wt. % 和 50wt. % 以上。

[0090] 本发明组合物的其他任选成分包括防腐剂;着色剂,例如 F. D. & C. 染料和色淀;矫味剂;和甜味剂。适合的防腐剂包括,例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠和山梨酸钾,且在本发明组合物中可以以这样的量存在,例如组合物的约 0.0001wt. %、约 0.001wt. %、约 0.005wt. %、约 0.01wt. %、约 0.02wt. %、约 0.03wt. %、约 0.04wt. %、约

0.05wt. %、约 0.1wt. %、约 0.5wt. % 或 0.5wt. % 以上。

[0091] 在另一个优选的实施方案中,营养组合物包含粘合剂和 / 或生物可降解聚合物或具有适合的时间释放特性和释放动力学的生物可降解聚合物的混合物。然后本发明的组合物可以形成包含适合的营养组合物的微粒,所述营养组合物适合于在延长的时间期限内提供有效浓度的本发明化合物而无需频繁再给予。本发明的组合物可以以本领域技术人员公知的任意适合方式掺入生物可降解聚合物或聚合物混合物中,并且可以与生物可降解聚合物形成均匀基质。

[0092] 在另一个优选的实施方案中,营养补充剂存在于纳米混悬液 / 胶体颗粒中。纳米颗粒或胶体颗粒 (CP) 可以在水和生理介质中形成稳定的胶体混悬液。CP 与营养物例如碳水化合物在水性介质中通过自发机制缔合;且 CP 在生理介质中,更具体地说是在体内释放营养物。释放动力学依赖于其为 CP 前体的聚合物的性质。通过这种方法,使用不使蛋白质变性的生物可降解聚合物,还可以递送其营养值依赖于分子的三级结构的蛋白质。

[0093] 因此,从动力学和定量观点来看,通过改变聚合物的特定结构,能够控制缔合和释放现象。

[0094] 本发明的另一个优选的实施方案涉及如下物质的制备:选择的颗粒;和结构化、亚微米和能够尤其是用于携带一种或多种营养物的其他选择的颗粒,这些颗粒是个性化的(分散的)超分子排列,其:基于线性两亲性聚氨基酸,其具有肽键并且包含至少两种不同类型的亲水性重复氨基酸和疏水性重复氨基酸,每种类型的氨基酸彼此相同或不同;能够缔合胶体混悬液中的至少一种营养物(以未溶解状态)并且释放它们,尤其是在体内以延长和 / 或延迟的方式;在 4-13 的 pH 下、在没有表面活性剂的存在下在水相中稳定。

[0095] 优选颗粒是能够尤其用于携带一种或多种营养物的亚微米结构化的颗粒,这些颗粒是分散的超分子排列;能够缔合胶体混悬液中的至少一种营养物(以未溶解状态)并且释放它们,尤其是在体内以延长和 / 或延迟的方式;在 4-13 的 pH 下、在没有表面活性剂的存在下在水相中稳定。

[0096] 在另一个优选的实施方案中,可以配制组合物以将营养组合物封装在微球或微粒中,使得可以将其混合或配制成任意形式,例如粉末、饮料、口香糖、营养食品、丸剂等。

[0097] 本文所定义的“微球”或“微粒”包括具有约 1 毫米 - 约 1 微米或以下的直径的生物可降解固相物质,其中该颗粒可以包含生物活性剂,且其中固相物质可以使营养组合物在体内从微球中持续释放。微球可以具有球体、非球体或不规则形状。典型的微球形状一般是球体形状。

[0098] 本文所定义的“生物可降解的”物质意指该物质和该物质的任意降解产物对接受者而言是无毒性的,并且还表示对接受者身体无明显的有害或不需要的作用。

[0099] 在一个优选的实施方案中,微球包含营养化合物的混合物且该微球包含在一定时间期限内释放的生物可降解物质。例如,为了提供营养物的初始爆发以对个体提供能量或营养物的即刻用储库,如此配制营养化合物且其可以包含不同比例的各种碳水化合物、氨基酸、电解质、维生素等。第二组可以包含不同比例的碳水化合物:氨基酸:维生素等或确实不同或类似的碳水化合物,其在较长的时间期限内释放以维持营养物的持续释放。营养物在微球中的配制和择时释放可以根据活动的类型、个体、年龄、体重和营养需求的不同而改变。例如,马拉松运动员(在长时间期限内持久的营养)可以具有与赛跑选手(营养爆发)

不同的营养需求。

[0100] 在另一个优选的实施方案中,可以将不同类型的碳水化合物,例如,被例如 SGLT 转运蛋白与 GLUT 转运蛋白吸收的那些碳水化合物以不同比例、以不同释放速率加入以达到上文所述的结果。

[0101] 在另一个优选的实施方案中,组合物包含在一定时间期限内体内依次溶于胃肠道的酸性、中性和弱碱性区域的化合物。这些化合物包括,例如作为第一包衣以延长营养补充剂释放的酸性聚合物分散体包衣。在该实施方案中,微粒包含作为芯的包含碳酸钙、糖、葡萄糖和极品种子的物质。第一包衣是延缓水快速通过的物质。第一包衣优选是聚(甲基丙烯酸-共-丙烯酸乙酯)的水性分散体(商购自名称 Eudragit L30D-55)。第二包衣是胶乳丙烯酸聚合物。第二包衣优选是聚(丙烯酸乙酯-共-甲基丙烯酸甲酯-共-2-三甲胺基乙基甲基丙烯酸酯氯化物)(商购自名称 Eudragit RS-30D)。确立第二包衣的厚度达到药物的期望的择时释放(time-release)速率。

[0102] 择时释放产品优选基本上是球体构造。当产品是液体混悬液形式时,择时释放药物产品的直径典型地为 20-650 微米、30-500 微米或 40-350 微米且优选为约 50-250 微米。本发明的一个特征在于,包含择时释放营养组合物的本发明产品因其大小而可以被混悬于水性介质中,由此得到液体混悬液。

[0103] 在该实施方案中,将营养组合物配制成择时释放制剂,其包含:可以是任选的芯;结合芯的营养补充剂;具有有限透水性的第一包衣;和透水性高于第一包衣的第二包衣,其中第一和第二包衣共同包含营养组合物的择时释放成分。

[0104] 芯一般具有约 19-57、约 20-56、约 21-55、约 22-54、约 23-53、约 24-52、约 25-51、约 26-50、约 27-49、约 28-48、约 29-47、约 30-46 或约 31-45 微米的直径。芯一般包含惰性成分,优选选自碳酸钙、糖、葡萄糖和极品种子的物质。

[0105] 第一包衣具有有限的透水性并且减缓酸和水的快速通过。该第一包衣典型地具有约 1.30-4.60、约 1.40-4.50、约 1.50-4.40、约 1.60-4.30、约 1.70-4.20、约 1.80-4.10、约 1.90-4.00、约 2.00-3.90、约 2.10-3.80、约 2.20-3.70、约 2.30-3.60 或约 2.40-3.50 微米的直径。第一包衣优选是酸性聚合物分散体包衣,其延长药物释放,更优选是聚(甲基丙烯酸-共-丙烯酸乙酯)的水性分散体。这种聚合物商购自名称 EUDRAGIT L30D-55。芯和第一包衣一起典型地具有约 60-77、约 61-76、约 62-75、约 63-74、约 64-75 或约 65-74 微米的直径。

[0106] 应理解第一和第二包衣共同包含本发明产品的择时释放成分。第一和第二包衣共同影响口服给予的药物在约 12 小时的最长期限内在个体内的择时释放。本领域技术人员可以理解,第二包衣的厚度可以改变以达到补充剂所期望的择时释放速率。即第二包衣的厚度可以增加以达到在体内较长时间期限的择时释放。包衣因不同的多孔性而起作用。例如,包含聚(甲基丙烯酸-共-丙烯酸乙酯)的内包衣对 pH 敏感。根据包衣的多孔性和含水量确定通过内包衣的营养物转运,所述包衣的多孔性和含水量由胃肠道区域内的不同 pH 值确定。在酸性环境中(在胃中),内包衣变得相对疏水和皱缩,从而导致孔径和营养物渗透性减小。相反,肠腔内部的 pH 较高。内包衣因离子化而变得相对亲水,并且能够使营养物从颗粒芯中更快速释放。外包衣不是 pH-响应性的,但可以通过控制孔径来用于控制营养物渗透性。本发明提供了第一和第二包衣中的多孔性,使得进入择时释放成分的水更快

速地通过第二包衣（与通过第一包衣相比），且离开择时释放成分的药物和水更缓慢地通过第一包衣（与通过第二包衣相比）。在优选的形式中，通过机械方式通过每一包衣，其中通过第一包衣因离子相互作用而增强。

[0107] 在另一个优选的实施方案中，一种或多种营养补充剂被在水环境中稳定的颗粒结合或封装，并且一旦补充剂耗尽，其在延长的时间期限内释放。

[0108] 本发明的组合物可以具有粉末、口香糖、饮料或任意其他食品形式。本发明的饮料可以通过将上述定义的成分溶于适量的水而制备。优选制备等渗饮料。对于欲在运动过程中和之后使用的饮料而言，推荐其具有的本发明组合物的浓度为约 0.10-60wt. %，基于饮料总重计算。

[0109] 在一个优选的实施方案中，制剂具有接近相当于水的粘度和“口感”。可以使用毛细管粘度计例如 Ubbelohde 粘度计，通过测定玻璃毛细管中液体从基准标志下落到另一标志所需的时间来对制剂的粘度进行定量 [例如，参见 Pearce, E. M. ;Wright, C. E. ; Bordoloi, B. K. Laboratory Experiments in Polymer Synthesis and Characterization; Pennsylvania State University:University Park, 1982 ;p. 187]。水的室温粘度约为 1cP，而橄榄油的室温粘度约为 80cP、蓖麻油约为 1000cP 且玉米糖浆约为 1400cP。不含脂肪的奶的粘度约为 30cP [Vesa, T. H. ;Marteau, P. R. ;Briet, F. B. 等人 Am. J. Clin. Nutr. 1997, 66, 123-126]。

[0110] 在另一个优选的实施方案中，组合物包含矫味剂，其提供各种令人愉快、适口的味道 / 香味并且将自信的感觉传递给成年人、青少年和儿童消费者。

[0111] 在一个优选的实施方案中，当与运动前和过程中无补充性碳水化合物（即营养组合物）摄入相比时，营养组合物的消耗将运动持续时间和累积能量输出潜能增加至少约 2%、约 5%、约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90 或约 100%。

[0112] 在另一个优选的实施方案中，当与运动前和过程中不摄入补充性碳水化合物相比时，营养组合物的消耗将爆发能量持续时间和能量输出增加至少约 2%、约 5%、约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90% 或约 100%。

[0113] 在另一个优选的实施方案中，当与运动前和过程中无补充性碳水化合物（即营养组合物）摄入相比时，营养组合物的消耗将有效爆发事件的次数增加至少约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500% 或约 500% - 约 1000%。

[0114] 在另一个优选的实施方案中，当与运动前和过程中无补充性碳水化合物（即营养组合物）摄入相比时，营养组合物的消耗将爆发事件之间的恢复时间的持续时间减少至少约 2%、约 5%、约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90% 或约 100%。

[0115] 在另一个优选的实施方案中，与使用行为表现增强饮料例如 GATORADE、CYTOMAX 或 POWERADE 时的行为表现相比，营养组合物的消耗导致约 1% - 约 50%、约 50% - 约 100%、约 100% - 约 500% 或约 500% - 约 1000% 的连续运动能量输出（瓦）的增加（在约 VO_2 62% 下进行 90 分钟），和不低于约 25% 的增加（在高强度（爆发）运动中，约 VO_2 86%，连续运动 90 分钟后的能量输出和持续时间），且有效“爆发”时期的数目增加 > 100%。

[0116] 累积能量输出潜能的测定是本领域技术人员众所周知的（例如，参见 Byrne, C. ;

Twist, C. ;Eston, R. Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage : theoretical and applied implications. Sports Med. 2004, 34, 49-69 ;Hunter, A. ;St, C. ;Lambert, M. 等人 Effects of supramaximal exercise on the electromyographic signal. Br. J. Sports Med. 2003, 37, 296-299 ; 和 Williams, S. G. ;Cooke, G. A. ;Wright, D. J. 等人 Peak exercise cardiac power output :A direct indicator of cardiac function strongly predictive of prognosis in chronic heart failure. Eur. Heart J. 2001, 22, 1496-1503)。在一个特别有利的实施方案中, yo-yo 间歇恢复试验用于测定累积能量输出潜能 (例如, 参见 Krustup, P. ;Mohr, M. ;Amstrup, T. R. 等人 The yo-yo intermittent recovery test :physiological response, reliability, and validity. Med. Sci. Sports Exerc. 2003, 35, 697-705)。

[0117] 在另一个优选的实施方案中, 营养组合物的消耗导致在延长的运动过程中注意力集中、手 / 眼协调性等的持续性增加。这种性质的测试是本领域公知的且可以使用任意一种或多种。例如, 参见美国专利 No. 7, 300, 365。这可以转变成改善的运动行为表现, 而且帮助促进非运动的、学术的和或工作的行为表现。

[0118] 在另一个优选的实施方案中, 与无补充性碳水化合物 (即营养组合物) 的摄入相比, 营养组合物的消耗导致改善的注意力集中和大脑功能。

[0119] 在另一个优选的实施方案中, 预计营养组合物的消耗导致改善和稳定的血糖浓度且由此是具有糖尿病的个体的有益饮料或食品替代品。

[0120] 在另一个优选的实施方案中, 将组合物包装以便在长期运动 (例如马拉松) 过程中易于使用, 或当需要即刻能量和相关补充剂时, 包含营养物的产品是固体或凝胶形式, 其是可穿戴的、易于保护的位于人体上的即食形式。

[0121] 在另一个优选的实施方案中, 将组合物包装以便易于操作和贮存在背包、露营袋、袋子等中。优选, 包装是对生态环境友好的。

[0122] 在一个优选的实施方案中, 将营养组合物与生物可降解粘合剂混合或将其封装在生物可降解微球中, 使得能够持续释放期望的碳水化合物和其他营养物。本文所定义的“生物可降解的”意指, 聚合物在体内被降解或侵蚀, 形成较小的化学种类。例如, 降解可以通过酶、化学和 / 或物理过程产生。适合的生物相容性、生物可降解聚合物包括, 例如多糖、聚 (丙交酯)、聚 (乙交酯)、聚 (丙交酯 - 共 - 乙交酯)、聚 (乳酸)、聚 (羟乙酸)、聚 (乳酸 - 共 - 羟乙酸)、聚己酸内酯、聚碳酸酯、聚酯酰胺、聚酐、聚 (氨基酸)、聚原酸酯、聚缩醛、聚腈基丙烯酸酯、聚醚酯、聚 (二噁烷酮)、聚 (烯烷基烷基化物)、聚乙二醇和聚原酸酯的共聚物、生物可降解聚氨基甲酸酯、水凝胶、其掺合物和共聚物。

[0123] 适合于本发明方法和组合物的生物相容性、非生物可降解的聚合物包括非生物可降解的聚合物, 其选自聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、乙烯 - 乙烯基乙酸酯和其他酰基取代的醋酸纤维素的聚合物、非生物可降解的聚氨基甲酸酯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚氟乙烯、聚 (乙烯基咪唑)、氯磺酸聚烯烃、聚氧化乙烯、水凝胶、其掺合物和共聚物。

[0124] 在另一个优选的实施方案中, 水凝胶用于营养补充剂的持续释放。已经广泛探索了物理聚合的水凝胶的生物材料应用。实例包括通过使对映体聚合物或多肽区段与具有温度 - 或 pH- 敏感性的水凝胶复合而形成的水凝胶。它们因涉及俘获精细的生物活性剂例如蛋白质的中度和水性条件而引起用于持续药物递送的特别关注。例如, 已提出, 将由热敏性

嵌段共聚物形成的原位形成的水凝胶用作药物的持续释放基质。它们具有如下优点：没有参与凝胶形成的化学反应。这些共聚物水凝胶通常设计用于大分子药物例如蛋白质和激素。优选聚合物是形成水凝胶的水溶液。例如，适合的聚合物水溶液包含约 1% - 约 80%、约 2% - 约 75%、约 3% - 约 70%、约 4% - 约 65%、约 3% - 约 70%、约 4% - 约 65%、约 5% - 约 60%、约 6% - 约 55%、约 7% - 约 50%、约 8% - 约 45%、约 9% - 约 42% 的聚合物，优选约 10% - 约 40% 的聚合物。适合的水凝胶还可以包含约 1% - 约 20%、约 2% - 约 19%、约 3% - 约 18%、约 4% - 约 17% 的环糊精 (w/w) (基于总溶液重量)，优选约 5% - 15% 的环糊精，以增溶具有有限水溶解度的营养物。典型地使用水性载体流体形成水凝胶。例如，典型的水溶液包含约 1% - 约 80%、约 2% - 约 75%、约 3% - 约 70%、约 4% - 约 65%、约 3% - 约 70%、约 4% - 约 65%、约 5% - 约 60%、约 6% - 约 55%、约 7% - 约 50%、约 8% - 约 45%、约 9% - 约 42% 的聚合物，优选约 10% - 约 40% 的聚合物。

[0125] 水凝胶组合物还可以包含第二聚合物，其可以与营养物复合、与营养物缀合或两者。第二聚合物适合地可以是聚酯、聚氨基甲酸酯、聚酰胺、聚醚、多糖、聚(氨基酸)、多肽或蛋白质。优选第二聚合物是双-或单-官能聚合物或具有聚(乙二醇)节段的多离子聚合物。在营养补充剂与水凝胶缀合或复合的情况下，水凝胶制剂不仅作为基质起作用，而且作为营养补充剂的载体起作用。这意味着营养补充剂例如各种碳水化合物不仅在物理上被俘获在水凝胶中，而且与形成水凝胶的分子复合或缀合。第二聚合物还可以用于改变水凝胶基质的特性例如多孔性和粘度。

[0126] 可通过使用不同聚合物嵌段分子量、通过调整环糊精含量和通过使用第二聚合物来协调水凝胶的特性。例如，可以将水凝胶调整为更具有柔韧性的水凝胶或更具有刚性的水凝胶。可以将水凝胶结构设计成具有可变的粘度和较长或较短的药物释放速率。还可以就期望的持续释放率选择聚(羟基烷酸酯)的疏水性程度。

[0127] 延长的释放的持续时间依赖于嵌段聚合物的分子量，特别是疏水性聚(羟基烷酸酯)部分(例如 PHB)的分子量。根据本发明，可以通过选择下列来改变释放速率以达到期望的响应持续时间：特定的聚(羟基烷酸酯)；选择的聚(羟基烷酸酯)的立体异构状态；选择的聚(羟基烷酸酯)的分子量；和用于水凝胶的环糊精的相对量，以达到期望的持续释放的速率和持续时间。亲水性聚(烯基氧化物)的分子量和选择也影响持续释放动力学，但程度低于疏水性聚(羟基烷酸酯)成分。第二聚合物也可以用于改变释放动力学。通过调整嵌段聚合物和共聚物的分子量和本发明水凝胶中环糊精的含量和第二聚合物的可能利用，水凝胶可以在一天或多天的时期内提供持续释放。

[0128] 还涉及生物可降解聚合物例如聚丙交酯-聚乙交酯中营养补充剂成分的微囊化。根据成分与聚合物比例的不同和所用特定聚合物的性质，成分释放速率可以持续不变。其他生物可降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。还通过将成分俘获在与身体组织相容的脂质体或微乳剂内来制备制剂。

[0129] 此外，可以修饰聚合物的末端官能团。例如，聚酯可以是封闭的、未封闭的或封闭和未封闭的聚合物的掺合物。封闭的聚酯为本领域传统定义的，特别是具有封闭的羧基末端基团。一般而言，封闭基团衍生自聚合引发剂，且典型地是烷基。未封闭的聚酯为本领域中传统定义的，特别是具有游离羧基末端基团。

[0130] 在一个有利的实施方案中，多糖的掺合物用于合成微粒或纳米颗粒的水性分散

体。有利地,多糖是疏水修饰的多糖,其中多糖形成相互贯通的聚合物网络。在一个特别有利的实施方案中,多糖包含羧酸基团,例如、但不限于图 1 的多糖。

[0131] 不受理论约束,预计包含羧基的水凝胶颗粒在酸性胃环境中是崩塌状态。因此,封装的糖分子在胃中保留在颗粒内。水凝胶颗粒在达到小肠 (pH 5-7) 时,呈现膨胀状态,且以比在胃中更快的速率释放封装的糖。提出的多糖水凝胶的一个关键特征在于其 pH 响应性。理想的情况是,水凝胶不在酸性胃环境中溶胀,而在进入小肠后溶胀并且以受控速率释放封装的糖。有利地,本发明的碳水化合物是分散于水性介质中的控释颗粒,而且还可以以固体颗粒形式贮存。

[0132] 在一个特别有利的实施方案中,水凝胶包含疏水化多糖。多糖可以被疏水物例如胆固醇官能化。例如,多糖例如、但不限于支链淀粉、葡聚糖和甘露聚糖可以部分地被各种疏水性基团例如、但不限于长烷基链和胆固醇取代。

[0133] 本发明的纳米颗粒或微粒可以包含具有接枝脂肪酸部分的经修饰的淀粉分子。可以使用过硫酸钾例如作为催化剂将脂肪酸接枝在淀粉上。在另一个实施方案中,本发明还包括使用例如硬脂酰氯(疏水物)、聚(乙二醇)或甲基醚(亲水性分子)进行纳米级淀粉颗粒的表面修饰。在另一个实施方案中,修饰的淀粉可以是丙烯酰基-修饰的淀粉或丙烯酰基-修饰的羟乙基淀粉。

[0134] 在本发明的一个有利的实施方案中,首先衍生多糖以便在侧链上引入醛基或羧基。然后交联这些基团以产生更稳定的三维网络。

[0135] 在一个有利的实施方案中,交联颗粒以形成水凝胶。可以使用自由基引发剂例如过硫酸盐或包括抗坏血酸的氧化还原系统或天然存在的交联剂例如京尼平进行交联。还探索了离子交联。阴离子多糖例如胶凝糖可以用于离子交联,以替代在食品中不期望的化学物质例如硼砂。

[0136] 本发明还涉及水凝胶制剂。在一个有利的实施方案中,疏水修饰的多糖例如、但不限于羟丙基纤维素和包含羧基的多糖例如、但不限于海藻酸盐或羧甲基纤维素的掺合物可以用于制备本发明的水凝胶颗粒。适合的海藻酸盐的实例包括海藻酸钠聚合物(例如海藻酸钠 NF, F-200, SAHMUP 和海藻酸钠 NF, SALMUP),其可以以例如组合物的约 0.01wt. % - 约 1.0wt. % 的量存在于本发明组合物中。

[0137] 疏水修饰的多糖因在水中相分离而导致自发颗粒形成,而包含羧酸基团的多糖赋予 pH- 响应性并且还增加肠通过时间。在一个实施方案中,可以通过壳聚糖和羧甲基纤维素水解物的自我装配合成纳米颗粒混悬液。分别用壳聚糖酶和纤维素酶这样的酶水解聚合物。通过混合两种聚合物的溶液,羧甲基纤维素的羧酸基团与壳聚糖的氨基之间的静电相互作用导致纳米颗粒自发形成。粒径依赖于溶液的混合比率,且还依赖于聚合物的分子量。在混合前必须水解聚合物并且降低分子量,以防止肉眼可见的凝胶形成。

[0138] 在另一个实施方案中,可以由下列的混合物制备水凝胶:酸性多糖例如、但不限于海藻酸盐和碱性多糖例如、但不限于壳聚糖的寡糖衍生物;碱性多糖例如、但不限于壳聚糖和阴离子多糖例如、但不限于透明质酸;海藻酸盐和掺合了壳聚糖的氧化海藻酸盐;接枝琼脂和海藻酸钠与丙烯酰胺的掺合物;与小核菌葡萄聚糖交联的胶凝糖;光交联的修饰的葡聚糖;与甲基丙烯酸缩水甘油酯反应的淀粉;或通过糖与环氧丙烯酸酯、或甲基丙烯酰氯与乙酰氯反应生成的可聚合的糖单体例如蔗糖。

[0139] 可以使用各种反应剂交联包含羟基的多糖,例如淀粉、羟基烷基淀粉、羟基烷基纤维素等,所述试剂包括如图 8A 和 8B 中所示的双-环氧化物、二乙烯砷、N, N' - 羰基二咪唑、氰尿酸氯、对苯二酰氯、二硫化碳、甲醛和戊二醛 [Park, H. ;Park, K. ;Shalaby, W. S. W. Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery, Technomic Publishing Company : Lancaster, PA, 1993]。可以使用这些试剂容易地交联成肉眼可见的水凝胶。Kabra 等人 [Kabra, B. G. ;Gehrke, S. H. ;Spontak, R. J. Microporous, responsive hydroxypropyl cellulose gels. 1. Synthesis and microstructure. *Macromolecules* 1998, 31, 2166-2173] 已经使用二乙烯砷交联剂制备了羟丙基纤维素的大粒凝胶。另一方面,水凝胶纳米颗粒或微粒的合成需要谨慎选择反应条件以防止沉淀(由于胶体不稳定性)或大粒凝胶形成。大粒凝胶与胶体稳定的微凝胶混悬液之间的差异从羟丙基纤维素聚合物的两种交联样品的照片中显而易见,正如图 9 中所示。图 9 中所示的 2 个小瓶包含约 4% (w/v) 的羟丙基纤维素水溶液。标记为 '1' 的小瓶显示大粒凝胶,而标记为 '2' 的小瓶包含羟丙基纤维素的胶体稳定的微凝胶混悬液。为防止大粒凝胶形成和胶体聚集,多糖浓度在交联反应中保持相当低(低于约 1wt%)。Cai 等人 [Cai, T. ;Hu, Z. ;Marquez, M. Synthesis and self-assembly of nearly monodisperse nanoparticles of a naturally occurring polymer. *Langmuir* 2004, 20, 7355-7359] 已经使用二乙烯砷交联剂在 0.05wt% 聚合物浓度下制备了交联的羟丙基纤维素的纳米颗粒。二乙烯砷的毒性是合成控释营养物制剂中所关注的。图 8A 和 8B 描述了包含羟基的多糖的交联。P 表示多糖区段。

[0140] 已经针对细胞封装和组织改造研究了小分子例如葡萄糖通过多糖水凝胶的转运 [McEntee, M. -K. E. ;Bhatia, S. K. ;Tao, L. ;Roberts, S. C. ;Bhatia, S. R. Tunable transport of glucose through ionically-crosslinked alginate gels: effect of alginate and calcium concentration. *J. Appl. Polym. Sci.* 2008, 107, 2956-2962]。使用海藻酸盐和氯化钙制备了具有 2mm 平均珠粒直径的离子交联的海藻酸盐水凝胶珠粒。研究人员发现葡萄糖在 20-50min 时间期限内的两步释放特性。应注意,通过将加载葡萄糖的球混悬于纯水中来测定释放速率。球体与混悬流体(纯水)内部的葡萄糖浓度的巨大差异导致糖相对快速释放(混悬后约 50min 内)。

[0141] 预计共价交联赋予水凝胶球体在胃肠道中遇到的宽范围的 pH 和离子强度条件下更大的稳定性(抗过早崩解),与离子交联的水凝胶相比。当偏磷酸三钠用作交联剂时,形成共价交联。通过控制微球的交联密度来调节营养物的释放速率。更重要的是,释放速率依赖于混悬液水相中颗粒外部营养物的浓度。申请人的分散体在水相中包含相对高的糖浓度。仅当营养物从水相中耗尽时,营养物从水凝胶微粒中扩散。因此,颗粒作为糖储库起作用且在明显超过使用离子交联的海藻酸盐珠粒的研究中所报道的持续时间(约 50min)的时间期限内在肠腔中提供营养物 [McEntee, M. -K. E. ;Bhatia, S. K. ;Tao, L. ;Roberts, S. C. ;Bhatia, S. R. Tunable transport of glucose through ionically-crosslinked alginate gels: effect of alginate and calcium concentration. *J. Appl. Polym. Sci.* 2008, 107, 2956-2962]。在申请人的制剂中,溶于水相的营养物最初通过肠上皮进行吸收。微粒最初以低的速率释放俘获的营养物(因低浓度梯度),而当水相营养物耗尽时,以较快的速率释放俘获的营养物(因较大的浓度差异)。

[0142] 用于本发明的聚合物的可接受的分子量可以由本领域技术人员根据因素例如期

望的聚合物降解速率、物理特性例如机械强度和聚合物在溶剂中的溶出速率而确定。典型地,可接受的分子量为约 2,000 道尔顿-约 2,000,000 道尔顿、约 3,000 道尔顿-约 1,900,000 道尔顿、约 4,000 道尔顿-约 1,800,000 道尔顿、约 5,000 道尔顿-约 1,700,000 道尔顿、约 6,000 道尔顿-约 1,600,000 道尔顿、约 7,000 道尔顿-约 1,500,000 道尔顿、约 8,000 道尔顿-约 1,400,000 道尔顿、约 9,000 道尔顿-约 1,300,000 道尔顿、约 10,000 道尔顿-约 1,200,000 道尔顿、约 12,000 道尔顿-约 1,100,000 道尔顿、约 13,000 道尔顿-约 1,000,000 道尔顿、约 14,000 道尔顿-约 900,000 道尔顿、约 15,000 道尔顿-约 800,000 道尔顿、约 16,000 道尔顿-约 700,000 道尔顿、约 17,000 道尔顿-约 600,000 道尔顿、约 18,000 道尔顿-约 500,000 道尔顿、约 19,000 道尔顿-约 400,000 道尔顿、约 20,000 道尔顿-约 300,000 道尔顿、约 21,000 道尔顿-约 200,000 道尔顿、约 22,000 道尔顿-约 100,000 道尔顿或约 23,000 道尔顿-约 50,000 道尔顿。在一个实施方案中,聚合物是生物可降解聚合物或共聚物。

[0143] 在另一个优选的实施方案中,营养补充剂可以被封装在微粒或微球中。这些颗粒任选包含表面活性剂例如被俘获并固定在颗粒表面上的阳离子型或阴离子型表面活性剂。微粒的生物粘附特性归因于颗粒表面上俘获的带电荷的表面活性剂,因为表面活性剂的疏水端被包埋在固体芯中,而亲水端暴露在微粒表面上。

[0144] 也称作粘膜粘着物质的生物粘附物质一般已知为能够结合生物膜并且保留在该膜上延长的时间期限的材料。与常规的控释系统相比,生物粘附控释系统具有如下优点: i) 生物粘附控释系统使生物活性成分定位于特定区域,由此改善和提高本身生物利用度差的活性成分的生物利用度; ii) 生物粘附控释系统在生物粘附物质与粘膜之间产生相对强的相互作用,这种相互作用促成控释系统与所述组织之间的接触时间增加并且允许从控释系统中释放的活性成分定位至特定部位; iii) 生物粘附控释系统在几乎任意非胃肠外途径中延长生物活性成分的递送; iv) 生物粘附控释系统可以定位于特定部位上用于局部疗法; v) 生物粘附控释系统可以靶向至特定患病组织; 和 vi) 当常规的手段不适合时,例如就不能被充分吸收的一些生物活性成分而言,生物粘附控释系统是有用的。

[0145] 微粒还可以包括至少一种辅助表面活性剂 (co-surfactant)。辅助表面活性剂可以是天然生物相容性表面活性剂或药学可接受的非天然表面活性剂。辅助表面活性剂有助于维持颗粒在期望的大小范围内并且防止其聚集。辅助表面活性剂占颗粒重量的约 5% 以下、约 4% 以下、约 3% 以下、约 2% 以下、优选约 1% 以下、约 0.9% 以下、约 0.8% 以下、约 0.7% 以下、约 0.6% 以下、约 0.5% 以下、约 0.4% 以下、约 0.3% 以下、约 0.2% 以下且更优选约 0.1% 以下。

[0146] 微粒优选形成成为混悬亚微米颗粒的胶体相的连续水相。颗粒混悬液的连续水相可以包含抗氧化剂、防腐剂、杀微生物剂、缓冲剂、渗透剂 (osmoticants)、冷冻保护剂和其他公知的药学有用的添加剂或溶质。

[0147] 微粒在延长的时间期限维持营养补充剂的释放速率。例如,微粒维持营养补充剂释放约 1 分钟-12 小时的期限。

[0148] 涉及提供变化的营养物释放速率的微粒的应用。例如,营养物释放的动力学可以是如下任意形式: (i) 稳态或零级释放速率,其中自始至终存在基本上均匀的释放速率; (ii) 一级释放速率,其中释放速率随时间降至零; 和 (iii) 延迟释放,其中初始速率缓慢,

然后随时间增加。

[0149] 术语“生物粘附”涉及材料至生物基底例如生物膜的附着。术语“粘膜粘着物质”与一般接受的术语一致且与术语“生物粘附物质”为同义词。

[0150] 将阳离子型表面活性剂掺入微粒外表面以形成生物粘附微粒。表面活性剂被颗粒表面俘获并且固定且在包围颗粒芯的界面上形成包衣。包围芯的界面是疏水性的。阳离子型表面活性剂还稳定微粒疏水芯成分的外表面，由此促进更均匀的粒度。

[0151] 能够强烈键合组织的带负电荷的和亲水性表面的表面活性物质的实例优选用作带电荷的阳离子表面活性剂。适合的表面活性物质包括直链烷基铵化合物、环状烷基铵化合物、石油衍生的阳离子化合物和聚合阳离子物质。已发现西吡氯铵显示对生物表面的强生物粘附特性并且是优选的表面活性物质。表面活性剂的存在比例为按混悬液重量计约 0.01% - 约 5%、优选约 0.05% - 约 2%。

[0152] 直链烷基铵化合物是阳离子型表面活性物质，其中一个或多个疏水性烷基与阳离子型氮原子连接。连接还可以是更复杂的，例如在 $R-C(=O)-NHCH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$ 中。或者，阳离子型表面活性物质可以包含一个以上的阳离子型氮原子，例如 $R-NHCH_2CH_2CH_2NH_2$ 类化合物及其衍生物。阳离子型表面活性剂的适合的化合物的代表性实例包括、但不限于：氯化十六烷基三甲基铵 (CTAB)、溴化十六烷基三甲基铵 (HDTAB)、氯化硬脂酰二甲基苄基铵、氯化月桂基二甲基苄基铵、卤化十六烷基二甲基乙基铵、卤化十六烷基二甲基苄基铵、卤化十六烷基三甲基铵、卤化十二烷基乙基二甲基铵、卤化月桂基三甲基铵、卤化椰油烷基三甲基铵和卤化 C8-C20 N, N- 二烷基二甲基铵。

[0153] 阳离子型表面活性剂的其他适合的化合物包括、但不限于氯化双（氢化牛油烷基）二甲基铵，已知其吸附在带有远离其而定向的疏水性基团的表面上；氯化 2- 羟基十二烷基 -2- 羟乙基二甲基铵 [CAS no. xx] 和 N- 十八基 -N, N', N' - 三 -(2- 羟乙基) -1, 3- 二氨基丙烷二氢氟化物 [CAS no. 6818-37-7]。

[0154] 其中携带阳离子电荷的氮原子是杂环的一部分的表面活性季铵化合物可以用作阳离子型表面活性剂。适合的化合物的实例是氯化月桂基吡啶、溴化月桂基吡啶、溴化十四烷基吡啶和卤化西吡铵，其中卤素选自氯、溴或氟。

[0155] 可以用作阳离子型表面活性剂的聚合胺类包含一类聚合物，其沿主链包含离子基团并且显示电解质和聚合物的特性。这些物质在其主链上包含伯、仲、叔或季官能团的氮并且可以具有低至约 100 或高至约 100,000 的平均分子量。用作阳离子型表面活性剂的适合的聚合胺类包括、但不限于购自 General Mills Chemical Co. 的聚二甲基聚胺 (polydimeryl polyamine)；聚酰胺；聚丙烯酰胺；聚二烯丙基二甲基铵氯化物；聚六亚甲基双胍化合物和其他双胍类，例如公开在美国专利 No. 2,684,924、2,990,425、3,183,230、3,468,898、4,022,834、4,053,636 和 4,198,425 中的那些，将这些文献引入本申请作为参考；1,5- 二甲基 -1,5- 二氮杂十一亚甲基聚甲溴化物，例如 Aldrich 制造的“Polybrene”；聚乙烯吡咯烷酮及其衍生物；多肽；聚（烯丙基胺）盐酸盐；聚氧乙烯化胺；和聚乙烯亚胺，例如 BASF 制造的“Polymin”。

[0156] 阳离子型表面活性剂的适合的聚合物材料还包括通过将部分氨基转化成其酰基衍生物而制备的表面活性阳离子型聚合物。例如，首先使聚乙烯亚胺与低于化学计量量的酰卤缩合，由此使一些氨基烷基化，然后使剩余的氨基与卤化氢例如氯化氢或优选氟化氢

缩合。这些化合物的表面活性随酰化的氨基数量和酰化基团 RCO 的链长的不同而改变。可以在如下条件下进行缩合反应：使用硬脂酰氯或油酰氯，在包含金属氟化物、优选氟化银的溶剂的存在下，按照在反应中形成的金属氯化物从溶剂中沉淀这样的方式。

[0157] 此外，适合于本发明目的是多糖（例如葡聚糖、淀粉或纤维素）的阳离子型衍生物，例如二乙氨基乙基纤维素。可应用的基于丙烯酰胺和阳离子单体的共聚物的实例可获自 Hercules Inc.，商品名为 RETEN，包括 RETEN 220；或获自 National Adhesives，商品名为 FLOC AID，包括 FLOC AID 305。其他有用的基于丙烯酰胺的聚电解质可获自 Allied Colloids，商品名为 PERCOL。其他适合的物质的实例是阳离子瓜尔胶衍生物，例如由 Celanese-Hall 在商品名 JAGUAR 下销售的那些。

[0158] 在另一个优选的实施方案中，微粒包含疏水芯，其优选由具有屏障特性的生物可降解疏水材料形成。适合的无毒性药物固体芯材料是惰性疏水性生物相容性材料，其熔点为约 50℃ - 约 120℃、约 60℃ - 约 110℃、约 70℃ - 约 100℃ 或约 80℃ - 约 90℃。实例包括、但不限于天然的、再生的或合成的蜡，包括：动物蜡，例如蜂蜡；羊毛脂和虫胶蜡；植物蜡，例如巴西棕榈蜡、小烛树蜡、甘蔗蜡、米糠蜡和杨梅蜡；地蜡，例如石油蜡包括石蜡和微晶蜡；胆固醇；脂肪酸酯例如硬脂酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和棕榈酸异丙酯；高分子量脂肪醇例如十八醇十六醇混合物、鲸蜡醇、硬脂醇和油醇；固体氢化蓖麻油和植物油；硬石蜡；硬脂；生物可降解聚合物例如聚己酸内酯、聚酰胺、聚酐、聚碳酸酯、聚原酸酯、聚乳酸和乳酸和乙醇酸的共聚物；纤维素衍生物及其混合物。可以用于本发明的其他疏水性化合物包括甘油三酯，优选食品级纯度或更优的甘油三酯，它们可以通过合成或从天然来源分离而产生。天然来源可以包括动物脂肪或植物油例如大豆油、长链甘油三酯（LCT）的来源。其他适合的甘油三酯主要包含中等长度脂肪酸（C10-C18），称作中等链甘油三酯（MCT）。这种甘油三酯的脂肪酸部分可以是不饱和的、单不饱和的或多不饱和的。具有不同脂肪酸部分的甘油三酯的混合物也可用于本发明。芯可以包含单一疏水性化合物或疏水性化合物的混合物。疏水性材料是本领域技术人员公知的且是商购可得的，如在 Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 28th ed. ; The Pharmaceutical Press ; London, 1982 ; pp 1063-1072 中的适合的载体材料的清单中所述的。芯材料的选择中所考虑的因素包括对活性成分和感觉标记的良好的屏障特性、低毒性和刺激性、生物相容性、稳定性和对所关注的活性成分的高荷载能力。

[0159] 两亲型或非离子型辅助表面活性剂可以用于本发明的微粒，以提供改善的稳定性。辅助表面活性剂可以由天然化合物或非天然化合物形成。天然化合物的实例是磷脂和胆酸盐 / 酯。非天然化合物的实例包括：聚山梨醇酯，其为聚乙氧基化山梨醇的脂肪酸酯，由 Unigema surfactants 作为 Tween 销售；来自来源例如蓖麻油的脂肪酸的聚乙二醇酯；聚乙氧基化脂肪酸，例如硬脂酸；聚乙氧基化异辛基苯酚 / 甲醛聚合物；泊洛沙姆，例如作为 Pluronic 购自 BASF 的聚（氧乙烯）聚（氧丙烯）嵌段共聚物；作为 Brij 购自 ICI surfactants 的聚氧乙烯脂肪醇醚；作为 Triton N 购自 Union Carbide 的聚氧乙烯壬基苯基醚；作为 Triton X 购自 Union Carbide 的聚氧乙烯异辛基苯基醚；和 SDS。表面活性剂分子的混合物包括不同化学类型的表面活性剂的混合物可以用于本发明。表面活性剂优选适合于药物施用并且与所递送的药物相容。

[0160] 特别适合的表面活性剂包括为高度生物相容性的磷脂。尤其优选的磷脂是磷脂酰

胆碱（卵磷脂），例如大豆卵磷脂或卵卵磷脂。其他适合的磷脂包括磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸、心磷脂和磷脂酰乙醇胺。可以从天然来源分离或通过合成制备磷脂。认为磷脂表面活性剂通常形成疏水芯的单层包衣。相对于疏水芯成分的重量，辅助表面活性剂的存在量可以为约 5% 以下、优选约 1% 以下且更优选约 0.1% 以下。在一些实施方案中，可以使用一种或多种辅助表面活性剂。

[0161] 在另一个优选的实施方案中，营养补充剂包含调节碳水化合物吸收的化合物。在胃肠道中，铬和钒（单独地或优选以协同方式）通过典型地减缓葡萄糖吸收来调节糖转运（例如葡萄糖转运）。较缓慢的葡萄糖吸收减缓了胰岛素释放并且减少了响应膳食后升高的血糖水平的过度胰岛素应答。这在身体对葡萄糖进行检测、吸收和代谢的初期通过降低葡萄糖载荷和葡萄糖加载速率而有益于胰岛素胰腺分泌。降低的葡萄糖加载速率减少了一般与胰岛素对升高的葡萄糖的响应相关的对 β 细胞的压力。此外，较为缓慢或经调节的葡萄糖吸收使得胰岛素有更多的时间来刺激正常糖代谢途径（在完成葡萄糖加载之前或在较为缓慢速率的葡萄糖加载过程中）。因此，胰岛素依赖性机制具有更多的时间为来自肠的糖的到达作准备。这种葡萄糖吸收调节改善了肝、肌肉和脂肪组织内的短期胰岛素调节。在胃肠道中的这些效应在所有可能的情况下都是短期响应，且它们不一定与铬和钒给药的长期全身效应相关。

[0162] 此外，铬和钒可能通过与肠、特别是负责糖代谢（包括吸收）的肠上皮相互作用而减缓葡萄糖代谢。肠中糖转运的一个主要机制是钠促进的糖转运。此类转运蛋白位于上皮的腔膜内。该基底外侧膜还可以具有促进转运出细胞并且进入血液的另外的糖转运蛋白。就从肠腔到血液的净糖吸收而言，钠促进的糖转运一般需要有利于钠从腔扩散入上皮细胞的钠浓度。这种浓度梯度主要因上皮细胞内的 Na/K ATP 酶的主动转运而产生，该酶一般将 3 个钠原子转运出细胞到达上皮的血液侧，作为对反向的 2 个钠原子的交换。

[0163] 每个泵循环需要水解一个 ATP，以便将钠和钾逆着各自的浓度梯度转运。水解反应需要二价阳离子，典型地是镁。然而，在许多情况中，其他二价阳离子可以取代或进入水解反应，具有不同程度的催化活性或抑制。循环中三价阳离子对二价阳离子的取代一般导致对泵送活性和 / 或从磷酸酶中间体 (phosphoenzyme intermediate) 状态去磷酸化的显著抑制。因此，铬可以通过取代镁并由此抑制催化和转运活性（相对于镁）来抑制 Na/K ATP 酶活性，从而产生跨越腔膜的降低的钠梯度。降低的梯度通过降低促进来自肠的糖进入的热力学和动力学力而影响糖转运。

[0164] 此外，在 Na/K ATP 酶催化循环中的 ATP 水解过程中，在 ATP 酶的活性位点上在磷酸与天冬氨酸之间形成磷酸酶中间体 (EP)。这种共价 EP 是瞬时的，且在化学上不同于与激酶和磷酸酶 (phosphatase) 相关的磷酸化蛋白质，其还显示受钒的影响。EP 在 Na/K ATP 酶催化循环中的形成受到以低于 1 微摩尔的低浓度存在的钒酸盐的抑制。钒酸盐结合活性位点，形成氧钒基 - 酶或 EV 复合物中的磷酸过渡态类似物，而非 EP。EV 复合物是高度稳定的，因为钒酸盐从 EV 复合物中丧失的动力学相对缓慢。钒酸盐由此可以通过经由形成 EV 破坏催化而有效抑制 Na/K ATP 酶，从而产生跨越腔膜的降低的钠梯度。从而，降低的梯度减少了来自肠的糖进入。

[0165] 铬和钒在这两种过渡金属从肠吸收后还以全身性水平起作用。主要作用部位包括肝、肌肉和脂肪组织。钒相对于磷酸化系统（包括负责调节机制的许多磷酸化蛋白质）可

以具有特定活性。铬也可以在细胞水平上调节代谢。这些全身性效应一般改善胰岛素的作用和 / 或与糖和 / 或脂质代谢相关的代谢途径。

[0166] 在本发明主题组合物及其不同成分的吸收和代谢方面,消化道的特征可以影响在口服摄入时如何利用本发明组合物及其使用方法。消化道包括胃肠道的特征可以影响任意此类方式所需的剂量。此类特征是本领域技术人员众所周知的。

[0167] 在另一个优选的实施方案中,使用本领域公知的常规设备和技术将营养组合物配制成单位剂量形式,例如片剂、小胶囊 (caplet)、粉剂、颗粒、珠粒、可咀嚼锭剂、胶囊、液体、水性混悬液或溶液或类似剂型。这种制剂典型地包括固体、半固体或液体载体。示范性载体包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露糖醇、淀粉 (starches)、阿拉伯树胶、磷酸钙、矿物油、可可脂、可可油、海藻酸盐、黄耆胶、明胶糖浆、甲基纤维素、聚氧乙烯月桂山梨坦、羟苯甲酯、羟苯丙酯、滑石、硬脂酸镁等。

[0168] 适合于口服给药的其他制剂可以是胶囊、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂 (使用矫味基质,通常是蔗糖和阿拉伯胶或黄耆胶)、粉剂、颗粒剂形式,或为在水性或非水性液体中的溶液或混悬液,或为水包油型或油包水型乳剂,或为酏剂或糖浆剂,或为软锭剂 (使用惰性基质,例如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶),它们各自包含预定量的补充剂或其成分作为活性成分。补充剂或其成分还可以作为大丸剂、药糖剂或糊剂给予。

[0169] 在其他制剂中,营养补充剂以饮料形式提供。本发明的饮料可以是碳酸饮料,例如矫味的塞耳特斯矿水、软饮料或矿物饮料以及非碳酸果汁、这些饮料的混合形式 (punches) 和浓缩形式。还涉及软饮料形式的碳酸饮料、尤其是果汁和可乐饮料,以及“不充气”饮料和果茶和全强度饮料或饮料浓缩物,其包含至少约 45% 重量的果汁。

[0170] 作为实例,本文所用的果汁和果实矫味剂包括葡萄、梨、大果西蕃莲、菠萝、香蕉或香蕉泥、杏、橙、柠檬、葡萄柚、苹果、酸果蔓、蕃茄、芒果、番木瓜、酸橙、红橘、樱桃、覆盆子、胡萝卜及其混合物。另外,人造矫味剂例如可乐或来源于这些果汁的天然矫味剂可以用于饮料。巧克力矫味剂和其他非果实矫味剂也可以用于制备包含维生素和矿物补充剂的饮料。另外,获自奶牛或合成的牛奶是可以加入本发明粉末组合物的关注的饮料。牛奶自身可以包括其他饮料成分,特别是矫味剂例如巧克力、咖啡或草莓。本文所用的术语“果汁产品”意指果汁和蔬菜汁饮料以及果汁和蔬菜汁浓缩物,其包含至少约 45% 的果汁。本文所用的蔬菜包括非果实的可食用的植物部分,例如块茎、叶、皮,和如无另外指明,则任意的谷物、坚果、豆类和芽 (sprouts),其作为果汁或饮料矫味剂提供。

[0171] 在一个优选的实施方案中,可以用本发明的粉末组合物补充运动饮料。典型的运动饮料包含水、蔗糖糖浆、葡萄糖-果糖糖浆和天然或人造矫味剂。这些饮料还可以包含柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸一钾以及用于补充在排汗过程中丧失的电解质的其他矿物质。

[0172] 表 2 和 3 描述了有代表性的运动和能量饮料产品的成分。

[0173] 表 2:有代表性的能量饮料产品。‘×’表示在制剂中存在未指定量的成分。

[0174]

	Monster Energy	Red Bull	RockStar
容器大小	16 oz	8.3 oz	8、16 或 24 oz
一份大小	8 oz	8.3 oz	8 oz
维生素 B2	1.7 mg		3.4 mg
维生素 B3	20 mg	100 mg	20 mg
维生素 B5			10 mg
维生素 B6	2 mg	125 mg	2 mg
维生素 B12	6 µg	240 µg	6 µg
钠	180 mg	200 mg	40 mg
钾			
叶酸			
镁			
锌			
牛磺酸	1000 mg		1000 mg
人参提取物	200 mg		25 mg
能量掺合物	2500 mg		1350 mg

[0175]

L-肉碱	x		25 mg
葡萄糖	x		
咖啡因 (Caffiene)	x	x	80 mg
瓜拉那	x		25 mg
肌醇	x		25 mg
葡糖醛酸内酯	x		
麦芽糖糊精	x		
银杏提取物			150 mg
奶蓟			20 mg
巴西槐楸木提取物			
卡杜巴提取物			
淫羊藿提取物			
玛黛茶提取物			
成分			
水			
碳酸水	x	x	x
蔗糖	x	x	x
果糖			
果糖-葡萄糖糖浆			
葡萄糖	x	x	x
安赛蜜 (Acelsulfame)		x	
阿司帕坦/三氯蔗糖	x	x	
海藻糖			
乳清蛋白分离物			
柠檬酸	x		x
磷酸 (Phoshoric acid)			
乳酸			
碳酸镁			

[0176]

醋酸维生素 E			
盐	X		
磷酸一钾			
酯树胶			
抗坏血酸钠			
柠檬酸钠	X	X	X
矫味剂	X	X	X
苯甲酸	X		X
山梨酸	X		X
抗坏血酸	X		
L-肉碱	X		X
烟酰胺	X	X	X
泛酸钙		X	X
泛酸			
依地酸钙钠			
盐酸吡多醇	X	X	
乳酸镁			
乳酸钙			
阿拉伯树胶			
氰钴胺	X	X	
柠檬酸钾			
改性食物淀粉			
木槿提取物			
磷酸钙			
阿拉伯树胶			
Vanocobalamin			
红色三叶草花提取物			
氧化镁			
吡啶甲酸锌			

[0177]

巴西槐楸木提取物

箭叶淫羊藿提取物

瓜拉那种子提取物

x

玛黛茶提取物

卡杜巴提取物

叶酸

牛磺酸

x

x

人参提取物

x

葡糖醛酸内酯

x

x

肌醇

x

x

核黄素

x

麦芽糖糊精

x

[0178] 表 3 :有代表性的运动饮料产品

[0179]

	Gatorade	Accelerade	Propel Fit Water	Vitamin Water Revive	Life Water (Goji Melon)	Function: Alternative Energy
容器大小	20 oz	20 oz	18.9 oz	20 oz	20 oz	16.9 oz
一份大小	8 oz	8 oz	8 oz	8 oz	8 oz	8 oz
维生素 B2						
维生素 B3				20 mg		10 mg
维生素 B5				20 mg		
维生素 B6			12.5 mg	12.5 mg	5 mg	1 mg
维生素 B12			75 µg	60 µg	30 µg	3 µg
钠	110 mg	120 mg	35 mg		20 mg	120 mg
钾	30 mg	15 mg		140 mg		
叶酸						200 µg
镁						20 mg
锌						4.95 mg
牛磺酸						

[0180]

	Gatorade	Accelerade	Propel Fit Water	Vitamin Water Revive	Life Water (Goji Melon)	Function: Alternative Energy
人参提取物						
能量掺合物						300 mg
L-肉碱						
葡萄糖						
咖啡因						X
瓜拉那						X
肌醇						
葡糖醛酸内酯						
麦芽糖糊精						
银杏提取物						
奶蓟						
巴西槐槐木提						X
取物						
卡杜巴提取物						X
淫羊藿提取物						X
玛黛茶提取物						X
成分						
水	X	X	X	X	X	X
碳酸水						
蔗糖	X	X	X	X	X	X
果糖				X		
果糖-葡糖糖浆	X					
葡萄糖						
安赛蜜			X			
阿司帕坦/三氯			X			
蔗糖						

[0181]

	Gatorade	Accelerade	Propel Fit Water	Vitamin Water Revive	Life Water (Goji Melon)	Function: Alternative Energy
海藻糖		X				
乳清蛋白分离物		X				
柠檬酸	X	X	X	X	X	X
磷酸		X				
乳酸		X				
碳酸镁		X				
醋酸维生素 E		X	10% RDA		X	
盐	X	X				X
酯树脂	X	X		X		
抗坏血酸钠		X				
柠檬酸钠	X		X			X
矫味剂	X	X	X	X	X	X
苯甲酸						
山梨酸						
抗坏血酸				X	X	X
L-肉碱						
烟酰胺			X	X	X	X
泛酸钙			X		X	
泛酸				X		
依地酸钙钠			X			
盐酸吡多醇			X	X	X	X
乳酸镁						
乳酸钙					X	
阿拉伯树脂				X		
氰钴胺				X		X
柠檬酸钾					X	
改性食物淀粉					X	

[0182]

	Gatorade	Accelerade	Propel Fit Water	Vitamin Water Revive	Life Water (Goji Melon)	Function: Alternative Energy
木槿提取物					x	
磷酸钙					x	
阿拉伯树胶					x	
Vanocobalamin					x	
红色三叶草花提 取物					x	
氧化镁						x
吡啶甲酸锌						x
巴西槐槐木提取 物						x
瓜拉那种子提取 物						x
玛黛茶提取物						x
卡杜巴提取物						x
叶酸						x
牛磺酸						
人参提取物						
葡糖醛酸内酯						
肌醇						
核黄素						
麦芽糖糊精						

[0183] 本文所用的术语“果汁饮料”意指果汁或蔬菜汁产品，其为单一强度的、即食的可饮用形式。本发明的果汁饮料可以是“全强度”类型的，其典型地包含至少约 95% 的果汁。全强度果汁饮料还包括那些 100% 果汁的产品，例如橙、柠檬、苹果、覆盆子、樱桃、杏、梨、葡萄柚、葡萄、酸橙、红橘、胡萝卜、菠萝、甜瓜、芒果、番木瓜、大果西蕃莲、香蕉或香蕉泥、酸果蔓、蕃茄、胡萝卜、甘蓝、芹菜、黄瓜、菠菜及其各种混合物。果汁饮料还包括延伸的果汁产品，其称作“果茶”。这些延伸的果汁产品典型地包含约 50% - 约 90%、约 55% - 约 85%、约 60% - 约 80%、约 65% - 约 75% 果汁、优选约 50% - 约 70% 的果汁。果茶通常具有添加的糖或人造甜味剂或碳水化合物替代物。本文所用的术语“柑桔果汁”意指选自橙

汁、柠檬汁、酸橙汁、葡萄柚汁、红橘汁及其混合物的果汁。

[0184] 本文所用的术语“果汁材料”意指浓缩果汁或蔬菜汁 + 其他果汁材料,例如芳香汁和矫味挥发性物质、果皮油和果肉或果渣。本文所用的术语“果汁浓缩物”意指果汁或蔬菜汁产品,其当用适量水稀释时,形成可饮用的果汁饮料。将本发明范围内的果汁浓缩物典型地配制成当用 3-5 重量份的水稀释时提供可饮用的饮料。

[0185] 本文所用的术语“饮料浓缩物”或“瓶装糖浆”意指矫味剂、水和约 10% - 约 60%、约 20% - 约 50% 或约 30% - 约 40% 糖或碳水化合物替代物的混合物,所述碳水化合物替代物例如蔗糖、葡萄糖、玉米糖浆固体、果糖、糊精、聚葡萄糖及其混合物。

[0186] 饮料和饮料浓缩物的矫味剂成分包含选自果实矫味剂、蔬菜矫味剂、植物矫味剂及其混合物的矫味剂。本文所用的术语“果实矫味剂”意指衍生自可食用可再生的种子植物部分的矫味剂,尤其是具有与种子结合的甜果肉的矫味剂,而“蔬菜矫味剂”意指来源于种子和其他植物的其他可食用部分的矫味剂。术语“果实矫味剂”和“蔬菜矫味剂”还包括,通过合成方式制备的矫味剂,其模拟来源于天然来源的果实蔬菜矫味剂。特别优选的果实矫味剂是柑桔矫味剂,包括橙、柠檬、酸橙和葡萄柚矫味剂。除柑桔矫味剂外,还可以使用各种其他果实矫味剂,例如苹果、葡萄、樱桃、菠萝、芒果和番木瓜矫味剂等。这些果实矫味剂可以来源于天然来源,例如果汁和矫味油,或可以通过合成方式制备。本文所用的术语“植物矫味剂”意指来源于非果实的植物部分的矫味剂,即来源于坚果,树皮,根和叶,和豆类例如咖啡,可可和香草的矫味剂。术语“植物矫味剂”还包括的是通过合成方式制备的矫味剂,其模拟来源于天然来源的植物矫味剂。这种矫味剂的实例包括可乐、茶、咖啡、巧克力、香草、杏仁等。植物矫味剂可以来源于天然来源,例如精油和提取物,或可以通过合成方式制备。

[0187] 矫味剂成分可以包含各种矫味剂的掺合物,例如柠檬和酸橙矫味剂、可乐矫味剂和柑桔矫味剂(以形成可乐矫味剂)等。如果需要,则矫味剂成分中可以使用果汁例如橙、柠檬、酸橙、苹果、葡萄、胡萝卜、芹菜等果汁。矫味剂成分中的矫味剂有时形成乳滴,其分散于饮料浓缩物中。因为这些液滴通常具有小于水的比重且由此形成单独的相,所以增重剂(其还可以作为混浊剂起作用)典型地用于保持乳滴分散于饮料中。这种增重剂的实例是溴化植物油(BVO)和松香脂,特别是酯树胶。参见 Green, L. F. *Developments in Soft Drinks Technology*; Applied Science Publishers; London, 1978; Vol. 1, pp 87-93 中有关增重剂和混浊剂在液体饮料中的应用的进一步描述。除增重剂外,乳化剂和乳剂稳定剂也可以用于稳定乳滴。这种乳化剂和乳剂稳定剂的实例包括树胶、果胶、纤维素、聚山梨醇酯、山梨坦酯和丙二醇海藻酸酯。参见 Green, L. F. (同上,第 92 页)。用于将矫味剂特征有效赋予给饮料和饮料浓缩物(“香味增强”)的矫味剂成分的特定量可以取决于所选择的矫味剂、期望的矫味剂印象和矫味剂成分的形式。

[0188] 矫味剂成分可以占饮料组合物重量的至少 0.05%,典型地占碳酸饮料重量的 0.1% - 2%。当将果汁用作矫味剂时,矫味剂成分,基于单一强度,可以构成至多 25% 果汁(按饮料重量计),优选 5% - 15% 果汁(按碳酸饮料重量计)。

[0189] 可以将二氧化碳导入与饮料糖浆混合的水或导入稀释后的可饮用饮料,以达到碳酸化。可以将碳酸饮料放入容器,例如瓶或罐,然后密封。任意常规的碳酸化方法可以用于制备本发明的碳酸饮料。导入饮料的二氧化碳的量取决于所用的特定矫味剂系统和期望的

碳酸化的量。通常本发明的碳酸饮料包含 1.0-4.5 体积的二氧化碳。优选的碳酸饮料包含 2- 约 3.5 体积的二氧化碳。

[0190] 本发明还特别适合于补充饮料和饮料浓缩物,包括水和柑桔汁。这些饮料可以包含 3% -100% 的果汁或约 0.05% - 约 10% 的人造或天然矫味剂,特别是橙汁。用于本发明方法的浓缩橙汁、橙汁香味和矫味挥发性物质、果肉和果皮油可以获自标准的橙汁。关于橙、葡萄柚和红橘的标准化加工,参见 Nagy, S. ;Shaw, P. E. ;Veldhuis, M. K. Citrus Science and Technology ;AVI Publishing ;Westport, Connecticut, 1977 ;Vol. 2, pp 177-252。(关于非柑桔汁例如苹果、葡萄、菠萝等的标准化加工以提供用于非柑桔果汁产品的果汁和果汁材料的来源,还参见 Nelson 等人 Fruit and Vegetable Juice Processing Technology, 3rd ed. ;AVI Publishing ;Westport, Connecticut, 1980 ;pp. 180-505)。

[0191] 通常掺合来自不同来源的果汁以调整果汁的糖 :酸比。可以掺合不同种类的橙或可以掺合不同的果汁以得到期望的矫味剂和糖 :酸比。约 8 : 1- 约 20 : 1 的糖 : 酸比被视为是果汁可接受的。然而,优选的糖 : 酸比典型地为约 11 : 1- 约 15 : 1,尤其是对柑桔汁而言。甜味剂包括通常存在于果汁产品中的糖,例如葡萄糖、蔗糖和果糖。糖还包括高果糖玉米糖浆、转换糖浆、糖醇包括山梨醇、精炼糖浆及其混合物。除糖外,本发明的延伸果汁饮料还可以包含其他甜味剂。其他适合的甜味剂包括糖精、环己氨磺酸、乙酰磺胺酸钾、L- 天冬氨酰基 -L- 苯丙氨酸低级烷基酯甜味剂 (例如阿司帕坦)。用于这种延伸果汁产品的优选甜味剂是阿司帕坦。就单一强度的果汁饮料而言,糖含量可以为约 2° - 约 16° Brix (16° Brix 意指果汁包含约 16% 的可溶性固体等)。典型地,这种饮料的糖含量取决于其中包含的果汁的量。

[0192] 在用于口服给药的固体剂型 (胶囊、片剂、丸剂、糖锭剂、粉剂、颗粒剂等) 中,将补充剂或其成分与一种或多种药学可接受的载体例如柠檬酸钠或磷酸二钙和 / 或任意如下成分混合 : (1) 填充剂或膨胀剂,例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和 / 或硅酸 ; (2) 粘合剂,例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和 / 或阿拉伯胶 ; (3) 保湿剂,例如甘油 ; (4) 崩解剂,例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、一些硅酸盐和碳酸钠 ; (5) 溶解阻滞剂,例如石蜡 ; (6) 吸收加速剂,例如季铵化合物 ; (7) 湿润剂,例如乙酰醇和单硬脂酸甘油酯 ; (8) 吸收剂,例如高岭土和膨润粘土 ; (9) 润滑剂,例如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠及其混合物 ; 和 (10) 着色剂。就胶囊、片剂和丸剂而言,药物组合物还可以包含缓冲剂。相似类型的固体组合物也可以用作软明胶胶囊和硬明胶胶囊的填充剂,其使用例如乳糖或奶糖和高分子量聚乙二醇等这样的赋形剂。

[0193] 可以通过任选与一种或多种辅助成分一起压制或模制而制备片剂。可以使用粘合剂 (例如明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂 (例如羟基乙酸淀粉钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备压制片剂。可以通过在适合的机器中模制补充剂或其成分与惰性液体稀释剂的混合物来制备模制片剂。可以任选地使用包衣和壳例如肠溶衣和制药领域众所周知的其他包衣制备片剂和其他固体剂型例如糖锭剂、胶囊、丸剂和颗粒剂。

[0194] 还可以使用例如不同比例的羟丙基甲基纤维素 (以提供期望的释放特性)、其他聚合物基质、脂质体和 / 或微球来配制片剂和其他固体剂型以提供其中的活性成分的缓释或控释。例如,可以通过用截留细菌的滤器过滤或通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂

(其可以在即将使用前溶于无菌水或其他无菌可注射介质) 给它们灭菌。这些组合物还可以任选包含遮光剂并且可以是这样的组合物, 它们仅或优先在胃肠道的一些部分, 任选以延迟方式释放活性成分。可以使用的包埋组合物的实例包括聚合物和蜡。如果适合, 活性成分还可以是微封装的形式, 具有一种或多种上述营养补充剂。

[0195] 用于口服给药的液体剂型包括药学可接受的乳剂、微乳剂、溶液、混悬液、糖浆剂和酞剂。除补充剂或其成分外, 液体剂型还可以包含本领域常用的惰性稀释剂, 例如水或其他溶剂, 增溶剂和乳化剂, 例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯及其混合物。

[0196] 除惰性稀释剂外, 口服组合物还可以包括佐剂, 例如湿润剂、乳化剂和助悬剂、甜味剂、矫味剂、着色剂、香料和防腐剂。除补充剂或其成分外, 混悬液还可以包含助悬剂, 例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和山梨坦酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄蓍胶及其混合物。

[0197] 可以将本发明的组合物作为包含单次或分次剂量的抑制剂的胶囊或片剂给予。优选将组合物作为无菌溶液、混悬液或乳剂以单次剂量或分次剂量给予。片剂可以包含载体, 例如乳糖和玉米淀粉和/或润滑剂例如硬脂酸镁。胶囊可以包含稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。

[0198] 可以通过压制或模制活性成分(任选与一种或多种辅助成分一起)来制备片剂。可以通过在适合的机器中, 任选与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、表面活性剂或分散剂一起, 压制自由流动形式的活性成分例如粉末或颗粒来制备压制片剂。可以通过在适合的机器中模制用惰性液体稀释剂湿润的粉状活性成分和适合载体的混合物来制备模制片剂。

[0199] 当制备掺入本发明组合物的剂型时, 还可以将化合物与常用赋形剂掺合, 所述赋形剂例如粘合剂, 包括明胶、预胶化淀粉等; 润滑剂, 例如氢化植物油、硬脂酸(sutearic acid)等; 稀释剂, 例如乳糖、甘露糖和蔗糖; 崩解剂, 例如羧甲基纤维素和羟基乙酸淀粉钠; 助悬剂, 例如聚维酮、聚乙烯醇等; 吸收剂, 例如二氧化硅; 防腐剂, 例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯和苯甲酸钠; 表面活性剂, 例如十二烷基硫酸钠、聚山梨醇酯 80 等; 着色剂, 例如 F. D. & C. 染料和色淀; 矫味剂; 和甜味剂。

[0200] 现在通过下列非限制性实施例进一步描述本发明。

[0201] **实施例 1**: 用于运动行为增强的延迟释放碳水化合物制剂

[0202] 本实施例的目的在于研发将碳水化合物和其他营养物以促进峰值运动行为表现的方式递送至运动员的营养流体。所提出的方法在于改造可消化的碳水化合物从适合的微球或纳米球的水性分散体中的控释。重要的可消化的碳水化合物包括: 单糖-葡萄糖、果糖和半乳糖; 二糖-蔗糖、麦芽糖和乳糖; 和多糖, 淀粉。淀粉被唾液淀粉酶(在口腔中)和胰淀粉酶(在小肠中)分解成糊精。糊精被小肠中的刷状缘酶作用, 该酶还将双糖转换成单糖。单糖最终被转运通过肠上皮而进入血流。所提出的研究寻求控制释放可消化的碳水化合物尤其是单糖(葡萄糖和果糖), 以将其持续吸收入血液。

[0203] 对胃肠(GI)道生理学的基本理解在设计递送系统中是有用的。食物在胃中的保留时间至多 2 小时, 且取决于膳食的卡路里值等因素(例如, 参见 Hadi, N. A. ; Giouvanoudi, A. ; Morton, R. ; Horton, P. W. ; Spyrou, N. M. Variations in gastric

emptying times of three stomach regions for simple and complex meals using scintigraphy. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 2002, 49, 2328-2331)。控释系统应能够在胃滞留过程中抵抗胃的酸性 pH(1-3) 而不释放糖的有效负载。在大部分营养物被吸收的小肠中的滞留时间约为 3h。就在较长时间期限内递送营养物而言,有必要延长肠滞留,这可以通过将营养物封装在具有粘膜粘着特性的载体中来实现。包含羧酸基团的亲水性聚合物显示良好的粘膜粘着特性。糖的控释系统设计中的关键步骤在于选择用于封装碳水化合物化合物的载体材料。多糖及其衍生物是被选择用作缓释递药载体和组织改造中的支架的聚合物,因为其无毒性且具有极佳的生物相容性(例如,参见 Dumitriu, S.; Dumitriu, M. Hydrogels as support for drug delivery systems. In *Polysaccharides in Medicinal Applications*; Dumitriu, S. Ed.; Dekker: New York, 1996; pp 705-764; Coviello, T.; Matricardi, P.; Marianecci, C.; Alhaique, F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *J. Control. Rel.* 2007, 119, 5-24 and Kong, H.; Mooney, D. J. Polysaccharide-based hydrogels in tissue engineering. In *Polysaccharides*, 2nd ed.; Dumitriu, S., Ed.; Dekker: New York, 2005; pp 817-837)。它们还用于矫味剂在食品制剂中的封装(例如,参见 Madene, A.; Jacquot, M.; Scher, J.; Desobry, S. Flavour encapsulation and controlled release-a review. *International Journal of Food Science and Technology* 2006, 41, 1-21)。

[0204] 多糖的掺合物用于合成微粒或纳米颗粒的水性分散体。已知疏水修饰的多糖例如羟丙基纤维素或羟乙基纤维素可在水中自发形成纳米颗粒。合成具有包含羧酸基团的多糖的这些聚合物的互相贯穿的聚合物网络。图 1 显示三种重要的含羧基的多糖的化学结构。羧甲基纤维素主链的单体单元由通过 β -(1 $\rightarrow$ 4) 键连接的 D 葡萄糖残基组成。海藻酸盐包含 (1 $\rightarrow$ 4)-连接的 β -D-甘露糖醛酸和 α -L-古洛糖醛酸单体,这些单体的量和沿聚合物链的连续分布根据海藻酸盐来源的不同可发生变化。透明质酸是由交替的 (1 $\rightarrow$ 4)-连接的 2-乙酰胺-2-脱氧- β -D-葡萄糖和 (1 $\rightarrow$ 3) 连接的 β -D-葡萄糖醛酸组成的直链聚合物。

[0205] 为了增加颗粒在胃肠道中的稳定性,将颗粒交联成水凝胶。研究了不同的交联机制以得到期望的释放动力学。使用自由基引发剂例如过硫酸盐或包括抗坏血酸的氧化还原系统或天然存在的交联剂例如京尼平进行交联。还探索了离子交联。阴离子多糖例如胶凝糖可以用于离子交联,以替代在食品中不期望的化学品例如硼砂。

[0206] 预计包含羧基的水凝胶颗粒以皱缩状态位于胃的酸性环境中。因此,封装的糖分子在胃中保留在颗粒内。水凝胶颗粒在它们达到小肠 (pH 5-7) 时达到舒展状态并且以比在胃中更快的速率释放封装的糖。

[0207] 几位研究人员已经研究了用于控释的多糖颗粒和水凝胶的合成。然而,这些研究大部分都集中于将相对疏水的药物或蛋白质大分子掺入载体。所提出的研究的一个目的在于封装小亲水性分子例如糖类。测定糖分子在水凝胶颗粒与水相之间的平衡分配。由于多糖载体和封装的单糖在化学结构上的相似性,所以预计多糖水凝胶的封装效率高于其他水凝胶的封装效率。

[0208] 仅有几个研究报道了用于碳水化合物的延长释放系统。Fox 和 Allen (Fox, G. J.; Darlene, A. Method and composition for controlling the release of carbohydrates

by encapsulation. U. S. Patent 5536156, July 16, 1996) 用可食用的延迟释放的包衣包被碳水化合物微粒。包被的碳水化合物在口服摄入时导致碳水化合物延迟释放入消化系统。包被的颗粒为 30–100 μm 大小并且以固体颗粒形式贮存。相反, 申请人寻求研发分散于水性介质的控释颗粒。Lake 和 Smith (Lake, M. ; Smith, U. Composition and method for long-term glycemic control.. Int. Pat. Appl. WO/2006/022585, Feb 03, 2006) 报道了可用于糖尿病患者中改善的长期血糖控制的淀粉颗粒的制备。延迟释放的淀粉制剂设计用于减少夜间低血糖症的发病率, 其中患者在睡前摄入治疗量的淀粉颗粒。Zeher (Zeher, D. C. Controlled release carbohydrate embedded in a crosslinked polysaccharide. Int. Pat. Appl. WO/2000/032064, Aug 6, 2000) 报道了由共价交联的多糖组成的类似的控释碳水化合物组合物。然而, 交联的碳水化合物不是颗粒形式, 并且不是水性混悬液的形式。

[0209] 下列部分将描述多糖水凝胶的合成方法。

[0210] 疏水性多糖因其在水性环境中的自我装配特性而在合成纳米颗粒中是非常有前景的。Akiyoshi 和 Sunamoto (Akiyoshi, K. ; Sunamoto, J. Supramolecular assembly of hydrophobized polysaccharides. Supramolecular Science 1996, 3, 157–163) 发现, 被疏水物例如胆固醇官能化的多糖在分散于水中时自发形成纳米颗粒。该纳米颗粒的大小、密度和胶体稳定性可以通过改变疏水物的接枝密度和疏水程度来控制。多糖例如支链淀粉、葡聚糖和甘露聚糖部分地被不同疏水基团例如长烷基链和胆固醇取代。例如, 具有 55kDa 分子量的支链淀粉在被胆固醇官能化时 (约 1.7 个胆固醇部分 /100 单位的葡萄糖), 自发形成 20–30nm 大小的纳米颗粒 (Akiyoshi, K. ; Deguchi, S. ; Tajima, H. ; Nishikawa, T. ; Sunamoto, J. Self-assembly of hydrophobized polysaccharide : Structure of hydrogel nanoparticle and complexation with organic compounds. Proc. Japan Acad. 1995, 71, 15–19)。带有胆固醇的支链淀粉在水中在混悬液超声处理后自我聚集形成单分散稳定的纳米颗粒。甚至在 90℃ 下加热 1h 后也没有出现聚沉。这些纳米颗粒用于携带疏水性物质例如抗肿瘤阿霉素 (Akiyoshi, K. ; Taniguchi, I. ; Fukui, H. ; Sunamoto, J. Hydrogel nanoparticle formed by self-assembly of hydrophobized polysaccharide. Stabilization of adriamycin by complexation. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 1996, 42, 286–290) 和各种水溶性蛋白质, 但未报道小的水溶性分子的封装。

[0211] Simi 和 Abraham (Simi, C. K. ; Abraham, T. E. Hydrophobic grafted and crosslinked starch nanoparticles for drug delivery. Bioprocess and Biosystems Engineering 2007, 30, 173–180) 已经使用过硫酸钾作为催化剂将脂肪酸接枝到淀粉上。通过交联三聚磷酸钠进一步稳定了由改性淀粉分子产生的纳米颗粒。该纳米颗粒用于封装疏水性药物。

[0212] Thielemans 等人 (Thielemans, W. ; Belgacem, M. N. ; Dufresne, A. Starch nanocrystals with large chain surface modifications. Langmuir 2006, 22, 4804–4810) 还成功地使用了硬脂酰氯 (疏水物) 和聚 (乙二醇) 甲基醚 (亲水性分子) 对纳米级淀粉颗粒进行了表面修饰。Woo 等人 (Woo, B. H. ; Jiang, G. ; Jo, Y. W. ; DeLuca, P. P. Preparation and characterization of a composite PLGA and poly(acryloyl hydroxyethyl starch) microsphere system for protein delivery. Pharmaceutical Research 2001, 18,

1600-1606) 报道了使用丙烯酰基-修饰的羟乙基淀粉合成多糖微球。研究了这些微球负载蛋白质以控制蛋白质递送的能力。

[0213] Basheer 等人 (Basheer, A. ;Hause, G. ;Kressler, J. ;Mader, K. Hydrophobically modified hydroxyethyl starch: Synthesis, characterization, and aqueous self-assembly into nano-sized polymeric micelles and vesicles. *Biomacromolecules* 2007, 8, 359-367) 使用二环己基碳二亚胺 (DCC) 和二甲氨基吡啶 (DMAP) 使羟乙基淀粉与脂肪酸 (月桂酸、棕榈酸和硬脂酸) 在适度反应条件下反应。得到的聚合物自我装配成 20-30nm 胶束和 250-350nm 聚合物囊泡。然而, 化学品例如 DCC 和 DMAP 具有潜在毒性, 不能用于可食用制剂。

[0214] Chakraborty 等人 (Chakraborty, S. ;Sahoo, B. ;Teraoka, I. ;Gross, R. A. Solution properties of starch nanoparticles in water and DMSO as studied by dynamic light scattering. *Carbohydrate Polymers* 2005, 60, 475-481) 已经使用动态光散射研究了淀粉纳米颗粒在水中的溶解特性。纳米颗粒获自 Ecosynthetix (Lansing, MI) 且由玉米淀粉合成 (使用乙二醛作为交联剂)。挤压淀粉、甘油 (干淀粉的 18wt%) 和乙二醛 (0.1-10wt%) 的混合物, 以得到交联的淀粉颗粒。低温研磨颗粒并且过筛, 得到小于 150nm 直径的颗粒。动态光散射或在水中的颗粒显示两个主要群体, 其分别具有 40 和 300nm 的平均直径, 由分离的淀粉纳米颗粒和其聚集物组成。在较高浓度 (约 3% w/w) 下, 因颗粒聚集而导致在 1 μ m 左右出现第三个峰。控制颗粒聚集是设计碳水化合物纳米颗粒中的重要步骤。

[0215] 所提出的多糖水凝胶的一个关键特征在于其 pH 响应性。理想的情况是, 水凝胶不在胃的酸性环境中溶胀, 而在进入小肠时溶胀并且以受控速率释放封装的糖类。这部分综述了极端的情况, 其中多糖基质不溶于酸性环境, 而在较高 pH 值下完全溶解。

[0216] 小核菌葡萄聚糖是在完全水解时仅产生 D-葡萄糖的支链同多糖。该聚合物由 (1 $\rightarrow$ 3)-连接的 β -D-吡喃葡萄糖基单元的主链组成。沿主链每三个单元, 聚合物带有单个 (1 $\rightarrow$ 6)-连接的 β -D-吡喃葡萄糖基单元作为支链。小核菌葡萄聚糖的吡喃葡萄糖侧链通过两步反应被氧化: 第一步是与高碘酸盐反应, 形成醛衍生物, 然后是与亚氯酸盐反应, 得到羧化衍生物, 称作 sclerox (例如, 参见图 2 和 Coviello, T. ;Palleschi, A. ;Grassi, M. ;Matricardi, P. ;Bocchini, G. ;Alhaique, F. Scleroglucan: A versatile polysaccharide for modified drug delivery. *Molecules* 2005, 10, 6-33)。通过改变氧化剂与多糖之比, 聚合物可以被氧化至不同程度。已发现, 在 60% 以上的氧化中, sclerox 变得对环境条件敏感, 得到由 pH 介导的可逆的溶液-凝胶转变。模型分子以不同速率渗透通过溶液和凝胶, 且由此从 sclerox 片剂中的释放在分别模拟胃液和肠液的两种环境中显示不同的特性。

[0217] 在酸性介质中, 在剂型周围形成的溶胀层在确定递送速率中起到基础作用, 而在较高 pH 值下, 侵蚀和溶出变得占优势。在制剂中添加酸性物质例如柠檬酸, 降低了模拟的肠液中的释放速率。相对于通过胃肠道的通过时间, 递送速率仍然过快。因此, 使用另一种策略。首先衍生多糖以便在侧链上引入醛基或羧基。然后交联这些基团以产生更稳定的三维网络。

[0218] Pitarresi 等人已经报道, 通过 UV 照射交联甲基丙烯酸酐官能化的碳水化合物。

首先用甲基丙烯酸酐衍生透明质酸。将相对低分子量的透明质酸 (174kDa) 溶于水, 形成 2% (w/v) 溶液。加入 20- 倍过量的甲基丙烯酸 (相对于透明质酸重复单元的摩尔数而言), 同时加入 5NNaOH (以维持 pH 在 8-9)。将反应体系保持在 4℃ 并且搅拌 24h。然后使反应混合物在乙醇中沉淀, 回收产物, 并通过离心和凝胶渗透色谱法进行纯化。

[0219] Giezen 等人已经公开了生产生物聚合物纳米颗粒的方法, 其中使用二醛或多醛交联淀粉或淀粉衍生物 (例如, 参见 Giezen, F. E. ; Jongboom, R. O. J. ; Fell, J. ; Gotlieb, K. F. ; Boersma, A. Biopolymer nanoparticles. 美国专利 6677386, 2004 年 1 月 13 日)。在该方法中使用增塑剂甘油以及酸例如马来酸、草酸或柠檬酸。应注意, 化学品例如二醛和甘油不适合于作为食品成分。交联的纳米颗粒具有低于 400nm 的平均粒度。包含 10wt% 的这些颗粒的水性分散体的粘度低于 150mPas (在 186s^{-1} 剪切速率下测定)。

[0220] 预计制剂粘度随颗粒浓度的增加而增加。作为第一近似值, 混悬液的粘度与颗粒浓度相关, 通过爱因斯坦方程计算: $\eta = \eta_w(1 + 2.5\phi)$, 其中 η 是分散体的粘度, η_w 是水

相的粘度, 且 ϕ 是分散体中颗粒的体积分数。通过 $\phi = \left[1 + \left(\frac{\rho_p}{\rho_w} \right) \cdot \left(\frac{1}{m} - 1 \right) \right]^{-1}$ 得到颗粒体

积分数, 其中 ρ_p 是颗粒密度, ρ_w 是水相密度, 且 m 是分散体中颗粒的质量分数。分散体粘度还取决于颗粒间距离 H , 其为分散体中两个相邻颗粒表面之间的平均距离。就具有六角形紧

密填充结构的单分散颗粒群体而言, 通过 $H = D \left\{ \left(\frac{0.74}{\phi} \right)^{1/3} - 1 \right\}$ 得到颗粒间距离, 其中 D 是

粒径。因此, 就分散体中聚合物的给定质量分数而言 (即, 固定的 ϕ), 预计分散体粘度在颗粒大小较小时较高。在本实施例中, 使分散体的粘度接近水的粘度 (约 1mPas)。

[0221] Magnani 等人已经使用海藻酸盐、透明质酸和羧甲基纤维素合成了多糖水凝胶 (例如, 参见 Magnani, A. ; Rappuoli, R. ; Lamponi, S. ; Barbucci, R. Novel polysaccharide hydrogels: characterization and properties. Polym. Adv. Technol. 2000, 11, 488-495 和 Barbucci, R. ; Consumi, M. ; Lamponi, S. ; Leone, G. Polysaccharides based hydrogels for biological applications. Macromol. Symp. 2003, 204, 37-58)。交联方法由下列组成: 用碘化 2- 氯 -1- 甲基碘化吡啶活化羧酸部分并且使用 1,3- 二氨基丙烷作为交联剂。通过在 4℃ 用强酸交换树脂 Dowex 50 WX8 (Fluka) 处理而在羧酸中转化透明质酸钠、海藻酸盐和羧甲基纤维素的水溶液。将该溶液加入到 5% 氢氧化四丁基铵溶液中, 以使 pH 达到 8-9。冻干后, 将多糖的四丁基铵盐溶于二甲基甲酰胺 (DMF)。向保持在 0℃ 的该溶液中加入化学计量的 2- 氯 -1- 甲基碘化吡啶。然后向该溶液中加入过量的交联二胺, 将该反应混合物维持在室温下搅拌 4h。通过添加作为碘化氢俘获剂起作用的少量三乙胺促进反应。得到肉眼可见的凝胶。未报道微粒或纳米颗粒的合成。此外, 所涉及的化学品不适合于食品制剂。

[0222] Kabra 等人通过在高于低临界溶液温度 (LCST, 41℃) 的温度下交联聚合物与二乙烯砜, 制备了羟丙基纤维素的大粒凝胶 (例如, 参见 Kabra, B. G. ; Gehrke, S. H. ; Spontak, R. J. Microporous, responsive hydroxypropyl cellulose gels. 1. Synthesis and microstructure. Macromolecules 1998, 31, 2166-2173)。Cai 等人使用相同反应制备了羟丙基纤维素纳米颗粒的水性混悬液 (例如, 参见 Cai, T. ; Hu, Z. ; Marquez, M. Synthesis and self-assembly of nearly monodisperse nanoparticles of a naturally occurring

polymer. *Langmuir* 2004, 20, 7355–7359)。将高分子量 (约 10^6 Da) 溶于氢氧化钠水溶液 (pH 12)。加入溴化十二烷基三甲基铵和二乙烯砷分别作为表面活性剂和交联剂。将该溶液加热至高于 LCST 的温度约 3h, 产生具有 170nm–430nm 直径的纳米颗粒。颗粒浓度低于 0.1wt%。Gao 等人还报道了使用二乙烯砷原位交联自我缔合的羟丙基纤维素纳米颗粒 (例如, 参见 Gao, J. ; Haidar, G. ; Lu, X. ; Hu, Z. Self-association of hydroxypropylcellulose in water. *Macromolecules* 2001, 34, 2242–2247)。

[0223] De Nooy 等人已经使用了羧酸、醛和异脒之间的反应 (Passerini 三成分缩合), 制备了多糖水凝胶 (例如, 参见 De Nooy, A. E. J. ; Masci, G. ; Crescenzi, V. Versatile synthesis of polysaccharide hydrogels using the Passerini and Ugi multicomponent condensations. *Macromolecules* 1999, 32, 1318–1320)。包含羧酸的碳水化合物例如羧甲基纤维素或透明质酸用于制备水凝胶。使用 TEMPO 部分地氧化不含羧酸基团的多糖例如小核菌葡萄聚糖或支链淀粉以引入醛基和羧酸基团。Ugi 缩合反应包括另外的成分, 胺。使用甲醛或戊二醛与胺, 例如 1,5-二氨基戊烷或氯化铵进行缩合反应。壳聚糖因其结构上存在胺基也用于水凝胶合成。所合成的全部凝胶是肉眼可见的凝胶。未报道微粒或纳米颗粒合成。此外, 醛和异脒一般不视为是安全的食品成分。

[0224] 还报道了使用其他交联反应制备共价交联的水凝胶。Dou 等人已经合成了葡聚糖、羟丙基纤维素和羟乙基纤维素的羧基-官能化的纳米颗粒 (例如, 参见 Dou, H. ; Tang, M. ; Yang, W. ; Sun, K. One-pot synthesis, characterization, and drug loading of polysaccharide-based nanoparticles with carboxy functional groups. *Colloid Polym. Sci.* 2007, 285, 1043–1047)。然而, 其方法包括使用化学品例如硝酸、丙烯酸、硝酸铈 (IV) 铵和 N,N'-亚甲基双丙烯酰胺, 它们不适合于食品制剂。Yu 和 Hoffman 报道了用于控释模型阳离子蛋白质溶菌酶的化学交联的海藻酸钠 /6-硫酸软骨素水凝胶的合成 (例如, 参见 Yu, X. J. ; Hoffman, A. S. Polysaccharide hydrogels as drug delivery matrixes. *Proceedings of the 22nd International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*, 1995 ; Controlled Release Society ; pp 352–353)。已发现, 该水凝胶在二价阳离子溶液中是缩合态且在 PBS 中是去缩合态。Chen 等人综述了用于肽类和蛋白质的鼻部递送的一些多糖水凝胶 (例如, 参见 Chen, J. ; Jo, S. ; Park, K. Polysaccharide hydrogels for protein drug delivery. *Carbohydrate Polymers* 1995, 28, 69–76)。这些为胰岛素鼻部递送而设计的水凝胶包括 $45\mu\text{m}$ 淀粉微球 (例如, 参见 Illum, L. ; Jørgensen, H. ; Bisgaard, H. ; Krogsgaard, O. ; Rossing, N. Bioadhesive microspheres as a potential nasal drug delivery system. *Int. J. Pharm.* 1987, 39, 189–199), 表氯环氧丙烷交联的葡聚糖 (例如, 参见 Edman, P. ; Björk, E. Routes of delivery : Case studies : (1) Nasal delivery of peptide drugs. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1992, 8, 165–177) 和透明质酸酯微球 (例如, 参见 Illum, L. ; Farraj, N. F. ; Fisher, A. N. ; Gill, I. ; Miglietta, M. ; Benedetti, L. M. Hyaluronic acid ester microspheres as a nasal delivery system for insulin. *J. Control. Rel.* 1994, 29, 133–141)。透明质酸酯微球具有 $10\text{--}100\mu\text{m}$ 直径 (例如, 参见 Benedetti, L. M. ; Topp, E. M. ; Stella, V. J. Microspheres of hyaluronic acid esters—Fabrication methods and in vitro hydrocortisone release. *J. Control. Rel.* 1990, 13, 33–41)。

[0225] 适合的交联剂的选择是制备用于食品制剂的多糖水凝胶的关键步骤。显然,交联用化学品的毒性妨碍了其应用。京尼平是天然存在的蛋白质和多糖的交联剂,且获自栀子的果实提取物。它在合成多糖水凝胶中具有引人注目的吸引力。它具有低急性毒性(在小鼠中, LD_{50} i. v. 382mg/kg) 并且毒性远低于大部分化学交联剂例如戊二醛。其结构如图 2 中所示。

[0226] Meena 等人使用京尼平在环境条件下在 pH 约 7 的水性介质中交联琼脂糖(例如,参见 Meena, R. ;Prasad, K. ;Siddhanta, A. K. Preparation of genipin-fixed agarose hydrogel. J. Appl. Polym. Sci. 2007, 104, 290-296)。京尼平购自 Challenge Bioproducts Co., Taiwan。所用京尼平的量约为琼脂糖质量的 0.8wt%。京尼平-固定的琼脂糖显示,在代表胃环境的酸性介质(pH 1.2)中的溶胀降低。溶胀程度为 4.8g/g,而未交联的琼脂糖溶胀达 6g/g。作者报道,在环境条件下,约 85h 后达到最大交联。

[0227] 或者,可以使用自由基进行交联。自由基引发剂例如过硫酸铵在化学品 GRAS 清单中列出并且可以用于食品制剂。

[0228] 基于众所周知的硼砂介导的包含羟基的聚合物的交联, Palleschi 等人已经使用硼砂合成了小核菌葡萄聚糖水凝胶(例如,参见 Palleschi, A. ;Coviello, T. ;Bocchinfuso, G. ;Alhaique, F. Investigation of a new scleroglucan/borax hydrogel: structure and drug release. Int. J. Pharm. 2006, 322, 13-21)。他们研究了模型药物茶碱、维生素 B12 和肌红蛋白从交联水凝胶中释放的动力学。这些水凝胶是肉眼可见的凝胶且不是微球或纳米球。

[0229] 胶凝糖也可以用作离子交联剂。胶凝糖是阴离子微生物多糖,其在抗衡离子、尤其是二价离子如钙的存在下的胶凝特性众所周知。胶凝糖已用作小核菌葡萄聚糖的交联剂。

[0230] 角叉菜胶是包含 D- 半乳糖和 3,6- 脱水-D- 半乳糖单元的线性硫酸化生物聚合物。通过与一价离子(通常是 K^+) 且有时二价离子胶凝来制备 κ -角叉菜胶珠。海藻酸是藻类产生的线性多糖,其包含不同量的(1 $\rightarrow$ 4)-连接的 β -D- 甘露糖醛酸和 α -L- 古洛糖醛酸残基。Mohamadnia 等人已经合成了碳水化合物生物聚合物 κ -角叉菜胶(图 5)和海藻酸钠的离子交联珠粒。(例如,参见 Mohamadnia, Z. ;Zohuriaan-Mehr, M. J. ;Kabiri, K. ;Jamshidi, A. ;Mobedi, H. pH-Sensitive IPN hydrogel beads of carrageenan-alginate for controlled drug delivery. J. Bioactive Compat. Polym. 2007, 22, 342-356 和 Mohamadnia, Z. ;Zohuriaan-Mehr, M. J. ;Kabiri, K. ;Jamshidi, A. ;Mobedi, H. Ionically crosslinked carrageenan-alginate hydrogel beads. Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition 2008, 19, 47-59)。海藻酸盐胶凝在二价或三价阳离子(通常是 Ca^{2+}) 与古洛糖醛酸残基以离子方式相互作用时发生,导致形成三维网络。已经研究了用于控释口服药物制剂的海藻酸- Ca^{2+} 水凝胶(例如,参见 Bajpai, S. K. ;Sharma, S. Investigation of swelling/degradation behavior of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions. React. Func. Polym. 2004, 59, 129-140)。

[0231] Langer 等人已经描述了由离子或共价交联的水凝胶组成的互相贯穿的聚合物网络的合成(例如,参见 Langer, R. S. ;Anseth, K. ;Elisseeff, J. H. ;Sims, D. Semi-interpenetrating or interpenetrating polymer networks for drug delivery and tissue engineering. U. S. Patent 6, 224, 893, May 1, 2001)。碳水化合物例如透明质

酸、葡聚糖、硫酸肝素、硫酸软骨素、肝素、海藻酸、胶凝糖和角叉菜胶用于合成离子交联的水凝胶。共价交联的水凝胶由壳聚糖聚合物和异硫氰酸酯交联剂组成。水凝胶是能够在体内注射时保留生物活性分子或药物的粘性溶液形式。未报道微粒或纳米颗粒的形成。异硫氰酸酯交联剂的应用可能不适合于食品级水凝胶的合成。

[0232] 疏水修饰的多糖例如羟丙基纤维素和包含羧基的多糖例如海藻酸或羧甲基纤维素的掺合物用于制备水凝胶颗粒。疏水修饰的多糖因在水中的相分离而导致自发形成颗粒,而包含羧基基团的多糖赋予 pH- 响应性行为并且还增加肠通过时间。使用多糖的掺合物来形成水凝胶(肉眼可见的凝胶和水性分散体)的综述如下。

[0233] Ichikawa 等人已经通过壳聚糖(具有约 77% 的脱乙酰度)和羧甲基纤维素水解物的自我装配合成了 0.5wt% 浓度的纳米颗粒混悬液(例如,参见 Ichikawa, S. ;Iwamoto, S. ;Watanabe, J. Formation of biocompatible nanoparticles by self-assembly of enzymatic hydrolysates of chitosan and carboxymethyl cellulose. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005, 69, 1637-1642)。分别用壳聚糖酶和纤维素酶水解聚合物。仅通过混合两种聚合物的溶液,羧甲基纤维素的羧基与壳聚糖的氨基之间的静电相互作用导致纳米颗粒的自发形成。粒度取决于溶液的混合比率以及聚合物的分子量。在混合前,必需水解聚合物和降低分子量,以防止形成肉眼可见的凝胶。

[0234] Sergio 等人已经报道了由酸性多糖例如海藻酸和碱性多糖例如壳聚糖的寡糖衍生物的混合物制备水凝胶(例如,参见 Sergio, P. ;Ivan, D. ;Eleonora, M. Hydrogels of polysaccharide mixtures for tissue engineering and as carriers of active compounds. 国际专利申请 WO/2007/135114, Nov 29, 2007)。他们描述了使用静电‘珠发生器’合成具有 870 μ m 平均直径的微胶囊。合成颗粒的可选择的化学方法由例如混合海藻酸盐溶液和用 0.15M NaCl 和 10mM HEPES(pH 7.4) 制备的壳聚糖的乳糖衍生物组成。总聚合物浓度为 2% 且聚阴离子与聚阳离子的重量比为 3 : 1。颗粒典型地尺寸较大,使得它们可以被光学显微镜成像。

[0235] White 等人已经使用碱性多糖例如壳聚糖和阴离子多糖例如透明质酸制备了水凝胶膜(应用于皮肤学、整形外科、泌尿科学和矫形外科领域)(例如,参见 White, B. J. ; Rodden, G. I. Compositions of semi-interpenetrating polymer network. 国际专利申请 WO/2005/061611, 2005 年 7 月 7 日)。

[0236] Vieira 等人已经制备了氧化的海藻酸盐和掺合了壳聚糖的氧化的海藻酸盐的水凝胶,并且研究了这些药物与抗叶酸药乙胺嘧啶的相互作用(例如,参见 Vieira, E. F. S. ; Cestari, A. R. ;Airolidi, C. ;Loh, W. Polysaccharide-based hydrogels :Preparation, characterization and drug interaction behavior. *Biomacromolecules* 2008, 9, 1195-1199)。使用高碘酸钠部分地氧化海藻酸钠,以得到 2,3- 二醛海藻酸盐。通过广泛透析完全除去高碘酸盐。使用 CaCl_2 或壳聚糖 / CaCl_2 、在硼砂的存在下进行 2,3- 二醛海藻酸盐的胶凝。未报道微粒或纳米颗粒的合成。

[0237] Meena 等人讨论了基于琼脂的接枝和海藻酸钠与丙烯酰胺的掺合物的水凝胶系统的合成(例如,参见 Meena, R. ;Chhatbar, M. ;Prasad, K. ;Siddhanta, A. K. Development of a robust hydrogel system based on agar and sodium alginate blend. *Polym. Int.* 2008, 57, 329-336)。将琼脂和海藻酸钠分别溶于蒸馏水。使用微波照射在 90℃ 将琼脂

溶解 2min,而在环境温度溶解海藻酸钠。琼脂和海藻酸钠的掺合物通过以不同比率将琼脂与之混合而制备。冷却得到的掺合物,形成凝胶,将其切成小块,用异丙醇脱水。在减压下通过尼龙布以过滤脱水的硬化的凝胶颗粒,并将其风干,然后在 50℃在烘箱内干燥 2h。使用研钵和研杵研磨干燥的掺合物样品,得到 20-40 目颗粒。

[0238] 还报道了由与小核菌葡萄聚糖共交联的胶凝糖组成的水凝胶(例如,参见 Alhaique, F. ;Coviello, T. ;Rambone, G. ;Carafa, M. ;Murtas, E. ;Ricciari, F.M. ;Dentini, M. ;Desideri, P. Agellan-scleroglucan co-crosslinked hydrogel for controlled drug delivery. Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 1998, 25th 866-867)。胶凝糖和小核菌葡萄聚糖二者在水凝胶中的应用导致肉眼可见的水凝胶具有更好的硬度和稳定性,并且导致客体分子更缓慢的释放。从单独的 Ca^{2+} 交联的胶凝糖中的释放速率不理想地高。

[0239] Kim 等人已经使用修饰的葡聚糖的光交联合成了基于多糖的水凝胶(例如,参见 Kim, S. H. ;Won, C. Y. ;Chu, C. C. Synthesis and characterization of dextran-based hydrogel prepared by photocrosslinking. Carbohydrate Polymers 1999, 40, 183-190)。葡聚糖在结构上包含 (1 → 6)-连接的 α -D-吡喃葡萄糖基残基和三个羟基/葡萄糖残基。首先使葡聚糖与溴乙酰溴反应。然后使溴乙酰化葡聚糖与丙烯酸钠反应以掺入乙烯基。通过用 UV 光照射丙烯酸化葡聚糖进行光交联。它们是肉眼可见的凝胶,而不是微粒或纳米颗粒。

[0240] 类似地, Reis 等人通过使淀粉与甲基丙烯酸缩水甘油酯反应而引入乙烯基侧基(例如,参见 Reis, A. V. ;Guilherme, M. R. ;Moia, T. A. ;Mattoso, L. H. C. ;Muniz, E. C. ;Tambourgi, E. B. Synthesis and characterization of starch-modified hydrogel as potential carrier for drug delivery system. J. Polym. Sci. :Part A: Polym. Chem. 2008, 46, 2567-2574)。淀粉是包含两种结构成分的多糖:淀粉酶和支链淀粉。淀粉酶是由 250-300 个 (1 → 4)-连接的 α -D-葡萄糖残基组成的直链。支链淀粉是由约 1400 个具有 α (1 → 4) 和 α (1 → 6) 连接的 D-葡萄糖残基组成的支链分子。它构成了约 80% 的总淀粉并且易于水解。通过使淀粉与甲基丙烯酸缩水甘油酯反应引入可交联的乙烯基,得到图 7 中图示的结构。

[0241] Chen 等人通过使糖与环氧丙烯酸酯,或使甲基丙烯酰氯和乙酰氯反应合成了可聚合的糖单体,例如蔗糖,并且使用这些单体形成了水凝胶(例如,参见 Chen, J. ;Bongjo, S. ;Park, K. Hydrophilic, hydrophobic, and thermoreversible saccharide gels and foams, and methods for producing same. 美国专利 6018033, 2000 年 1 月 25 日)。Cai 等人已经通过共价连接乙烯基类似地修饰了羟丙基纤维素,所述共价连接的乙烯基允许通过自由基聚合过程将多糖链化学连接成纳米颗粒(例如,参见 Cai, T. ;Hu, Z. ;Ponder, B. ;St. John, J. ;Moro, D. Synthesis and study of and controlled release from nanoparticles and their networks based on functionalized hydroxypropylcellulose. Macromolecules 2003, 36, 6559-6564)。

[0242] 如上述提及的,有关亲水性分子在水性分散体的颗粒载体中的封装的报道并非众多。Edlund 和 Albertsson 改变了基于半纤维素的水凝胶微球的交联密度并且发现交联的网络不能阻止小和亲水性分子化合物如咖啡因的快速释放(例如,参见 Edlund, U. ;

Albertsson, A.-C. A microspheric system: hemicellulose-based hydrogels. *Journal of Bioactive and Biocompatible Polymers* 2008, 23, 171-186)。相反, 大分子例如蛋白质(牛血清白蛋白)的释放可以通过改变网络筛目而进行控制, 其中释放通过 Fickian 扩散进行。其他研究已经显示俘获的分子的大小和亲水性的相同依赖性。

[0243] 申请人使用相对无毒性的交联剂例如三偏磷酸三钠 (TSTMP) 和三聚磷酸钠 (STPP) 合成了羟丙基纤维素微凝胶。通过碱-催化的环氧丙烷与纤维素的反应制备了羟丙基纤维素 (HPC)。HPC 允许在食品中用于人消耗, 并且描述在美国食品与药品监督管理细则的第 121.1160 节中 [Klug, E. D. Hydroxypropyl Cellulose. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*; Bikales, N. M., Ed.; Wiley Interscience: New York, 1971; Vol. 15, pp 307-314]。根据 FDA 细则, 食品中可允许至多 0.4wt% 的未反应的 TSTMP 和 STPP。FDA 允许用于制备食品级淀粉的其他试剂例如磷酸氯、己二酸盐/酯和己二酸-乙酸混合酸酐也可以用于交联反应。尽管其过去用于交联淀粉, 但是显然不能使用致癌物例如表氯醇。例如, 参见图 10, 其描述了使用 TSTMP 在氢氧化钠的存在下交联包含羟基的多糖。

[0244] 典型地在水性介质中在 pH 11.5 下使用三偏磷酸三钠交联淀粉 [Xie, S. X.; Liu, Q.; Cui, S. W. Starch modification and application. In *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*; Cui, S. W. Ed.; Taylor & Francis: New York 2005; p. 358]。允许反应在 40°C 下进行 2-6h。申请人发现, 可以使用非常高的氢氧化钠浓度和反应温度以相对高的浓度(至多 10wt%, 但无宏观相分离)得到羟丙基纤维素微粒。氢氧化钠不仅参与交联反应, 而且明显降低羟丙基纤维素的 LCST, 导致颗粒甚至在室温下形成(在足够高的 NaOH 浓度下)。

[0245] 获自 Sigma-Aldrich 的羟丙基纤维素粉末用于微粒合成。HPC 聚合物具有 10,000g/mol 的数均 (number-average) 分子量 $\overline{M}_n$ 、80,000g/mol 的重均 (weight-average) 分子量 $\overline{M}_w$ 、2.5 的取代度 DS 和 3.7 的摩尔取代度 MS。取代度 DS 被定义为取代的羟基的平均数/脱水葡萄糖单元 [Klug, E. D. Hydroxypropyl Cellulose. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*; Bikales, N. M., Ed.; Wiley Interscience: New York, 1971; Vol. 15, pp 307-314]。摩尔取代度 MS 被定义为合并的环氧丙烷分子的平均数/脱水葡萄糖单元。

[0246] 将约 15mg 精制的大豆卵磷脂 (MP Biomedicals) 溶于 5mL 氢氧化钠溶液 (pH = 12), 得到淡黄色半透明溶液。向该溶液中加入 400 毫克 HPC 并且搅拌以得到粘性溶液。在另一个小瓶中, 用蒸馏水制备 12% (w/v) 的 TSTMP 溶液。然后将 5 毫升该 TSTMP 溶液加入到 HPC/大豆卵磷脂溶液中。搅拌该混合物, 得到均匀溶液, 将其在 50°C 加热 1h, 然后冷却至室温。使用不锈钢 ISFET pH 探头 (IQ Scientific Instrument) 测定得到的分散体的 pH, 为 7.8。使用几微升 4M 盐酸将 pH 调整至 7。HPC 分散体由如下成分组成: 400mg HPC (3.2mmol 羟基)、15mg (0.05mmol) 大豆卵磷脂、600mg (2.0mmol) TSTMP 和约 12mg (0.3mmol) 氢氧化钠, 在约 10mL 蒸馏水中。数均颗粒直径为 3.5 μm 且重均颗粒直径为 3.7 μm 。该分散体的粘度约为 11cP。然后向该分散体中加入 10 毫升的 20% (w/v) 葡萄糖蒸馏水溶液, 将该混合物在 60°C 加热 10min。添加葡萄糖后数均颗粒直径保持接近相同(约 5 μm)。最终分散体的粘度约为 5cP。使用 ALVS-NIBS High Performance Particle Sizer (ALV-GmbH,

Langen/Germany) 测定分散体中的颗粒的平均直径。使用 Ubbelohde Viscometer (Cannon Instrument Co., Pennsylvania) 测定分散体粘度。

[0247] 当在 50℃加热制剂 3h 而非 1h 时,在粒径或分散体粘度方面不存在显著差异。

[0248] 在另一种制剂中,将 10mL 4% (w/v) HPC 的蒸馏水溶液放入玻璃小瓶。加入氢氧化钠颗粒 (310mg, 7.75mmol) 并且溶于该溶液。氢氧化钠的添加产生浑浊均匀分散体。依次加入 TSTMP (600mg, 1.96mmol) 和大豆卵磷脂 (14mg, 0.043mmol) 并且溶解。将该分散体在 50℃加热 1h, 此后将其冷却至室温。该方法导致沉积在小瓶底部的大颗粒的形成。紧在冷却后, 搅拌该分散体 (使用磁搅拌器) 并且使用 4M 盐酸中和至 pH 7。上清液相中的数均和重均颗粒直径分别约为 610nm 和 690nm。HPC 分散体的粘度约为 1.6cP。然后向该分散体中加入 10 毫升 20% (w/v) 葡萄糖的蒸馏水溶液, 将该混合物在 60℃加热 10min。添加葡萄糖后, 加载葡萄糖的分散体中的数均颗粒直径约为 1.6 μm 且重均颗粒直径约为 2.2 μm。最终分散体的粘度约为 2cP。

[0249] 在另一个实施方案中, 在 110℃将 4g HPC (31.9mmol 羟基) 在含有 2.1g (52.5mmol) 氢氧化钠和 1g (3.27mmol) TSTMP 的 100g 水中的溶液加热 2h, 导致水凝胶微球的形成。将该分散体冷却至室温并且使用约 4mL 4M 盐酸中和至产生具有约 22cP 粘度和约 3.4 μm 重均颗粒直径的溶液。添加 104mL 20% (w/v) 葡萄糖溶液, 得到具有 10% (w/v) 糖浓度、6.8cP 粘度和约 4.1 μm 重均颗粒直径的最终分散体。在添加糖溶液后将制剂在 60℃加热 10min。

[0250] 在另一种制剂中, 将溶于 100g 水的 8g HPC (63.7mmol 羟基) 与 2.23g (55.8mmol) 氢氧化钠和 1g (3.27mmol) TSTMP 一起加热。在密封玻璃反应器中在 110℃加热 2h。冷却后, 使用约 20mL 的 4M 盐酸中和未反应的氢氧化钠, 得到具有约 4.3 μm 重均颗粒直径的交联 HPC 微球的分散体。分散体的粘度约为 31.2cP。然后加入 20% (w/v) 葡萄糖溶液 (120mL), 得到具有 10% (w/v) 葡萄糖、3.3% (w/v) HPC、约 2.5% (w/v) 氯化钠的制剂。添加糖后, 将该分散体在 60℃加热 10min。最终分散体中的重均颗粒直径约为 4.5 μm, 且该分散体的粘度约为 31cP。该分散体的粘度对混合溶液的次序敏感。如果在第二个加热步骤 (60℃ 10min) 后加入葡萄糖溶液, 则得到的分散体的粘度较高 (约 55cP)。

[0251] 如下合成羟丙基纤维素和海藻酸钠 (CAS no. 9005-38-3; American International Chemical, Inc., F-200) 的微粒水凝胶。将 10 毫克 HPC (0.080mmol 羟基) 溶于 1mL 蒸馏水。向该溶液中加入 1mL 2.5M NaOH 溶液 (2.5mmol NaOH)、20mg (0.065mmol) 三偏磷酸三钠、10mg 海藻酸钠和 2mg (6.1 μmol) 大豆卵磷脂。充分搅拌该溶液。得到浑浊分散体, 其甚至在加入几滴浓盐酸后 (导致最终 pH 约为 2, 从而模拟胃的酸性环境), 仍然保持稳定。

[0252] 羟丙基纤维素在高于 41℃的温度下在水中自我装配。该温度称作低临界溶液温度 (LCST), 高于它聚合物链发生自发自我装配。HPC 的热自我装配是一个可逆的过程。当冷却溶液至低于 LCST 时, 构成微粒的各聚合物链被水分子溶剂化。使用三偏磷酸三钠 (TSTMP) 交联 HPC 链, 防止微粒在溶液冷却至低于临界溶液温度时溶出。

[0253] 在另一种策略中, 可以通过使用丙烯酰基 (或甲基丙烯酰基)、应用丙烯酰氯 (或甲基丙烯酰氯) 官能化多糖而进行交联。丙烯酰基酯的形成因丙烯酰氯与多糖的羟基反应而导致 (图 11)。然而, 重要的是, 从官能化聚合物中完全除去未反应的丙烯酰氯, 因为丙烯酰氯存在毒性。然后可以使用相对温和的自由基氧化还原引发剂例如抗坏血酸和过氧化氢或

热引发剂例如过硫酸钾使乙烯官能化 HPC 在水中在高于 LCST 下交联。

[0254] 因此,将 1g 羟丙基纤维素 (8mmol) 放入配备磁搅棒并且配有橡胶隔片的圆底烧瓶中。将聚合物溶于 20mL 无水二氯甲烷,得到浑浊粘性溶液。用干燥氮气清除烧瓶中的空气。将约 1mL (7mmol) 三乙胺注入反应器,然后滴加约 520 μ L (6.4mmol) 丙烯酰氯。将该混合物在室温下搅拌,此时浑浊溶液在添加丙烯酰氯后几分钟变澄清。将该溶液搅拌过夜,此后回收丙烯酸化羟丙基纤维素产品,并且通过在冷 (约 0°C) 乙醚和丙酮中重复沉淀而纯化。将产物在 40°C 真空干燥。将约 40mg 丙烯酸化 HPC 聚合物溶于 2mL 蒸馏水,在室温下得到浑浊溶液。向该溶液中加入约 65mg (200mmol) 大豆卵磷脂并且溶解。通过鼓入氮气使 HPC 和大豆卵磷脂的溶液脱氧,此后注入 2mL 脱气的过硫酸铵溶液 (9.1mg, 40mmol)。将该溶液在 70°C 加热 2h,得到交联的丙烯酸化羟丙基纤维素颗粒的分散体。数均和重均颗粒直径分别为 1.28 μ m 和 1.34 μ m。

[0255] 在基于乳剂的羟丙基纤维素微凝胶的合成中,将 80mg 丙烯酸化羟丙基纤维素溶于 2mL 二氯甲烷。向该溶液中加入蒸馏水 (4mL) 并且搅拌以得到乳剂。在 35°C、使用过硫酸铵和葡萄糖的氧化还原系统进行丙烯酸化羟丙基纤维素的交联。将葡萄糖 (21.6mg, 12mmol) 溶于该乳剂。将 2 毫升过硫酸铵 (27.4mg, 0.12mmol) 在蒸馏水 (2mL) 中的溶液注入乳剂以引发交联反应。使用旋转蒸发器从得到的分散体中除去二氯甲烷。得到交联的丙烯酸化羟丙基纤维素微凝胶的浑浊分散体。交联的颗粒在静置时沉降至小瓶底部,且由此可以通过倾出上清液以粉末形式进行分离。还可以使用氧化还原系统例如过硫酸盐 / 葡萄糖、过氧化氢 / 抗坏血酸等进行交联。

[0256] 在 110°C 加热 2h 的 400mg HPC、100mg TSTMP、200mg NaOH、10mL 水溶液 (其中用浓 HCl 中和分散体) 的扫描电子显微镜检查揭示,在 SEM 下观察到大的 (约 1 μ m) 立方体颗粒。HPC 具有低玻璃转化温度且易于在室温在 SEM 基底上形成薄膜。然而,难以使用 SEM 对纳米颗粒成像。

[0257] 实施例 2

[0258] 对于上述本发明的不同方面而言,对碳水化合物 (CHOs) 作为能量来源的相对重要性的基本理解用于设计本发明的递送系统。可以改善运动员耐力和运动行为表现的食品制剂已经是运动和训练科学中的几项研究的焦点ⁱ。运动员在运动过程中需要持续提供燃料以避免疲劳。蛋白质、脂肪和碳水化合物被视为运动员膳食的重要成分^{ii,iii},但目前对富含碳水化合物的运动员膳食的强调在约 90 年前进行的研究中已经得到支持。这些早期的研究暗示了血糖浓度与疲劳之间的相关性。Levine 等人在 1924 年发现,富含碳水化合物的膳食对 25-英里马拉松竞赛的参与者而言导致改善的奔跑行为 (测定为完成该竞赛的时间) 并且防止奔跑者的低血糖症^{iv}。另一方面,Christensen 和 Hansen 证实,在运动过程中高脂肪膳食导致低血糖症和神经血糖过少,这导致在运动后严重的疲劳和筋疲力尽^{v,vi,vii}。他们发现这些症状可以通过在运动前使用碳水化合物膳食来预防。

[0259] 碳水化合物、脂肪和蛋白质作为运动的能量来源的相对重要性在 1995 年由 Coyle 在综述中进行了详细阐明^{viii}。Jeukendrup 的更近期的综述关注于作为能量来源的碳水化合物ⁱ。尽管蛋白质分解代谢一般促成低于 5% 的肌肉收缩所需的能量^{ix},但是肌糖原、肝糖原和血糖形式的碳水化合物和血浆脂肪酸和肌肉甘油三酯形式的脂肪是稳态有氧运动的主要能量来源^{viii}。人体贮存大量能量作为脂肪 (> 300,000kJ)^{x,ix},但体内脂肪甚至在中

度运动过程中也不易于氧化利用。肌肉有限的以足够高速率氧化脂肪（以维持中至高强度运动（即大于 60% 的最大摄氧速率， $\dot{V}_{O_{2max}}$ ））的能力使得肌糖原和血糖在这些运动过程中成为能量的主要来源。当肌糖原和血糖贮存耗尽时发生疲劳。

[0260] 肝糖原中的能量贮存（约 80g）约为 1280kJ，肌糖原中的能量贮存（约 400g）约为 6400kJ，血糖包括胞外流体中的葡萄糖含量的能量贮存（约 10g）约为 160kJ^{ix, xi}。因此，具有 4.5L/min 的最大摄氧速率、以约 80% 的 $\dot{V}_{O_{2max}}$ 进行激烈的有氧运动的 80-kg 运动员将以约 75kJ/min 的速率消耗能量，导致在约 105min 内耗尽内源性碳水化合物贮存。该运动员将不能以足以满足甚至中等强度运动（60-75 % $\dot{V}_{O_{2max}}$ ）的能量需求的速率氧化脂肪^{viii}。预计这些因素对 105min 后的运动行为产生不良影响。碳水化合物消耗可以节省内源性碳水化合物贮存和避免疲劳。

[0261] 许多研究报道，在运动前和过程中的碳水化合物消耗可以延缓运动员在高强度运动过程中的疲劳^{xii, xiii, xiv, xv, xvi, xvii, xviii, xix, xx, xxi, xxii, xxiii}。Jeukendrup 和合作者发现，当碳水化合物以 40-75g/h 的速率被消耗时，在研究中观察到身体行为表现的改善，且在碳水化合物摄入速率超过 75g/h 时，不再观察到进一步的改善ⁱ。他们还确定，在运动过程中中等葡萄糖摄入速率（35g/h）抑制内源性葡萄糖产生，而高葡萄糖摄入速率（175g/h）完全阻断了内源性葡萄糖产生^{xxiv}。此外，他们还发现，当与葡萄糖膳食比较时，针对合并的葡萄糖和果糖膳食得到了高外源性碳水化合物氧化速率（> 1g/min）和由此减少的肌糖原消耗^{xxv}。

[0262] 运动前碳水化合物消耗增加肝糖原和肌糖原贮存，且由此通常被实施以延缓疲劳并且改善运动行为表现^{xxvi}。然而，它还可以导致血浆胰岛素浓度增加，这将增加运动开始时肌肉葡萄糖的摄取，而随后导致低血糖症^{xxvi}。Febbraio 等人已经证实，运动前摄取碳水化合物仅在碳水化合物摄取维持贯穿整个运动时有益^{xxvi}。连续摄取 CHO 不一定对运动员便利。文献中的大部分研究使用连续摄取 CHO 的静脉内方法，或需要参与者每 10-15min 消耗 CHO 大丸剂。两者都不实际。市售可得到的制剂不能持续递送 CHO。如本文所述，发明人已经研发了可以提供 CHO 的持续递送的一种或多种制剂。

[0263] 较高的血浆胰岛素浓度也对脂肪分解代谢产生不良影响。脂肪酸的动员、摄取和氧化决定人体内的最大能量贮存 - 脂肪组织甘油三酯 - 作为运动过程中肌肉的能量来源的应用。脂肪组织甘油三酯必须首先被脂肪酶水解，以便将游离脂肪酸释放入血流，用于被工作肌肉摄取^{ix, x}。肌内甘油三酯也可以进行脂解并且用作在线粒体中进行氧化的脂肪酸来源。在低运动强度（< 25% $\dot{V}_{O_{2max}}$ ）和禁食状态下，几乎运动所需的所有能量都来源于血浆脂肪酸。脂肪氧化可以提供至多 50% 的在 70% $\dot{V}_{O_{2max}}$ 下运动所需的能量（其中来自血浆脂肪酸和肌内甘油三酯的贡献几乎均等），和少于三分之一的持续 10-30min 的更大强度运动所需的能量。在肌糖原耗尽后，肌肉氧化脂肪的能力限于约 50% $\dot{V}_{O_{2max}}$ 的能量利用率。

[0264] 用于肌肉氧化的血浆脂肪酸的利用率随运动强度增加而减少，这可能是由于儿茶酚胺 - 刺激的脂肪组织血管的血管收缩、脂肪组织血流不足^x，和由此携带脂肪酸从脂肪组织到工作肌肉的白蛋白递送不足所致^{ix}。肌肉有限的氧化脂肪的能力还归因于肉碱软脂酰转移酶刺激的脂肪酸通过线粒体膜转运的限速步骤^{viii}。已知碳水化合物在肌肉中的存在减少了脂肪氧化和脂肪通过线粒体膜的转运。因运动前 CHO 荷载导致的血浆胰岛素浓度增

加降低了脂解^{xxvii}和脂肪利用率^{xxviii},且由此对运动行为表现产生不良影响。甚至极小的血浆胰岛素浓度增加都可以将脂解速率抑制 50%以上,低于基础水平^x。

[0265] Coyle 已经证实,当在以 $74\% \dot{V}_{O_{2max}}$ 进行运动的整个过程中摄取碳水化合物,使得血流中的葡萄糖浓度维持较高时,肌糖原利用在运动的后期(3-4h 期限)最低,这表明血糖在该过程中是主要的碳水化合物来源^{viii}。其他研究已经证实,肌糖原不是运动所必须的^{xxix}。

[0266] CHO 从小肠吸收入全身循环是运动过程中使用外源性葡萄糖作为能量来源的限速因素。在运动过程中可以氧化外源性葡萄糖的最大速率约为 $1\text{g}/\text{min}^{\text{xxi}}$ 。

[0267] 具有高升胰岛素指数的碳水化合物例如葡萄糖、蔗糖和麦芽糖糊精同等有效地维持血糖浓度和碳水化合物氧化并且改善运动行为表现^{viii}。与葡萄糖或蔗糖相比,果糖摄取典型地对改善行为表现无效,这是由于肝将果糖转化成葡萄糖的速率相对较低。果糖摄取导致肝糖原贮存比葡萄糖增加 4- 倍^{xxx}。果糖主要在肝中代谢,而葡萄糖可以绕过肝且被肌肉贮存或氧化。Jandrain 等人已经发现,当在中等强度的延长的运动过程中反复摄取时,果糖与葡萄糖相比在代谢上较不可获得,尽管转化成循环葡萄糖的速率较高^{xxxi}。近来,Jeukendrup 和合作者已经发现,摄取中等量的葡萄糖 + 果糖不会增加外源性 CHO 氧化至高于单独的等热量的葡萄糖^{xxxii}。

[0268] 然而,其他研究已经证实,外源性 CHO 氧化速率可通过使用不同单糖(例如葡萄糖、果糖和蔗糖)的混合物而得到增加^{xxxiii}。Jentjens 等人发现,当以 1.8g 葡萄糖 / 分钟的速率摄取葡萄糖时,外源性 CHO 氧化速率限于 $0.83\text{g}/\text{min}^{\text{xxxiv}}$ 。另一方面,当摄取葡萄糖和果糖的混合物时,可以达到 $1.26\text{g}/\text{min}$ 的总外源性 CHO 氧化速率 -52% 的增加。Adopo 等人的早期研究已经证实,摄取葡萄糖和果糖的混合物导致外源性 CHO 氧化速率高于等热量的葡萄糖^{xxxv}。外源性葡萄糖和果糖的氧化速率高于仅消耗葡萄糖时的氧化速率 21%。因为不同单糖由特异性转运蛋白转运通过肠腔,所以单糖的混合物可以导致被细胞的总摄取高于单一碳水化合物。例如,葡萄糖和半乳糖被称作钠依赖性葡萄糖转运蛋白 1 (SGLT1) 的转运蛋白转运通过小肠细胞膜,而果糖由称作葡萄糖转运蛋白 5 (GLUT5) 的不同转运蛋白转运。一般而言,提供 1 : 1 的葡萄糖和果糖分子的混合物将降低 SGLT1 转运途径中的输送量 2 倍,与仅提供葡萄糖分子的情况相比。尽管使用葡萄糖和果糖的混合物可以增加 CHO 的净吸收速率,但是果糖可能无法立即作为能量来源利用,这是由于果糖到葡萄糖的肝转化速率相对缓慢。

[0269] 至小肠的血流速度也可以是 CHO 吸收的限制因素。在高强度运动过程中至小肠的血流速度显著降低(参见表 4)^{xxxvi}。运动过程中有限的外源性葡萄糖氧化速率的原因还可以归因于至小肠的血流速度降低。另外可能的情况是,肝糖原合成和糖原分解不允许葡萄糖输出大于约 $1.0\text{g}/\text{min}$,而与来自小肠的供应速率无关。

[0270] 表 4. 运动员休息和动态运动过程中的血流分布

[0271]

	休息		剧烈运动	
	mL/min	总心输出的%	mL/min	总心输出的%
内脏(胃、小肠、结肠、 胰腺、肝和脾) ^{xxxvii}	1.4	24	0.3	1
肾	1.1	19	0.9	4
脑	0.75	13	0.75	3
冠状动脉	0.25	4	1	4
骨骼肌	1.2	21	22	86
皮肤	0.5	9	0.6	2
其他	0.6	10	0.1	0.5
总心输出	5.8	100	25.65	100

[0272] Pfeiffer, B. 等人在 Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. (2009) 19(5) :485-503 中讨论了碳水化合物凝胶对胃肠耐受力的效果。Hultson, C. 等人在 Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. (2009) 19(3) :275-284 中证实,在延长的运动过程中不存在来自碳水化合物摄取的安慰剂效应。Currel, K. 等人在 Med. Sci. Sports Exerc. (2008) 40(2) :275-281 中将耐力表现行为与摄取一种以上的碳水化合物相关联。

[0273] 实验方法

[0274] 温度响应性聚合物例如羟丙基纤维素 (HPC) 的微粒通过将该聚合物的水溶液加热至高于其低临界溶液温度来制备。使用 FDA 批准的三偏磷酸三钠 (TSTMP) 使颗粒内的聚合物链共价交联,得到微粒水凝胶。给颗粒加载葡萄糖 (D-葡萄糖),并且研究具有不同化学组成和颗粒浓度的制剂的俘获的葡萄糖的释放速率。存在于水溶胀的水凝胶颗粒内的糖可用于延长释放。剩余的糖存在于水相中并且可用于通过肠腔的立即吸收。用 pH 响应性、粘膜粘着性聚合物例如海藻酸钠包被水凝胶微粒,以提供抗胃释放的扩散屏障。通过实验测定体外释放动力学和体内释放动力学(以两种不同的能量消耗速率)。本发明的延迟释放制剂的葡萄糖浓度对时间的特征,与市售可得的常规即释制剂和其他对照相比,显示明显差异和优点。

[0275] 材料

[0276] 羟丙基纤维素 (HPC-SL, USP 级) 获自 Nippon Soda Co. Ltd. 精制大豆卵磷脂购自 MP Biomedicals Inc., LLC(目录号 102147)。海藻酸钠聚合物(海藻酸钠 NF, F-200, SAHMUP 和海藻酸钠 NF, SALMUP) 获自 American International Chemical, Inc. 三偏磷酸三钠 (TSTMP, 试剂级) 和氢氧化钠(试剂级, > 98%) 购自 Sigma-Aldrich。葡萄糖氧化酶/过氧化物酶 (PGO 酶胶囊, 产品号 P7119)、邻二茴香胺二盐酸盐(目录号 D3252)、葡萄糖(目录号 D9434) 和盐酸 (37%, 目录号 320331) 获自 Sigma-Aldrich。Thin-N-Thik® 99 淀粉和 Resista® 无水柠檬酸、Staleydex® 333 葡萄糖和 Krystar® 300 结晶果糖获自 Tate&Lyle。食品级大豆卵磷脂 UltraLec® P Deoiled Lecithin 获自 Archer Daniels

Midland Company。食品级表面活性剂甘油单酯的二乙酰基酒石酸酯 (DATEM, **Panodan®** 150LP K-A) 获自 Danisco。氢氧化钠 (FCC 级) 购自 VWR。苯甲酸钠 (FCC 级) 购自 Fischer Scientific。食品级山梨酸钾和三偏磷酸三钠购自 Spectrum Chemical Mfg. Corp。全部化学品不经进一步纯化而使用。广泛使用的商品运动饮料 **GATORADE®** 用作体内实验的阳性对照。**GATORADE®** 由水、高果糖玉米糖浆 (葡萄糖 - 果糖糖浆)、蔗糖糖浆、柠檬酸、天然矫味剂、盐、柠檬酸钠、磷酸一钾、改性食物淀粉、红色染料 #40 和松香的甘油酯组成。总糖浓度为 5.83% (w/v)。钠和钾浓度分别为 0.45mg/mL 和 0.125mg/mL。

[0277] 羟丙基纤维素 (HPC)

[0278] 羟丙基纤维素是温度响应性聚合物。当加热该聚合物溶液至高于低临界溶液温度 (LCST) 时, 水化的聚合物链因聚合物 - 水氢键的热断裂而失水。因为它们变成疏水性的, 聚合物链沉淀出溶液, 形成微粒。疏水相互作用导致的颗粒形成是可逆的 - 聚合物分子在分散体冷却至低于 LCST 时再次变成可溶性的。使用示差扫描量热法测定不同添加剂对 HPC 水溶液的低临界溶液温度的影响。HPC 水溶液 (8% w/v) 的 LCST 为 48°C。当将 4mL 3.2% (w/v) 大豆卵磷脂溶液加入到 8% (w/v) HPC 溶液 (10mL) 中时, 未观察到 LCST 的改变。当将 3g TSTMP 水溶液 (1.77% w/v) 加入到包含 HPC 和大豆卵磷脂的溶液中时, LCST 降至 37°C。最终, 加入 0.5g 1.36% w/v 氢氧化钠溶液, 并且将该分散体在 50°C 加热 1h, 同时以 300rpm 搅拌。在 1h 加热后观察到聚合物颗粒的固体沉淀, 其在冷却至室温后可易于再分散。通过添加 40 μ L 4N 盐酸将该分散体的 pH 调节至约 7。向该分散体中加入葡萄糖 (1.75g) 并且通过搅拌溶解。添加葡萄糖后分散体中的交联 HPC 的 LCST 约为 32°C。根据这些添加剂对 HPC LCST 的效应的测量值, 显而易见的是, 颗粒形成甚至在不使用交联剂的情况下也会发生。然而, 化学交联对在较宽范围的离子强度、温度和 pH 条件下维持颗粒完整性而言是期望的。

[0279] 取代度 (DS) 和摩尔取代度 (MS) 是影响 HPC 分散体中颗粒形成和交联的重要参数。纤维素分子中每一葡萄糖单元具有三个羟基。将取代度定义为与环氧丙烷反应的羟基平均数 / 脱水葡萄糖单元^{xxxviii}。因此, 取代度始终小于或等于 3。将摩尔取代度定义为反应的环氧丙烷分子的平均数 / 葡萄糖单元。摩尔取代度一般大于取代度并且可以大于 3。摩尔取代度与取代度之比得到聚合物中羟丙基侧链的平均长度 (x+1, 参见图 12)。

[0280] 基于图 12 中所示的 HPC 聚合物的结构, 显然的是, 聚合物中每一重复单元的平均分子量等于 $(162.15 + 58.08 \cdot MS)$ 。每一重复单元具有三个羟基。因此, 羟基的摩尔数 / 克 HPC 聚合物通过 $3 / (162.15 + 58.08 \cdot MS)$ 得到。就 HPC-SL 而言, 取代度为 1.9, 而摩尔取代度约为 2.1。因此, 羟基的浓度约为 10.6mmol / 克聚合物。

[0281] 分散体合成

[0282] 在 50°C 的反应温度下, HPC 链聚集形成微粒。使用图 13 中所示的反应共价交联颗粒中的各聚合物链。在反应结束时, 颗粒沉降在小瓶底部。然而, 在冷却至室温后, 它们易于通过温和搅拌再分散。

[0283] 将具有一般目的的不锈钢 ISFET 传感探头的 IQ150-77pH/mV/Temperature 系统 (IQ Scientific Instruments) 用于 pH 测定。使用 ALV-NIBS 高效粒度分析仪测定分散体中的粒径。使用 JEOL JSM6300 扫描电子显微镜进行扫描电子显微镜检查。在室温将 1 滴样品在铝段管上风干约 12 小时。在 SEM 分析前, 用金导电层喷涂干燥颗粒。使用 Ubbelohde

粘度计 (Cannon instruments Co., 1C 号) 测定分散体粘度。使用秒表测定液体在粘度计上的两个基点之间洗脱所花费的时间, 并且将制剂的粘度计算为 ‘粘度计常量’、实验测定的液体密度和洗脱时间的乘积。使用 TA Instruments Differential Scanning Calorimeter 进行示差扫描量热法 (DSC)。在超高纯度氮气的惰性环境中进行 DSC 测定。PerkinElmer 铝盘 (#02190062) 用于样品和参比物。将样品加热至 75℃, 在该温度保持 1 分钟, 然后以 10℃ /min 的速率冷却至 20℃。测定样品与参比物之间的热流差异, 以得到 DSC 热分析图。

[0284] 使用 PermeGear Side-Bi-Side 水平扩散池测定水凝胶微粒中封装的葡萄糖的体外释放动力学。扩散池由被膜隔开的提供室和接受室组成。将膜置于两个室之间并且用不锈钢夹保持各室彼此结合。提供室和接受室各自具有 7mL 的体积并且开口的直径为 15mm。提供室和接受室被夹套包裹, 通过该夹套来自温度控制水浴的水得以循环。就本文详细描述释放动力学实验而言, 因其亲水性和耐酸性而使用聚醚砜膜。具有 450nm 孔径和 25mm 直径的聚醚砜膜购自 Sterlitech Corporation。将扩散池组件固定在磁搅拌板上。使用磁搅拌棒搅拌接受室的内含物。保持不搅拌提供室的内含物。为了测定作为时间的函数的葡萄糖浓度, 使用微量注射器从接受室内抽取 100-μL 样品并且用等体积的蒸馏水替代。

[0285] 根据 Sigma-Aldrich 方案, 使用比色葡萄糖氧化酶法测定体外实验中的葡萄糖浓度^{xxxix}。通过在琥珀色瓶中将 1 粒胶囊的 Sigma' s PGOEnzymes 溶于 100mL 水而制备葡萄糖氧化酶 / 过氧化物酶的酶溶液。每粒胶囊包含 500 单元的葡萄糖氧化酶 (黑曲霉 (*Aspergillus niger*))、100 红梣酚单元的过氧化物酶 (辣根) 和缓冲盐。将瓶倒置几次并温和振摇, 以溶解胶囊。通过将 50mg 邻 - 二茴香胺二盐酸盐溶于 20mL 水制备邻 - 二茴香胺溶液。通过将 100mL PGO 酶溶液和 1.6mL 邻 - 二茴香胺二盐酸盐溶液混合制备 PGO- 酶反应溶液。通过倒置几次或适度振摇混合溶液。制备在水中 0.05mg/mL 的葡萄糖标准品。向 PGO 酶反应溶液中加入包含葡萄糖的样品。使反应在室温在约 45 分钟内进行完成。使用 PerkinElmer Lambda 650UV-vis 分光光度计在 450nm 波长处测定最终吸光度。如下测定样品的葡萄糖浓度:

[0286]

$$\text{样品葡萄糖浓度 (mg /mL)} = \frac{\text{吸光度 (试验)} \times \text{样品稀释度} \times 0.05\text{mg/mL}}{\text{吸光度 (标准品)}}$$

[0287] 图 14 显示葡萄糖的酶测定的反应方案。

[0288] 葡萄糖被葡萄糖氧化酶氧化成葡糖酸和过氧化氢 (图 14)。过氧化氢与邻 - 二茴香胺在过氧化物酶的存在下反应, 形成有色产物。在 450nm 处测定的棕色强度与原始葡萄糖浓度成正比。

[0289] 体内释放动力学

[0290] LifeScan 销售的 OneTouch Ultra 血糖生物传感器用于测定血糖浓度。OneTouch Ultra 血糖监测系统使用高级电化学生物传感器测试条, 其仅需要 1 μL 血液和 5s 来进行浓度分析^{xl}。测试条的特征在于自动将血液拉入测试条的设计。

[0291] 就未运动的臂的研究而言, 受试者得到如下指示:

[0292] 1. 在实验前 24h 避免剧烈运动。

[0293] 2. 在实验前禁食过夜, 至少 10h。

[0294] 3. 在就座时, 使用常规的弹簧加载的一次性柳叶刀和手提式葡萄糖计抽取血液并

且进行分析,目的在于测定血糖浓度。得到初始测量值并且在 45min 内记录多至 3 次以建立基线葡萄糖水平。

[0295] 4. 在约 2min 内消耗 400mL 测试制剂、水(对照)、葡萄糖水溶液或 GATORADE® (阳性对照)。

[0296] 5. 在就座时,使用手提式葡萄糖计抽取血液并且分析血糖浓度。得到测量值并且通常,在前 90min 每 5min 记录一次,然后每 15min 记录一次,进行多至 240min,得到血糖浓度对时间的曲线。

[0297] 在从在不同时间测定的血糖浓度中扣除禁食状态(基线)值后,通过梯形法则、使用简单 Matlab 编码测定浓度对时间的曲线下的面积。

[0298] Precor Model 966i 活动平板车或类似物用于动态运动研究。在运动臂的研究中,受试者得到如下指示:

[0299] 1. 在实验前 24h 避免剧烈运动。

[0300] 2. 在实验前禁食过夜,至少 10h。

[0301] 3. 进入测试设备并且舒适就座直至 45min。

[0302] 4. 在就座时,使用常规的弹簧加载的一次性柳叶刀和手提式葡萄糖计抽取血液并且进行分析,目的在于测定血糖水平。得到初始测量值并且在 45min 内记录多至 3 次以建立基线葡萄糖水平。

[0303] 5. 在建立基线葡萄糖水平后,在踏车上以约 5mph 的速度(约 60% $\dot{V}_{O_{2max}}$)奔跑直至 15min。在所述的时间点,要求受试者:短暂停止奔跑;使用常规的弹簧加载的一次性柳叶刀和手提式葡萄糖计抽取血液并且进行分析,目的在于测定血糖水平;和立即重新开始奔跑直到预热期结束为止。得到初始测量值并且在 15 分钟内记录多至 3 次,以建立运动基线葡萄糖浓度。预热期后立即在约 2 分钟内消耗 400mL 测试制剂。

[0304] 6. 以之前的速度重新开始奔跑,并且在指定的时间点要求受试者:短暂停止奔跑;使用常规的弹簧加载的一次性柳叶刀和手提式葡萄糖计抽取血液并且进行分析,目的在于测定血糖水平;和在每次取样后立即重新开始奔跑直到完成臂运动为止。受试者得到指示,以预先设定的速度尽可能长时间地奔跑(至多 195min)。得到测量值并且有规律地记录,得到血糖浓度对时间的曲线。

[0305] 在从在不同时间测定的血糖浓度中扣除基线值后,测定浓度对时间的曲线下的面积。

[0306] 实施例 2.1

[0307] 在室温下在 250-mL 锥形瓶中使用磁搅拌器将羟丙基纤维素(HPC-SL, 4g)溶于 50g 蒸馏水。向锥形瓶中的 HPC 溶液中加入大豆卵磷脂的水溶液,将该混合物搅拌 5min,直到得到均匀淡黄色溶液为止。向该溶液中分三等分加入 TSTMP 水溶液,在每次添加之间搅拌 2min。在添加 TSTMP 后,制剂的混浊度增加,表示颗粒形成。最终,加入氢氧化钠水溶液,将该分散体搅拌 5min。使用 pH 计测定该分散体的 pH,约为 11.6。在使用热板(Corning Instruments PC 620D)维持在 50℃的水浴上加热得到的制剂 2h,并且使用磁搅拌器以 300rpm 搅拌。反应过程中形成固体沉淀。从水浴中取出锥形瓶,使其冷却至室温,使用磁搅拌器混合直至反应过程中形成的固体沉淀再分散,形成均匀一致的分散体。经测定,该分散体的 pH 为 10.9。使用 4N HCl 溶液(约 30-50 μ L)将该分散体的 pH 调整至 7.8。然后加

入葡萄糖粉末 (8.95g), 将该混合物在室温搅拌 5min, 直到固体溶解为止。在 50℃ 再次加热该分散体 20min, 同时以 300rpm 混合。在冷却至室温后, 使用磁搅拌器再分散形成的沉淀。

[0308] 实施例 2.2

[0309] 将 10 毫升 8% (w/v) HPC 溶液放入玻璃小瓶。在使用磁搅拌器 (300rpm) 和搅棒 (5mm L×2mm D) 搅拌的同时, 向小瓶中加入大豆卵磷脂水溶液。向该溶液中滴加 TSTMP 水溶液, 同时持续搅拌。最终, 加入 0.5mL NaOH 溶液, 将得到的溶液在 50℃ 加热 1h。1hr 后, 冷却该混合物。白色固体沉降在溶液底部。在以 200rpm 混合后 (在室温, 约 1h), 沉降的固相中的微粒再分散, 得到澄清均匀溶液。用几微升 4N HCl 溶液中和由此得到的分散体。分散体中的最终 HPC 浓度约为 4.4% (w/v)。向 18.5mL 4.4% (w/v) HPC 分散体中加入葡萄糖粉末 (1.85g)。将该分散体搅拌至葡萄糖完全溶解。在进行释放研究前, 至少经过了 48h。

[0310] 得到具有约 5.4 μm 平均直径的羟丙基纤维素微粒 (参见图 15a 和 15b)。发现 4.4% (w/v) HPC 分散体的粘度在室温下为 15.46cP (添加葡萄糖前)。在 SEM 图像中观察到具有大于 5.4 μm 直径的几个颗粒 (参见图 15c)。

[0311] 实施例 2.3

[0312] 多糖例如疏水修饰的食物淀粉 (Thin-N-**Thik**® 99 淀粉和 **Resista**® 682 淀粉) 用于形成水凝胶微粒。在室温下通过将 800mg 淀粉溶于 10mL 蒸馏水而制备 8% (w/v) 淀粉溶液, 得到混浊、但均匀的分散体。然后制备精制大豆卵磷脂、TSTMP 和氢氧化钠的蒸馏水溶液。向在玻璃小瓶中的 10mL 淀粉分散体中加入 4mL 大豆卵磷脂溶液, 将该混合物搅拌 5min。向该混合物中加入 3mL TSTMP 溶液。在搅拌 5min 后, 加入 0.5mL 氢氧化钠溶液。将玻璃小瓶放入 50℃ 油浴并且加热 60min。使用磁搅拌器提供搅拌, 在反应过程中维持 300rpm 速度。60min 后, 从油浴中取出小瓶, 冷却至室温, 使用几微升 4M 盐酸溶液将 pH 调整至 7。得到的分散体中的粒径如表 5 所示。

[0313] 表 5. 疏水修饰的淀粉分散体的粒径

	淀粉类型	质量平均颗粒直径 (nm)
[0314]	Thin-N- Thik ® 99 淀粉	898
	Resista ® 682 淀粉	681.4

[0315] 实施例 2.4

[0316] 使用蒸馏水和食品级化学品在 2-升玻璃反应器中合成下列制剂。在蒸馏水中制备海藻酸钠 (SALMUP)、大豆卵磷脂、三偏磷酸三钠、氢氧化钠、柠檬酸和葡萄糖的储备溶液。通过将苯甲酸钠和山梨酸钾溶于 250mL 蒸馏水制备苯甲酸钠和山梨酸钾的储备溶液。反应在 2-升容量的欧洲型锥形 3-颈夹套烧瓶 (Chemglass, catalog no. CG-1576-11) 中进行。使用高架搅拌器 (**IKA**® RW-20) 和由连接至特氟隆搅拌器刀片 (Chemglass, 目录号 CG-2080) 的抛光玻璃杆 (Chemglass, 目录号 CG-2078-02) 组成的搅拌器混合反应器内含物。再循环水浴用于控制通过反应器夹套的水的温度。

[0317] 使用硅酮漏斗将 1 升蒸馏水通过烧瓶支管倾入反应器。将搅拌器的速度设定在 260rpm。流过反应器夹套的水在室温下。通过硅酮漏斗在 20min 期限内向反应器中缓慢加入约 100g HPC-SL 粉末, 混合约 60min, 得到 HPC 的均匀 (澄清) 溶液。然后向反应器中加入大豆卵磷脂溶液。混合约 5min 后, 加入 TSTMP 溶液, 将反应器内含物再混合 5min。最终,

向反应器中加入氢氧化钠,混合。测定得到的溶液的 pH,约为 11.1。

[0318] 将水浴的温度设定在 50℃。在水浴温度达到 50℃后,在该温度下将反应器内含物加热 90min。90min 后,白色固体沉降在反应器底部。使热水从反应器夹套中流出,通过循环冷水(约 10℃)冷却反应器内含物。将反应器内含物混合约 1h,此时沉降的固体再分散于水相,得到均匀分散体。测定该分散体的 pH 且发现约为 10.3。

[0319] 通过添加柠檬酸溶液将 pH 调整至 7。然后向反应器中加入 400.1g 葡萄糖溶液(100% w/v),将内含物混合约 10min。最终,通过漏斗添加海藻酸钠溶液。使用 33g 葡萄糖溶液将粘附至漏斗的任何海藻酸钠洗涤入反应器。混合 10min 后,加入包含苯甲酸钠和山梨酸钾的溶液。使用柠檬酸溶液使该分散体的 pH 达到 3.8。

[0320] 该分散体的颗粒数均直径约为 4.1 μm,质量平均直径约为 4.3 μm。该分散体的粘度约为 32.2cP。pH 约为 3.8。室温密度约为 1.2g/mL。通过添加等质量的水稀释实施例 2.4 的部分原始分散体,得到稀释的分散体,其粘度为 11.7cP。

[0321] 实施例 2.5

[0322] 使用上述方法,合成另一批制剂并且分成 4 部分。每部分包含不同量的糖(葡萄糖和果糖)。这些样品的总组成、粒径和粘度如表 6 中所示。

[0323] 表 6. 包含葡萄糖和果糖的延迟释放制剂。“√”表示组合物包含该成分。

[0324]

成分	2.5A	2.5B	2.5C	2.5D
蒸馏水	✓	✓	✓	✓
葡萄糖 + 果糖	5.1 %	5.1 %	5.1 %	5.1 %
葡萄糖/果糖	1/3	3/1	1/1	1/0
羟丙基纤维素(HPC-SL)	2.6 %	2.6 %	2.6 %	2.6 %
海藻酸钠(SALMUP)	✓	✓	✓	✓
大豆卵磷脂	✓	✓	✓	✓
TSTMP	✓	✓	✓	✓
NaOH	✓	✓	✓	✓
柠檬酸	✓	✓	✓	✓
苯甲酸钠	✓	✓	✓	✓
山梨酸钾	✓	✓	✓	✓
最终 pH	3.8	3.8	3.8	3.8
数均颗粒直径	4.66 μm	4.56 μm	4.16 μm	4.90 μm
质量平均颗粒直径	4.94 μm	4.62 μm	4.44 μm	4.96 μm
室温粘度	13.7 cP	12.5 cP	12.4 cP	12.4 cP

[0325] 实施例 2.6

[0326] 通过将相应化合物溶于蒸馏水制备大豆卵磷脂、三偏磷酸三钠 (TSTMP)、氢氧化钠和海藻酸钠各自的水溶液。还将无水柠檬酸溶于蒸馏水。还通过将苯甲酸钠和山梨酸钾溶于蒸馏水制备苯甲酸钠和山梨酸钾的溶液。此外,通过将 151g 葡萄糖溶于 172g 蒸馏水制备葡萄糖的水溶液。

[0327] 在 2-升容量的欧洲型锥形 3-颈夹套烧瓶 (Chemglass, catalog no. CG-1576-11) 中合成水凝胶微粒。使用高架搅拌器 (**IKA®** RW-20) 和由连接至特氟隆搅拌器刀片 (Chemglass, 目录号 CG-2080) 的抛光玻璃杆 (Chemglass, 目录号 CG-2078-02) 组成的搅拌器混合反应器内含物。再循环水浴用于控制通过反应器夹套的水的温度。

[0328] 使用硅酮漏斗将蒸馏水 (750g) 通过烧瓶支管倾入反应器。将搅拌器的速度设定在 265rpm。使室温下的水通过反应器夹套再循环。使用硅酮漏斗在 20min 期限内向反应器的水中缓慢加入约 75.2g HPC-SL 粉末,混合约 60min,得到 HPC 的均匀溶液。向反应器中加入大豆卵磷脂溶液。在室温下混合约 5min 后,加入 TSTMP 溶液,将反应器内含物再混合 5min。最终,向反应器中加入氢氧化钠,混合。得到的溶液的 pH 测定为约 11.1。

[0329] 将水浴的温度升至 50℃。在水浴温度达到 50℃后,在该温度下将反应器内含物加热 90min。90min 后,白色固体沉降在反应器底部。使热水从反应器夹套中流出,通过循环冷水冷却反应器内含物。将反应器内含物混合约 1h,此时沉降的固体再分散于水相,得到均匀分散体。测定该分散体的 pH 且发现约为 10.3。

[0330] 通过添加柠檬酸溶液将 pH 调整至 6.5。然后向分散体中加入 320g 葡萄糖溶液,混合 10min。最终,通过漏斗添加海藻酸钠溶液。使用 33g 葡萄糖溶液将粘附至漏斗的任何海藻酸钠洗涤入反应器。混合 10min 后,加入苯甲酸钠和山梨酸钾溶液。使用柠檬酸溶液使该分散体的 pH 达到 3.8。

[0331] 该分散体的颗粒数均直径约为 4.5 μm,质量平均直径约为 4.7 μm。该分散体的粘度约为 38.7cP。

[0332] 实施例 2.7

[0333] 以 1.5-升规模、应用食品级化学品进行制剂的合成。首先分别制备大豆卵磷脂、TSTMP、氢氧化钠、海藻酸钠、苯甲酸钠和山梨酸钾的水溶液。还将无水柠檬酸溶于蒸馏水。

[0334] 在 2-升容量的欧洲型锥形 3-颈夹套烧瓶 (Chemglass, catalog no. CG-1576-11) 中进行反应。使用高架搅拌器 (**IKA®** RW-20) 和由连接特氟隆搅拌器刀片 (Chemglass, 目录号 CG-2080) 的抛光玻璃杆 (Chemglass, 目录号 CG-2078-02) 组成的搅拌器混合反应器内含物。再循环水浴用于控制通过反应器夹套的水的温度。

[0335] 使用硅酮漏斗将蒸馏水 (750g) 通过烧瓶支管倾入反应器。将搅拌器的速度设定在 265rpm。使室温下的水流动通过反应器夹套。通过硅酮漏斗在 20min 期限内向反应器中加入约 75.2g HPC-SL 粉末,在室温下混合约 60min,得到 HPC 的均匀(澄清)溶液。然后向反应器中加入大豆卵磷脂溶液。混合 5min 后,加入 TSTMP 溶液,将反应器内含物再混合 5min。最终,向反应器中加入氢氧化钠,混合。得到的溶液的 pH 测定为约 11.1。

[0336] 将水浴的温度设定在 50℃。在水浴温度达到 50℃后,在该温度下将反应器内含物加热 120min。120min 后,白色固体沉降在反应器底部。使热水从反应器夹套中流出,通过循环冷水冷却反应器内含物。再混合约 1h,沉降的固体再分散,得到均匀分散体。测定该

分散体的 pH 且发现约为 10.3。添加柠檬酸溶液将 pH 降至约 6.6。然后向反应器中加入作为粉末的葡萄糖 (150g), 将内含物混合约 10min。最终, 通过漏斗加入 SALMUP 溶液。混合 10min 后, 加入包含苯甲酸钠和山梨酸钾的溶液。最终, 使用柠檬酸溶液使该分散体的 pH 达到 3.8。

[0337] 该分散体的颗粒数均直径约为 $4.2\mu\text{m}$, 质量平均直径约为 $4.8\mu\text{m}$ 。该分散体的粘度约为 36.7cP。

[0338] 实施例 2.8

[0339] 使用实施例 2.1 的制剂。在 pH 7 和 28°C 温度下测定葡萄糖从 HPC 颗粒中释放的动力学。选择该温度, 因为它低于分散体中 HPC 的 LCST。

[0340] 在 28°C 下操作的水浴用于使水循环通过扩散池提供隔室和接受隔室的加热套。向扩散池的提供隔室内加入 7 毫升 HPC 制剂, 将 7mL 蒸馏水 (pH 约 7) 加入到接受隔室内。以定期间隔, 使用微量注射器从接受隔室中抽取小等分液体 (0.1mL), 并用等体积的蒸馏水 (0.1mL) 替代。向 250mL 容量瓶中加入该等分, 使用蒸馏水进行稀释 (2500 倍)。使用比色葡萄糖氧化酶法测定葡萄糖浓度。

[0341] 将 HPC 分散体的接受隔室葡萄糖浓度对时间的曲线与对葡萄糖对照 (其具有与 HPC 分散体相同的总葡萄糖浓度 (8.7wt%)) 获得的曲线进行比较。

[0342] 对测试制剂和对照而言, 浓度对时间的曲线十分不同, 这表明实施例 2.1 的制剂显示葡萄糖延迟释放。正如预计的, 最终葡萄糖浓度是 HPC 分散体 (约 38mg/mL) 低于葡萄糖对照 (约 54mg/mL)。本实验方法使用无洗涤槽 (non-sink) 条件测定葡萄糖转运的动力学。HPC 分散体中的部分葡萄糖在平衡时保持整合在颗粒内。因此, 提供隔室内的终浓度低于葡萄糖对照的终浓度。

[0343] 实施例 2.9

[0344] 将海藻酸钠 (SALMUP) 粉末加入到 20g 实施例 2.1 所述的制剂中。使用 4N 盐酸将最终分散体的 pH 调整至 3.8。该制剂包含 8.7% (w/w) 葡萄糖、3.9% (w/w) HPC、SALMUP、TSTMP 和大豆卵磷脂。用等质量的水稀释相同制剂。在 28°C 使用扩散池测定葡萄糖转运动力学。稀释的制剂包含 4.3% (w/w) 葡萄糖、1.9% (w/w) HPC、SALMUP、TSTMP 和大豆卵磷脂。使用扩散池、根据实施例 2.8 中所述的方法研究稀释对葡萄糖转运动力学的影响。图 17 比较了原始制剂和稀释的制剂的接受隔室的葡萄糖浓度曲线。

[0345] 正如对 1 : 1 稀释所预计的, 稀释的制剂 (约 50%) 的浓度曲线的坪值低于原始制剂。另外, 从图 17 中所示浓度曲线显而易见的是, 稀释的制剂以快于原始制剂的速率释放葡萄糖。

[0346] 实施例 2.10

[0347] 在 pH 7 和 37°C 温度下测定葡萄糖从 HPC 颗粒中释放的动力学。选择该温度, 因为它高于分散体中 HPC 的 LCST, 且接近于人体温度。使用实施例 2.1 的制剂。约 10h 后几乎所有封装的葡萄糖被释放 (图 18)。HPC 颗粒在温度升至高于 LCST (例如 37°C) 时从亲水性状态转变为疏水性状态。存在于颗粒内的葡萄糖分子与水一起排出, 此时颗粒发生收缩。从图 18 中显而易见的是, 当 HPC 分散体 (而非具有相同总葡萄糖浓度的葡萄糖溶液 (对照)) 存在于提供隔室时, 接受隔室内的葡萄糖浓度以更为缓慢的速率增加。

[0348] 实施例 2.11

[0349] 在 pH 2 和 37℃ 温度下测定葡萄糖从 HPC 颗粒中释放的动力学。pH 值为 2, 类似于禁食状态的胃液的 pH。使用实施例 2.4 的分散体。使用 4N 盐酸将该分散体的 pH 调整至 2。使用水浴将扩散池夹套中的水维持在 37℃。向提供隔室内加入 7 毫升 HPC 分散体, 向接受隔室内加入 7mL 酸性水 (pH 2, 盐酸)。以选择的时间间隔。抽取接受隔室内的 0.1mL 流体等分, 用等体积的蒸馏水替代。使用容量瓶将抽取的等分稀释 10 倍, 使用 GM8 分析仪 (Analox Instruments) 测定葡萄糖浓度。图 19 显示分散体和葡萄糖溶液 (对照) 的浓度曲线。显然, HPC 分散体的释放速率比葡萄糖溶液慢。

[0350] 实施例 2.12

[0351] 使用实施例 2.1 的分散体进一步示例 pH 对葡萄糖从 HPC 颗粒中释放的动力学的影响。使用 4N 盐酸将原始分散体的 pH 调整至约 7。向 20g 该分散体中加入海藻酸钠 (SALMUP) 粉末, 使用磁搅拌器溶解。在测定葡萄糖释放动力学 (使用扩散池) 之前几分钟, 取约 10g 包含海藻酸钠的分散体, 使用 4N 盐酸将其 pH 调整至 3.8。使用 4N 盐酸将剩余的 10g 该分散体的 pH 调整至 2。由此得到的全部三种分散体包含约 8.7% (w/w) 葡萄糖、3.9% (w/w) HPC、SALMUP、TSTMP 和大豆卵磷脂。如实施例 2.8 中讨论的, 使用扩散池在 28℃ 测定葡萄糖释放动力学。提供隔室包含 7mL 分散体。接受隔室包含 7mL 蒸馏水, 其酸化至与提供隔室内分散体相同的 pH。使用比色葡萄糖氧化酶法测定接受隔室内葡萄糖的浓度。图 20 比较了三种分散体的接受隔室的葡萄糖浓度曲线: 在 pH 7、3.8 和 2 下。pH 值为 7 和 3.8 的浓度曲线几乎没有差异。然而, 当分散体的 pH 基本上低于 (海藻酸盐) 羧酸基团的 pKa 时, 观察到明显不同的浓度时间曲线。该数据清楚地显示海藻酸钠在生成用于 HPC 颗粒内的葡萄糖分子的扩散屏障中的作用。在分散体在消耗后在胃环境中遇到的酸性 pH 下, 这种屏障特性得以增强。

[0352] 实施例 2.13

[0353] 在禁食过夜 (约 10h) 后消耗约 12.85 盎司 (380mL, 450g) 的实施例 2.4 的分散体。该制剂包含被视为食品添加剂的材料, 所述的食物添加剂被美国食品与药品监督管理局 ‘公认为安全的’ (GRAS)。全部成分的量落在 U. S. FDA 和 WHO 确定的允许水平范围内。在消耗 HPC 分散体前 1 小时中, 测定禁食状态的血糖浓度以建立基线。在消耗分散体后以确定的间隔测定血糖浓度 (图 21a)。图 21a 还显示消耗 380mL **GATORADE®** 后同一受试者的血糖浓度曲线。在图 21b 中, 通过扣除禁食状态的基线葡萄糖浓度标准化血糖浓度。HPC 分散体和 **GATORADE®** 都显示高升胰岛素指数 (摄取的碳水化合物可用于肠吸收的速率的量度, 反映出血糖浓度增加的速率)。

[0354] 然而, **GATORADE®** 对照在约 70min 时显示血糖浓度的突然下降, 这显然是因为对高升胰岛素指数碳水化合物的胰岛素响应所致 (超高胰岛素血症)^{viii}。在重新进食状态下 (在消耗 HPC 分散体后), 血液中的胰岛素浓度增加, 作为对升高的血糖水平的响应。胰岛素促进葡萄糖从血液中吸收入体细胞, 导致血糖浓度下降。胰岛素的降血糖响应被胰高血糖素抵消, 胰高血糖素引起肝糖原分解, 最终使血糖浓度恢复至稳态水平。显然, 该过程在 45min 期限内发生 (消耗 **GATORADE®** 后的 50–95min 之间; 参见图 21b)。相反, HPC 分散体能够以受控速率将葡萄糖提供给血流并且能够维持血糖水平高于禁食状态浓度, 直至约 170min。尽管 HPC 分散体包含的总糖量高于 **GATORADE®** 对照约 75%, 但是胰岛素响应相对更适中。直到约 185min 才观察到血糖浓度的最小值。

[0355] 实施例 2.14

[0356] 图 22 比较了实施例 2.5 的 HPC 分散体与**GATORADE®**对照的血糖浓度曲线。该制剂包含被视为食品添加剂的材料,所述的食品添加剂被美国食品与药品监督管理局‘公认为安全的’(GRAS)。全部成分的量落在 U. S. FDA 和 WHO 确定的允许水平范围内。消耗等体积(380mL)的两种制剂。两种制剂均包含类似的糖浓度。本实施例的 HPC 分散体具有约一半的实施例 2.13 的 HPC 分散体的 HPC 颗粒总数。因此,仅维持血糖浓度高于禁食状态浓度直至约 75min,不过,比对照长约 25min。

[0357] 实施例 2.15

[0358] 本实施例举例说明了两种不同类型的碳水化合物(即,葡萄糖和果糖)的延迟释放对血糖浓度曲线的影响。尽管果糖不能快速促进肌糖原合成^{viii},但是它可以用于控制胰岛素响应,且甚至在碳水化合物消耗后 2h,仍然维持血糖浓度显著高于禁食状态值(参见图 23)。图 23 中比较了实施例 2.5 的两种不同的 HPC 分散体(2.5A 和 2.5D)。一种分散体包含单独的葡萄糖作为糖,而另一种分散体包含葡萄糖和果糖。第二种分散体中的总糖浓度与第一种分散体中的总糖浓度相同。消耗相同体积(380mL)的两种分散体,并且测定升胰岛素响应。制剂包含被视为食品添加剂的材料,所述的食品添加剂被美国食品与药品监督管理局‘公认为安全的’(GRAS)。全部成分的量落在 U. S. FDA 和 WHO 确定的允许水平范围内。在图 23 中观察到,主要包含果糖的制剂具有低升胰岛素指数,正如所预计的。血糖浓度高于禁食状态水平直至约 230min。HPC 分散体提供的延迟释放机制,以及果糖至葡萄糖的肝转化的代谢延迟导致血糖水平高于基线值。

[0359] 实施例 2.16

[0360] 将实施例 2.7 的 HPC 分散体的血糖浓度曲线与用作对照的葡萄糖水溶液比较(参见图 24)。该制剂包含被视为食品添加剂的材料,所述的食品添加剂被美国食品与药品监督管理局‘公认为安全的’(GRAS)。全部成分的量落在 U. S. FDA 和 WHO 确定的允许水平范围内。两种制剂均包含类似的总糖浓度(约 10wt%)。与葡萄糖对照(约 60min)相比,HPC 分散体保持血糖浓度高于禁食状态水平较长时间(约 115min)。与即释对照相比,延迟释放制剂的胰岛素响应的显著性也明显较低。

[0361] 实施例 2.17

[0362] 使用实施例 2.7 的分散体举例说明 HPC 分散体的定时摄取的效应。该制剂包含被视为食品添加剂的材料,所述的食品添加剂被美国食品与药品监督管理局‘公认为安全的’(GRAS)。消耗 380mL(450g)推注制剂。比较推注给予的血糖浓度对时间的曲线与实验的浓度曲线,在所述实验中,分三部分摄取相同量的制剂-每部分由 127mL(150g)分散体组成。从图 25 中观察到,两种策略均导致血糖浓度高于基线水平至少达 110min。正如所预计的,当频繁消耗较少量碳水化合物分散体时,升胰岛素响应较低。

[0363] 实施例 2.18

[0364] 使用实施例 2.7 的分散体、应用**GATORADE®**作为对照举例说明 HPC 分散体的定时摄取的效应。在两个单独的实验中,分三部分摄取 380mL(450g)的每种制剂-每部分由 127mL(150g)制剂组成。图 26 中比较了血糖浓度。

[0365] 实施例 2.19

[0366] 本实施例中举例说明在中等强度运动(约 60% $\dot{V}O_{2\max}$)前摄取延迟释放的碳水

化合物对血糖浓度曲线的影响。在运动前消耗 380 毫升实施例 2.4 的 HPC 分散体。本实验的对照为 380mL 的 **GATORADE®** 制剂,其中加入了 17.5g 葡萄糖以接近实施例 2.4 的 HPC 分散体的葡萄糖浓度。正如从图 27 中观察到的,在 50min 时 HPC 分散体的血糖浓度显著高于对照。本研究还测定了作为达到疲劳所逝去的时间(其中受试者以相当于约 $60\% \dot{V}O_{2\max}$ 的速率奔跑尽可能长的时间)的函数的能量输出。HPC 分散体产生的逝去的时间比水对照长 55%,并且比阳性对照(即,添加了 17.5g 葡萄糖的 **GATORADE®** 制剂)长 31%。

[0367] 实施例 2.20

[0368] 使用血糖浓度曲线下的面积表征 HPC 分散体的升胰岛素作用。图 28 描述了浓度时间曲线的参数,其用于比较实施例 2.13-2.19 中举例说明的不同制剂的血糖浓度曲线。 $C-C_b$ 是相对于基线值 C_b 的血糖浓度,所述基线值是禁食状态下(在本实验开始前)的血糖浓度。时间 $t = 0$ 相当于实验开始(例如,摄取 CHO 制剂)。时间 $t_{\text{实验}} (t_{\text{exp}})$ 是期间测定血糖浓度的实验的总持续时间。时间 $t_{\text{基线}} (t_{\text{baseline}})$ 是血糖浓度跨过基线,即下降至低于禁食状态值时的时间。较高的 $t_{\text{基线}}$ 值是期望的,因为在 CHO 摄取后血液中的葡萄糖可在较长的时间内用作能量来源。

[0369] 计算全部报道的血糖浓度曲线的两种不同的曲线下面积的值: AUC_+ 和 $AUC_{\text{总}}$ (AUC_{total})。

[0370] AUC_+ 是图 28 中用 '+' 表示的区域的面积,并且使用下列方程计算:

$$[0371] \quad AUC_+ = \int_0^{t_{\text{baseline}}} (C - C_b) dt$$

[0372] 其中在极限 $t = 0$ 与 $t = t_{\text{基线}}$ 之间评估积分。

[0373] $AUC_{\text{总}}$ 是浓度曲线下的总面积,并且是图 28 中用 '+' 和 '-' 表示的面积的和。使用下列方程计算 $AUC_{\text{总}}$:

$$[0374] \quad AUC_{\text{total}} = \int_0^{t_{\text{exp}}} (C - C_b) dt$$

[0375] 其中在极限 $t = 0$ 与 $t = t_{\text{实验}}$ 之间评估积分。

[0376] AUC_+ 表示外源性 CHO 对血糖浓度的影响。血糖浓度最初因 CHO 消耗而增加。外源性血糖因胰岛素响应而被转化成组织糖原,并且还用于在运动过程中给工作肌肉提供能量,从而导致血糖浓度下降。低于禁食状态值的血糖浓度下降是由于胰岛素响应(在受试者保持就座的实验中),或工作肌肉的血糖氧化速率超过给血流提供葡萄糖的速率(通过外源性和内源性来源,分别例如葡萄糖通过肠腔的吸收和糖原分解),或它们两者。

[0377] 表 7 概括了不同制剂在下列方面对血糖浓度的影响: $t_{\text{基线}}$ 、 AUC_+ 和 $AUC_{\text{总}}$,以及实验过程中血糖浓度的平均偏差 $\langle C - C_b \rangle$,其使用下列方程计算:

$$[0378] \quad \langle C - C_b \rangle = \frac{\int_0^{t_{\text{exp}}} (C - C_b) dt}{t_{\text{exp}}}$$

[0379] $AUC_{\text{总}}$ 和 $\langle C - C_b \rangle$ 依赖于实验的持续时间, $t_{\text{实验}}$ 。因此,如果实验具有类似的持续时间(例如,具有类似的 $t_{\text{实验}}$ 值),则一般仅比较不同实验之间的这些值。除非另有说明,否则摄取作为单一推注剂量的 380mL 制剂。

[0380] 从表 7 中显而易见的是, HPC 分散体通常显示高于即释 CHO 对照或水的 $t_{\text{基线}}$ 。在休息和运动状态过程中, HPC 分散体的 $AUC_{\text{+}}$ 和 $AUC_{\text{总}}$ 值也显著高于对照。

[0381] 表 7. 不同 HPC 分散体和对照的血糖浓度曲线的分析

[0382] 其中受试者保持就座的实验

[0383]

制剂	$t_{\text{基线}}$ (min)	$AUC_{\text{+}}$ (mg-min/dL)	$t_{\text{实验}}$ (min)	$AUC_{\text{总}}$ (mg-min/dL)	$\langle C - C_b \rangle$ (mg/dL)
HPC 4.2 wt%, 葡萄糖 8.7 wt% (实施例 2.13)	167	2355	230	2000	8.7
GATORADE® (糖 5.8 wt%) (实施例 2.13)	50	1274	230	255	1.1
HPC 2.6 wt%, 葡萄糖 5.1 wt% (实施例 2.14)	75	1447	230	458	2.0
HPC 2.6 wt%, 葡萄糖 1.3 wt%, 果糖 3.8 wt% (实施例 2.15)	99	431	230	1218	5.3
HPC 4.2 wt%, 葡萄糖 9.8 wt% (实施例 2.16)	115	1466	213	4489	21.1
葡萄糖溶液 (10 wt% 浓度) (实施例 2.16)	61	1409	160	1248	7.8
HPC 4.2 wt%, 葡萄糖 9.8 wt%; 分三等分摄入分散体 (实施例 2.17)	132	1856	160	1635	10.2
GATORADE® (糖 5.8 wt%); 分三等分摄入 (实施例 2.18)	102	961	160	760	4.8

[0385] 其中受试者以 $60\% \dot{V}O_{2\text{max}}$ 在踏车上跑步的实验

[0386]

制剂	$t_{\text{基线}}$ (min)	AUC+ (mg-min/dL)	$t_{\text{实验}}$ (min)	AUC 总 (mg-min/dL)	$\langle C - C_b \rangle$ (mg/dL)
HPC 4.2 wt%, 葡萄糖 8.7 wt% (实施例 2.19)	78	800	159	926	5.8
GATORADE® + 葡萄糖(糖 10 wt%) (实施例 2.19)	71	400	116	328.0	2.8
水(实施例 2.19)	54	~-93	98	~229	~-2.3

[0387] 参考文献

[0388] ¹Jeukendrup, A.E. Carbohydrate intake during exercise and performance. Nutrition 2004,20,669-677.

[0389] ²Koopman, R. ;Pannemans, D. L. E. ;Jeukendrup, A. E. ;Gijssen, A. P. ;Senden, J. M. G. ;Halliday, D. ;Saris, W. H. M. ;van Loon, L. J. C. ;Wagenmakers, A. J. M. Combined ingestion of protein and carbohydrate improves protein balance during ultra-endurance exercise. Amer. J. Physiol.

[0390] ³Krogh, A ;Lindhard, J. The relative value of fat and carbohydrate as sources of muscular energy. Biochem. J. 1920,14,290-363.

[0391] ⁴Levine, S. A. ;Gordon, B. ;Derick, C. L. ;Some changes in chemical constituents of blood following a marathon race. J. Am. Med. Assoc. 1924,82, 1778-1779.

[0392] ⁵Christensen, E. H. ;Hansen, O. Untersuchungen uber die Verbrennungsvorgange bei langdauernder, schwerer Muskelarbeit. Skand. Arch. Physiol. 1939,81,152-161.

[0393] ⁶Christensen, E. H. ;Hansen, O. Arbeitsfahigkeit und Ernahrung. Skand. Arch. Physiol. 1939,81 :161-172.

[0394] ⁷Christensen, E. H. ;Hansen, O. Hypoglykamie, Arbeitsfahigkeit und Eraudung. Skand. Arch. Physiol. 1939,81 :172-179.

[0395] ⁸Coyle, E. F. Substrate utilization during exercise in active people. Am. J. Clin. Nutr. 1995,61,968S-979S.

[0396] ⁹Gleeson, M. Biochemistry of Exercise. In Nutrition in Sport. 1sted. ; Maughan, R. J. Ed. ;Blackwell Science ;Cambridge, MA, 2002 ;pp. 17-38.

[0397] ¹⁰Horowitz, J. F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. Trends Endocrinol. Metab. 2003,14,386-392.

[0398] ¹¹Adams, D. University of South Australia, Introductory Metabolism Module,

[0399] <http://www.unisanet.unisa.edu.au/08366/index.htm> (accessed December 2010).

[0400] ¹²Costill, D. L. ;Sherman, W. M. ;Fink, W. J. ;Maresh, C. ;Witten, M. ;Miller, J. M. The role of dietary carbohydrates in muscle glycogen resynthesis after

strenuous running. *Am J Clin Nutr.* 1981,34,1831-1836.

[0401] ¹³Coyle, E. F. ;Coggan, A. R. ;Hemmert, M. K. ;Ivy, J. L. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J. Appl. Physiol.* 1986,61,165-172.

[0402] ¹⁴Coggan, A. R. ;Coyle, E. F. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. *J. Appl. Physiol.* 1988,65,1703-1709.

[0403] ¹⁵Roberts, K. M. ;Noble, E. G. ;Hayden, D. B. ;Taylor, A. W. Simple and complex carbohydrate-rich diets and muscle glycogen content of marathon runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1988,57,70-74.

[0404] ¹⁶Mitchell J. B. ;Costill, D. L. ;Houmard, J. A. ;Fink, W. J. ;Pascoe, D. D. ;Pearson, D. R. Influence of carbohydrate dosage on exercise performance and glycogen metabolism. *J Appl. Physiol.* 1989,67,1843-1849.

[0405] ¹⁷Peronnet, F. ;Burelle, Y. ;Massicotte, D. ;Lavoie, C. ;Hillaire-Marcel, C. ;Respective oxidation of ¹³C-labeled lactate and glucose ingested simultaneously during exercise. *J. Appl. Physiol.* 1997,82,440-446.

[0406] ¹⁸Jeukendrup, A. E. ;Raben, A. ;Gijssen, A. ;Stegen, J. H. C. H. ;Brouns, F. ;Saris, W. H. M. ;Wagenmakers, A. J. M. Glucose kinetics during prolonged exercise in highly trained human subjects :effect of glucose ingestion. *J. Physiol.* 1999,515,579-589.

[0407] ¹⁹Angus, D. J. ;Hargreaves, M. ;Dancey, J. ;Febbraio M. A. Effect of carbohydrate or carbohydrate plus medium-chain triglyceride ingestion on cycling time trial performance. *J. Appl. Physio.* 2000,88,113-119.

[0408] ²⁰Fritzsche, R. G. ;Switzer, T. W. ;Hodgkinson, B. J. ;Lee, S. -H. ;Martin, J. C. ;Coyle, E. F. Water and carbohydrate ingestion during prolonged exercise increase maximal neuromuscular power. *J. Appl. Physiol.* 2000 ;88,730-737.

[0409] ²¹Jeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 2004,20,669-677.

[0410] ²²Coyle, E. F. Carbohydrate supplementation during exercise, *J. Nutr.* 1992,122,782-795.

[0411] ²³Jeukendrup, A. E. ;Mosely, L. ;Mainwaring, G. ;Samuels, S. ;Perry, S. ;Mann, C. H. ;Exogenous carbohydrate oxidation during ultraendurance exercise. *J Appl Physiol.* 2006,100,1134-1141.

[0412] ²⁴Jeukendrup, A. E. ;Wagenmakers, A. J. M. ;Stegen, J. H. C. H. ;Gijssen, A. P. ;Brouns, F. ;Saris, W. H. M. Carbohydrate ingestion can completely suppress endogenous glucose production during exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 1999,276, E672-E683.

[0413] ²⁵Jentjens, R. L. P. G. ;Underwood, K. ;Achten, J. ;Currell, K. ;Mann, C. H. ;Jeukendrup, A. E. Exogenous carbohydrate oxidation rates are elevated following combined ingestion of glucose and fructose during exercise in the heat. *J. Appl. Physiol.* 2006,100,807-816.

- [0414] ²⁶Febbraio, M. A. ;Chiu, A. ;Angus, D. J. ;Arkinstall, M. J. ;Hawley, J. A. Effects of carbohydrate ingestion before and during exercise on glucose kinetics and peformance. J. Appl. Physiol. 2000, 89, 2220-2226.
- [0415] ²⁷Wolfe, R. R. ;Nadel, E. R. ;Shaw, J. H. F. ;Stephenson, L. A. ;Wolfe, M. H. Role of changes in insulin and glucagons in glucose homeostatis in exercise. Metabolism 1986, 77, 900-907.
- [0416] ²⁸Sparks, M. J. ;Selig, S. ;Febbraio, M. A. Pre-exercise carbohydrate ingestion :effect of the glycemic index on endurance exercise peformance. Med. Sci. Sports Exerc. 1998, 30, 844-859.
- [0417] ²⁹Pederson, B. A. ;Cope, C. R. ;Schroeder, J. M. ;Smith, M. W. ;Irimia, J. M. ;Thurberg, B. L. ;DePaoli-Roach, A. A. ;Roach, P. J. Exercise capacity of mice genetically lacking muscle glycogen synthase :In mice, muscle glyeogen is not essential for exercise. J. Biol. Chem. 2005, 280, 17260-17265.
- [0418] ³⁰Nilsson, L. H. ;Hultman, E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 1974, 33, 5-10.
- [0419] ³¹Jandrain, B. J. ;Pallikarakis, N. ;Normand, S. ;Pirnay, F. ;Lacroix, M. ;Mosora, F. ;Pachiaudi, C. ;Gautier, J. F. ;Scheen, A. J. ;Riou, J. P. et al. J. Appl. Physiol. 1993, 74, 2146-2154.
- [0420] ³²Hulston, C. J. ;Wallis, G. A. ;Jeukendrup, A. E. Exogenous CHO oxidation with glucose plus fructose intake during exercise. Medicine&Science in Sports&Exercise 2009, 41, 357-363.
- [0421] ³³Shi, X. ;Summers, R. W. ;Schedl, H. P. ;Flanagan, S. W. ;Chang, R. ;Gisolfi, C. V. Effects of carbohydrate type and concentration and solution osmolality on water absorption. Med. Sci. Sports Exerc. 1995, 27, 1607.
- [0422] ³⁴Adopo, E. ;Peronnet, F. ;Massicotte, D. ;Brisson, G. R. Hillaire-Marcel, C. Respective oxidation of exogenous glucose and fructose given in the same drink during exercise. J. Appl. Physiol. 1994, 76, 1014.
- [0423] ³⁵Jentjens, R. L. P. G. ;Achten, J. ;Jeukendrup, A. E. High oxidation rates from a mixture of glucose, sucrose and fructose ingested during prolonged exercise. Med. Sci. Sport Exerc. 2004, 36.
- [0424] ³⁶Medical physiology :principles for clinical medicine. Rhoades, R. ;Bell, D. R. p. 569 (table 29. 2)
- [0425] ³⁷Parks, D. A. ;Jacobson, E. D. Physiology of the splanchnic circulation. Archives of Internal Medicine 1985, 145, 1278-1281.
- [0426] ³⁸Bishop, R. G. Preparation of Hydroxypropyl Cellulose. US Patent 3, 351, 583, Nov 7, 1967.
- [0427] ³⁹Henry, J. B. Clinical Chemistry. In Todd-Sanford, Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, 15th ed. ;Davidsohn, I. ;Henry, J. B. , Eds. ;Saunders :

Philadelphia, PA, 1974 ;pp601-612.

[0428] ⁴⁰Newman JD, Turner APF. Home Blood Glucose Biosensors :A Commercial Perspective. Biosens. Bioelectron. 2005 ;20 (12) :2435-2453.

[0429] ⁱJeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. Nutrition 2004, 20, 669-677.

[0430] ⁱKoopman, R. ;Pannemans, D. L. E. ;Jeukendrup, A. E. ;Gijzen, A. P. ;Senden, J. M. G. ;Halliday, D. ;Saris, W. H. M. ;van Loon, L. J. C. ;Wagenmakers, A. J. M. Combined ingestion of protein and carbohydrate improves protein balance during ultra-endurance exercise. Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2004, 287, E712-E720.

[0431] ⁱⁱⁱKrogh, A ;Lindhard, J. The relative value of fat and carbohydrate as sources of muscular energy. Biochem. J. 1920, 14, 290-363.

[0432] ^{iv}Levine, S. A. ;Gordon, B. ;Derick, C. L. ;Some changes in chemical constituents of blood following a marathon race. J. Am. Med. Assoc. 1924, 82, 1778-1779.

[0433] ^vChristensen, E. H. ;Hansen, O. Untersuchungen uber die Verbrennungsvorgange bei langdauernder, schwerer Muskelarbeit. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81, 152-161.

[0434] ^{vi}Christensen, E. H. ;Hansen, O. Arbeitsfahigkeit und Ernahrung. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81 :161-172.

[0435] ^{vii}Christensen, E. H. ;Hansen, O. Hypoglykamie, Arbeitsfahigkeit und Eraudung. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81 :172-179.

[0436] ^{viii}Coyle, E. F. Substrate utilization during exercise in active people. Am. J. Clin. Nutr. 1995, 61, 968S-979S.

[0437] ^{ix}Gleeson, M. Biochemistry of Exercise. In Nutrition in Sport. 1st ed. ; Maughan, R. J. Ed. ;Blackwell Science ;Cambridge, MA, 2002 ;pp. 17-38.

[0438] ^xHorowitz, J. F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. Trends Endocrinol. Metab. 2003, 14, 386-392.

[0439] ^{xi}Adams, D. University of South Australia, Introductory Metabolism Module,

[0440] <http://www.unisanet.unisa.edu.au/08366/index.htm> (accessed December 2010).

[0441] ^{xii}Costill, D. L. ;Sherman, W. M. ;Fink, W. J. ;Maresh, C. ;Witten, M. ;Miller, J. M. The role of dietary carbohydrates in muscle glycogen resynthesis after strenuous running. Am J Clin Nutr. 1981, 34, 1831-1836.

[0442] ^{xiii}Coyle, E. F. ;Coggan, A. R. ;Hemmert, M. K. ;Ivy, J. L. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. J. Appl. Physiol. 1986, 61, 165-172.

[0443] ^{xiv}Coggan, A. R. ;Coyle, E. F. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. J. Appl. Physiol. 1988, 65, 1703-1709.

[0444] ^{xv}Roberts, K. M. ;Noble, E. G. ;Hayden, D. B. ;Taylor, A. W. Simple and complex

carbohydrate-rich diets and muscle glycogen content of marathon runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988, 57, 70-74.

[0445] ^{xvi}Mitchell J. B. ;Costill, D. L. ;Houmard, J. A. ;Fink, W. J. ;Pascoe, D. D. ;Pearson, D. R. Influence of carbohydrate dosage on exercise performance and glycogen metabolism. *JAppl. Physiol*. 1989, 67, 1843-1849.

[0446] ^{xvii}Peronnet, F. ;Burelle, Y. ;Massicotte, D. ;Lavoie, C. ;Hillaire-Marcel, C. ;Respective oxidation of ¹³C-labeled lactate and glucose ingested simultaneously during exercise. *J. Appl. Physiol*. 1997, 82, 440-446.

[0447] ^{xviii}Jeukendrup, A. E. ;Raben, A. ;Gijzen, A. ;Stegen, J. H. C. H. ;Brouns, F. ;Saris, W. H. M. ;Wagenmakers, A. J. M. Glucose kinetics during prolonged exercise in highly trained human subjects: effect of glucose ingestion. *J. Physiol*. 1999, 515, 579-589.

[0448] ^{xix}Angus, D. J. ;Hargreaves, M. ;Dancey, J. ;Febbraio M. A. Effect of carbohydrate or carbohydrate plus medium-chain triglyceride ingestion on cycling time trial performance. *J. Appl. Physiol*. 2000, 88, 113-119.

[0449] ^{xx}Fritzsche, R. G. ;Switzer, T. W. ;Hodgkinson, B. J. ;Lee, S. -H. ;Martin, J. C. ;Coyle, E. F. Water and carbohydrate ingestion during prolonged exercise increase maximal neuromuscular power. *J. Appl. Physiol* 2000 ;88, 730-737.

[0450] ^{xxi}Jeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 2004, 20, 669-677.

[0451] ^{xxii}Coyle, E. F. Carbohydrate supplementation during exercise, *J. Nutr*. 1992, 122, 782-795.

[0452] ^{xxiii}Jeukendrup, A. E. ;Mosely, L. ;Mainwaring, G. ;Samuels, S. ;Perry, S. ;Mann, C. H. ;Exogenous carbohydrate oxidation during ultraendurance exercise. *J Appl Physiol*. 2006, 100, 1134-1141.

[0453] ^{xxiv}Jeukendrup, A. E. ;Wagenmakers, A. J. M. ;Stegen, J. H. C. H. ;Gijzen, A. P. ;Brouns, F. ;Saris, W. H. M. Carbohydrate ingestion can completely suppress endogenous glucose production during exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 1999, 276, E672-E683.

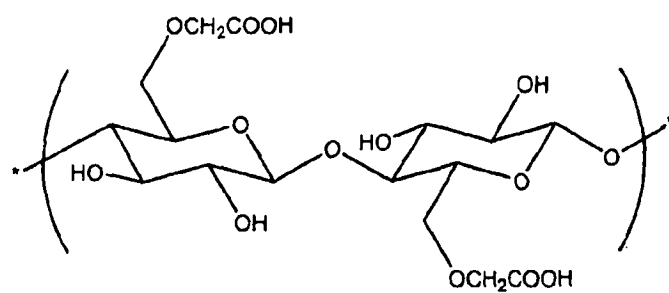
[0454] ^{xxv}Jentjens, R. L. P. G. ;Underwood, K. ;Achten, J. ;Currell, K. ;Mann, C. H. ;Jeukendrup, A. E. Exogenous carbohydrate oxidation rates are elevated following combined ingestion of glucose and fructose during exercise in the heat. *J. Appl. Physiol*. 2006, 100, 807-816.

[0455] ^{xxvi}Febbraio, M. A. ;Chiu, A. ;Angus, D. J. ;Arkinstall, M. J. ;Hawley, J. A. Effects of carbohydrate ingestion before and during exercise on glucose kinetics and performance. *J. Appl. Physiol*. 2000, 89, 2220-2226.

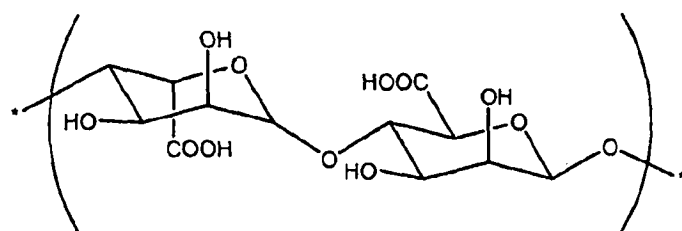
[0456] ^{xxvii}Wolfe, R. R. ;Nadel, E. R. ;Shaw, J. H. F. ;Stephenson, L. A. ;Wolfe, M. H. Role of changes in insulin and glucagons in glucose homeostasis in exercise. *Metabolism* 1986, 77, 900-907.

- [0457] ^{xxviii}Sparks, M. J. ;Selig, S. ;Febbraio, M. A. Pre-exercise carbohydrate ingestion :effect of the glycemic index on endurance exercise performance. Med. Sci. Sports Exerc. 1998, 30, 844-859.
- [0458] ^{xxix}Pederson, B. A. ;Cope, C. R. ;Schroeder, J. M. ;Smith, M. W. ;Irimia, J. M. ;Thurberg, B. L. ;DePaoli-Roach, A. A. ;Roach, P. J. Exercise capacity of mice genetically lacking muscle glycogen synthase :In mice, muscle glycogen is not essential for exercise. J. Biol. Chem. 2005, 280, 17260-17265.
- [0459] ^{xxx}Nilsson, L. H. ;Hultman, E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 1974, 33, 5-10.
- [0460] ^{xxxi}Jandrain, B. J. ;Pallikarakis, N. ;Normand, S. ;Pirnay, F. ;Lacroix, M. ;Mosora, F. ;Pachiaudi, C. ;Gautier, J. F. ;Scheen, A. J. ;Riou, J. P. et al. J. Appl. Physiol. 1993, 74, 2146-2154.
- [0461] ^{xxxii}Hulston, C. J. ;Wallis, G. A. ;Jeukendrup, A. E. Exogenous CHO oxidation with glucose plus fructose intake during exercise. Medicine & Science in Sports & Exercise 2009, 41, 357-363.
- [0462] ^{xxxiii}Shi, X. ;Summers, R. W. ;Schedl, H. P. ;Flanagan, S. W. ;Chang, R. ;Gisolfi, C. V. Effects of carbohydrate type and concentration and solution osmolality on water absorption. Med. Sci. Sports Exerc. 1995, 27, 1607.
- [0463] ^{xxxiv}Adopo, E. ;Peronnet, F. ;Massicotte, D. ;Brisson, G. R. Hillaire-Marcel, C. Respective oxidation of exogenous glucose and fructose given in the same drink during exercise. J. Appl. Physiol. 1994, 76, 1014.
- [0464] ^{xxxv}Jentjens, R. L. P. G. ;Achten, J. ;Jeukendrup, A. E. High oxidation rates from a mixture of glucose, sucrose and fructose ingested during prolonged exercise. Med. Sci. Sport Exerc. 2004, 36.
- [0465] ^{xxxvi}Medical physiology :principles for clinical medicine. Rhoades, R. ; Bell, D. R. p. 569 (table 29. 2)
- [0466] ^{xxxvii}Parks, D. A. ;Jacobson, E. D. Physiology of the splanchnic circulation. Archives of Internal Medicine 1985, 145, 1278-1281.
- [0467] ^{xxxviii}Bishop, R. G. Preparation of Hydroxypropyl Cellulose. US Patent 3, 351, 583, Nov 7, 1967.
- [0468] ^{xxxix}Henry, J. B. Clinical Chemistry. In Todd-Sanford, Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, 15th ed. ;Davidsohn, I. ;Henry, J. B. ;Eds. ;Saunders : Philadelphia, PA, 1974 ;pp601-612.
- [0469] ^{xl}Newman JD, Turner APF. Home Blood Glucose Biosensors :A Commercial Perspective. Biosens. Bioelectron. 2005 ;20(12) :2435-2453.
- [0470] 虽然已详细描述了本发明的优选实施方案,但应理解上述段落定义的本发明不限于上述描述中列举出的具体详细内容,因为其许多显然的变化不脱离本发明的精神或范围。

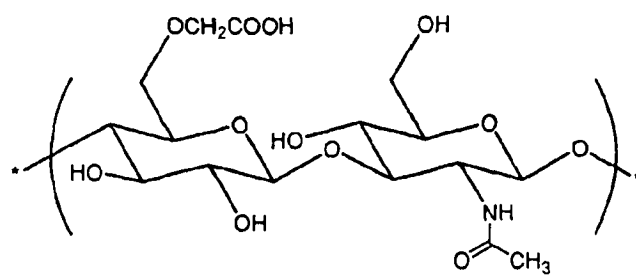
[0471] 将本申请中引述或描述的各个专利、专利申请和公开文献以其全文通过引用并入本文,就如同特别且分别地指明,将每个专利、专利申请或公开文献通过引用并入本文一样。



羧甲基纤维素



海藻酸



透明质酸

图 1

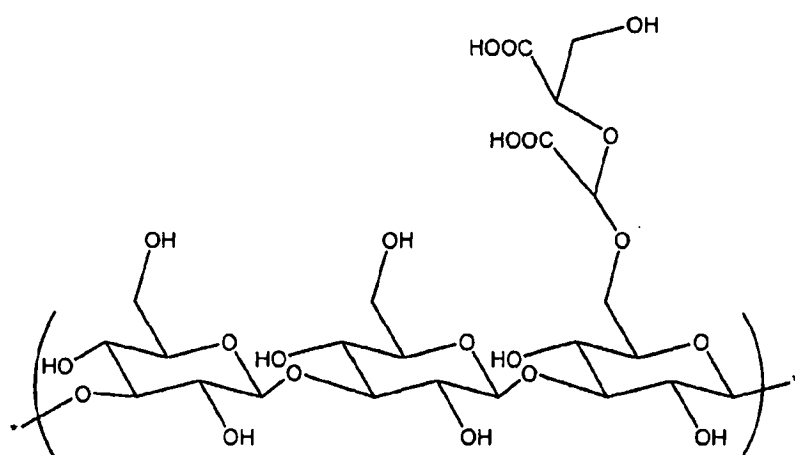


图 2

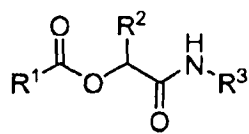
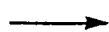
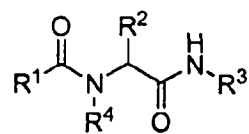
Passerini $R^1\text{COOH}$ $R^2\text{CHO}$ $R^3\text{NC}$ Ugi $R^1\text{COOH}$ $R^2\text{CHO}$ $R^3\text{NC}$ $R^4\text{NH}_2$ 

图 3

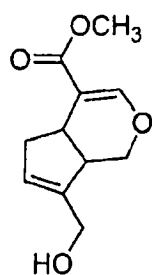
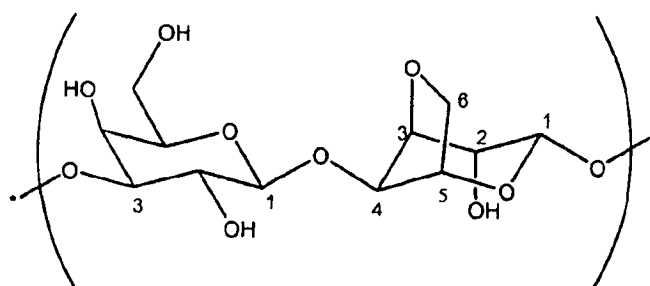


图 4



1,3-β-D-半乳糖

1,4-α-L-3,6-脱水半乳糖

图 5

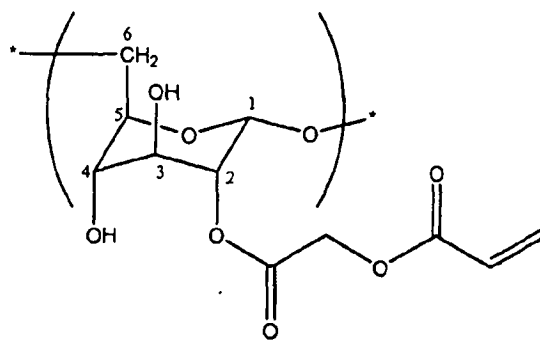


图 6

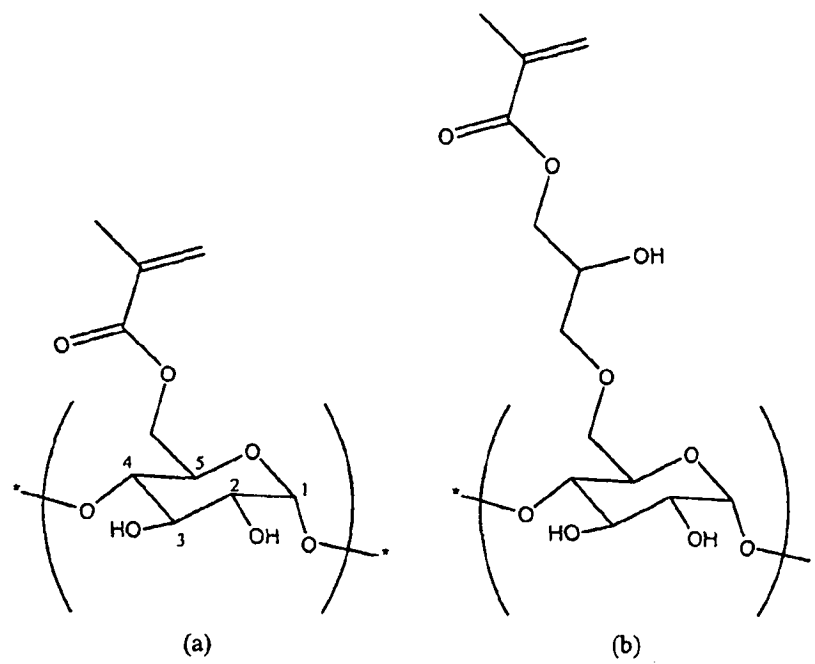


图 7

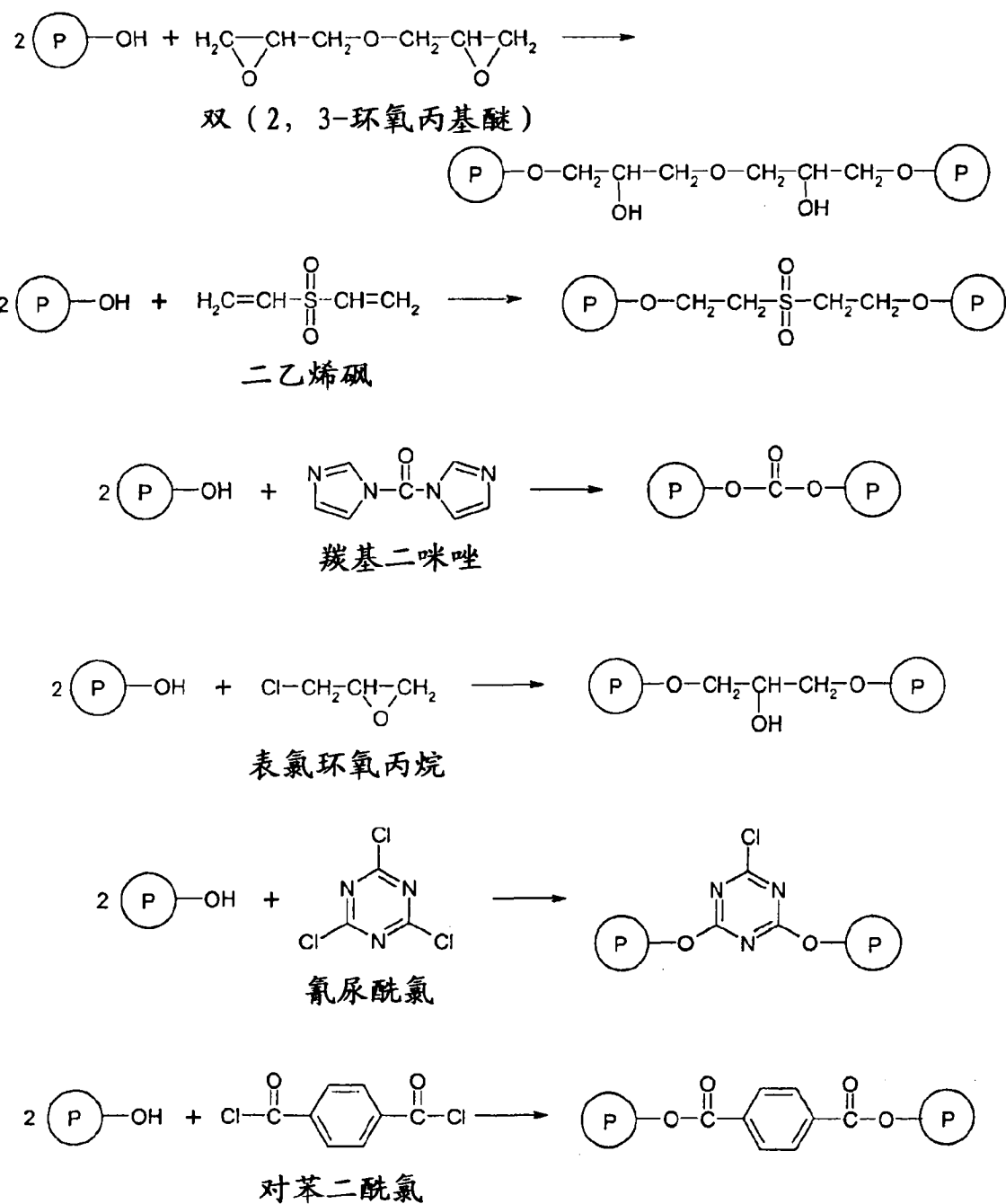


图 8A

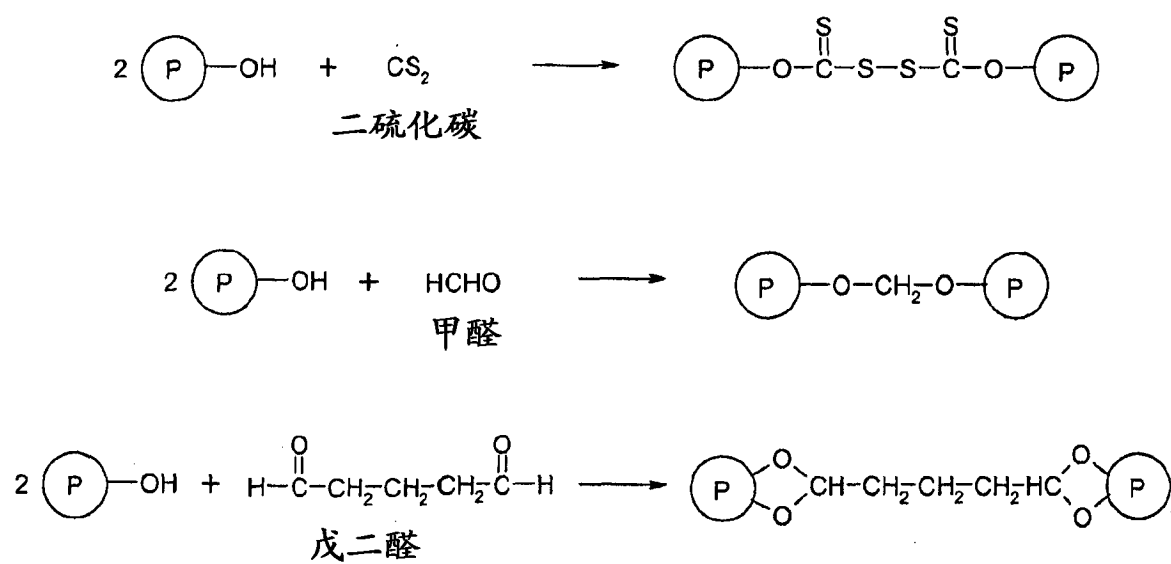


图 8B

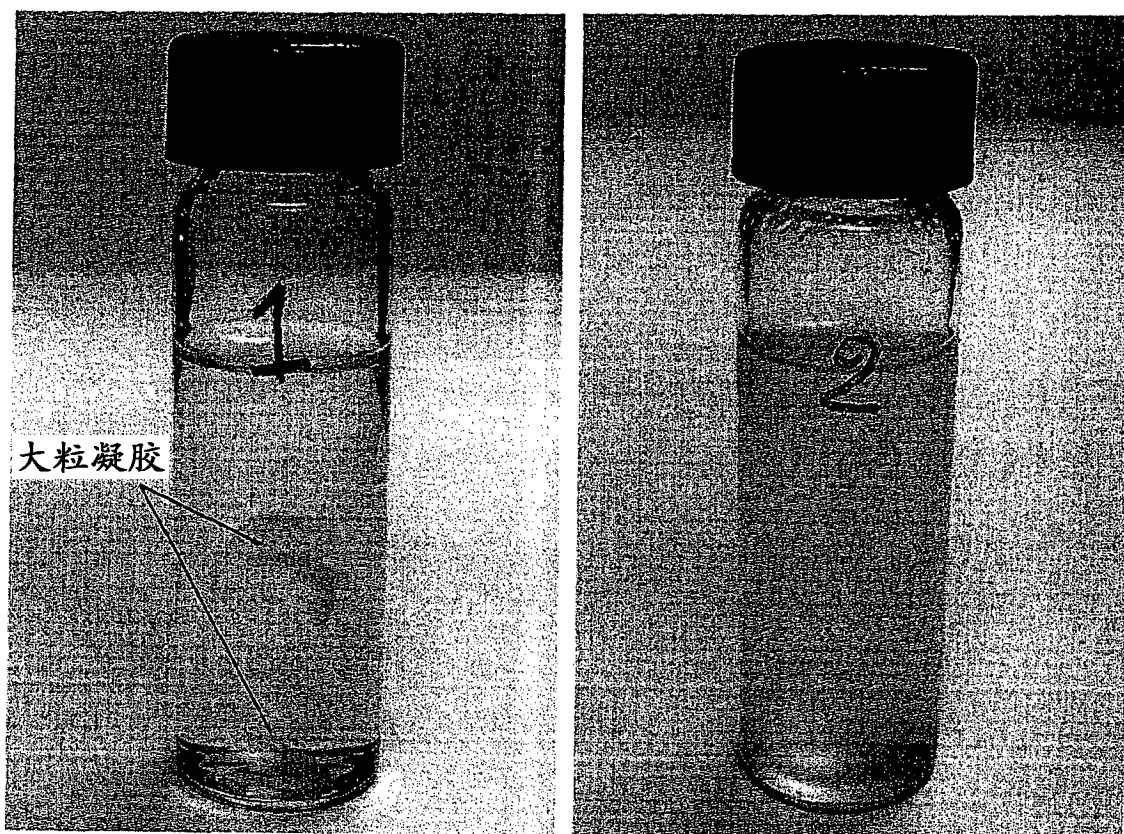


图 9

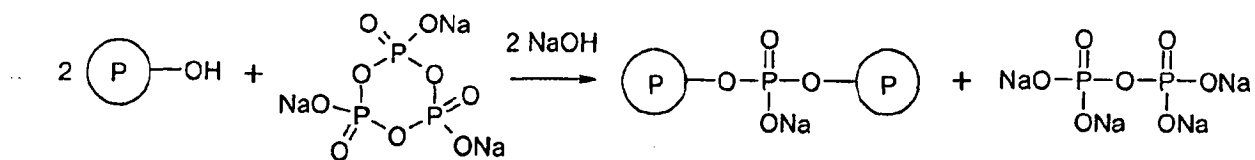


图 10

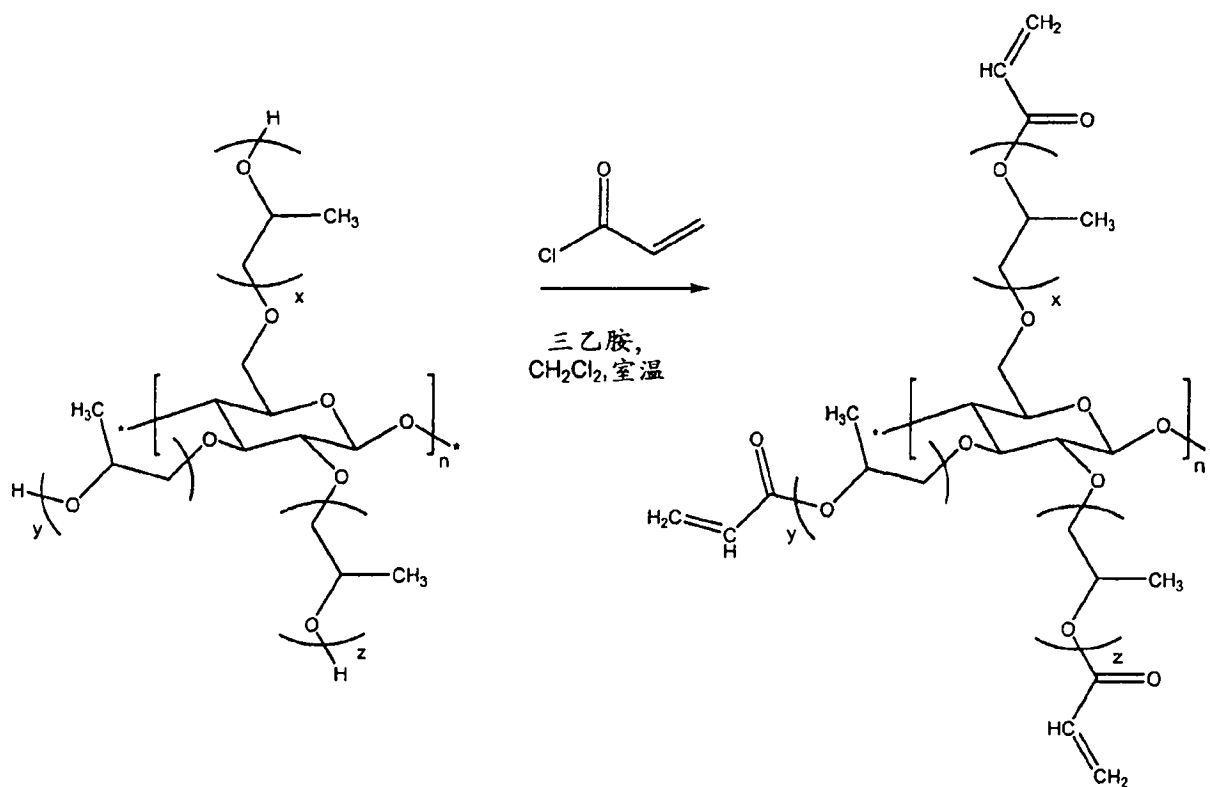


图 11

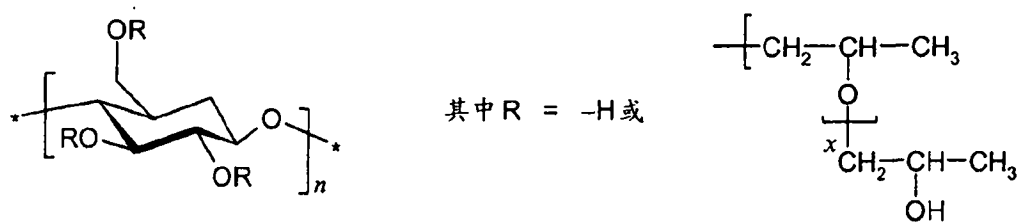


图 12

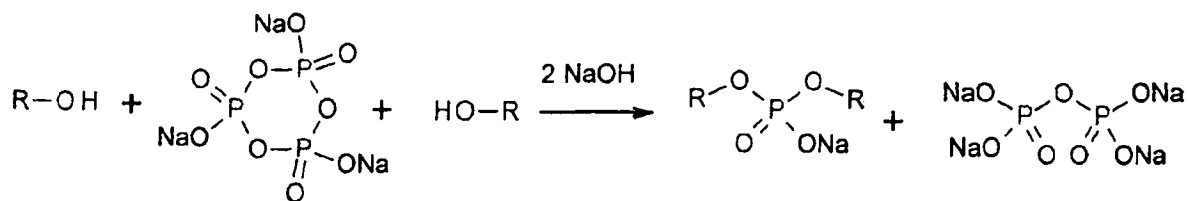


图 13

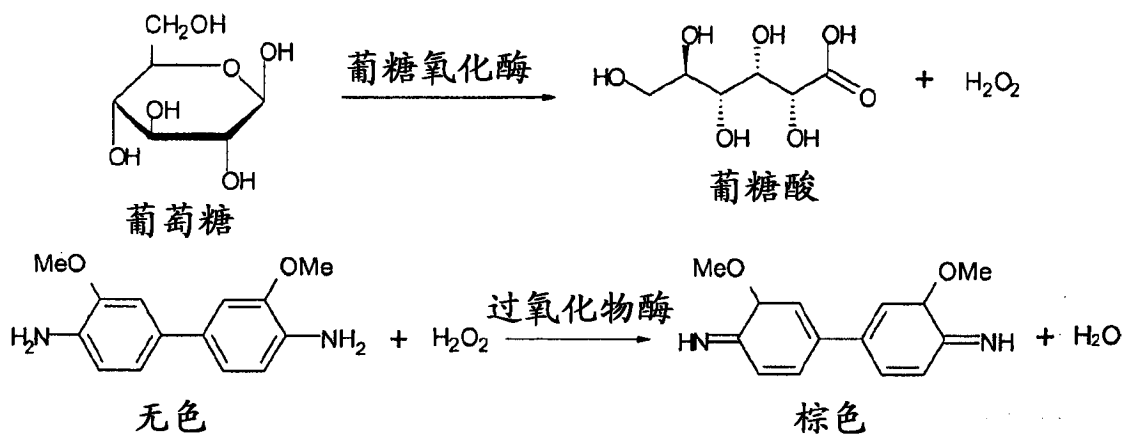


图 14

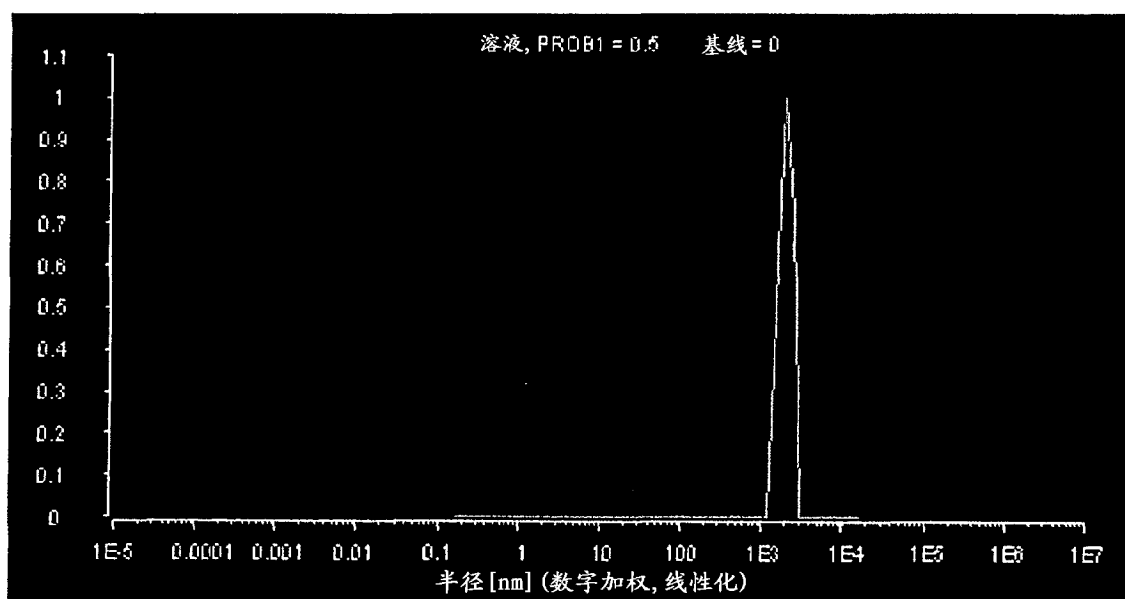


图 15A

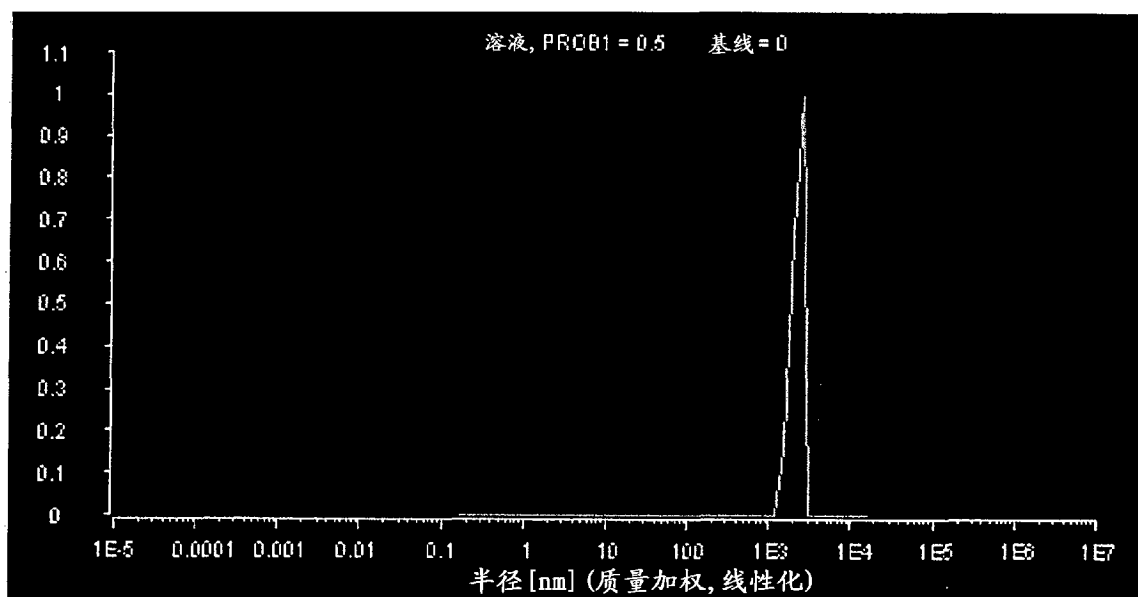


图 15B

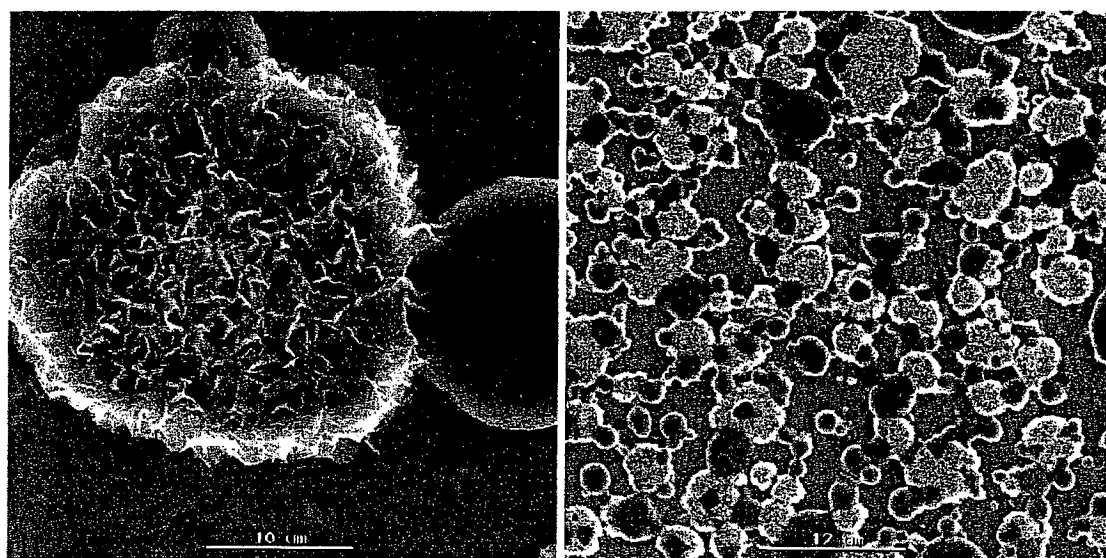


图 15C

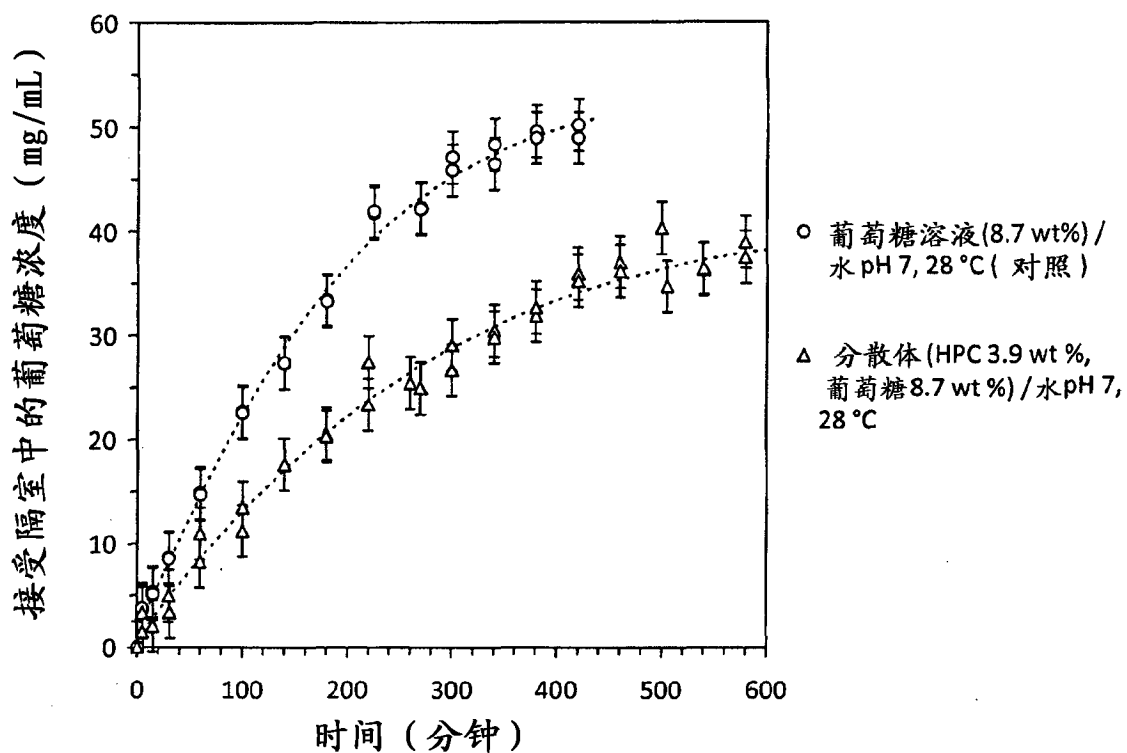


图 16

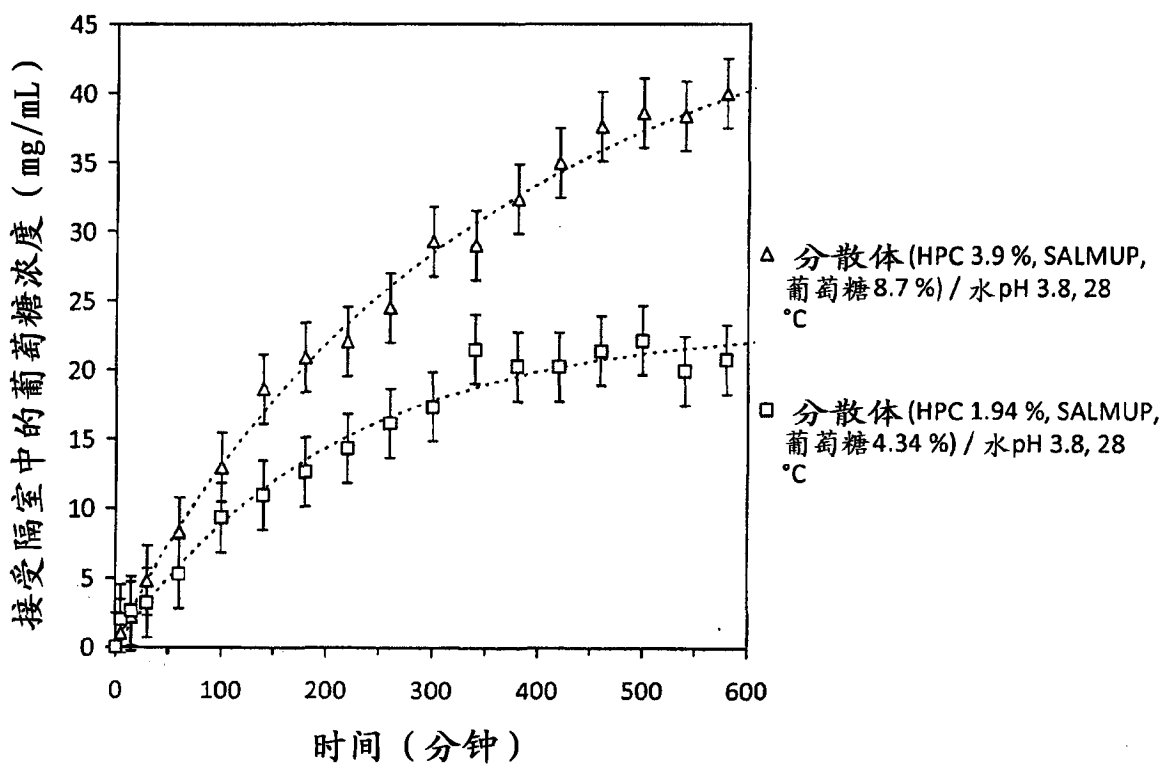


图 17

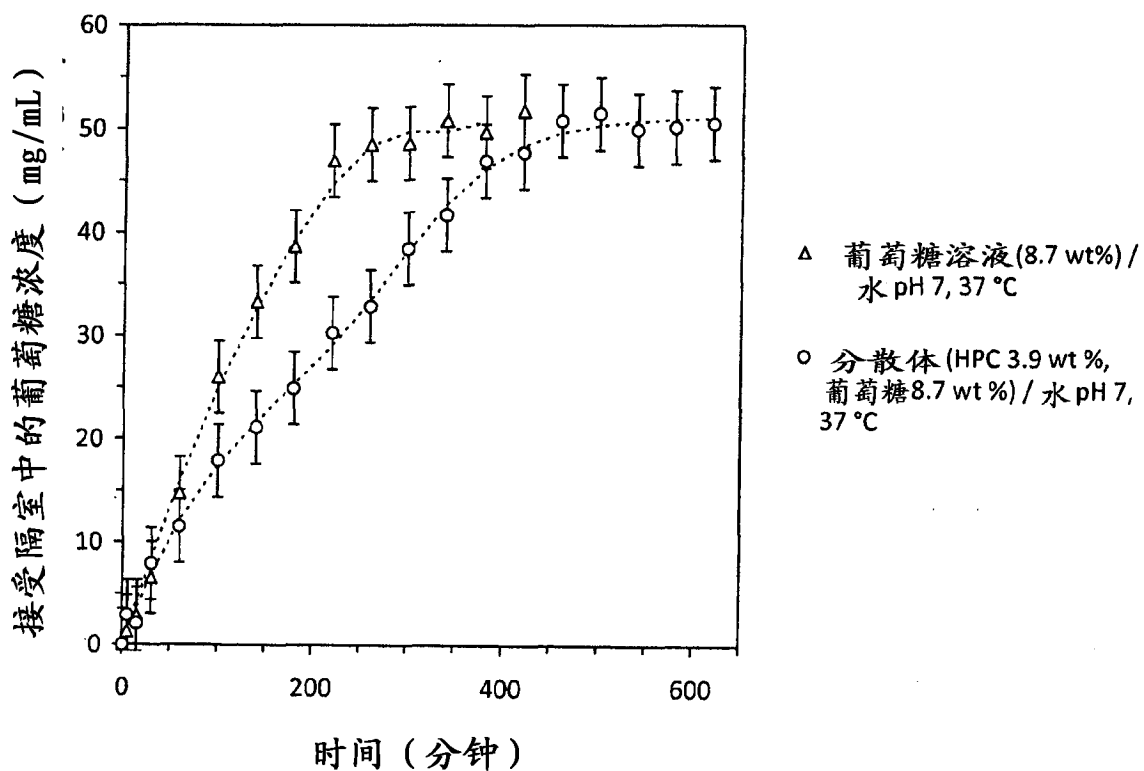


图 18

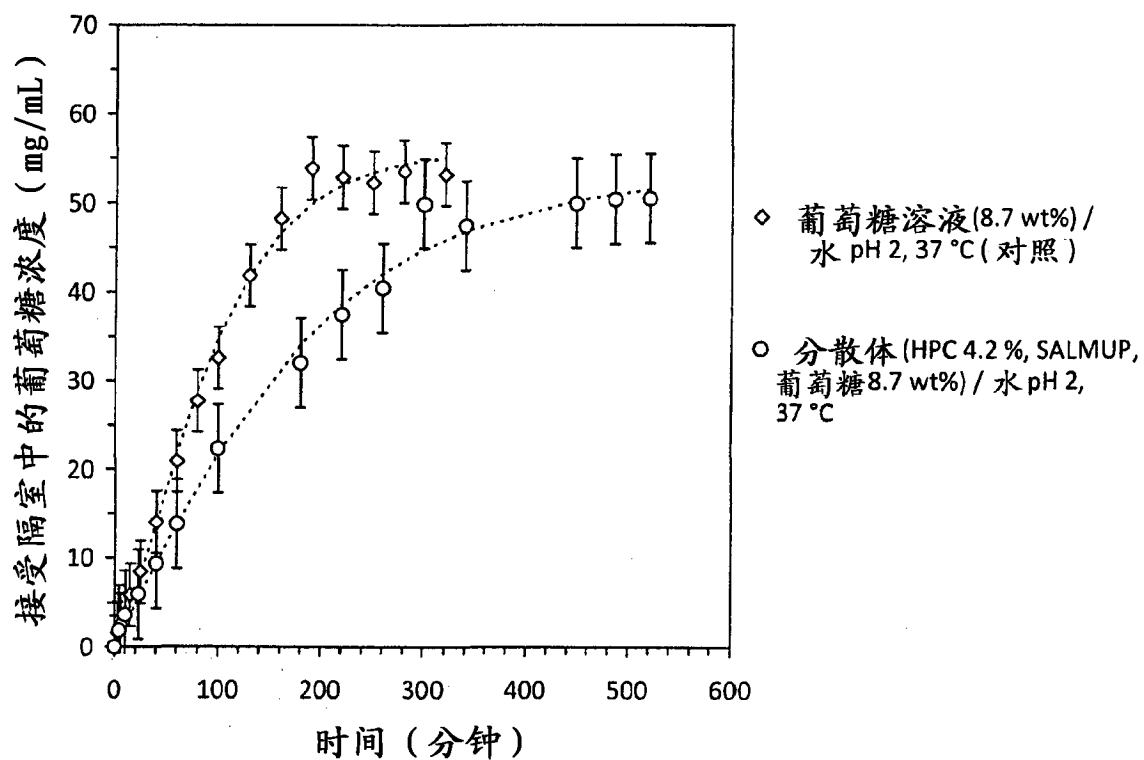


图 19

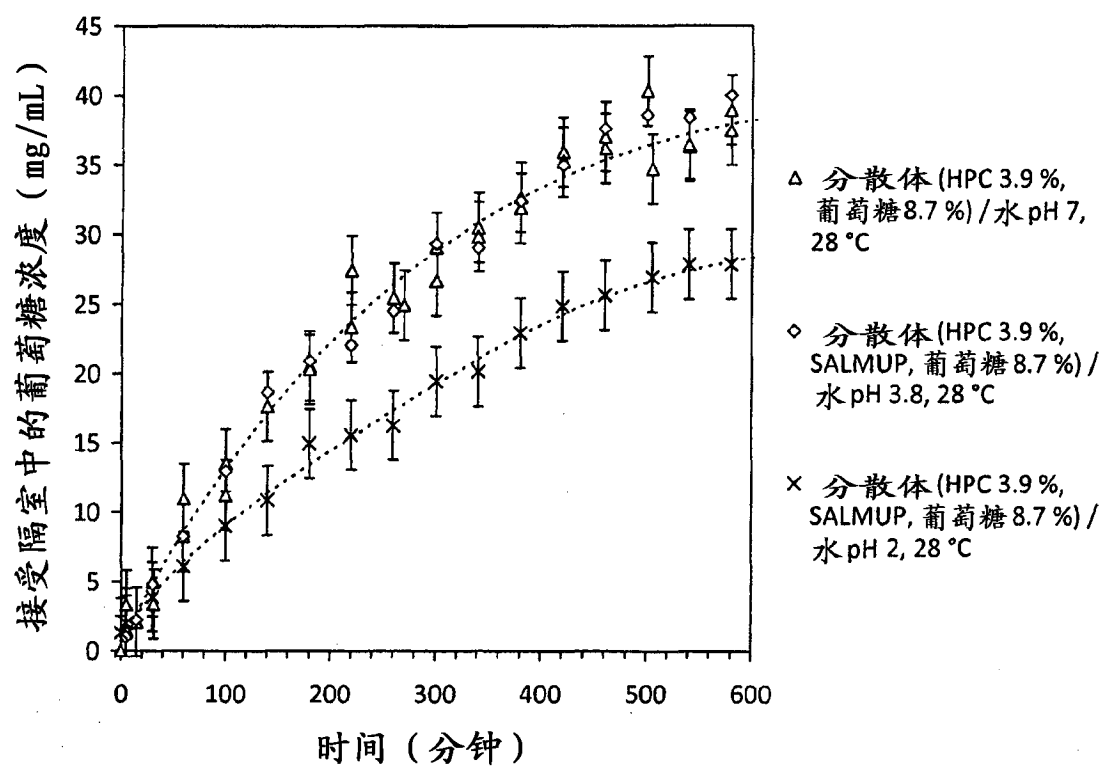


图 20

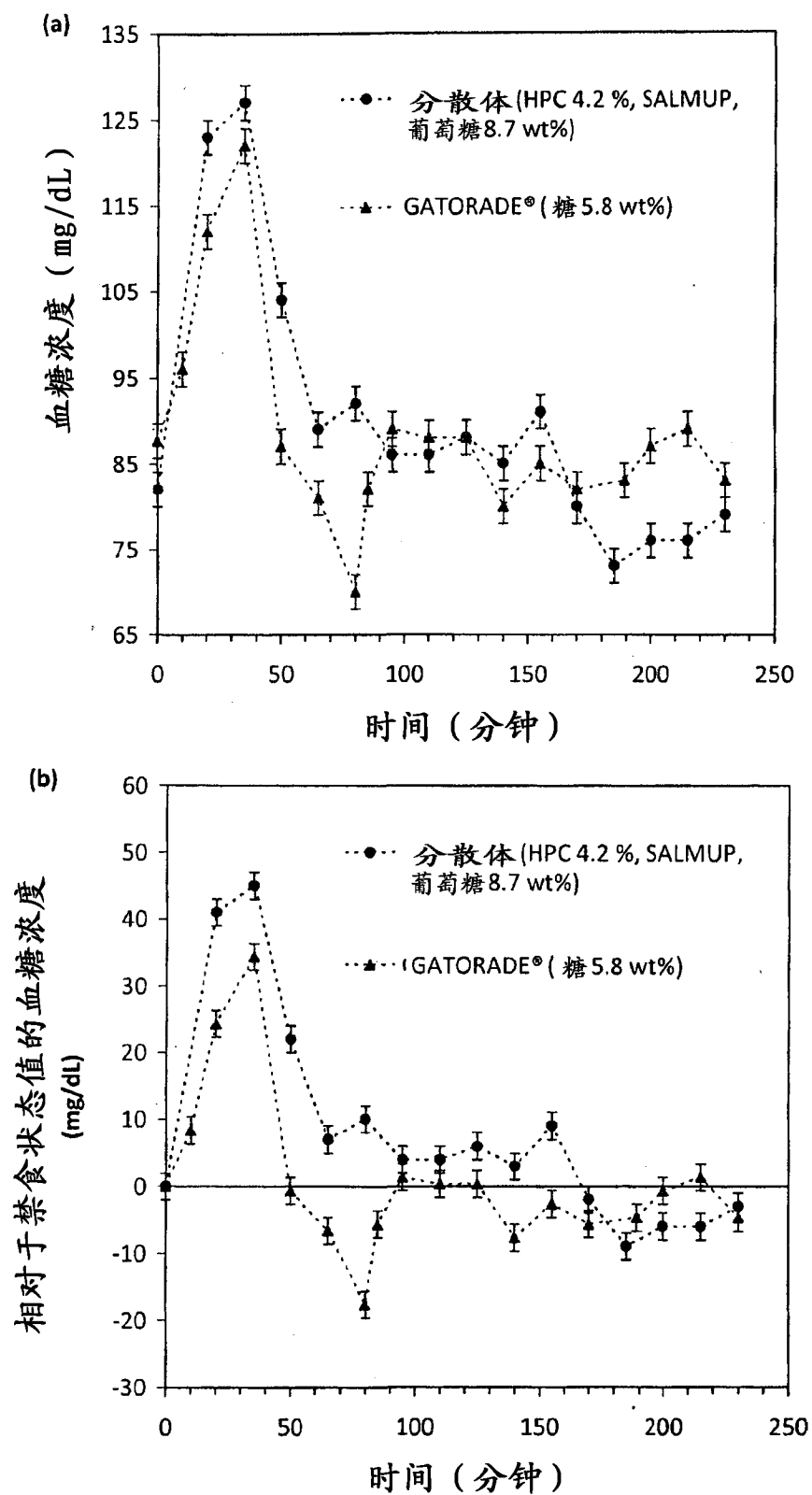


图 21

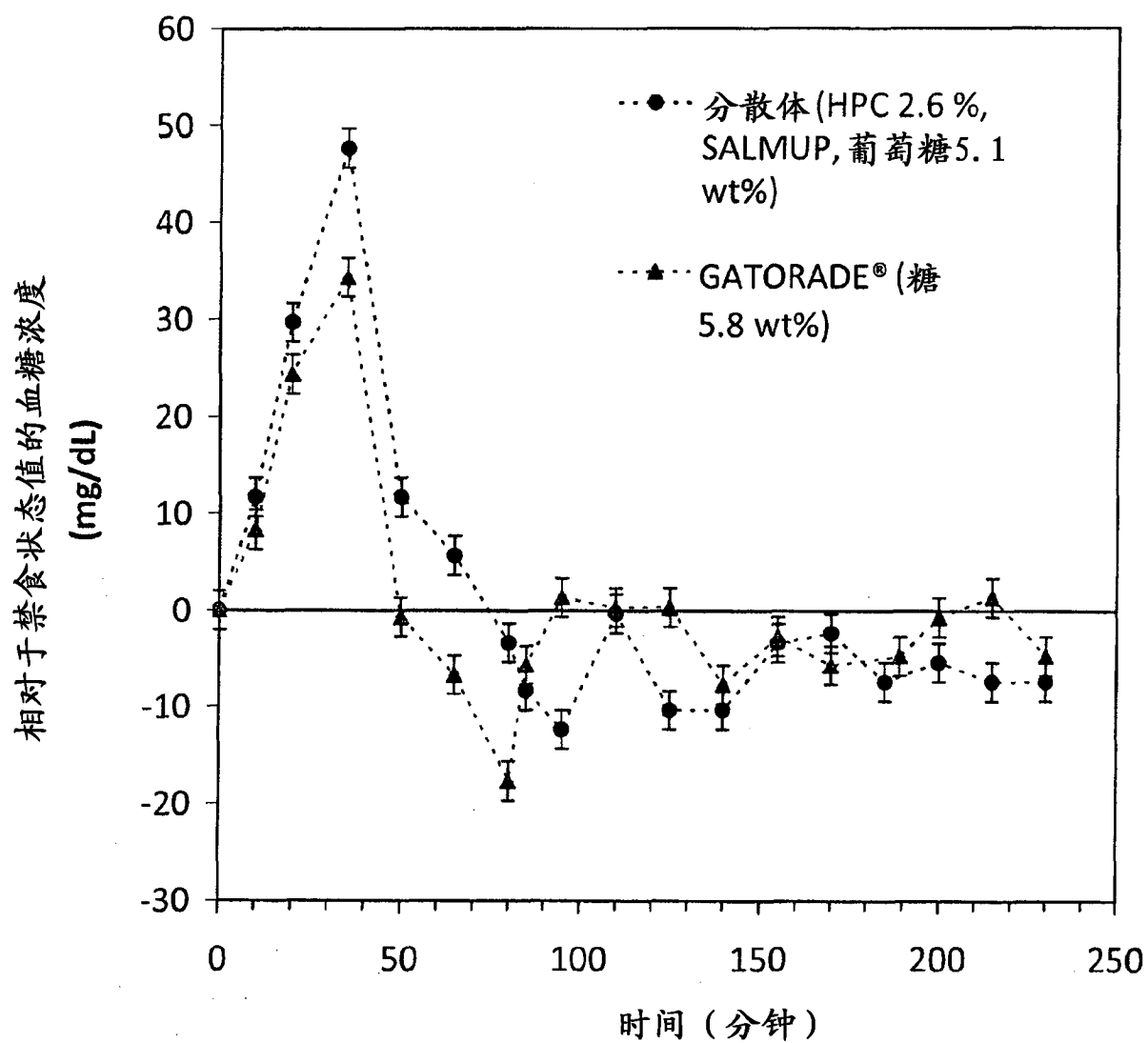


图 22

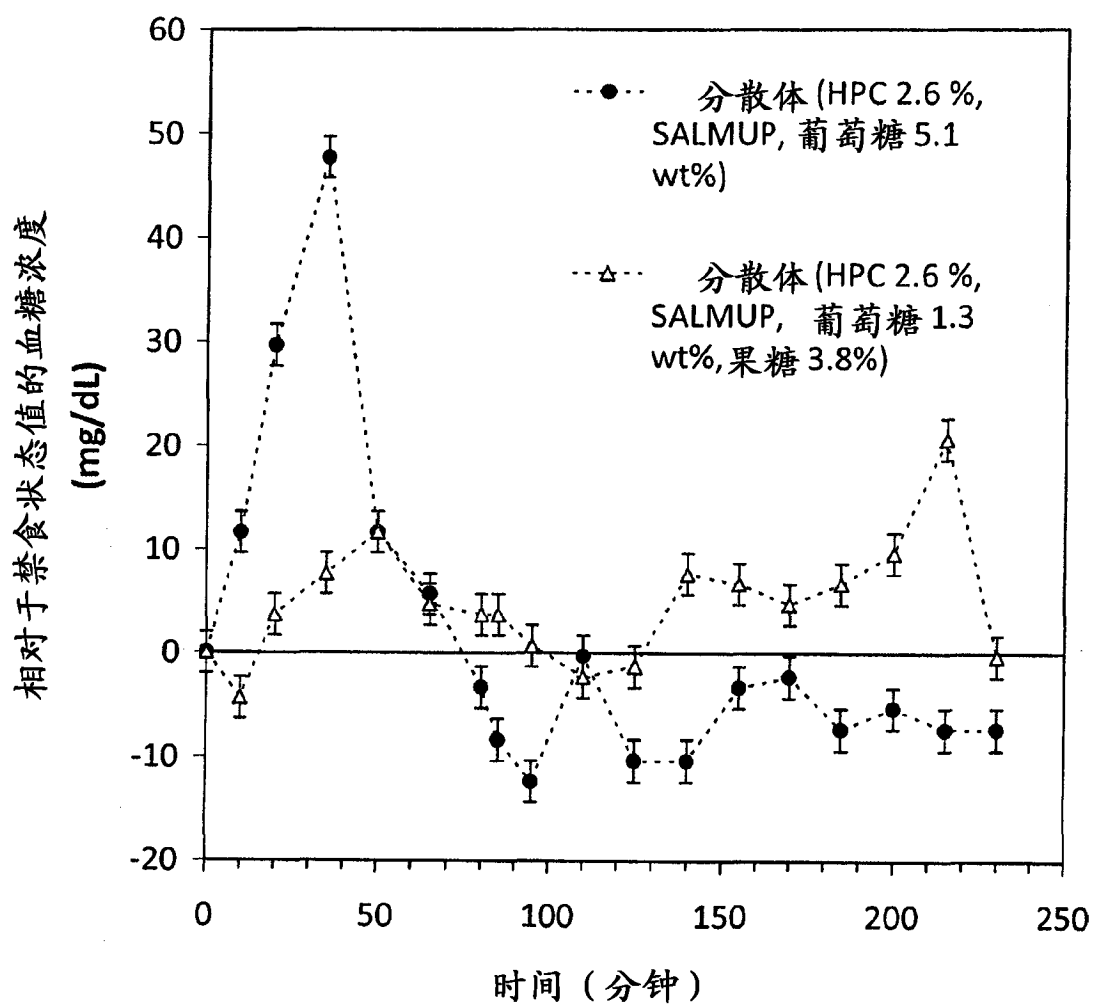


图 23

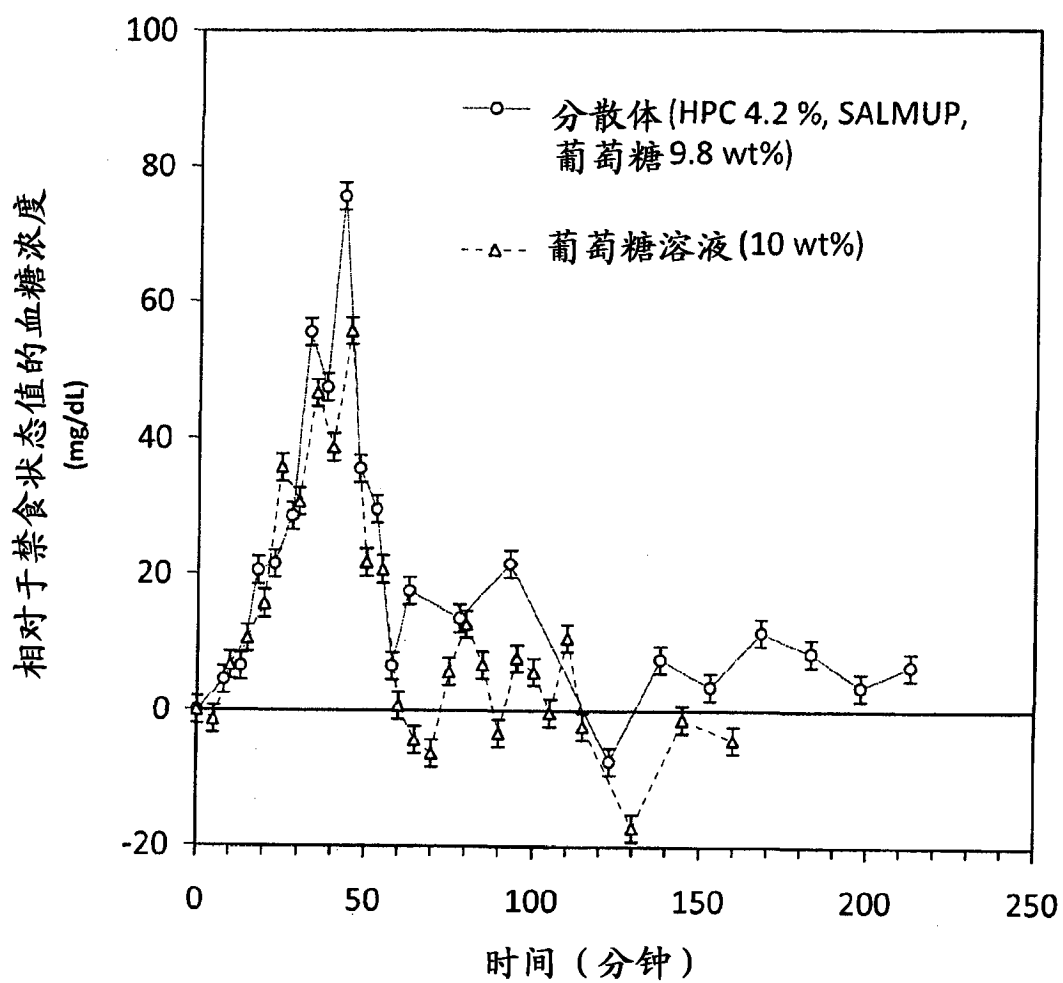


图 24

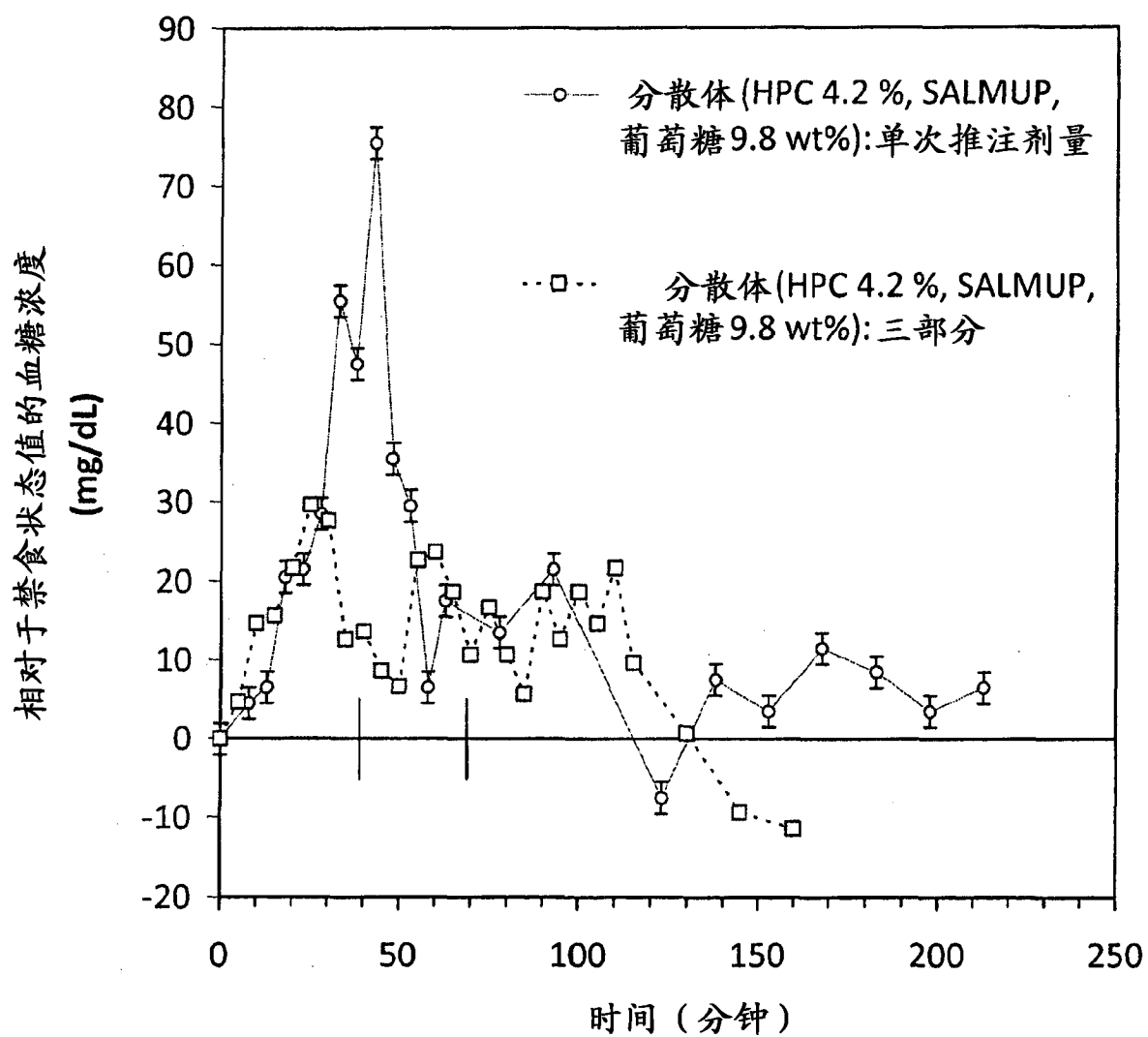


图 25

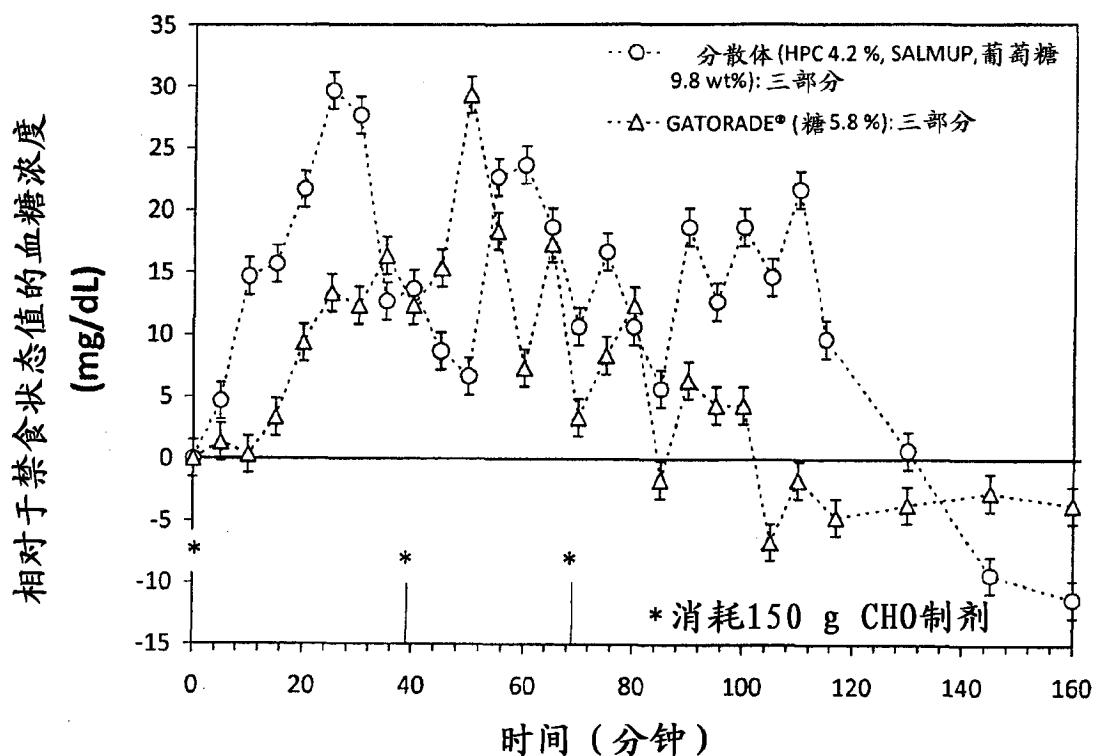


图 26

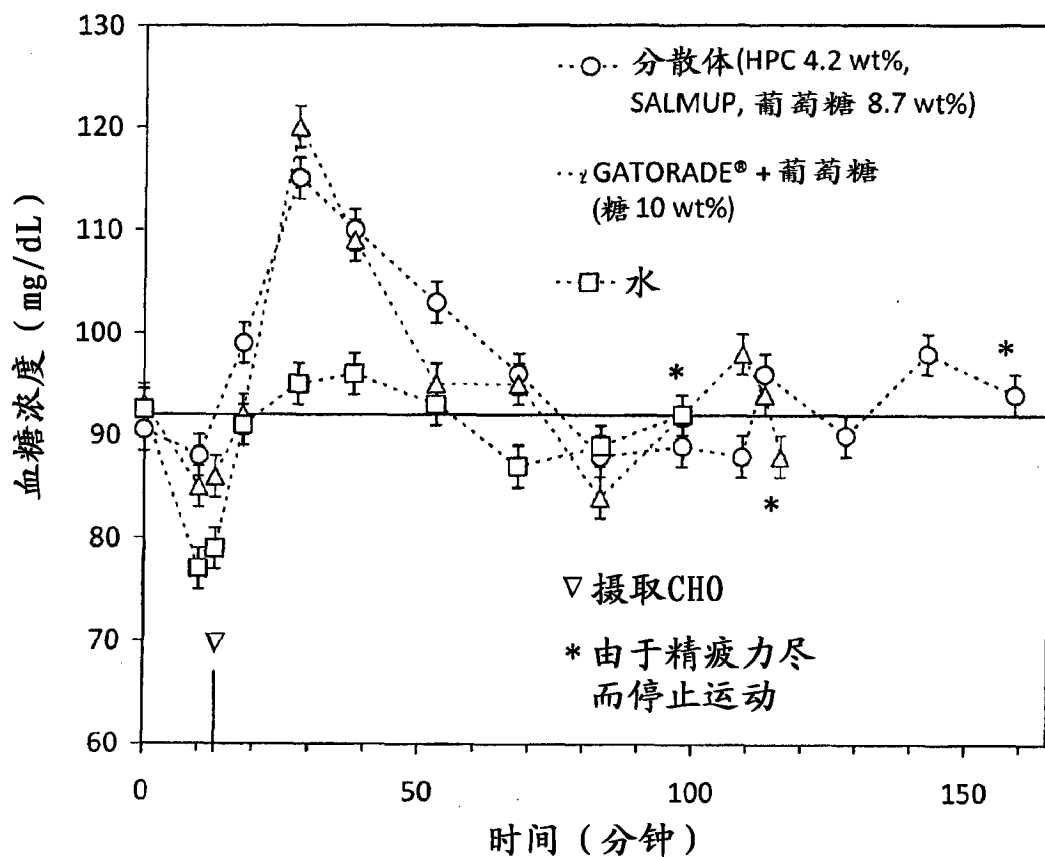


图 27

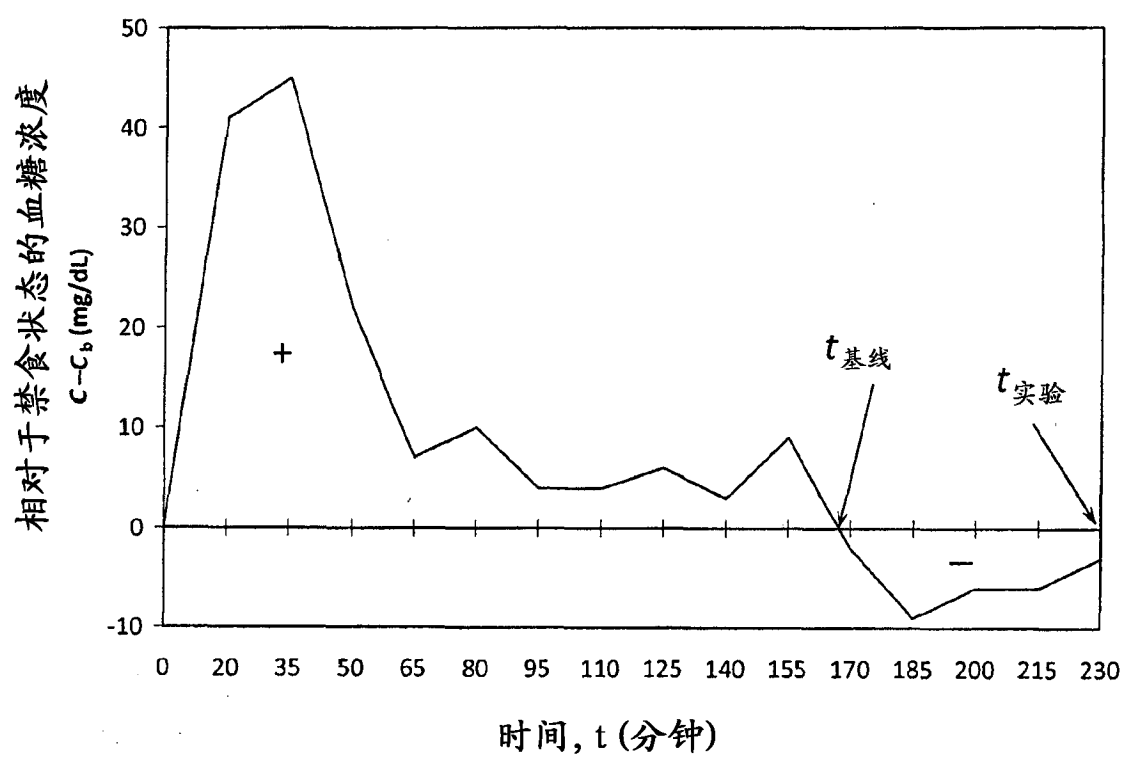


图 28