



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105228627 B

(45)授权公告日 2018.07.13

(21)申请号 201480027603.9

(22)申请日 2014.03.13

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105228627 A

(43)申请公布日 2016.01.06

(30)优先权数据
61/800,363 2013.03.15 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.11.12

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/026816 2014.03.13

(87)PCT国际申请的公布数据
W02014/152016 EN 2014.09.25

(73)专利权人 纽斯尔特科学公司
地址 美国田纳西州

(72)发明人 麦克·泽梅尔
安提亚·布鲁克鲍尔

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51)Int.Cl.
A61K 31/51(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
C12P 13/06(2006.01)

(56)对比文件
US 2013/0017283 A1, 2013.01.17, 说明书第46页表1.

Constance Kies et al..Interrelationships of leucine with lysine, tryptophan, and niacin as they influence protein value of cereal grains for humans.《Cereal Chemistry》.1972,第223-231页.

审查员 曹寅秋

权利要求书2页 说明书32页 附图7页

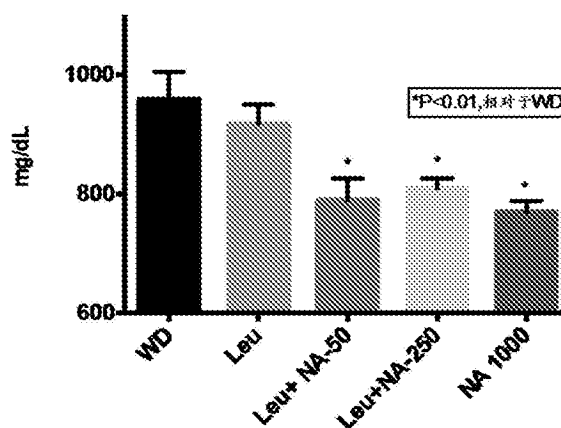
(54)发明名称

亮氨酸和烟酸降低脂质水平

(57)摘要

本文提供了可用于治疗高脂血病况的组合物、方法和试剂盒。这样的组合物可以含有与亮氨酸和/或亮氨酸代谢物组合的协同量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,含有或不含白藜芦醇。

总胆固醇



1. 一种组合物,其包含:

a. 至少250mg-1300mg亮氨酸和/或至少25mg一种或多种游离形式的亮氨酸代谢物,其中所述亮氨酸代谢物选自酮-异己酸(KIC)、 α -羟基-异己酸和羟甲基丁酸盐(HMB);和

b. 至少1mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,其中所述烟酸代谢物选自烟酰辅酶A、烟尿酸、烟酸单核苷酸、烟酸腺嘌呤二核苷酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸;

其中该组合物基本上不含丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和酪氨酸。

2. 如权利要求1所述的组合物,其中该组合物基本上不含烟酰胺。

3. 如权利要求1所述的组合物,其中该组合物中的组分(a)是亮氨酸且组分(b)是烟酸。

4. 如权利要求1所述的组合物,其中烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量小于250mg。

5. 如权利要求1所述的组合物,其中烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量为1-100mg。

6. 如权利要求1所述的组合物,其中该组合物有效地使受试者的甘油三酯水平、总胆固醇或LDL水平降低至少5%,且烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的所述量在不存在所述亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的情况下不足以实现该降低。

7. 如权利要求1所述的组合物,其中该组合物进一步包含白藜芦醇。

8. 如权利要求1所述的组合物,其中该组合物是片剂、胶囊、或丸剂。

9. 如权利要求1所述的组合物,其进一步包含一种或多种治疗剂,所述治疗剂选自HMG-CoA抑制剂、贝特类药物、胆汁酸螯合剂、依泽替米贝、洛美他派、植物甾醇、CETP拮抗剂、奥利司他及其任意组合。

10. 如权利要求1所述的组合物,其中该组合物被配制为单位剂型。

11. 一种试剂盒,其包含如权利要求10所述的组合物的单位剂量的多日供应以及指导在多日的一段时间内施用所述多日供应的说明书。

12. 如权利要求1至10之一所述的组合物在制备用于降低有需要的受试者中的总胆固醇水平的药物中的应用。

13. 一种组合物,其包含:

a. 亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物,其中所述亮氨酸代谢物选自酮-异己酸(KIC)、 α -羟基-异己酸和羟甲基丁酸盐(HMB);和

b. 至少1mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,其中所述烟酸代谢物选自烟酰辅酶A、烟尿酸、烟酸单核苷酸、烟酸腺嘌呤二核苷酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸;

其中所述组合物中的组分(a)与组分(b)的摩尔比大于5,并且其中该组合物基本上不含丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和酪氨酸;并且

其中所述组合物包含的亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的量小于1300mg。

14. 如权利要求13所述的组合物,其中该组合物中的组分(a)与组分(b)的摩尔比小于100。

15. 如权利要求13所述的组合物,其中该组合物基本上不含烟酰胺。

16. 如权利要求13所述的组合物,其中该组合物中的组分(a)是亮氨酸且组分(b)是烟酸。

17. 如权利要求13所述的组合物,其中烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量为1-100mg。

18. 如权利要求13所述的组合物,其中该组合物是片剂、胶囊、或丸剂。

19. 如权利要求13所述的组合物,其中该组合物被配制为单位剂型。

20. 一种试剂盒,其包含如权利要求13-19中任一项所述的组合物的单位剂量的多日供应以及指导在多日的一段时间内施用所述多日供应的说明书。

21. 如权利要求13-19中任一项所述的组合物在制备用于降低有需要的受试者中的总胆固醇水平或总脂质含量的药物中的应用。

亮氨酸和烟酸降低脂质水平

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2013年3月15日提交的美国临时专利申请号61/800,363的优先权,该临时申请通过引用以其整体并入本文。

背景技术

[0003] 代谢障碍如高脂血症和肥胖以及对健康和死亡率的相关影响呈现了对公共健康的显著负担。例如,在临床上被定义为身体质量指数超过 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 的肥胖据估计影响了35.7%的美国成年人口。在美国,据估计肥胖导致每年约110,000-365,000例死亡。肥胖可以导致高脂血症,其特征在于血流中包括胆固醇、胆固醇酯、磷脂和甘油三酯在内的脂质过量,并且可以进一步导致糖尿病、血管疾病、癌症、肾病、传染病、外部原因、故意的自我伤害、神经系统病症和慢性肺病(N Engl J Med 2011;364:829-841)。据估计,受试者表现出向心性肥胖和至少两种其他代谢障碍(如高胆固醇、高血压或糖尿病)的代谢综合征影响了25%的美国人口。

[0004] 高脂血症——肥胖和其他病况的一种症状,可以用包括烟酸在内的多种药物来治疗。烟酸是维生素B3(尼克酸)的一种形式。当以高剂量(1-3g/天)服用时,烟酸可以治疗高脂血症,因为它能够降低总脂质、LDL、胆固醇、甘油三酯和脂蛋白,或者升高血流中的HDL脂蛋白。它还可以降低动脉粥样硬化斑块的进展和冠心病的发病率和死亡率。

[0005] 然而,烟酸可能具有显著的副作用,因此可能通常是不良耐受的。一种显著的副作用可能是严重的皮肤血管舒张和潮红反应,因此尽管已经很好地证明了安全性和有效性,但是很少作为处方开出(Carlson LA.Nicotinic acid:the broad-spectrum lipid drug.A 50th anniversary review.J Int Med 2005;258:94-114)。尽管副作用在持续(SR)和延长(ER)释放制剂中略微减弱,但是副作用仍然持续到足以限制药物的使用。因此,存在对于在不降低其治疗效果的情况下减少烟酸的副作用的迫切需求。

发明内容

[0006] 本申请提供了用于治疗受试者的高脂血症的组合物、方法和试剂盒。该组合物、方法和试剂盒可以包括与烟酸组合的亮氨酸和/或亮氨酸代谢物。本发明解决了用高剂量烟酸治疗受试者时的负面的副作用。

[0007] 本发明的组合物可以口服或通过其他途径如静脉内给药来施用。用于口服的组合物可以包括丸剂、片剂、胶囊等。

[0008] 在一个方面,本发明提供包含至少约250mg亮氨酸和/或约25mg一种或多种亮氨酸代谢物以及至少约1mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的组合物。

[0009] 在本发明的另一方面,提供了包含至少约250mg亮氨酸和/或约25mg一种或多种亮氨酸代谢物以及一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的组合物,其中该组合物基本上不含丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸和脯氨酸中的每一种。

[0010] 在又一方面,本发明还提供包含至少约250mg亮氨酸和/或约25mg一种或多种亮氨酸

酸代谢物以及一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的组合物,其中烟酸和/或烟酸代谢物的所述量在不存在组分(a)的情况下不足以降低脂质含量。

[0011] 在本发明的再一方面,提供了包含一定量的亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物以及一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的组合物,其中向有需要的受试者施用该组合物,进一步地其中相比于在降低受试者的脂质含量方面与该组合物具有相同有效性的仅烟酸的剂量,该组合物在所施用的受试者中引起程度降低的皮肤血管舒张。

[0012] 在另一方面,本发明进一步提供包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物以及至少约1mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的组合物,其中所述组合物中组分(a)与(b)的摩尔比大于约20。

[0013] 在一些实施方案中,本文所述的该组合物包含至少约500mg亮氨酸和/或至少约200mg所述一种或多种亮氨酸代谢物。在一些实施方案中,该组合物包含至少约250mg亮氨酸和/或约25mg一种或多种亮氨酸代谢物。在一些实施方案中,亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的量小于约1g。在一些实施方案中,亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的量小于3g。

[0014] 本文公开的组合物可以基本上不含烟酰胺。在一些实施方案中,该组合物可以基本上不含烟酸代谢物。在另一实施方案中,该组合物可以基本上不含烟酰辅酶A、烟尿酸(nicotinuric acid)、烟酸单核苷酸、烟酸腺嘌呤二核苷酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸中的每一种。在一些实施方案中,该烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物是烟酸。

[0015] 本文公开的组合物可以基本上不含亮氨酸代谢物。在一些实施方案中,该亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物是亮氨酸。

[0016] 在一些情况下,本文所述的组合物可以包括一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,该量可能小于约1g。在一些情况下,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以小于约250mg。在一些实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以为约1-100mg。在再一些实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以为至少约1mg。

[0017] 在一些实施方案中,本文公开的组合物可以包括一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,该量能够实现小于约100nM的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的血清水平。在本发明的另一方面,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以能够实现约10nM的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的血清水平。在又一方面,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以能够实现约1-100nM的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的血清水平。

[0018] 在一些情况下,本文公开的组合物可以有效地使受试者的甘油三酯水平、总胆固醇或LDL水平降低至少约5%。在一些情况下,该组合物中组分(a)和(b)的量在施用于受试者时可以协同地降低所述受试者的脂质含量。在一些实施方案中,该组合物中的组分(a)和组分(b)可以协同地增强受试者的体重增加的降低、受试者的脂肪氧化的增加或受试者的Sirt1激活的增加。

[0019] 在一些实施方案中,在不存在亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的情况下,本

文所述的组合物中烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可能不足以降低脂质含量。

[0020] 在一些情况下,本文公开的组合物可以包含在食品中。

[0021] 在一些实施方案中,本发明的组合物包含的亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的一部分可以是游离形式。在一些实施方案中,该亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的一部分可以是盐形式。

[0022] 在本发明的一些方面,该组合物可以进一步包含白藜芦醇。

[0023] 在一些情况下,该组合物可以配制用于口服给药。在一些情况下,该组合物可以是片剂、胶囊、丸剂、颗粒、乳剂、凝胶、包封在胶囊中的多个珠粒、粉末、悬浮液、液体、半液体、半固体、糖浆、浆液或可咀嚼形式。

[0024] 在一些情况下,本文所述的组合物中包含的组分(a)和组分(b)可以分开包装。在一些实施方案中,组分(a)和组分(b)可以混合。

[0025] 本文所述的组合物可以基本上不含选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和酪氨酸的每种氨基酸。在一些情况下,该组合物可以基本上不含选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和酪氨酸的每种游离氨基酸。在一些情况下,该组合物可以含有少于约0.1%的选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和酪氨酸的每种游离氨基酸。在一些实施方案中,该组合物可以含有少于约10%的非亮氨酸氨基酸。

[0026] 在另一方面,可以包含在本文所述的组合物中的一种或多种亮氨酸代谢物可以选自酮-异己酸(KIC)、 α -羟基-异己酸和HMB。在一些实施方案中,本文公开的组合物不能包含烟酰胺。

[0027] 在又一方面,本文公开的组合物可以进一步包含一种或多种能够降低脂质积累的治疗剂。在一些实施方案中,可以包含在本文所述的组合物中的一种或多种治疗剂可以选自HMG-CoA抑制剂、贝特类药物(fibrate)、胆汁酸螯合剂、依泽替米贝(ezetimibe)、洛美他派(lomitapide)、植物甾醇类(phytosterols)、CETP拮抗剂、奥利司他(orlistat)及其任意组合。

[0028] 在一些实施方案中,本文所述的组合物中组分(a)与(b)的摩尔比可以大于约20。

[0029] 在一些实施方案中,可将本文所述的组合物配制为单位剂型。

[0030] 在另一方面,本发明还提供了试剂盒,其包含本文所述的组合物的单位剂量的多日供应,以及指导在多日的一段时间内施用所述多日供应的说明书。

[0031] 在又一方面,本发明进一步提供了降低有需要的受试者中的总胆固醇水平的方法,其包括向所述受试者施用本文公开的组合物以实现该受试者中的总胆固醇水平。在一些实施方案中,本发明还提供了降低有需要的受试者中的总脂质含量的方法,其包括向所述受试者施用本文公开的组合物以实现该受试者中的总脂质含量。

[0032] 在一个方面,本发明还提供了降低有需要的受试者中的总胆固醇水平的方法,其包括向所述受试者施用一定剂量的包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物和一定量的烟酸和/或烟酸代谢物的组合物,以实现该受试者中的总胆固醇水平。

[0033] 在一些实施方案中,可以在本文公开的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以小于约250mg。在一些实施方案中,可以在本文公开的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以小于约100mg。在一些实施方案中,可以在本文描述的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以小于约25mg。在一些实施方案中,可以在本文描述的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以小于约10mg。在一些实施方案中,可以在本文公开的方法中使用的组合物的剂量可以是单位剂量。

[0034] 在本发明的另一方面,公开了减少烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的副作用的方法,其中该副作用的特征可在于施用烟酸和/或烟酰胺核苷和/或该一种或多种烟酸代谢物的受试者中的皮肤血管舒张的增加,并且该方法包括向受试者施用包含有效量的亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的组合物,其可与烟酸和/或一种或多种烟酸代谢物施用。

[0035] 在一些实施方案中,本文所述的方法可以包括口服施用该组合物。

[0036] 在一些情况下,在本文所述的方法中使用的亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的有效量可以包含至少约500mg亮氨酸和/或至少约200mg所述一种或多种亮氨酸代谢物。在一些情况下,亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的有效量可以包含至少约250mg亮氨酸和/或至少约25mg所述一种或多种亮氨酸代谢物。

[0037] 在一些实施方案中,本文公开的方法可以涉及烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,如果单独施用,其为亚治疗量。在一些实施方案中,在本文所述的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物可以是小于约1g的量。在一些实施方案中,在本文公开的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物可以是小于约250mg的量。在一些实施方案中,在本文所述的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以为约1-100mg。

[0038] 在一些情况下,本文所述的方法可以使用一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,该量能够实现约1-100nM的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的血清水平。

[0039] 在本发明的又一方面,提供了降低有需要的受试者中的动脉粥样硬化斑块大小的方法。该方法包括向所述受试者施用一定剂量的包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物和一定量的烟酸和/或烟酸代谢物的组合物,以实现该受试者中的总动脉粥样硬化斑块大小。

[0040] 在一些实施方案中,可以在本文所述的方法中使用的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以小于约250mg。在一些实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以为约1-100mg。在一些实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以小于约25mg。

[0041] 在一些情况下,本文所述的方法可以包括向所述受试者施用所述组合物至少约1年。

[0042] 在一些实施方案中,在本文所述的方法中使用的组合物的剂量可以是单位剂量。

[0043] 援引并入

[0044] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请均在此通过引用而并入,其程度

如同具体地和单独地指出每个单独的出版物、专利或专利申请通过引用而并入。

附图说明

[0045] 本发明的新颖特征在随附的权利要求中具体阐述。通过参考以下对在其中利用到本发明原理的说明性实施方案加以阐述的详细描述和附图,将会获得对本发明的特征和优点的更好的理解,在附图中:

[0046] 图1显示了烟酸和烟酰胺核苷的化学结构。

[0047] 图2显示了烟酸和亮氨酸和/或白藜芦醇对C2C12肌管中的Sirt1激活的影响。NA指烟酸;Leu指亮氨酸;R指白藜芦醇。 $*p<0.05$; $**p=0.0001$ 。数据表示为距对照值的%变化。

[0048] 图3显示了烟酸和亮氨酸和/或白藜芦醇对3T3-L1脂肪细胞中的P-AMPK/AMPK比例的影响。NA指烟酸;Leu指亮氨酸;R指白藜芦醇。 $*p<0.01$ 。数据表示为距对照值的%变化。

[0049] 图4显示了亮氨酸(0.5mM)/烟酸(10nM)对秀丽隐杆线虫(*C.elegans*)中的脂质水平的影响($*p=0.012$)。NA指烟酸;Leu指亮氨酸。

[0050] 图5显示了在LDL受体敲除小鼠中,用添加至西方饮食(Western Diet,WD)中的亮氨酸(Leu,24g/kg饮食)、Leu(24g/kg饮食)+烟酸(NA,50mg/kg饮食)、Leu(24g/kg饮食)+NA(250mg/kg饮食)和NA(1,000mg/kg饮食)处理四周对血浆总胆固醇的影响。

[0051] 图6显示了在LDL受体敲除小鼠中,用添加至西方饮食(WD)中的亮氨酸(Leu,24g/kg饮食)、Leu(24g/kg饮食)+烟酸(NA,50mg/kg饮食)、Leu(24g/kg饮食)+NA(250mg/kg饮食)和NA(1,000mg/kg饮食)处理四周对血浆总胆固醇酯的影响。

[0052] 图7显示了在LDL受体敲除小鼠中,用添加至西方饮食(WD)中的亮氨酸(Leu,24g/kg饮食)、Leu(24g/kg饮食)+烟酸(NA,50mg/kg饮食)、Leu(24g/kg饮食)+NA(250mg/kg饮食)和NA(1,000mg/kg饮食)处理四周对血浆甘油三酯的影响。

[0053] 图8显示了烟酸和亮氨酸对秀丽隐杆线虫的寿命的影响。NA指烟酸;Leu指亮氨酸。 $*p<0.0001$ 。数据表示为随时间推移的%存活。

具体实施方式

[0054] 本文所用的术语仅仅是为了描述具体实施方案的目的,而并非旨在限制本发明。如本文使用的,单数形式“一个”、“一种”和“该”也意图包括复数形式,除非上下文另有明确指示。此外,就术语“包含”、“包括”、“具有”、“有”、“带有”或其变化形式在具体实施方式和/或权利要求中的使用来说,这些术语旨在以类似于术语“含有”的方式包含在内。

[0055] 术语“约”或“大约”意思是如本领域普通技术人员所确定的,对于特定的值在可接受的误差范围内,这将部分地取决于该值如何测量或确定,即测量系统的限制。例如,按照本领域的实践,“约”可能意味着在1个或多于1个标准差以内。或者,“约”可能意味着给定值的可达20%、可达10%、可达5%或可达1%的范围。或者,特别是对于生物系统或过程,该术语可能意味着在值的数量级内,优选在5倍以内,更优选在2倍以内。在本申请和权利要求书中描述特定值的情况下,除非另有说明,否则应当假定术语“约”的意思是在特定值的可接受的误差范围内。

[0056] 如本文使用的,术语“受试者”或“个体”包括哺乳动物。哺乳动物的非限制性实例包括人和小鼠,包括转基因和非转基因小鼠。本文描述的方法可用于人类治疗、临床前和兽

医应用。在一些实施方案中,受试者为哺乳动物,在一些实施方案中,受试者为人。其他哺乳动物包括但不限于,猿、黑猩猩、猩猩、猴子;驯养动物(宠物),如狗、猫、豚鼠、仓鼠、小鼠、大鼠、兔和雪貂;驯养家畜,如牛、水牛、野牛、马、驴、猪、绵羊和山羊;或通常在动物园中见到的野生动物,例如熊、狮、虎、豹、象、河马、犀牛、长颈鹿、羚羊、树懒、瞪羚、斑马、角马、草原犬鼠、无尾熊、袋鼠、熊猫、大熊猫、鬣狗、海豹、海狮和海象。

[0057] 术语“施用”和“给药”被定义为通过本领域已知的途径向受试者提供组合物,该途径包括但不限于静脉内、动脉内、口服、肠胃外、颊部、局部、经皮、直肠、肌肉内、皮下、骨内、经粘膜或腹膜内给药途径。在本申请的某些实施方案中,施用组合物的口服途径可能是优选的。

[0058] 如本文使用的,“药剂”或“生物活性剂”是指生物学、药学或化学化合物或其他部分。非限制性的实例包括简单或复杂的有机或无机分子、肽、蛋白质、肽核酸(PNA)、寡核苷酸(包括,例如,适体和多核苷酸)、抗体、抗体衍生物、抗体片段、维生素衍生物、糖、毒素或化疗化合物。可以合成各种化合物,例如,小分子和寡聚物(例如,寡肽和寡核苷酸),以及基于多种核心结构的合成有机化合物。另外,多种天然来源也可以提供化合物以供筛选,例如植物或动物提取物等。熟练技术人员可以容易地认识到,对于本发明的药剂的结构性质没有限制。

[0059] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指本文所述的化合物的量,其足以实现预期的应用,包括但不限于如下定义的疾病或病况治疗。治疗有效量可根据预期的应用(体外或体内)或所治疗的受试者和疾病状况(例如,受试者的体重和年龄、病情的严重程度、给药方式等)而不同,其可以由本领域普通技术人员容易地确定。该术语也适用于将会诱导靶细胞中的特定应答(例如,增殖的减少或靶蛋白活性的下调)的剂量。具体剂量将根据所选的具体化合物、要遵循的给药方案、其是否与其他化合物联合施用、给药时机、其所施用到的组织和携带它的物理递送系统而变化。

[0060] 如本文使用的术语“能量代谢”是指伴随体内生化反应的能量的转化,该生化反应包括细胞代谢和线粒体生物发生。能量代谢可以用本文描述的多种测量方法来量化,包括但不限于,体重减轻、脂肪损失、胰岛素敏感度、脂肪酸氧化、葡萄糖利用、甘油三酯含量、Sirt 1表达水平、AMPK表达水平、氧化应激和线粒体生物量。

[0061] 当应用于本发明的组分,例如PDE 5抑制剂,包括但不限于烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,亮氨酸和亮氨酸代谢物(如HMB)和白藜芦醇时,术语“分离的”是指缺乏至少一些其他组分的物质的制品,所述组分还可能存在于该物质或类似物质天然存在或最初获得之处。因此,例如,分离的物质可通过使用纯化技术从来源混合物中富集该物质来制备。富集可基于绝对量来测量,例如每单位体积的溶液的重量,或者其可相对于来源混合物中存在的第二、潜在干扰性的物质来测量。本发明实施方案的越来越高的富集是逐渐更优选的。因此,例如,2倍富集是优选的,10倍富集是更优选的,100倍富集是更加优选的,1000倍富集是甚至更加优选的。物质还可以通过人工组装过程(如通过化学合成)以分离的状态提供。

[0062] 药剂、激活剂或治疗剂的“亚治疗量”是这样的量:其小于该药剂、激活剂或治疗剂用于预期应用的有效量,但是当与有效量或亚治疗量的另一种药剂或治疗剂联合时,由于例如所得的有效作用中的协同效应和/或减少的副作用,可以产生期望的结果。

[0063] “协同的”或“协同”效应可以是这样的，其使得联用组合物的一种或多种效应大于每种单独组分的一种或多种效应，或者其可以大于单独的每种组分的一种或多种效应之和。协同效应可以比单独使用其中一种组分时对受试者的效应或当每种组分分别施用时的叠加效应高大约或大于约10%、20%、30%、50%、75%、100%、110%、120%、150%、200%、250%、350%或500%或甚至更多。该效应可以是在此描述的任何可测量的效应。

[0064] 如本文使用的术语“基本上不含”是指具有少于约10%、少于约5%、少于约1%、少于约0.5%、少于0.1%或更少的特定组分的组合物。例如，基本上不含非支链氨基酸的组合物可以含有少于约1%的非支链氨基酸赖氨酸。百分比可以确定为总组合物的百分比或组合物的子集的百分比。例如，基本上不含非支链氨基酸的组合物可以具有少于1%的非支链氨基酸，其作为总组合物的百分比或作为该组合物中的氨基酸的百分比。百分比可以是质量、摩尔或体积百分比。

[0065] 术语“临床显著性”或“临床上显著的”表示被认为超出正常范围的行为和症状，并且其特点是日常功能的困扰和损害。例如，临床上显著的皮肤血管舒张将是足以引发患者关于继发于急性血管舒张的不适(包括潮红、瘙痒和/或麻刺感)的主诉的水平。皮肤血管舒张的水平也可以通过本领域已知的任何方法来测量，如在Saumet J.L.等人，“Non-invasive measurement of skin blood flow: comparison between plethysmography, laser-Doppler flowmeter and heat thermal clearance method” Int.J.Microcirc.Clin.Exp.1986;5:73-83中公开的包括激光-多普勒流量计的方法。皮肤血管舒张的临床上显著的水平也可以是统计上显著的水平。皮肤血管舒张的临床上显著的水平也可以是统计上不显著的水平。

[0066] 术语“脂质含量”或“脂质水平”是指在受试者体内测量的脂质或脂蛋白分子的含量或水平。它可以是循环血流中的脂质分子的浓度，或者体脂肪的总量。脂质或脂蛋白分子可以包括甘油三酯、胆固醇、LDL或HDL。

[0067] 组合物

[0068] 本发明的组合物包含(i)亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物以及(ii)烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的组合。该组合物可以用来治疗高脂血症。该组合物可进一步包含白藜芦醇或一种或多种能够降低脂质水平的治疗剂。这些组分的组合可以用于降低脂质含量、降低总胆固醇水平、降低LDL水平、降低甘油三酯水平或提高HDL水平。在一些实施方案中，配制这些组分以提供协同效应，包括但不限于脂肪含量的进一步降低或给药量的降低，从而导致对受试者的副作用减少。该组合可以特别有效地降低脂质含量，同时相比于在降低脂质含量方面与该组合物具有相同有效性的仅烟酸的剂量，在受试者中引起程度降低的皮肤血管舒张。在不存在亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的情况下，该组合物中的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量可以是亚治疗量。

[0069] 在一个实施方案中，本发明的组合物包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物；以及烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物，其中该组合物包含至少约250mg亮氨酸和/或至少约25mg所述一种或多种亮氨酸代谢物，并且进一步地其中该组合物包含至少约1mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物。

[0070] 在另一实施方案中，本发明的组合物包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物；

以及烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中该组合物包含至少约250mg亮氨酸和/或至少约10、20、25、30、35、40、45、50、55、60mg所述一种或多种亮氨酸代谢物,并且进一步地其中该组合物基本上不含包括但不限于丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸和脯氨酸的氨基酸中的每一种。

[0071] 在又一实施方案中,本发明的组合物包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物;以及一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中该组合物包含至少约250mg亮氨酸和/或至少约25mg所述一种或多种亮氨酸代谢物,并且进一步地其中在不存在亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物的情况下,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量不足以显示治疗效果,如降低脂质含量。在一些实施方案中,当不与亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物一起施用,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物的量是亚治疗量。

[0072] 在再一实施方案中,本发明的组合物包含亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物;以及烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中该组合物有效地降低有需要的受试者中的脂质含量,同时相比于在降低脂质含量方面与该组合物具有相同有效性的仅烟酸的剂量,在该受试者中引起程度降低的皮肤血管舒张。在一些实施方案中,该组合物有效地降低有需要的受试者中的脂质含量,而不会引起临床上显著的皮肤血管舒张。

[0073] 在另一实施方案中,本发明的组合物包含 (a) 亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物;和 (b) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中 (a) 与 (b) 的质量比为至少约10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75或100,并且其中该组合物包含至少约1mg该烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。如本文所述,至少约1mg的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的给药量可以提供亚治疗给药,其在与足够质量比的亮氨酸或亮氨酸代谢物联合时可以是有效的。

[0074] 在一些实施方案中,本发明的组合物包含 (a) 亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物;以及 (b) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物,其中组分 (a) 和组分 (b) 具有协同效应。该协同效应可以是协同地增强受试者的体重增加的降低、脂质含量的降低、LDL水平的降低、HDL水平的提高、胆固醇水平的降低、甘油三酯水平的降低、受试者的脂肪氧化的增加,或受试者中的Sirt1激活的增加。

[0075] 在本发明的一个方面,本发明的组合物包含 (a) 亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸;以及 (b) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或一种或多种烟酸代谢物。该组合物可以进一步包含至少约0.01、0.05、0.1、0.5或1 μ g白藜芦醇。

[0076] 在又一实施方案中,本发明的组合物包含 (a) 亮氨酸和/或一种或多种亮氨酸代谢物;以及 (b) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中 (b) 以有效地在受试者中达到约1-100nM烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的循环水平的量存在。在一些实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的循环水平是10nM。这些目标循环水平对应于本文描述的已证明在受试者中对高脂血病况提供有益效果的治疗浓度(参见实施例)。

[0077] 烟酸、烟酰胺核苷和烟酸代谢物

[0078] 本发明提供了包含烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的组合物。该烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物可以以游离形式使用。术语“游离”,当在本文中提及组分结合时,表示该组分未引入较大分子复合物中。在一些实施方案中,该烟酸可以包含在尼克酸

中。该烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物可以是盐形式。

[0079] 在一些实施方案中,该组合物可以基本上不含烟酰胺和/或烟酰胺代谢物。该烟酰胺和/或烟酰胺代谢物可以抵消烟酸或烟酰胺核苷的效果。烟酰胺在高剂量下可能对肝脏有害(如<http://www.livestrong.com/article/448906-therapeutic-levels-of-niacin-to-lower-cholesterol-levels/#ixzz2N03KhDZu>所公开的)。烟酰胺和/或烟酰胺代谢物的质量或摩尔量可以少于总组合物的约0.01%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%或10%。烟酰胺和/或烟酰胺代谢物的质量或摩尔量可以少于总组合物的约0.01%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%或10%。

[0080] 不受理论所限制,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的摄入可以降低脂质含量、降低甘油三酯水平、降低LDL水平、降低总胆固醇水平或提高HDL水平。烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的摄入还可以提高脂肪氧化或刺激抗衰老酶(sirtuin)信号传导,包括提高Sirt1和Sirt3的激活。在一些实施方案中,本文描述的任意组合物可以包含烟酸的盐、衍生物、代谢物、分解代谢物、合成代谢物、前体和类似物。例如,该代谢物可以包括烟酰辅酶A、烟尿酸、烟酸单核苷酸、烟酸腺嘌呤二核苷酸或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸。在一些实施方案中,该组合物不能包含烟酰胺。在一些实施方案中,该组合物包含烟酰胺。在一些实施方案中,该组合物可以基本上不含烟酸代谢物。

[0081] 亮氨酸和亮氨酸代谢物

[0082] 本发明提供了包含亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的组合物。该亮氨酸和/或亮氨酸代谢物可以以游离形式使用。术语“游离”,当在本文中与组分结合使用时,表示该组分未引入较大分子复合物中。例如,组合物可以包含未引入蛋白质中的游离亮氨酸或游离羟甲基丁酸盐。该亮氨酸可以是L-亮氨酸。该亮氨酸和/或亮氨酸代谢物可以是盐形式。

[0083] 不受理论所限制,支链氨基酸如亮氨酸的摄取能够刺激抗衰老酶信号传导,包括Sirt1和Sirt3,以及AMPK信号传导,其中一个或多个可以有利地调节炎症细胞因子谱。在一些实施方案中,本文描述的任意组合物可以包含亮氨酸的盐、衍生物、代谢物、分解代谢物、合成代谢物、前体和类似物。例如,该代谢物可以包括羟甲基丁酸盐(HMB)、酮-异己酸(KIC)和酮异己酸盐。HMB可以是多种形式,包括3-羟基-3-甲基丁酸钙水合物。

[0084] 在本发明的某些实施方案中,可以配制本文公开的任意组合物以使它们不含(或排除)一种或多种选自赖氨酸、谷氨酸、脯氨酸、精氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、组氨酸、丙氨酸、色氨酸、甲硫氨酸、谷氨酰胺、牛磺酸、肉碱、胱氨酸和半胱氨酸的氨基酸。

[0085] 在一些实施方案中,该组合物可以基本上不含一种或多种或全部非亮氨酸氨基酸。例如,该组合物可以不含丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和/或缬氨酸。

[0086] 该组合物可以基本上不含游离的非亮氨酸氨基酸,如丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和/或缬氨酸。

[0087] 在一些实施方案中,该组合物可以基本上不含一种或多种或全部非支链或非亮氨酸氨基酸。例如,该组合物可以不含丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨

酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸和/或酪氨酸。在一些实施方案中,该组合物可以基本上不含异亮氨酸和/或缬氨酸。本发明的组合物可以基本上不含单个氨基酸丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸和脯氨酸。本发明的组合物可以基本上不含单个氨基酸丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸和脯氨酸中的一种或多种。本发明的组合物可以基本上不含丙氨酸。本发明的组合物可以基本上不含甘氨酸。本发明的组合物可以基本上不含缬氨酸。该组合物可以基本上不含任何非支链氨基酸。非支链氨基酸的质量或摩尔量可以小于总组合物的或该组合物中总氨基酸的约0.01%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%或10%。非亮氨酸氨基酸的质量或摩尔量可以小于总组合物的或该组合物中总氨基酸的约0.01%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%或10%。

[0088] 为了清楚起见,本文所述的氨基酸可以是以其游离形式或盐形式存在的完整氨基酸。例如,本发明的组合物可以基本上不含游离氨基酸,如丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸和脯氨酸。非支链氨基酸、任何氨基酸或任何非亮氨酸氨基酸的质量或摩尔量可以小于总组合物的、该组合物中总氨基酸的或该组合物中总游离氨基酸的约0.01%、0.1%、0.5%、1%、2%、5%或10%。

[0089] 治疗剂

[0090] 本发明的组合物可以进一步包含一种或多种除烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物外的药理学活性剂或治疗剂。该治疗剂或药理学活性剂可以是本领域已知的任何药剂。例如,该联用组合物可以进一步包含药理学活性抗高脂血症剂,或对脂质含量也有作用的膳食补充剂。该抗高脂血症剂可以是口服药剂或可注射药剂。该抗高脂血症剂可以是降低总脂质含量或甘油三酯水平、LDL或胆固醇水平或提高HDL水平的亚治疗量。本领域已知的抗高脂血症剂的类型可以包括但不限于HMG-CoA抑制剂(或他汀类药物)、贝特类药物、烟酸、胆汁酸螯合剂(树脂)、胆固醇吸收抑制剂(依泽替米贝)、洛美他派、植物甾醇类、奥利司他等。他汀类型的抗高脂血症剂可以包括但不限于:阿托伐他汀、氟伐他汀、谱伐他汀、洛伐他汀、辛伐他汀、匹伐他汀、西立伐他汀、瑞舒伐他汀或洛伐他汀/尼克酸ER。胆固醇吸收抑制剂可以包括但不限于依泽替米贝和依泽替米贝与辛伐他汀的组合。贝特类型的抗高脂血症剂可以包括但不限于:吉非贝齐、非诺贝特、非诺贝酸、氯贝丁酯或微粉化的非诺贝特。胆汁酸螯合剂可以包括但不限于:考来替泊、考来烯胺或考来维仑。其他类型的抗高脂血症剂可以包括右甲状腺素钠或二十碳五烯酸(icosapent)。提供这些实例仅出于讨论的目的,并且旨在证明本发明的适用性范围广至众多的药物。并不意味着以任何方式限制本发明的范围。

[0091] 本发明的组合物可以进一步包含一种或多种为草药和/或补充剂的治疗剂。该草药和/或补充剂可以具有在科学上未经证明的治疗效果。该草药和/或补充剂的实例包括但不限于:巴西莓(Acai)、紫花苜蓿、芦荟、真芦荟(Aloe Vera)、马兜铃酸、亚洲人参、黄芪(Astragalus)、凝结芽孢杆菌(Bacillus coagulans)、颠茄、 β -胡萝卜素、双歧杆菌(Bifidobacteria)、覆盆子、越橘、生物素、苦橙、黑升麻(Black Cohosh)、黑升麻、黑车前草、红茶、墨角藻、藏掖花(Blessed thistle)、金色车前子(Blond psyllium)、蓝莓、蓝绿藻、硼、菠萝蛋白酶、款冬(Butterbur)、钙、金盏花、Cancell/Cantron/Proctel、软骨(牛和鲨鱼)、肉桂(Cassia cinnamon)、猫爪草、甘菊、圣洁莓、硫酸软骨素、铬、桂皮、丁香、辅酶Q-10、胶体银产品、蔓越莓、肌酸、蒲公英、蒲公英、钩果草(Devil's claw)、DHEA、当归、紫锥花、麻黄、Essiac/Flor-精华、桉树、欧洲接骨木(接骨木)、欧洲槲寄生、月见草油、葫芦巴、

黑叶母菊、鱼油、亚麻子、亚麻子油、叶酸盐、叶酸、大蒜、生姜、银杏、人参、盐酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖、白毛茛 (Goldenseal)、葡萄籽提取物、绿茶、山楂、蝴蝶亚仙人掌 (Hoodia)、七叶树、木贼 (Horsetail)、硫酸胍、碘、铁、卡瓦 (Kava)、乳杆菌 (Lactobacillus)、苦杏仁苷/扁桃苷、L-精氨酸、薰衣草、欧亚甘草 (Licorice)、枸杞、番茄红素、镁、锰、褪黑激素、奶蓟、槲寄生提取物、巴戟天 (Noni)、口服益生菌 (Oral Probiotics)、泛酸 (维生素B5)、西番莲、PC-SPES、薄荷油、薄荷、磷酸盐、石榴、蜂胶 (Propolis)、碧萝芷、吡哆醇 (维生素B6)、红三叶草、红酵母、核黄素 (维生素B2)、罗马洋菊、布拉氏酵母 (Saccharomyces boulardii)、S-腺苷-L-甲硫氨酸 (SAME)、鼠尾草 (Sage)、锯叶棕、选择的蔬菜/Sun汤、硒、番泻叶 (Senna)、大豆、圣约翰草 (St. John's Wort)、甜橙精华、茶树油、硫胺素 (维生素B1)、雷公藤 (Thunder God Vine)、姜黄 (Turmeric)、缬草 (Valerian)、维生素A、维生素B12、维生素C、维生素D、维生素E、维生素K、野山药、育亨宾树 (Yohimbe)、锌或5-HTP。

[0092] 本文描述的联用组合中使用的药剂或任意其他组分的量可以是以亚治疗量使用。在一些实施方案中,使用亚治疗量的药剂或组分能够减少药剂的副作用。亚治疗量的使用仍然可以是有效的,特别是当与其他药剂或组分协同使用时。

[0093] 亚治疗量的药剂或组分可以是这样的,以使其量低于被认为是治疗性的量。例如,FDA指南可能建议治疗特定病况的特定给药水平,而亚治疗量就是低于FDA建议的给药水平的任何水平。亚治疗量可以比被认为是治疗量的量低约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、50%、75%、90%或95%。可以对个体受试者或成组受试者评估治疗量。成组受试者可以是全部的潜在受试者或具有特定特征如年龄、体重、种族、性别或生理活性水平的受试者。

[0094] 在单独施用烟酸以降低脂质含量的情况下,医师建议的起始剂量为每天1000-3000mg,当与亮氨酸和/或亮氨酸代谢物一起施用,受试者特定的给药量范围为每天1mg到最大1000mg。对受试者的特定给药量可以由临床医师通过对剂量进行滴定和测定治疗反应来确定。治疗给药水平可以通过测定不引起临床上显著的皮肤血管舒张时的空腹血浆胆固醇和LDL水平来确定。亚治疗量可以是低于推荐的烟剂量的任何水平。例如,如果受试者的治疗给药水平被确定为700mg每天,则600mg的剂量就是亚治疗量。或者,亚治疗量可以相对于一组受试者而非单个受试者来确定。例如,如果对于体重超过300lbs的受试者,烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物的平均治疗量是2000mg,那么亚治疗量可以是低于2000mg的任何量。在一些实施方案中,该给药量可以由包括但不限于患者的医生、护士、营养师、药剂师或其他健康护理专业人员的医疗保健提供者推荐。卫生保健专业人员可包括与卫生保健系统相关的个人或实体。卫生保健专业人员的实例可包括外科医生、牙医、听力学家、言语病理学家、内科医生(包括全科医生和专科医生)、助理医师、护士、助产士、药师/药剂师、营养师、治疗师、心理学家、物理治疗师、刺络医师、职业治疗师、验光师、脊医、临床医务人员、紧急医疗技术人员、护理人员、医疗化验员、放射技师、医疗假肢技师社会工作者,以及众多的经过培训以便提供某种类型的医疗保健服务的其他人力资源。

[0095] 对于烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物,烟酸、烟酰胺核苷、烟酸代谢物的治疗有效水平可以是约1-100nM的循环水平。烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物自身或任意组合的亚治疗水平可以是至少约、低于约或高于约1、2.5、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、

90或100nM的任何循环水平。配制用于给药的本发明组合物中的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的亚治疗水平可以低于约1、5、10、20、30、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、750、800、900或1000mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。

[0096] 本文描述的任何组分,包括亮氨酸、HMB、KIC、烟酸、烟酰胺核苷和白藜芦醇,可以在本发明组合物中以游离形式、分离形式、从天然来源纯化和/或从合成来源纯化或制备的形式使用。天然来源可以是动物来源或植物来源。该组分可以纯至至少约95%、97%、99%、99.5%、99.9%、99.99%或99.999%。

[0097] 给药量

[0098] 本发明提供作为分离的组分的组合的组合物,该分离的组分已从一种或多种来源中分离出来,如亮氨酸、亮氨酸代谢物,如HMB、烟酸、烟酰胺核苷和/或白藜芦醇。本发明提供富含亮氨酸、亮氨酸代谢物如HMB、烟酸和/或烟酰胺核苷和/或白藜芦醇的组合物。该组分可从天然来源中分离或由合成来源制备,然后富集以提高该组分的纯度。此外,亮氨酸可以从天然来源中分离出来,然后通过一种或多种分离方法进行富集。分离并富集的组分,如亮氨酸,然后可以进行组合并配制以供施用于受试者。

[0099] 在一些实施方案中,组合物包含一定量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以是亚治疗量,和/或与该组合物中的一种或多种其他化合物或与该组合物同时或在相近时间施用的一种或多种化合物协同的量。在一些实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物以低剂量、中剂量或高剂量施用,这描述了两种剂量之间的关系,而通常不限定任何具体的剂量范围。可以向受试者施用该组合物,以使得向该受试者施用选定的总日剂量的该组合物。总日剂量可以由在24小时时间段内施用的剂量的总和来确定。

[0100] 可以是单位剂量的剂量可以包含大约、多于约或少于约200、250、400、500、550、600、700、800、900、1000、1100、1250、1300或更多mg的亮氨酸。该亮氨酸可以是游离亮氨酸。在一些实施方案中,单位剂量可以包含至少约1000mg游离亮氨酸。该组合物可以包含约10-1250、200-1250或500-1250mg亮氨酸。可以是单位剂量的剂量可以包含大约、多于约或少于约10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、200、250、400、500、550、600、700、800、900、1000、1250、1300或更多mg的亮氨酸代谢物,如HMB或KIC。该亮氨酸代谢物可以是游离亮氨酸代谢物。该组合物可以包含约10-900、50-750或400-650mg亮氨酸代谢物,如HMB或KIC。在一些实施方案中,单位剂量可以包含至少约400mg游离HMB。本文所述的亮氨酸和亮氨酸代谢物的量可以每日或同时施用。本文所述的量可以以一个剂量施用或每日以多个剂量分开施用。

[0101] 在一些实施方案中,亮氨酸的日剂量可以是大约、小于约或大于约0.25-3或0.5-3.0g/天(例如0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3或更多g/天)。HMB的日剂量可以是大约、小于约或大于约0.20-3.0g/天(例如0.2、0.4、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、3或更多g/天)。KIC的日剂量可以是大约、小于约或大于约0.2-3.0g/天(例如0.2、0.4、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3或更多g/天)。

[0102] 亮氨酸或其代谢物的剂量可以是治疗剂量。亮氨酸或其代谢物的剂量可以是亚治疗剂量。亮氨酸的亚治疗剂量可以是大约、小于约或大于约0.25-3.0g(例如0.25、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3或更多g)。亮氨酸的亚治疗剂量可以是大约、小于约或大

于约0.25-3.0g/天(例如0.25、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3或更多g/天)。在一些实施方案中,该组合物包含小于3.0g日剂量的亮氨酸。HMB的亚治疗剂量可以是大约、小于约或大于约0.05-3.0g(例如0.05、0.1、0.2、0.4、0.5、0.75、1.5、2、2.5、3或更多g)。HMB的亚治疗剂量可以是大约、小于约或大于约0.05-3.0g/天(例如0.05、0.1、0.2、0.4、0.5、0.75、1.5、2、2.5、3或更多g/天)。KIC的亚治疗剂量可以是大约、小于约或大于约0.1-3.0g(例如0.1、0.2、0.4、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3或更多g)。KIC的亚治疗剂量可以是大约、小于约或大于约0.1-3.0g/天(例如0.1、0.2、0.4、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、2.5、3或更多g/天)。

[0103] 可以是单位剂量的剂量可以包含烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物,其可以是大约、多于约或少于约0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、5、10、20、40、60、80、100、200、250、400、500、800、1000或1500mg的烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物。该组合物可以包含约1-100、5-50或10-20mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。在一些实施方案中,单位剂量可以包含至少约1mg的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。在一些实施方案中,单位剂量可以包含少于250mg的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。该剂量可以针对预期施用的受试者进行调节。例如,适合犬类的剂量可能小于适合人的剂量。本文所述的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以每日或同时施用。本文所述的量可以以一个剂量施用或每日以多个剂量分开施用。

[0104] 在一些实施方案中,该组合物包含烟酸和烟酰胺核苷两者,并且烟酸和烟酰胺核苷的总量可以是大约、多于约或少于约0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、5、10、20、40、60、80、100、200、250、400、500、600、800、900、1000或1500mg。

[0105] 在其他实施方案中,烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的日剂量可以是大约、高于约或低于约0.0001mg/kg(mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物/kg接受该剂量的受试者)、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12.5mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg或更高。

[0106] 可以是单位剂量的剂量可以包含大约、少于约或多于约1、5、10、25、35、50、51、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500或更多mg的白藜芦醇。该组合物可以包含约5-500、30-250或35-100mg白藜芦醇。在一些实施方案中,单位剂量可以包含至少约35mg白藜芦醇。本文所述的白藜芦醇的量可以每日或同时施用。本文所述的量可以以一个剂量施用或每日以多个剂量分开施用。

[0107] 白藜芦醇的低日剂量可以包含大约、小于约或大于约0.5mg/kg(mg白藜芦醇/kg接受该剂量的受试者)、1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12.5mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、50mg/kg或更高;白藜芦醇的中等日剂量可以包含大约、小于约或大于约20mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg、125mg/kg、150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg、250mg/kg或更高;且白藜芦醇的高日剂量可以包含大约、小于约或大于约150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg、225mg/kg、250mg/kg、300mg/kg、350mg/kg、400mg/kg或更高。定义为低、中或高的给药量范围可以取决于接受该剂量的受试者,并且在受试者之间不同。

[0108] 在一些实施方案中,可以配制为单位剂量的组合物可以包含(a)至少约250mg亮氨酸和/或至少约25mg所述一种或多种亮氨酸代谢物。该组合物可以进一步包含至少约35mg白藜芦醇。

[0109] 在本发明的一些实施方案中,该联用组合物可以具有亮氨酸和/或其代谢物与烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的指定比例。该指定的比例可以提供对高脂血病况的有效的和/或协同的治疗,例如,其可以被测量为总脂质含量的降低、胆固醇水平的降低、甘油三酯水平的降低、LDL水平的降低、体重的减轻和/或HDL水平的升高。亮氨酸氨基酸和/或其代谢物与烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的比例可以是质量比、摩尔比或体积比。

[0110] 在一些实施方案中,组合物可以包含 (a) 亮氨酸和/或其代谢物(包括HMB) 和 (b) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中 (a) 与 (b) 的质量比可以是大约、小于约或大于约0.1、0.5、1、2、5、10、15、25、50、75、100、200、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750或800。在一些实施方案中,(a) 与 (b) 的质量比为至少约25。在一些实施方案中,(a) 与 (b) 的质量比为至少约50。该组合物还可以包含最小量的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,如5、10或50mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,或一定范围的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物量,如5-250mg烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。

[0111] 在其他实施方案中,组合物可以包含 (a) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物和 (b) 白藜芦醇,其中 (a) 与 (b) 的质量比可以是大约、小于约或大于约0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、5、10、20、50、100、200、300、350、400、450、500、550、600或650。

[0112] 在一些实施方案中,可以设计亮氨酸、亮氨酸的任何代谢物、烟酸、烟酰胺核苷、任何烟酸代谢物和白藜芦醇的给药量,以达到亮氨酸、亮氨酸代谢物、烟酸、烟酰胺核苷、烟酸代谢物和/或白藜芦醇的指定生理浓度或循环水平。该生理浓度可以是在受试者的血清或血流中测得的循环水平。该受试者可以是人或动物。选择的给药量可以根据受试者的特征如体重、能量代谢速率、遗传学、种族、身高或任何其他特征而改变。

[0113] 在一些实施方案中,可以将选定剂量的组合物施用至受试者,使得该受试者达到该组合物的所需循环水平。组分的所需循环水平可以是治疗有效水平或亚治疗水平。

[0114] 单位剂量中亮氨酸的量可以是这样的,其使得受试者中亮氨酸的循环水平约为或大于约0.25mM、0.5mM、0.75mM或1mM。约1,125mg亮氨酸(例如游离亮氨酸)的给药可在受试者中达到约0.5mM的亮氨酸循环水平。约300mg亮氨酸(例如游离亮氨酸)的给药可在受试者中达到约0.25mM的亮氨酸循环水平。

[0115] 该组合物的所需循环水平可以是至少约0.25、0.5、0.75、1mM或更多的亮氨酸。该组合物的所需循环水平可以是至少约、小于约或大于约0.1、0.25、0.5、0.75、1、10、20、40、60μM或更多的亮氨酸代谢物(如HMB)。组合物的所需循环水平可以是至少约0.25、0.5、0.75、1mM或更多的KIC。

[0116] 该组合物的所需循环水平可以是至少约、小于约或大于约0.1、0.25、0.5、0.75、1、10、20、40、60、80、100、120、200、400、500、1000、1500、2000、2500或3000nM或更多的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物。烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的治疗有效水平可以是44-111μM,其相当于大约10-20μg/mL。

[0117] 该组合物的所需循环水平可以是至少约、小于约或大于约40、60、80、100、120、150、200、300、400、800、1600、3000或5000nM或更多的白藜芦醇。选择的剂量可以基于受试者的特征如体重、身高、种族或遗传学进行选择。

[0118] 在一些实施方案中,组合物以在受试者中有效达到约0.3-1mM亮氨酸和约1-100nM

烟酸的循环水平的量包含亮氨酸和烟酸。

[0119] 约1,125mg亮氨酸的口服给药量可以在受试者中达到约0.5mM亮氨酸的亮氨酸循环水平。约300mg亮氨酸的口服给药量可以在受试者中达到约0.25mM的亮氨酸循环水平。

[0120] 约500mg HMB的口服给药量可以在受试者中达到约5 μ M HMB的HMB循环水平。约100mg HMB的口服给药量可以在受试者中达到约0.8 μ M HMB的HMB循环水平。

[0121] 约3,000mg烟酸或烟酰胺核苷的口服给药量可以在受试者中达到约10 μ M烟酸或烟酰胺核苷的烟酸或烟酰胺核苷循环水平。约50mg烟酸或烟酰胺核苷的口服给药量可以在受试者中达到约10-100nM烟酸或烟酰胺核苷的烟酸或烟酰胺核苷循环水平。

[0122] 约1100mg白藜芦醇的口服给药量可以在受试者中达到约0.5mM白藜芦醇的白藜芦醇循环水平。约50mg白藜芦醇的口服给药量可以在受试者中达到约200nM白藜芦醇的白藜芦醇循环水平。

[0123] 在一些实施方案中,可以配制组合物以在对受试者施用一种或多种组合物后达到所需的循环摩尔比或质量比。该组合物可以是本文描述的联用组合物。可以调节摩尔比以利于联用组合物的一种或多种组分的生物利用度、摄取和代谢加工。例如,如果一种组分的生物利用度低,那么可以相对于联用组合物中的其他组分增加该组分的摩尔量。在一些实施方案中,循环摩尔比或质量比在施用后约0.1、0.5、0.75、1、3、5或10、12、24或48小时内达到。循环摩尔比或质量比可维持大约或长于约0.1、1、2、5、10、12、18、24、36、48、72或96小时的一段时间。

[0124] 在一些实施方案中,亮氨酸与烟酸或烟酰胺核苷的循环摩尔比为大约、小于约或大于约1、5、10、20、50、100、500、1000、5000或10000。在一些实施方案中,HMB与烟酸或烟酰胺核苷的循环摩尔比为大约或大于约或小于约0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、20、50或100。在一些实施方案中,烟酸或烟酰胺核苷与白藜芦醇的循环摩尔比为大约、小于约或大于约0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、20、50或100。

[0125] 给药形式

[0126] 本文描述的组合物可以配制成多种不同的剂型。其可以作为片剂、胶囊、丸剂、颗粒、乳剂、凝胶、包封在胶囊中的多个珠粒、粉末、悬浮液、液体、半液体、半固体、糖浆、浆液、可咀嚼形式、囊片、软明胶胶囊、锭剂或溶液口服使用。或者,该组合物可以配制用于吸入或用于静脉内递送。该组合物也可以配制成喷鼻剂或当为溶液形式时用于注射。在一些实施方案中,该组合物可以是适于口服的液体组合物。

[0127] 配制用于吸入的组合物可以使用本领域已知的技术包装在吸入器中。吸入器可以设计成每次吸入分配0.25、0.5或1个单位剂量。吸入器可以具有容纳配制用于吸入的本发明组合物的筒罐,允许在每次致动时分配计量量的制剂的计量阀,和允许操作该装置并将本发明组合物引导至受试者肺内的致动器或衔口。配制的组合物可以包含液化气体推进剂和可能的稳定赋形剂。该致动器可以具有连接至筒罐的配合排出喷嘴和用来防止污染致动器的防尘帽。一经致动,本发明组合物可以挥发,这导致形成本发明组合物的小滴。该小滴可以快速蒸发,从而产生微米大小的颗粒,随后被受试者吸入。吸入器和用于配制吸入组合物的方法在美国专利号5,069,204、7,870,856和美国申请号2010/0324002中描述,这些专利和申请通过引用以其整体并入本文。

[0128] 适合于口服给药的本发明的组合物可以呈现为离散的剂型,如各自含有作为粉末

或颗粒的预定量的活性成分的胶囊、扁囊剂或片剂,或液体或气雾喷雾剂,溶液,水性或非水性液体中的悬浮液,水包油乳剂或油包水液体乳剂,包括液体剂型(例如,悬浮液或浆液),和口服固体剂型(例如,片剂或散装粉末)。口服剂型可以配制成片剂、丸剂、锭剂、胶囊剂、乳剂、亲脂和亲水性悬浮液、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等,用于待治疗的个体或患者口服摄入。这样的剂型可以通过任何配制方法来制备。例如,活性成分可以与构成一种或多种必要成分的载体联合。适合于口服给药的胶囊包括由明胶制成的推入配合(push-fit)胶囊,以及由明胶和增塑剂(如甘油或山梨糖醇)制成的软密封胶囊。推入配合胶囊可以包含与填充剂(例如乳糖)、粘合剂(如淀粉)和/或润滑剂(如滑石或硬脂酸镁)和任选的稳定剂混合的活性成分。任选地,可通过将组合物与固体赋形剂混合,任选地研磨得到的混合物,并在加入合适的助剂(如果需要)后加工颗粒混合物以获得片剂或糖衣丸芯,来获得用于口服的本发明的组合物。合适的赋形剂尤其是填充剂,如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨糖醇;纤维素制剂,例如,玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。通常,通过将活性成分与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀地且紧密地混合,然后,如果需要,将产品成型为所需的形式,来制备组合物。例如,片剂可以通过任选地与一种或多种辅助成分一起压制或模制来制备。压制片剂可通过在合适的机器中压缩自由流动形式如粉末或颗粒的活性成分来制备,该活性成分任选地与赋形剂混合,该赋形剂例如但不限于粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂和/或表面活性剂或分散剂。模制片剂可通过在合适的机器中对用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物进行模制来制备。

[0129] 可引入本文公开的制剂以供口服或通过注射施用的液体形式包括水溶液、适当调味的糖浆、水或油悬浮液和调味的含食用油如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油的乳剂以及酞剂和类似的药物载体。用于水性悬浮液的合适的分散剂或悬浮剂包括合成的天然树胶如黄蓍胶、阿拉伯胶、藻酸盐、葡聚糖、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮或明胶。

[0130] 可以用可注射组合物和口服组合物的组合治疗受试者。

[0131] 用于口服的液体制剂可采用例如溶液、糖浆或悬浮液的形式,或者它们可以呈现为干产品,以供在使用前用水或其他合适的载体进行重建。这类液体制剂可以通过常规手段用药学上可接受的添加剂如悬浮剂(例如,山梨糖醇糖浆、甲基纤维素或氢化食用脂肪)、乳化剂(如卵磷脂或阿拉伯胶)、非水性载体(例如,杏仁油、油酯或乙醇)、防腐剂(例如,对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)以及人造的或天然的增色剂和/或甜味剂来制备。

[0132] 本发明的药物组合物(包括口服和吸入制剂)的制备可以按照普遍接受的药物制剂制备程序进行。参见,例如Remington's Pharmaceutical Sciences第18版(1990), E.W.Martin编, Mack Publishing Co., PA。根据预期用途和施用方式,可能需要在药物组合物的制备中进一步处理镁-平衡离子化合物。合适的处理可以包括与适当的非毒性和非干扰性组分混合、灭菌、分成剂量单位并包入递送装置内。

[0133] 本发明进一步包括含有活性成分的无水组合物和剂型,因为水可以促进一些化合物的降解。例如,本领域中可以采用加水(例如5%)作为模拟长期贮存的手段,以确定诸如贮存期限或制剂随时间的稳定性等特性。本发明的无水组合物和剂型可以使用无水或低含水成分在低水分或低湿度条件下制备。如果在制造、包装和/或储存过程中预期到会与水分

和/或潮湿大量接触,那么可将含有乳糖的本发明的组合物和剂型制成无水的。可以制备和贮存无水组合物,使其无水性质得以保持。因此,无水组合物可以使用已知能防止暴露于水的材料来包装,使得它们可以包含在合适的处方试剂盒中。合适的包装的实例包括但不限于密封的箔、塑料等、单位剂量容器、泡罩包装和条状包装。

[0134] 本文所述的成分可以按照常规药物配制技术与药物载体在紧密掺合物中进行组合。取决于施用所需的制剂形式,载体可以采取多种形式。在制备用于口服剂型的组合物时,任何常用的药物介质都可用作载体,例如,在口服液体剂型(如悬浮液、溶液剂和酏剂)或气雾剂的情况下采用水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、着色剂等;或者在口服固体剂型的情况下可以使用诸如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂等载体,在一些实施方案中不使用乳糖。例如,对于固体口服剂型,合适的载体包括粉末、胶囊和片剂。如果需要,片剂可以通过标准含水或非含水技术来包衣。

[0135] 可以充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4)黄蓍胶粉;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,如可可脂和栓剂蜡;(9)油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二元醇,如丙二醇;(11)多元醇,如甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇;(12)酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;和(21)在药物制剂中使用的其他无毒的相容性物质。

[0136] 适用于剂型中的粘合剂包括但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其他淀粉、明胶、天然和合成树胶如阿拉伯胶、藻酸钠、藻酸、其他藻酸盐、黄蓍胶粉、瓜尔豆胶、纤维素及其衍生物(例如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预胶化淀粉、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素,以及它们的混合物。

[0137] 可用于形成本发明的组合物和剂型的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露醇、聚乙二醇、其他二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石粉、氢化植物油(例如花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂,或它们的混合物。其他的润滑剂包括,例如,syloid硅胶、合成二氧化硅的凝聚型气溶胶或其混合物。可任选地加入少于组合物的约1重量%的润滑剂。

[0138] 润滑剂还可以与组织屏障结合使用,该组织屏障包括但不限于多糖、多聚糖、生物膜(seprafilm)、interceed和透明质酸。

[0139] 崩解剂可用于本发明的组合物中,以提供当暴露于水性环境中时发生崩解的片剂。太多的崩解剂可能会产生在瓶中可崩解的片剂。太少可能不足以导致崩解的发生,并因此可能改变活性成分从剂型中释放的速率和程度。因此,可以使用既不太少也不太多而不会有害地改变活性成分的释放的足量的崩解剂,以形成本文所公开的化合物的剂型。所用的崩解剂的量可以根据制剂类型和施用方式而变化,并且本领域普通技术人员可以容易地辨别。在药物组合物中可使用约0.5%至约15%(重量)的崩解剂或约1%至约5%(重量)的崩解剂。可用于形成本发明的组合物和剂型的崩解剂包括但不限于琼脂、藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、聚克立林钾、羟基乙酸淀粉钠、马铃薯或木薯淀

粉、其他淀粉、预胶化淀粉、其他淀粉、粘土、其他藻胶、其他纤维素、树胶或其混合物。

[0140] 用于本文所公开的组合物和剂型的合适的填充剂的实例包括但不限于滑石、碳酸钙(例如颗粒或粉末)、微晶纤维素、粉状纤维素、葡聚糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预胶化淀粉,以及它们的混合物。

[0141] 当期望使用水性悬浮液和/或酞剂进行口服时,其中的活性成分可以与多种甜味剂或调味剂、着色物质或染料组合,并且如果需要的话,可以与乳化剂和/或悬浮剂以及稀释剂如水、乙醇、丙二醇、甘油及其各种组合进行组合。

[0142] 片剂可以不包衣或通过已知的技术包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,并由此在较长时期内提供持续作用。例如,可采用延时材料如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。供口服使用的制剂还可以呈现为硬明胶胶囊,其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合,或者作为软明胶胶囊,其中活性成分与水或油介质例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

[0143] 在一个实施方案中,该组合物可包含增溶剂以确保本发明的化合物的良好的溶解和/或溶出,并使本发明的化合物的沉淀最小化。这对于非口服使用的组合物,例如,用于注射的组合物是特别重要的。也可加入增溶剂来增加亲水性药物和/或其他组分如表面活性剂的溶解度,或者维持该组合物作为稳定或均一的溶液或分散液。

[0144] 该组合物可以进一步包含一种或多种药学上可接受的添加剂和赋形剂。这样的添加剂和赋形剂包括但不限于防粘剂、消泡剂、缓冲剂、聚合物、抗氧化剂、防腐剂、螯合剂、粘度调节剂(viscomodulators)、张力调节剂(tonicifier)、调味剂、着色剂、增味剂、遮光剂、助悬剂、粘合剂、填充剂、增塑剂、润滑剂及其混合物。赋形剂的实例的非穷举列表包括单酰甘油、硬脂酸镁、改性食用淀粉、明胶、微晶纤维素、甘油、硬脂酸、二氧化硅、黄蜂蜡、卵磷脂、羟丙基纤维素、交联羧甲基纤维素钠和交聚维酮。

[0145] 本文描述的组合物也可以配制成延长释放、持续释放或定时释放,以使得一种或多种组分随时间而释放。延迟释放可通过将该一种或多种组分配制在各种材料的基质中或通过微囊化来实现。该组合物可以配制为经1、4、6、8、12、16、20、24、36或48小时的时间段释放一种或多种组分。一种或多种组分的释放可以以恒定的或变化的速率进行。

[0146] 在一些实施方案中,本文所述的本发明组合物可以配制成基质颗粒剂(matrix pellet),其中本发明组合物的颗粒包埋在水不溶性塑料的基质中,并且被含有嵌入的乳糖颗粒的水不溶性塑料的膜包裹,产生并维持本发明组合物在目标治疗范围内的血浆水平。在其他实施方案中,本发明组合物可配制成通过以下方式获得的持续释放片剂:向主要由本发明组合物组成的核心颗粒上涂覆一层由疏水性材料和塑料赋形剂组成并任选地含有肠溶聚合物材料的包衣膜,以形成包衣颗粒,然后将包衣颗粒与崩解赋形剂压缩在一起。持续释放制剂在美国专利号4,803,080和6,426,091中描述,其通过引用以其整体并入本文。

[0147] 使用本文提供的控制释放剂型,一种或多种辅因子在其剂型中可以比在组分量相同的立即释放制剂中所观察到的更慢的速率释放。在一些实施方案中,对于控制释放制剂根据从施用至其最大浓度的规定时间段上的浓度变化所测得的生物样品的改变速率小于立即释放制剂速率的约80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%。此外,在一些实施方案中,浓度随时间的改变速率小于立即释放制剂速率的约80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%。

[0148] 在一些实施方案中,通过以相对成比例的方式增加达到最大浓度的时间来降低浓度随时间的改变速率。例如,达到最大浓度的时间增加2倍可使浓度改变速率降低约2倍。因此,可以提供一种或多种辅因子从而使其以显著低于立即释放制剂的速率达到其最大浓度。可将本发明的组合物配制为到24小时、16小时、8小时、4小时、2小时或至少1小时时提供最大浓度的改变。浓度改变速率的相关减少可以是约0.05、0.10、0.25、0.5或至少0.8倍。在某些实施方案中,这通过在这种施用后的1小时内向循环系统释放少于约30%、50%、75%、90%或95%的该一种或多种辅因子来实现。

[0149] 任选地,控制释放制剂表现出的血浆浓度曲线具有小于含相同剂量的相同辅因子的立即释放制剂的75%、50%、40%、30%、20%或10%的起始(例如,施用后2小时至施用后4小时)斜率。

[0150] 在一些实施方案中,在最初1、2、4、6、8、10或12小时,溶出研究中测定的辅因子释放速率小于含相同辅因子的立即释放制剂的约80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%。

[0151] 本文提供的控制释放制剂可采用多种形式。在一些实施方案中,该制剂为口服剂型,包括液体剂型(例如,悬浮液或浆液)和口服固体剂型(例如,片剂或整装粉剂),例如但不限于本文描述的那些剂型。

[0152] 本文公开的制剂的控制释放片剂可以是基质、贮库(reservoir)或渗透系统的。虽然三个系统都适用,但是后两个系统可具备更优的包封相对较大质量的能力,例如用于容纳大量的单一辅因子或容纳多种辅因子,其取决于个体的遗传构成。在一些实施方案中,缓释片剂基于贮库系统,其中包含一种或多种辅因子的核心被多孔膜包衣包裹,该包衣在水化时允许该一种或多种辅因子扩散通过。由于有效成分的组合质量通常是克级数量,所以有效的递送系统能够提供最优的结果。

[0153] 因此,片剂或丸剂也可以被包衣或以其他方式复合,以提供具有延长作用的优点的剂型。例如,片剂或丸剂可以包含内剂量和外剂量组分,后者为在前者之上的包被的形式。这两种组分可被肠溶层隔开,肠溶层在胃中能够抵抗崩解并允许内部组分完整地进入十二指肠或延迟释放。多种材料可用于这样的肠溶层或包衣,这些材料包括多种聚合酸和聚合酸与诸如紫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素这样的材料的混合物。在一些实施方案中,含有一种或多种辅因子的制剂可以具有以不同速率或在不同时间释放的不同辅因子。例如,可以存在夹杂有肠溶层的额外的辅因子层。

[0154] 制备持续释放片剂的方法是本领域已知的,例如参见美国专利公开2006/051416和2007/0065512或本文公开的其他参考文献。例如在美国专利号4,606,909、4,769,027、4,897,268和5,395,626中描述的方法可用于制备由个体的遗传构成决定的一种或多种辅因子的持续释放制剂。在一些实施方案中,使用例如在美国专利号6,919,373、6,923,800、6,929,803和6,939,556中描述的**OROS®**技术来制备制剂。例如在美国专利号6,797,283、6,764,697和6,635,268中描述的其他方法也可用于制备本文公开的制剂。

[0155] 在一些实施方案中,所述组合物可以配制在食物组合物中。例如,该组合物可以是饮料或其他液体、固体食品、半固体食品,其含有或不含食物载体。例如,该组合物可以包括补充有本文描述的任意组合物的红茶。该组合物可以是补充有本文描述的任意组合物的乳制品。在一些实施方案中,该组合物可以配制在食物组合物中。例如,该组合物可以包含饮

料、固体食品、半固体食品或食物载体。

[0156] 在一些实施方案中,可以使用液体食物载体,如作为饮料的形式,如补充性果汁、咖啡、茶、汽水、加味水等。例如,该饮料可以包含制剂以及液体组分,如各种除臭剂或存在于常规饮料中的天然碳水化合物。天然碳水化合物的实例包括但不限于:单糖,如葡萄糖和果糖;二糖,如麦芽糖和蔗糖;常规糖,如糊精和环糊精;和糖醇,如木糖醇和赤藓糖醇。也可使用天然除臭剂如索马甜、甜叶菊提取物、莱包迪昔A(levaudioside A)、甘草苷,和合成的除臭剂如糖精和天冬甜素。也可以使用例如调味剂、着色剂以及其他试剂。例如,也可使用果胶酸及其盐、藻酸及其盐、有机酸、保护性胶体粘合剂、pH调节剂、稳定剂、防腐剂、甘油、醇或碳化剂。也可以在制备含有本文讨论的制剂的食品或饮料中使用水果和蔬菜。

[0157] 备选地,所述组合物可以是补充有本文所述的任何组合物的小吃棒。例如,该小吃棒可以是巧克力棒、燕麦(granola)棒或什锦杂果(trail mix)棒。在另一个实施方案中,本发明的膳食补充剂或食物组合物被配制成具有合适的和期望的口感、质地和粘度以供消费。任何合适的食物载体可在本发明的食物组合物中使用。本发明的食物载体包括几乎任何食品。这类食物载体的实例包括但不限于食物棒(燕麦棒,蛋白棒、糖果棒等)、谷物制品(燕麦片、早餐麦片、燕麦等)、烘焙食品(面包、甜甜圈、饼干、百吉饼、糕点、蛋糕等)、饮料(牛奶为主的饮料、运动饮料、果汁、酒精饮料、瓶装水)、面食、谷物(大米、玉米、燕麦、黑麦、小麦、面粉等)、蛋制品、零食(糖果、薯片、口香糖、巧克力等)、肉类、水果和蔬菜。在一个实施方案中,本文所采用的食物载体可掩盖不良的味道(例如苦味)。当需要时,本文中所提出的食物组合物比本文描述的任何组分表现出更理想的质地和香味。例如,根据本发明可以使用液体食物载体来获得本发明的食物组合物的饮料形式,如补充性果汁、咖啡、茶等。在其他实施方案中,可以根据本发明使用固体食物载体来获得代餐形式的本发明食物组合物,如补充性小吃棒、面食、面包等。在其他实施方案中,可以根据本发明使用半固体食物载体来获得本发明的食物组合物的口香糖、咀嚼糖果或零食等形式。

[0158] 联用组合物的给药可以每天施用大约、少于约或多于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多次。受试者可以在大约、少于约或大于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或更多天、周或月内接受给药。单位剂量可以是日剂量的分数,例如日剂量除以每天待施用的单位剂量数。单位剂量可以是日剂量的分数,其为日剂量除以每天待施用的单位剂量数,再除以每次施用的单位剂量数(例如片数)。每次施用的单位剂量数可以为大约、少于约或多于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多。每天的剂量数可以为大约、少于约或多于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多。每天的单位剂量数可以通过用日剂量除以单位剂量来确定,且其可以为大约、少于约或多于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、6、17、18、19、20或更多单位剂量每天。例如,单位剂量可以是约1/2、1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9、1/10。单位剂量可以是每日量的约三分之一并对受试者每天施用三次。单位剂量可以是每日量的约二分之一并对受试者每天施用两次。单位剂量可以是每日量的约四分之一并对受试者每天施用两次,每次两个单位剂量。在一些实施方案中,单位剂量包含大约、少于约或多于约50mg白藜芦醇。在一些实施方案中,单位剂量包含大约、少于约或多于约550mg亮氨酸。在一些实施方案中,单位剂量包含大约、少于约或多于约200mg的一种或多种亮氨酸代谢物。

[0159] 在一些实施方案中,单位剂量(例如包含一种或更多亮氨酸代谢物如HMB的单位剂量)每天施用两次,每次一个单位剂量。单位剂量可以包含多于一个胶囊、片剂、小瓶或实

体。

[0160] 本文公开的组合物可以进一步包含增香剂,并且可以是固体、液体、凝胶或乳剂。

[0161] 当施用的本发明组合物进一步包含一种或多种治疗剂且该治疗剂具有比亮氨酸和/或亮氨酸代谢物或烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物更短的半衰期时,可以相应地调节该治疗剂和亮氨酸和/或亮氨酸代谢物或烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的单位剂量形式。

[0162] 方法

[0163] 本发明的组合物尤其可用于改善高脂血病况。在一个实施方案中,本发明提供了降低总脂质含量或降低总胆固醇、LDL或甘油三酯水平、提高HDL水平或降低动脉粥样硬化斑块大小的方法,其包括向有需要的受试者施用任何本发明的组合物。本文描述的水平或含量可以是血清或血流中的循环浓度,或受试者体内的总量。在一些实施方案中,本发明的组合物可用于增加受试者的体重减轻,以及增加受试者的sirt1激活或脂肪氧化。在本发明的多个实施方案中,以递送足以改善受试者的高脂血病况的协同量的亮氨酸和/或其代谢物、烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物和/或白藜芦醇的量向受试者施用组合物。在一些实施方案中,烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物如果在没有亮氨酸或亮氨酸代谢物情况下以其治疗剂量施用于受试者,则可以诱导副作用(例如,皮肤血管舒张)。本文描述的方法还可以用于改善副作用,而不会损失烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物的治疗效果。本文提供了对各个方面、特征、实施方案和实例的描述。

[0164] 包括与烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物使用亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的本发明的方法可以适用于向罹患高脂血症、处于患高脂血症的风险中和/或罹患与高脂血症相关的病况如心血管病况的受试者施用。在一些情况下,在医学领域已知的有效量的额外治疗剂或药理学活性剂(例如,抗高脂血症剂)可以与任何本发明的组合物一起向受试者施用。

[0165] 高脂血症的特征可在于受试者中的高水平的总脂质含量或水平。高脂血症的特征还可在于受试者的高水平的体重或BMI。脂质的类型可以包括胆固醇、胆固醇酯、磷脂和甘油三酯。脂质的含量或水平可以是在受试者的血流、血浆或血清中测量的循环水平。脂质的含量还可以与受试者的体重相关。这些脂质可以在血液中作为大脂蛋白而转运,基于它们的密度,包括乳糜微粒、极低密度脂蛋白(VLDL)、中密度脂蛋白(IDL)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)。大多数甘油三酯可以在乳糜微粒或VLDL中转运,而大多数胆固醇可以在LDL和HDL中携带。循环中的高水平脂质可以引起动脉壁上的脂质积累,并进一步导致动脉粥样硬化斑块形成,因而使动脉狭窄。罹患高脂血症的受试者可以处于患上心血管病况的高风险中。高脂血症的特征也可以在于高水平的一些脂蛋白或低水平的HDL。受试者所罹患的或具有罹患风险的病况可以是与受试者的脂蛋白或脂质的异常水平相关的病况。本发明的组合物可以用来改变受试者中的一种或多种脂质或脂蛋白的水平。在一些实施方案中,其水平可受本发明的组合物和方法影响的脂质或脂蛋白的类型可以是一种或多种脂蛋白和/或脂质,包括但不限于:总胆固醇、甘油三酯、HDL、IDL、VLDL或LDL。

[0166] 许多方法可用来评估受试者中的脂蛋白和/或脂质水平。这些方法可能在样品类型和所用的分析技术上彼此不同。可用来测定这类水平的样品类型包括但不限于:血清、血浆、全血、红细胞或组织样品。当希望时,脂蛋白和/或脂质的水平可以在空腹条件下测量,

例如,不进食至少约8小时、10小时、12小时、15小时、24小时或甚至更久。

[0167] 动脉粥样硬化斑块或病变的大小可以通过本领域已知的任何方法来测量。例如,Phan BA等人,“Effects of niacin on glucose levels,coronary stenosis progression,and clinical events in subjects with normal baseline glucose levels(100mg/dl):a combined analysis of the Familial Atherosclerosis Treatment Study (FATS),HDL-Atherosclerosis Treatment Study (HATS),Armed Forces Regression Study (AFREGS),and Carotid Plaque Composition by MRI during lipid-lowering (CPC) study”,Am J Cardiol.2013年2月1日;111 (3):352-5,和Lehman SJ等人,“Assessment of Coronary Plaque Progression in Coronary CT Angiography Using a Semi-Quantitative Score”,JACC Cardiovasc Imaging.2009年11月;2 (11):1262-1270中描述的方法。用来测量动脉粥样硬化斑块或病变大小的方法的非限制性实例可以是定量冠状动脉造影术。

[0168] 在一些实施方案中,如果单独地以及在没有亮氨酸、亮氨酸代谢物或白藜芦醇的情况下施用至受试者,所述组合物中的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量将对受试者没有治疗效果。另外,如果在没有烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的情况下施用至受试者,亮氨酸、亮氨酸代谢物或白藜芦醇的量可能对受试者没有治疗效果。然而,当烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物与亮氨酸、亮氨酸代谢物或白藜芦醇一起施用时,可观察到治疗效果。本文描述的“治疗效果”是所施用的受试者中降低的总脂质含量、降低的总胆固醇水平、降低的甘油三酯水平、提高的HDL水平、降低的LDL水平或减少的动脉粥样硬化斑块。因此,本发明提供了一种施用组合物的方法,该组合物包含(a)亮氨酸和/或一种或多种其代谢物和(b)以亚治疗量存在的烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,其中与单独使用时的组分(b)相比,该组合物有效地增强对高脂血病况的治疗。该组合物中的亮氨酸的量也可以是亚治疗量。

[0169] 治疗效果的量化可以表明,包含(a)亮氨酸或亮氨酸代谢物和(b)亚治疗量的烟酸、烟酰胺核苷或烟酸代谢物的组合物的效果大于假设(a)和(b)为简单的叠加效应时预测的单独施用(a)或(b)的效果,因此该效应是协同性的。协同效应可以被量化为高于该组合物组分的预测简单叠加效应的测量到的效应。例如,如果组分(a)的单独施用相对于对照产生10%的效果,组分(b)的单独施用相对于对照产生15%的效果,而包含(a)和(b)的组合物的施用相对于对照产生60%的效果,则协同效应将是 $60\% - (15\% + 10\%)$ 或35%。

[0170] 在一些实施方案中,治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物可导致副作用,该副作用的特征可在于皮肤血管舒张的增加。皮肤血管舒张的增加可以是临床上显著的。与治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物相比,亚治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物不会导致临床上显著的皮肤血管舒张,或者可以降低所施用的受试者中皮肤血管舒张的程度。本文描述的本组合物和方法包含要与亮氨酸和/或亮氨酸代谢物一起使用的亚治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物,以使亚治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物得到治疗程度的效果,而不会引起通常可由治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物在不与亮氨酸和/或亮氨酸代谢物一起使用时所引起的程度的副作用。皮肤血管舒张的水平可以通过医学领域已知的任何方法来测量,如包括激光-多普勒流量计的方法。在相同的治疗效果水平(例如,使胆固醇水平降低至少5%)下,与不含亮氨酸和/或亮氨酸代

谢物的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物相比,由本发明的组合物引起的皮肤血管舒张的水平可以较低。例如,低于由治疗量的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物所引起的水平的约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0171] 亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的量可以是至少约25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500mg。烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的亚治疗量可以小于1g、500、250、100、50或10mg。烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以为约1-100mg。烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的量可以能够达到约1-100nM、高于约100nM或至少约10nM的烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的循环水平。

[0172] 因此,本文描述的多组分组合物(如烟酸/亮氨酸、烟酸/亮氨酸/白藜芦醇、烟酰胺核苷/亮氨酸,和烟酰胺核苷/亮氨酸/白藜芦醇)可以对降低总脂质含量、降低总胆固醇水平、降低甘油三酯水平、提高HDL水平和/或降低LDL水平具有有益的或协同的效果。在一些实施方案中,与将其施用于受试者之前的脂蛋白和/或脂质的初始水平相比,本文描述的组合物和方法可以有效地使受试者中的脂蛋白和/或脂质的水平改变至少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%或60%或甚至更多。该水平可以降低约19%-24%、14%-29%、12%-35%、10-40%、8%-45%、5%-50%、2%-60%或1%-70%。该水平可以是循环水平。

[0173] 在一些实施方案中,与将其施用于受试者之前的动脉粥样硬化斑块的初始大小相比,本文描述的组合物和方法可以有效地使受试者中的动脉粥样硬化斑块大小降低至少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%或60%或甚至更多。该水平可以降低约19%-24%、14%-29%、12%-35%、10-40%、8%-45%、5%-50%、2%-60%或1%-70%。

[0174] 本文所公开的增加SIRT1及SIRT3活性的组合物的施用在需要代谢激活肝细胞、脂肪细胞或其一种或多种肌肉(例如,骨骼肌、平滑肌或心肌或其肌)细胞的任何受试者中可能是有用的。受试者可以是患有恶病质或肌肉萎缩的受试者。增加SIRT3活性也可以用来增加或保持例如低温受试者的体温,而增加SIRT1活性有利于治疗高脂血症、糖尿病(2型糖尿病)和葡萄糖耐量降低并减少受试者的炎症应答。肝细胞、脂肪细胞或其一种或多种肌肉的代谢激活的增加可以用于降低脂质含量以及增加受试者的体重减轻。脂质和脂蛋白的含量或水平可以降低。

[0175] 增加SIRT3活性也可用于治疗或预防高脂血症、心血管疾病,通过血管舒张降低血压,增加心血管健康,以及增加血管组织例如血管和动脉的收缩功能(例如,通过影响平滑肌)。通常,SIRT3的激活可用来刺激肝细胞、脂肪细胞或任何类型的肌肉(例如,肠道或消化系统或泌尿道的肌肉)的代谢,并且由此可用来控制肠道运动,例如便秘和失禁。SIRT3激活在勃起功能障碍中也可能是有用的。它还可以用来刺激精子活力,例如被用作生育药。其中

增加SIRT3将会有用的其他实施方案包括肌肉的修复(如手术或事故后)、肌肉量的增加以及运动表现的增加。

[0176] 因此,本发明提供了通过摄入烟酸和/或烟酰胺核苷和/或其任何代谢物以及可提高SIRT1或SIRT3的蛋白质或活性水平的亮氨酸和/或亮氨酸代谢物而产生有益效果的方法。受试者的肌细胞和/或肝细胞中的SIRT1和SIRT3的活性可以提高。这些方法有效地促进、增加或刺激以下的一项或多项:模拟肝细胞或肌细胞中的卡路里限制或锻炼的益处,增加线粒体生物发生或代谢,提高肝细胞或肌细胞中的线粒体活性和/或持久性,使肌细胞对胰岛素敏感,增加肌细胞中的脂肪酸氧化,减少肌细胞中的活性氧(ROS),增加肝细胞或肌细胞中的PGC-1 α 和/或UCP3和/或GLUT4表达,以及激活肝细胞或肌细胞中的AMP活化的蛋白激酶(AMPK)。根据本发明可接触各种类型的肌细胞。在一些实施方案中,该肌细胞是骨骼肌细胞。在某些实施方案中,该肌细胞是慢缩肌细胞,如比目鱼肌细胞。

[0177] 可以通过口服或通过其他任何方法将组合物施用至受试者。口服给药方法包括施用作为液体、固体或半固体的组合物,其可以采用膳食补充剂或食品的形式。

[0178] 该组合物可以定期施用。例如,该组合物可以每天施用1、2、3、4次或更频繁。可以每隔1、2、3、4、5、6或7天对受试者进行施用。在一些实施方案中,该组合物每天施用3次。施用可以与受试者的用餐时间同时。治疗或饮食补充的周期可以是约1、2、3、4、5、6、7、8或9天、2周、1-11个月或1年、2年、3年、4年、5年或甚至更久。在本发明的一些实施方案中,治疗周期中向受试者施用的剂量可以变化或保持不变。例如,可以在施用周期中增加或减少每日给药量。

[0179] 施用时间段的长度和/或给药量可以由医师或任何其他类型的临床医生来确定。医师或临床医生可以观察受试者对施用的组合物的反应,并基于受试者的表现来调节给药。例如,可以对表现出能量调节效果减弱的受试者增加给药量,以达到期望的结果。

[0180] 在一些实施方案中,所述组合物中的组分可以按相同的途径同时一起施用,或者分开施用。该组合物中的组分也可以随后施用。在一些实施方案中,该组合物中的亮氨酸和/或亮氨酸代谢物可以连同烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物一起向受试者施用。在一些实施方案中,该组合物中的组分可以按相同或不同的给药途径施用。例如,亮氨酸和/或亮氨酸代谢物可以口服施用,而烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物可以经由静脉内注射施用。代谢物中的每一种可以经由相同或不同的给药途径施用。

[0181] 在一些实施方案中,可以针对给定的受试者优化对该受试者施用的组合物。例如,可以调节亮氨酸和/或亮氨酸代谢物与烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的比例或联用组合物中的特定组分。可以在对受试者施用具有不同的亮氨酸和/或亮氨酸代谢物与烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物的比例或不同的联用组合物组分的一种或多种组合物后对受试者进行评估,然后选择该比例和/或特定组分。

[0182] 本发明的另一方面提供了在施用本文描述的联用组合物指定的时间段后在一个或多个受试者中获得期望的效果。例如,在向受试者施用该组合物1、2、3、4、6、8、10、12、24或52周后可以观察到本文所述的组合物的有益效果。

[0183] 本发明提供了一种治疗受试者的方法,其包括鉴别适合治疗的一批受试者。该鉴别步骤可以包括一种或多种筛查测试或分析。例如,可选择被鉴别为高脂血的或具有超过平均值或显著大于平均值的体重指数(BMI)和/或体重的受试者进行治疗。该受试者可以是

超重或肥胖的,这可以由受试者的体重超过理想值或BMI高于25、30、40或50而指示出。该受试者的体重可以超过约50、75、100、125、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390或400磅。也可以选择高脂肪饮食的受试者用于治疗。然后可以用一种或多种本文描述的组合物对鉴别的受试者进行治疗。例如,可以用包含烟酸和支链氨基酸的联用组合物对其进行治疗。

[0184] 本发明还提供了制备本文描述的组合物的方法。在一些实施方案中,本文描述的组合物的制备包括混合或组合两种或更多种组分。这些组分可以包括烟酸、烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物和亮氨酸或其代谢物(如HMB或KIC)。组分的量或比例可以是本文所述的量或比例。例如,亮氨酸与白藜芦醇相比的质量比可以大于约80。

[0185] 在一些实施方案中,所述组合物还可以与药学活性或治疗剂、载体和/或赋形剂组合或混合。本文描述了此类组分的实例。联用组合物可配制为诸如片剂、胶囊、凝胶胶囊、缓释片剂等单位剂量。

[0186] 在一些实施方案中,制备组合物以获得包含一种或多种组分的基本上均质的混合物的固体组合物,从而该一种或多种组分均匀分散于该组合物中,使得能够将该组合物容易地细分为同样有效的单位剂型,如片剂、丸剂和胶囊。

[0187] 试剂盒

[0188] 本发明还提供了试剂盒。该试剂盒包括处于适当包装中的本文所述的一种或多种组合物,并且可以进一步包括书面材料,该书面材料可以包括使用说明、临床研究的讨论、副作用列表等。这样的试剂盒还可以包括诸如科学参考文献、包装说明书材料、临床试验结果和/或这些的摘要等信息,这些信息表明或确立该组合物的活性和/或优势,和/或描述给药、施用、副作用、药物相互作用或对医疗保健提供者有用的其他信息。这样的信息可以基于多种研究的结果,例如,使用涉及体内模型的实验动物的研究和基于人类临床试验的研究的结果。试剂盒可以包含本文描述的一种或多种单位剂量。在一些实施方案中,试剂盒包含大约、少于约或多于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、31、60、90、120、150、180、210或更多的单位剂量。使用说明可以包含给药说明,如每天施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多次的说明。例如,试剂盒可以包含作为片剂供应的单位剂量,每个片剂分开包装,根据每次施用时单位剂量的数目,多个片剂分开包装(例如成对的片剂),或者所有片剂包装在一起(例如在瓶子中)。作为另一个实例,试剂盒可以包含作为瓶装饮料供应的单位剂量,该试剂盒包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、24、28、36、48、72个或更多个瓶子。

[0189] 该试剂盒可进一步包含另一种药剂。在一些实施方案中,本发明的化合物和药剂作为试剂盒内单独的容器中的单独组合物来提供或包装。在一些实施方案中,本发明的化合物和药剂作为试剂盒的容器中的单一组合物来提供或包装。合适的包装和附加用品(例如,用于液体制剂的量杯、使空气暴露最小化的箔包装等)是本领域已知的并且可以包括在试剂盒中。可以将本文所述的试剂盒提供、销售和/或推销给医疗服务提供者,包括医生、护士、药剂师、处方官员等。在一些实施方案中,试剂盒也可以直接销售给消费者。

[0190] 在一些实施方案中,试剂盒可以包含单位剂量的多日供应。该单位剂量可以是本文所述的任何单位剂量。该试剂盒可以包含指导在多日的一段时间内施用单位剂量的多日供应的说明书。该多日供应可以是一个月供应、30天供应或多周供应。该多日供应可以是90

天、180天、3个月或6个月供应。该试剂盒可以包含包装的每日单位剂量,例如1、2、3、4或5个单位剂量的包装。该试剂盒可以与其他膳食补充剂、维生素和膳食替代条、混合物和饮料一起包装。

[0191] 实施例

[0192] 实施例1:烟酸/亮氨酸和烟酸/亮氨酸/白藜芦醇在体外对肌细胞中的Sirt1水平的影响

[0193] 研究了如本文所述的包含烟酸和亮氨酸的组合物的用途,其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。该组合物激活肌细胞中的Sirt1并且可用于改善高脂血症病况。还研究了进一步包含白藜芦醇的组合物。

[0194] 将C2C12小鼠成肌细胞(美国典型培养物保藏中心)以8000个细胞/cm²(10cm²的培养皿)的密度接种,并在含有10%胎牛血清(FBS)和抗生素的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)(生长培养基)中于37℃和5%CO₂下生长。为了进行C2C12细胞的分化,使细胞生长至100%汇合,转移到分化培养基(含有2%马血清和1%青霉素-链霉素的DMEM),并且每天补充新鲜分化培养基直到肌管完全形成(3天)。

[0195] 为了发现对所研究的变量没有影响的烟酸的亚治疗量,通过向细胞施用不同浓度的烟酸进行了剂量-反应研究。发现单独的<100nM的烟酸浓度没有影响,因此将实验浓度设定在该水平以下,为10nM。然后与亮氨酸和HMB组合测试了烟酸的该亚治疗水平。亮氨酸和HMB处于一定的浓度下,先前表明该浓度在饮食或补充物中可达到,而当单独施用各自对这些变量没有治疗效果(亮氨酸为0.5mM,HMB为5μM)。

[0196] 向C2C12细胞肌管施用10nM烟酸(NA),10nM烟酸与0.5nM亮氨酸(NA/Leu),10nM烟酸与0.5nM亮氨酸和200nM白藜芦醇(NA/R/Leu),200nM白藜芦醇和0.5nM亮氨酸(R/Leu),以及10μM烟酸24小时。

[0197] 用获自Cell Signaling(Danvers,MA)的SIRT1抗体进行Western印迹分析。通过BCA试剂盒(Thermo Scientific)测定蛋白质。总共35μg来自细胞裂解物的蛋白质在10%Tris/HCL聚丙烯酰胺凝胶(标准预制凝胶,Bio-Rad Laboratoires,Hercules,CA)上解析,转移至PVDF膜,在封闭缓冲液(含3%BSA的TBS)中温育,与第一抗体温育,洗涤并与辣根过氧化物酶偶联的第二抗体温育。使用BioRad ChemiDoc仪器和软件(Bio-Rad Laboratories,Hercules,CA)进行可视化和化学发光检测。使用Image Lab 4.0(Bio-Rad Laboratories,Hercules,CA)评估条带强度,其中针对背景和加载对照进行校正。Sirt1在104-115kDA处检测。通过单向方差分析对数据进行分析,使用最小显著差异检验来分离显著不同的组平均值。

[0198] 发现烟酸-亮氨酸协同地刺激C2C12肌管中的Sirt1,其效果与白藜芦醇-亮氨酸相当(图2,p<0.05)。单独的烟酸对Sirt1水平没有显著影响。亮氨酸(10nM)/白藜芦醇(200nM)和烟酸(10nM)的三元组合发挥了显著更大的效果,Sirt1水平提高200%(p=0.0001)。

[0199] 实施例2:烟酸/亮氨酸和烟酸/亮氨酸/白藜芦醇在体外对脂肪细胞中的P-AMPK/AMPK水平的影响

[0200] 研究了如本文所述的包含烟酸和亮氨酸的组合物的用途,其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。该组合物提高了抗衰老酶途径输出,包括AMPK——抗衰老酶途径中的信号分子,和脂肪细胞中的p-AMPK/AMPK水平,并且可用于改善高脂血症病况。还研

究了进一步包含白藜芦醇的组合物。

[0201] 将3T3-L1前脂肪细胞(美国典型培养物保藏中心)以8000个细胞/cm²(10cm²的培养皿)的密度接种,并在含有10%胎牛血清(FBS)和抗生素的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)(生长培养基)中于37℃和5%CO₂下生长。汇合的3T3-L1前脂肪细胞用由补充有10%FBS、250nM地塞米松、0.5mM 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx)和1%青霉素-链霉素的DMEM培养基组成的标准分化培养基进行诱导,以分化为脂肪细胞。前脂肪细胞在该分化培养基中维持3天,随后培养于生长培养基中。每2-3天对培养物重新补料,以使>90%的细胞在进行化学处理前达到完全分化。

[0202] 为了发现对所研究的变量没有影响的烟酸的亚治疗量,通过向细胞施用不同浓度的烟酸进行了剂量-反应研究。发现单独的<100nM的烟酸浓度没有影响,因此将实验浓度设定在该水平以下,为10nM。然后与亮氨酸和HMB组合测试了烟酸的该亚治疗水平。亮氨酸和HMB处于一定的浓度下,先前表明该浓度在饮食或补充物中可达到,而当单独施用各自对这些变量没有治疗效果(亮氨酸为0.5mM,HMB为5μM)。

[0203] 向分化的3T3-L1细胞施用10nM烟酸(NA),10nM烟酸与0.5nM亮氨酸(NA/Leu),10nM烟酸与0.5nM亮氨酸和200nM白藜芦醇(NA/R/Leu),200nM白藜芦醇和0.5nM亮氨酸(R/Leu),以及10μM烟酸24小时。

[0204] 用获自Cell Signaling(Danvers,MA)的针对AMPK和磷酸-AMPKα(Thr172)的抗体进行Western印迹分析。通过BCA试剂盒(Thermo Scientific)测定蛋白质。总共30μg来自细胞裂解物的蛋白质在10%Tris/HCL聚丙烯酰胺凝胶(标准预制凝胶,Bio-Rad Laboratoies,Hercules,CA)上解析,转移至PVDF膜,在封闭缓冲液(含有3%BSA的TBS)中温育,与第一抗体(P-AMPK)温育,洗涤并与辣根过氧化物酶偶联的第二抗体温育。使用BioRad ChemiDoc仪器和软件(Bio-Rad Laboratories,Hercules,CA)进行可视化和化学发光检测。使用Image Lab4.0(Bio-Rad Laboratories,Hercules,CA)评估条带强度,其中针对背景和加载对照进行校正。AMPK在62kDA处检测,而P-AMPK在64-66kDA处检测。通过单向方差分析对数据进行分析,使用最小显著差异检验来分离显著不同的组平均值。

[0205] 发现10nM烟酸当单独施用时对AMPK激活没有显著影响(图3)。烟酸-亮氨酸的组合显著地刺激了AMPK激活,达到与亮氨酸-白藜芦醇相当的程度(p<0.01),如通过P-AMPK/AMPK的增加所证明的,而烟酸-亮氨酸-白藜芦醇的三元组合没有显著不同于两元亮氨酸组合中的任一种(图2)。

[0206] 实施例3:烟酸/亮氨酸和烟酸/亮氨酸/白藜芦醇在体内对秀丽隐杆线虫中的脂肪含量的影响

[0207] 研究了如本文所述的包含(a)烟酸和(b)亮氨酸的组合物的用途,其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。在向受试者施用该组合物后,该组合物降低受试者中的脂质含量。

[0208] 秀丽隐杆线虫(C. elegans)蠕虫(N2Bristol野生型)获自明尼苏达大学(University of Minnesota)的隐杆线虫遗传学中心(Caenorhabditis Genetics Center)(CGC),并在以大肠杆菌(OP50)作为食物来源的标准NGM板上于20℃生长。对于处理,使卵在饥饿的平板上孵化过夜。然后将同步化的L1幼虫转移至含有所示处理物的、以大肠杆菌饲养的NGM板上约35小时,以达到L4/幼成年期。所有处理物均添加至琼脂。处理物包括10nM烟

酸和0.5mM亮氨酸。

[0209] 使用本文所述的方法测定秀丽隐杆线虫蠕虫的脂肪含量、蛋白质含量、脂肪酸氧化。

[0210] 对于用来量化脂肪含量的油红 (Oil-Red) 染色,用PBS将经处理的L4/幼成年蠕虫从板上洗掉3次,并收集在15ml锥形管中,随后以1000g离心30sec。弃去上清液并用10ml PBS洗涤沉淀物。离心后,弃去除400 μ l外的上清液,将该400 μ l转移至新的1.5ml eppendorf管中。然后加入500 μ l的2x MRWB (160mM KCl,40mM NaCl,14mM Na₂EGTA,1mM精脒HCl,0.4mM精胺,30mM NaPIPES pH 7.4,0.2% β -巯基乙醇)和100 μ l的20%低聚甲醛,将样品在室温下轻轻晃动60分钟。然后将管以1500g离心30sec,然后抽吸并用PBS洗涤一次,再次离心,并抽吸为300 μ l。加入700 μ l异丙醇,通过将管颠倒而混合,并在轻轻摇动下于室温下温育15min。将管离心以去除异丙醇后,向蠕虫添加1ml 60%过滤的油红-O染料溶液 (0.5g油红O,在100ml无水异丙醇中,通过在室温下搅拌而平衡2天,然后4倍体积的ddH₂O与6倍体积的染料溶液混合,并在室温下平衡15min,然后以0.2M的孔径过滤),并在摇床上旋转过夜。将蠕虫以1200g离心30sec,随后用ddH₂O洗涤4次以去除任何未结合的染色剂。为了量化,通过添加100%异丙醇从细胞中洗脱油红O,并使用Biotek Synergy HT微板读取仪 (BioTek, Winooski,VT,USA) 在540nm波长下确定200 μ l等份 (一式三份/样品) 的光密度。使用Pierce BCA蛋白质测定试剂盒将数据对蛋白质含量进行归一化。

[0211] 为了通过Western印迹法确定蛋白质含量,用M9缓冲液将经处理的L4/幼成年蠕虫从板上洗掉,并收集到微量离心管中。离心 (500g,5min) 后,取出上清液至约100 μ l。然后加入250 μ l RIPA缓冲液加蛋白质酶和磷酸酶抑制剂混合物。将样品匀浆化,然后在40℃下以16,000g离心10min。澄清的上清液用于进一步的实验。使用Pierce BCA蛋白质测定试剂盒确定蛋白质含量。

[0212] 如前所述 (Bruckbauer A,Zemel MB.Synergistic effects of metformin, resveratrol,and hydroxymethylbutyrate on insulin sensitivity.Diabetes,Met Synd Obesity 2013;6:93-102),经略微修改,用XF 24分析仪 (Seahorse Bioscience, Billerica,MA,USA) 通过测量棕榈酸酯刺激的耗氧率来测量脂肪酸氧化。用M9缓冲液将经处理的L4/幼成年蠕虫从板上洗掉,并收集到15ml锥形管中。离心 (1000g,1min) 后,除去上清液,并将蠕虫沉淀物稀释至40个蠕虫/ μ l的浓度。在平板接种过程中将蠕虫保持在冰水中以限制其移动,并将5 μ l蠕虫溶液加至24-孔Seahorse岛板的各孔中 (约200个蠕虫/孔)。插入隔板 (Screens),并向各孔中加入595 μ l含有所示处理物的M9缓冲液。每个板在开始测量前冷却10min。仪器的温度设置在实验过程中维持在29℃。

[0213] 通过单向方差分析对数据进行分析,并使用最小显著差异检验来分离显著不同的组平均值。

[0214] 如图4所示,我们测定了秀丽隐杆线虫中的脂质含量。发现秀丽隐杆线虫暴露于亮氨酸 (0.5mM)-烟酸 (10nM) 组合24小时导致总脂质含量与未处理的对照组相比降低33%。

[0215] 实施例4:烟酸/亮氨酸和烟酸/亮氨酸/白藜芦醇在体内对甘油三酯、LDL、HDL和胆固醇水平以及动脉粥样硬化斑块大小的影响

[0216] 为了评估标题化合物的功效,向小鼠施用本文所述的包括 (a) 烟酸和/或烟酰胺核苷和/或烟酸代谢物和 (b) 亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的标题化合物,其中该组合物包含游

离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。该组合物可用来在向小鼠施用该组合物后降低小鼠中的甘油三酯、LDL和胆固醇水平以及降低动脉粥样硬化斑块的大小。还研究了进一步包含白藜芦醇的组合物。

[0217] LDL受体敲除 (LDLRKO) 小鼠获自Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME), 并且分组饲养在室温、湿度控制的环境、及规则光暗周期下。使小鼠在处理前自由获取含有0.2% (重量) 胆固醇和来自饱和脂肪 (棕榈油) 的10% 卡路里和水的致动脉粥样硬化饮食8周。对于处理, 给予小鼠 (a) 单独的250mg烟酸/kg饮食, (b) 250mg烟酸/kg饮食和24g亮氨酸/kg饮食, (c) 50mg烟酸/kg饮食、24g亮氨酸/kg饮食和12.5mg白藜芦醇/kg饮食, (d) 24g亮氨酸/kg饮食和12.5mg白藜芦醇/kg饮食, (e) 单独的10g烟酸/kg饮食。所述处理连续施用60天。包括两个对照组用于比较: 阴性对照组接受不含处理物的致动脉粥样硬化饮食, 双阴性对照组接受不含处理物的正常饮食。所有化学品均购自Sigma。

[0218] 所有组中小鼠的血液样品均在施用后第7、30和60天从小鼠的尾巴获得。测定甘油三酯、胆固醇、LDL和HDL的血清/血浆水平。皮肤血管舒张通过激光-多普勒流量计测量。在第60天, 处死小鼠以量化主动脉斑块。简言之, 在解剖并去除粘附的脂肪组织后, 将主动脉浸没在上述缓冲液中过夜。在去除外膜后, 将主动脉纵向切开, 平坦地钉在解剖蜡上, 并用油红O染色以供显微图像分析。以盲试方式手工描绘出总主动脉区域和染色的主动脉病变区域的轮廓, 并使用Adobe Photoshop CS3进行分析, 作为占总主动脉区域的百分比来确定病变大小。

[0219] 结果

[0220] 与接受正常饮食的双阴性对照组相比, 只接受不含处理物的致动脉粥样硬化饮食的小鼠可以表现出血流中显著更高的甘油三酯、LDL和胆固醇水平。对于处理组, 组 (a) 可以显示出与只接受致动脉粥样硬化饮食的阴性对照组类似的甘油三酯、LDL、胆固醇和HDL水平, 没有统计上显著的差异。与只接受致动脉粥样硬化饮食的阴性对照组相比, 组 (b)、(c) 和 (e) 可以表现出血流中显著更低的甘油三酯、LDL和胆固醇水平, 以及显著更高的HDL水平, 并且这些水平可以随时间而降低 (HDL提高)。组 (d) 可以表现出最小的甘油三酯、LDL和胆固醇水平的降低。

[0221] 对于动脉粥样硬化斑块, 组 (b)、(c) 和 (e) 可以在主动脉的所有区域中表现出显著降低的动脉粥样硬化病变大小。在组 (a) 和 (d) 中预期动脉粥样硬化病变大小没有显著降低。

[0222] 还预期仅有接受单独的10g烟酸/kg饮食的小鼠表现出与包括对照组在内的所有其他组相比显著更高的皮肤血管舒张。与组 (e) 相比, 在组 (a) 至 (d) 中可以发现皮肤血管舒张较低。

[0223] 总之, 与24g亮氨酸/kg饮食一起施用的剂量为250mg/kg饮食的烟酸对降低小鼠中的甘油三酯、LDL和胆固醇水平以及提高HDL水平可以表现出与单独的10g烟酸/kg饮食相比类似的效果, 而不会显著增加皮肤血管舒张。与亮氨酸和白藜芦醇一起施用的低剂量的烟酸预期表现出类似的效果。

[0224] 实施例5: 烟酸/亮氨酸和烟酸/亮氨酸/白藜芦醇在人体中对甘油三酯、LDL、HDL和胆固醇水平的影响

[0225] 为了评估标题化合物的功效, 向人施用本文所述的包括 (a) 烟酸和/或烟酰胺核苷

和/或烟酸代谢物和 (b) 亮氨酸和/或亮氨酸代谢物的标题化合物, 其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。该组合物可用来在向人施用该组合物后降低该人中的甘油三酯、LDL和胆固醇水平。还研究了进一步包含白藜芦醇的组合物。

[0226] 接纳预先诊断为高脂血症的患者进行随机化的双盲研究。每名患者口服 (a) 单独的50mg烟酸, (b) 50mg烟酸和1135mg亮氨酸, (c) 50mg烟酸、1135mg亮氨酸和50mg白藜芦醇, (d) 1135mg亮氨酸和50mg白藜芦醇, (e) 单独的3000mg烟酸, 和 (f) 安慰剂。治疗物每天口服施用两次, 连续60天。

[0227] 所有组中患者的血液样品在施用后第0、30和60天获得。测定甘油三酯、胆固醇、LDL和HDL的血清/血浆水平。用激光-多普勒流量计以及患者描述的不适水平测量皮肤血管舒张。

[0228] 结果

[0229] 对于治疗组, 组 (a) 和 (f) 与第0天的值相比可以显示出类似的甘油三酯、LDL、胆固醇和HDL水平, 没有统计上显著的差异。与各自第0天的值相比, 组 (b)、(c) 和 (e) 可以表现出血流中显著更低的甘油三酯、LDL和胆固醇水平以及显著更高的HDL水平。组 (d) 可以表现出最小的甘油三酯、LDL和胆固醇水平的降低。

[0230] 还预期只有接受单独的3000mg烟酸的患者才表现出与包括安慰剂组在内的所有其他组相比显著更高的皮肤血管舒张和更多的来自患者的主诉。与组 (e) 相比, 在组 (a) 至 (d) 中皮肤血管舒张可较低。

[0231] 总之, 与1135mg亮氨酸一起施用的50mg剂量的烟酸对降低患者中的甘油三酯、LDL和胆固醇水平以及提高HDL水平可以表现出与单独的3g烟酸相比类似的效果, 而不显著增加皮肤血管舒张。与50mg白藜芦醇一起施用的50mg烟酸+1135mg亮氨酸可以表现出类似的效果。

[0232] 实施例6: 烟酸/亮氨酸和烟酸/亮氨酸/白藜芦醇在人体中对动脉粥样硬化斑块大小的影响

[0233] 为了评估标题化合物的功效, 向人施用本文所述的标题化合物, 其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。该组合物可用来在向人施用该组合物后降低该人中的动脉粥样硬化斑块大小。还研究了进一步包含白藜芦醇的组合物。

[0234] 接纳经历急性胸痛以及预先诊断为高脂血症的患者进行随机化的双盲研究。每名患者口服 (a) 单独的50mg烟酸, (b) 50mg烟酸和1135mg亮氨酸, (c) 50mg烟酸、1135mg亮氨酸和50mg白藜芦醇, (d) 1135mg亮氨酸和50mg白藜芦醇, 和 (e) 安慰剂。治疗物每天口服施用两次, 连续3年。在第0天、第6、12、18、24、30和36个月通过定量冠状动脉造影术测量动脉粥样硬化斑块的大小。

[0235] 结果

[0236] 对于治疗组, 组 (a) 和 (e) 与第0天的值相比可以显示出类似的动脉粥样硬化病变大小, 而没有统计上显著的差异。与各自第0天的值相比, 组 (b) 和 (c) 可以表现出显著降低的动脉粥样硬化斑块大小。组 (d) 可以表现出最小的动脉粥样硬化斑块大小的降低。

[0237] 实施例7: 烟酸/亮氨酸在体内对甘油三酯、LDL、HDL和胆固醇水平的影响

[0238] 为了评估标题化合物的功效, 向小鼠施用本文所述的包括 (a) 烟酸和 (b) 亮氨酸的标题化合物, 其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。该组合物在向小鼠施用该

组合物后降低小鼠中的甘油三酯、LDL和胆固醇水平。

[0239] LDL受体敲除 (LDLRKO) 小鼠获自Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME), 并且分组饲养在室温、湿度控制的环境、及规则光暗周期下。使小鼠在处理前自由获取含有0.21% (重量) 胆固醇和来自脂肪的40%卡路里和水的致动脉粥样硬化西方饮食 (WD) 4周。对于处理, 给予小鼠 (a) 单独的WD饮食, (b) WD和24g亮氨酸/kg饮食, (c) WD和24g亮氨酸/kg饮食和50mg烟酸/kg饮食, (d) WD和24g亮氨酸/kg饮食和250mg烟酸/kg饮食, 或 (e) WD和1000mg烟酸/kg饮食; 这近似地等于高胆固醇血症病人中的低治疗剂量的烟酸 (约1,500mg/天)。处理连续施用28天。

[0240] 所有组中小鼠的血液样品均在施用后第28天从小鼠的尾巴获得。测定甘油三酯、总胆固醇和胆固醇酯的血清/血浆水平。

[0241] 结果

[0242] 致动脉粥样硬化的西方饮食导致血浆胆固醇 (图5)、胆固醇酯 (图6) 和甘油三酯 (图7) 的显著升高。治疗剂量的烟酸 (1,000mg/kg饮食) 的添加导致总胆固醇降低20% ($p < 0.01$, 图5)。尽管亮氨酸对总胆固醇没有独立的影响, 但是向亚治疗剂量的烟酸 (50或250mg/kg饮食) 添加亮氨酸导致与采用治疗剂量所发现的相当的总胆固醇降低 ($p < 0.01$, 图5)。类似地, 治疗剂量的烟酸 (1,000mg/kg饮食) 的添加导致胆固醇酯降低28% ($p < 0.002$, 图6), 并且当向亚治疗剂量的烟酸 (50或250mg/kg饮食) 添加亮氨酸时, 发现了在统计学上相当的降低 ($p < 0.002$, 图6)。亮氨酸对胆固醇酯没有独立的影响。血浆甘油三酯受到类似的影响。治疗剂量的烟酸 (1,000mg/kg饮食) 的添加导致血浆甘油三酯降低32% ($p < 0.01$, 图7), 并且向亚治疗剂量的烟酸 (50或250mg/kg饮食) 添加亮氨酸时发现了在统计学上相当的甘油三酯降低 ($p < 0.01$, 图7)。

[0243] 实施例8: 亮氨酸-烟酸对秀丽隐杆线虫的寿命的影响

[0244] 研究了如本文所述的包含 (a) 烟酸和 (b) 亮氨酸的组合物的用途, 其中该组合物包含游离亮氨酸和亚治疗量的烟酸。在向受试者施用该组合物后, 该组合物协同地延长了受试者的寿命。

[0245] 蠕虫 (N2 Bristol野生型) 获自明尼苏达大学 (University of Minnesota) 的隐杆线虫遗传学中心 (Caenorhabditis Genetics Center) (CGC), 并在以大肠杆菌 (OP50) 作为食物来源的标准NGM板上于20°C生长。使卵在饥饿的平板上孵化过夜。然后将同步化的L1幼虫转移至含有所示处理物的、以大肠杆菌饲养的NGM板上约35小时, 以达到L4/幼成年期。为了研究寿命, 将50个幼成年蠕虫置于接种有大肠杆菌菌株OP-50的NGM琼脂板上 (= 研究的第1天)。所有处理物均以所示的浓度添加至琼脂板。处理物包括10nM烟酸和0.5mM亮氨酸。

[0246] 蠕虫在该研究的整个持续时间内维持在21°C。每天将蠕虫转移至新的平板以消除子代。如果蠕虫对与铂勺 (platinum pick) 的反复接触没有反应, 则将其评分为死的。继续该研究直到最后的动物死亡。使用Prism 6 (GraphPad Software) 经Kaplan-Meier存活曲线分析数据, 并通过对数秩 (Log-rank) (Mantel-Cox) 检验来确定统计显著性。

[0247] 发现亮氨酸 (0.5mM) 和烟酸 (10nM) 各自对寿命没有独立的影响, 但是当组合时, 在基本条件下延长了最大寿命, 并且在由施用百草枯 (paraquat) (0.2mM) 诱导的氧化应激条件下使寿命中值延长了28% (图8)。

[0248] 尽管在此已经显示和描述了本发明的优选实施方案, 但是对本领域技术人员显而

易见的是,这类实施方案仅以举例的方式提供。在不背离本发明的情况下,本领域技术人员现在将会想到许多变化、改变和替换。应当理解,本文描述的本发明实施方案的各种替代方案可以用于实施本发明。意图在于,以下列权利要求限定本发明的范围,并且由此涵盖这些权利要求内的方法和结构及其等同物。

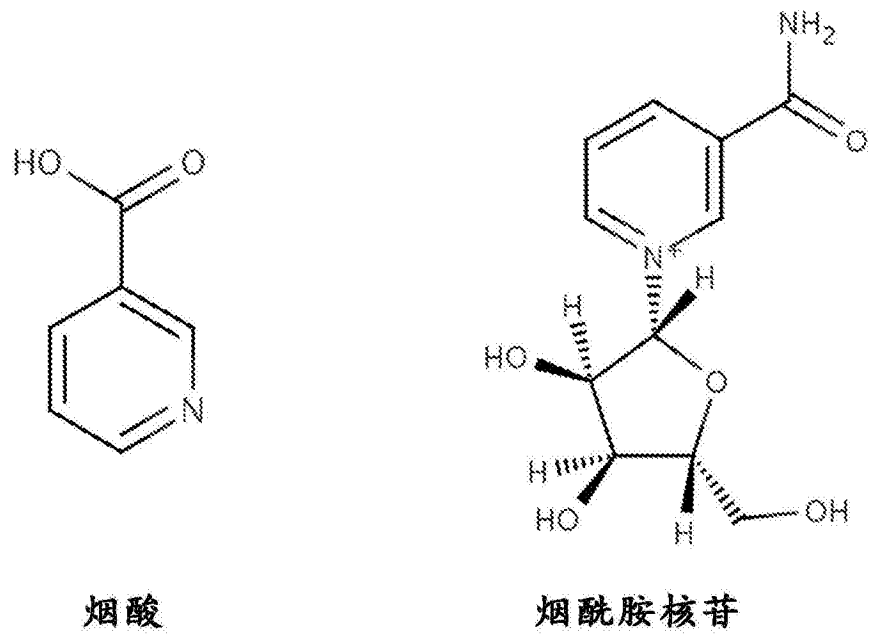


图1

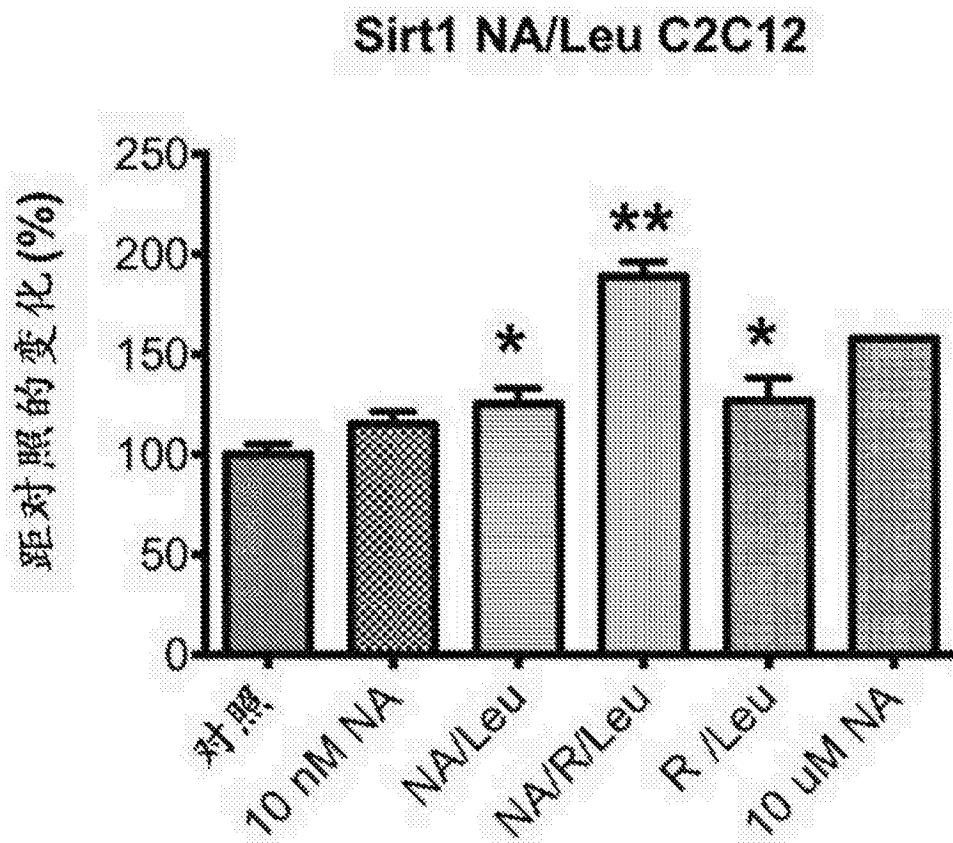


图2

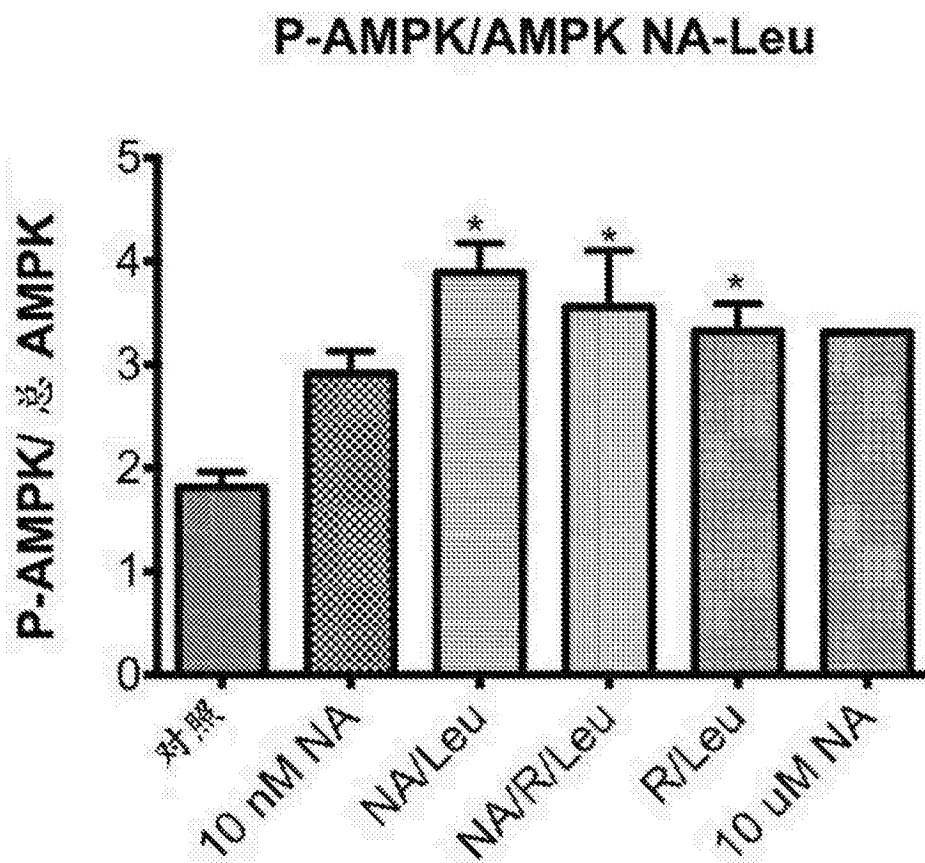


图3

秀丽隐杆线虫脂质

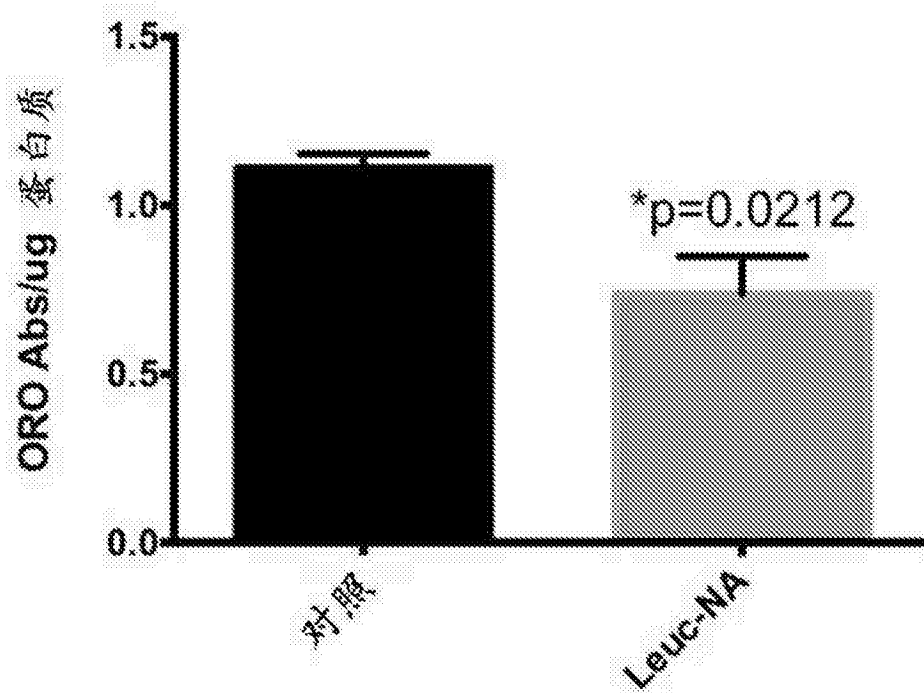


图4

总胆固醇

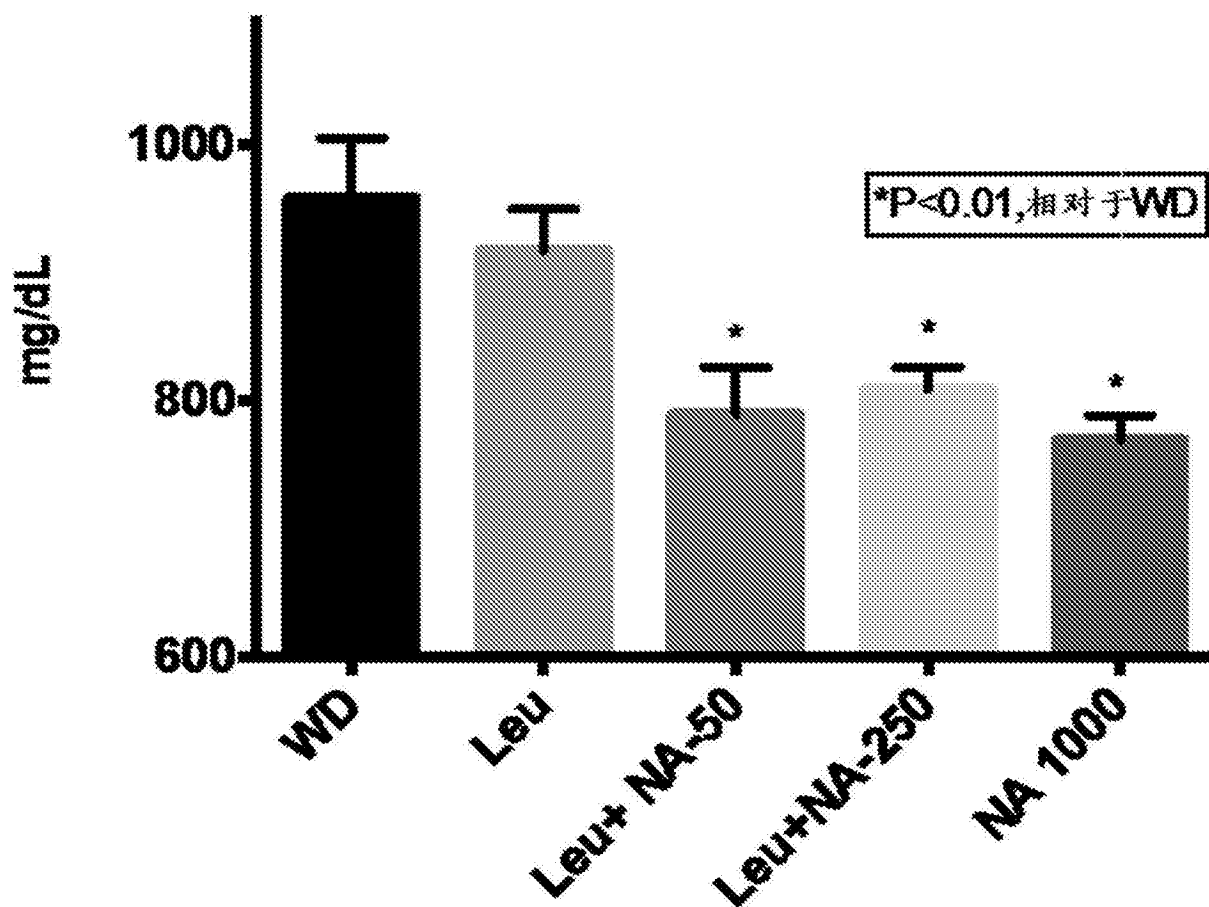


图5

酯化的胆固醇

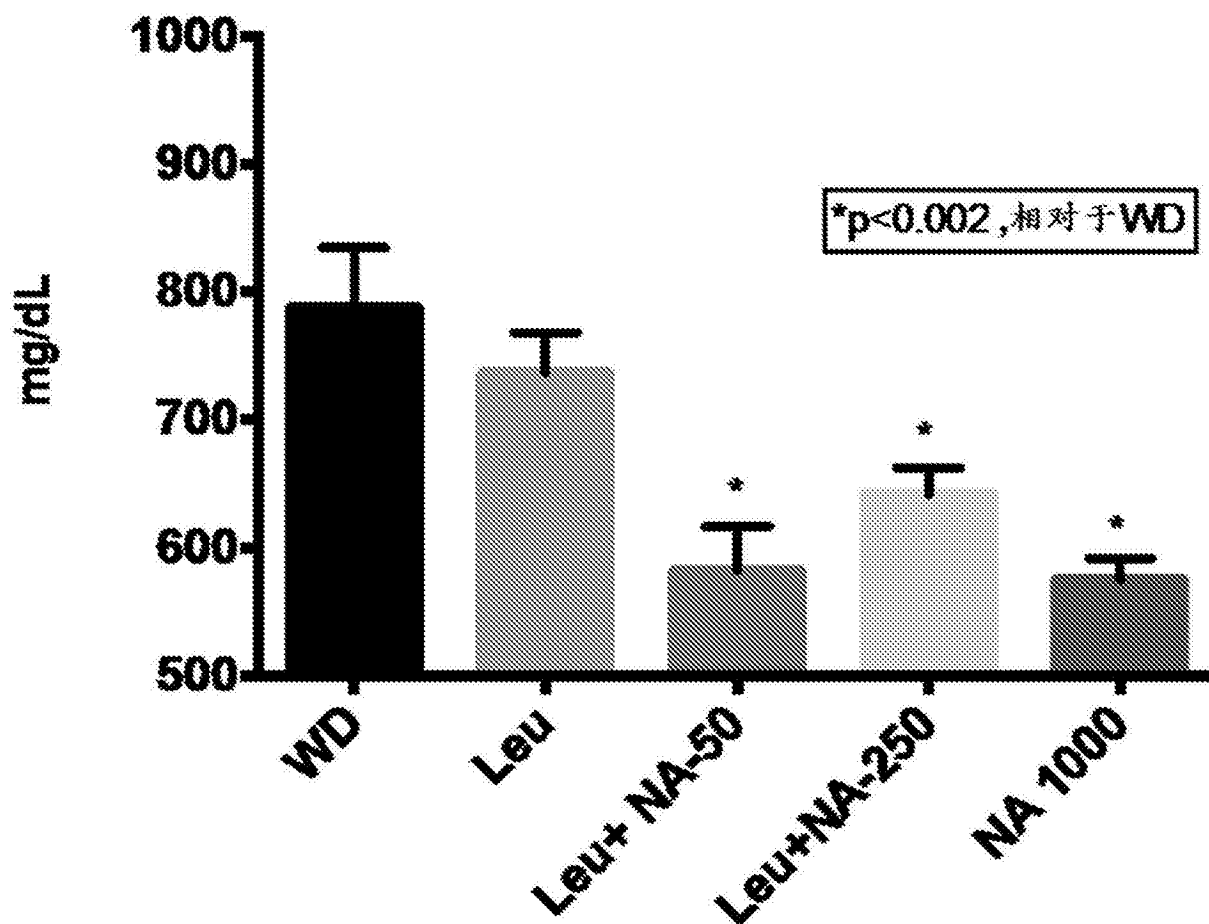


图6

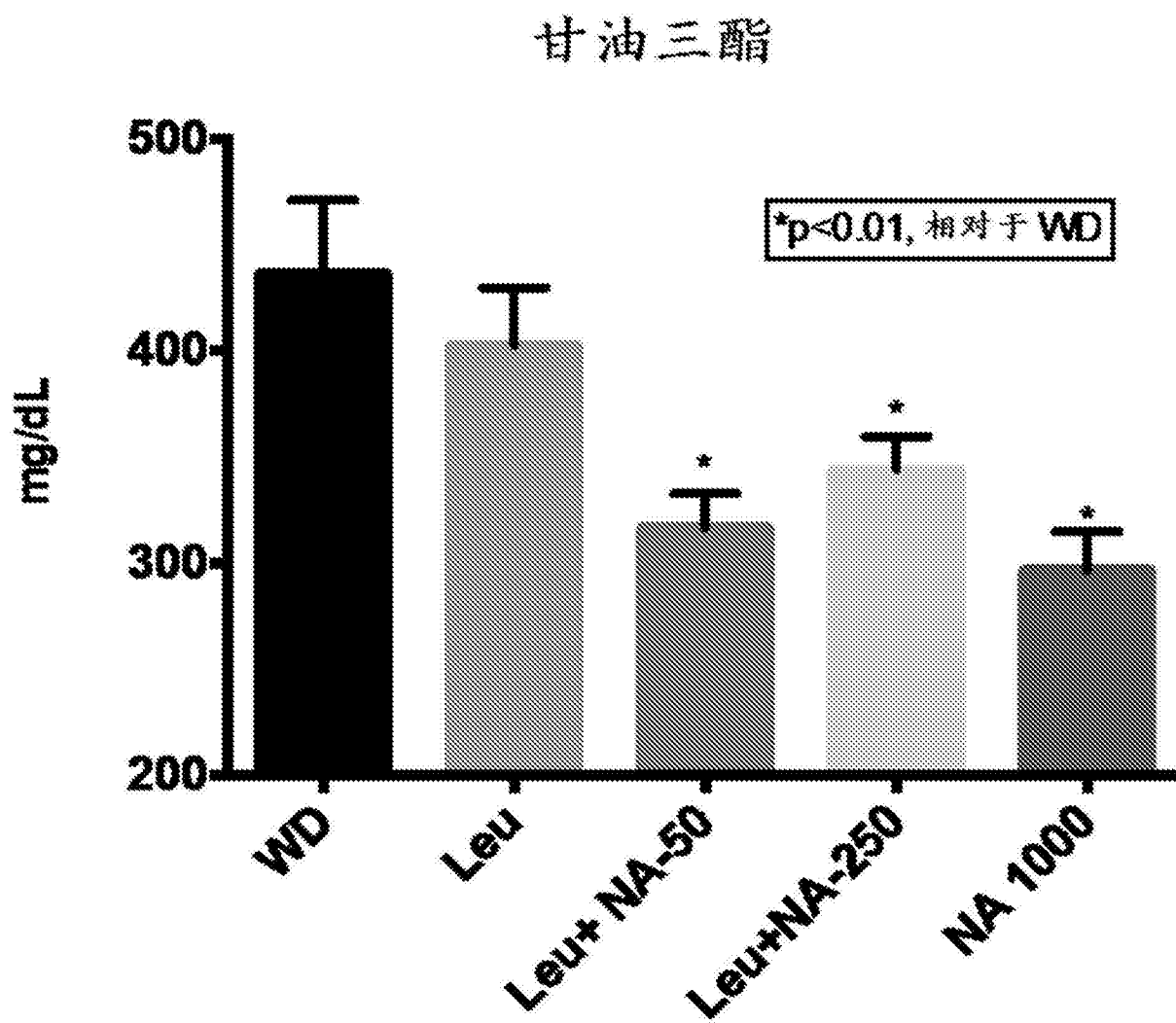


图7

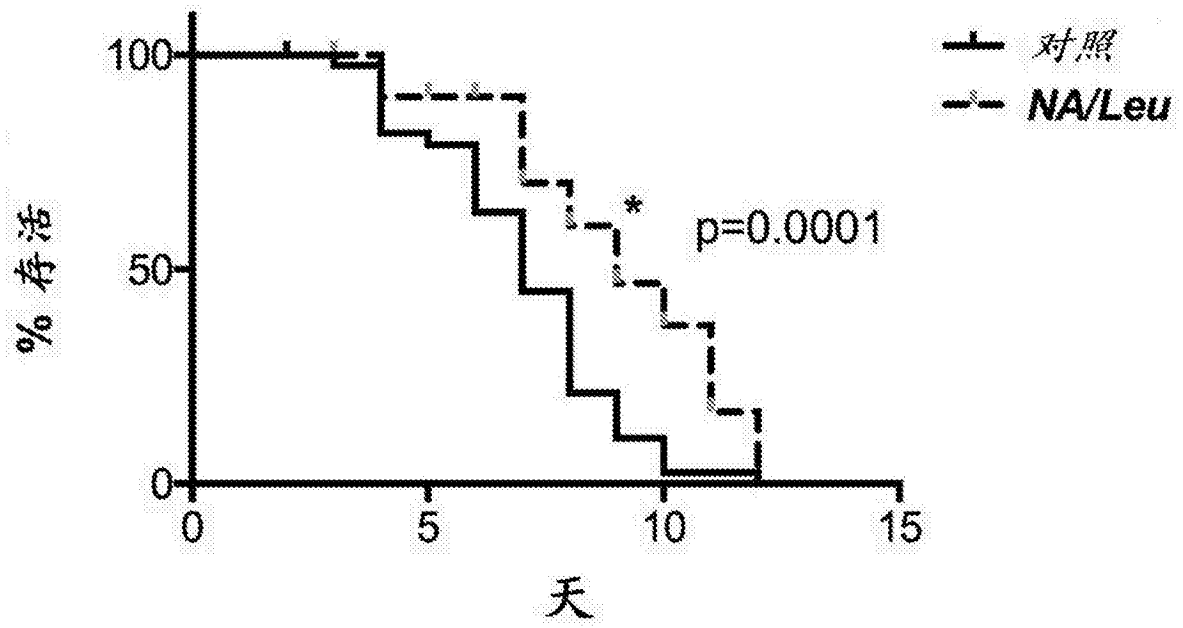


图8