



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106794165 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(21)申请号 201580055855.7

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247

(22)申请日 2015.10.14

代理人 杨春刚 黄革生

(30)优先权数据

62/064,207 2014.10.15 US

(51)Int.Cl.

A61K 31/201(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.04.14

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/055504 2015.10.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/061207 EN 2016.04.21

(71)申请人 伯克和博耶纽约

地址 美国纽约州

(72)发明人 J·M·伯克

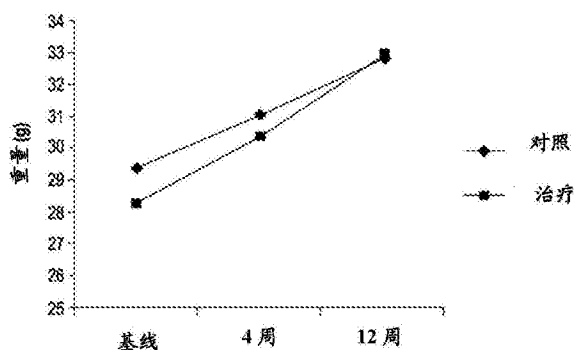
权利要求书2页 说明书16页 附图1页

(54)发明名称

单不饱和脂肪酸组合物和治疗动脉粥样硬化的应用

(57)摘要

包含高浓度的具有低熔点和高碘值的单不饱和脂肪酸的组合物,以及所述组合物作为膳食补充剂、营养制品或药物用于减少哺乳动物动脉粥样硬化斑块的用途。已经发现高浓度的具有低熔点温度和约50至约130的碘值的单不饱和脂肪酸(MUFA)可用于有效治疗动脉粥样硬化。流行病学研究表明,大量消耗发现于橄榄油中的C18:1的那些群体被保护免受血管疾病如动脉粥样硬化。



1. 包含两个具有约29°C至约34°C的熔点温度和约50至约130的碘值的单不饱和脂肪酸(MUFA)组的组合物,其中:

第一MUFA组包括具有16个或更少个碳的酰基碳链长度的MUFA;

第二MUFA组包含具有18个或更多个碳的酰基碳链长度的MUFA;

并且第一和第二MUFA组的总重量大于组合物重量的80%。

2. 权利要求1的组合物,其中所述第一MUFA组包含选自C12:1、C14:1和C16:1的至少一个成员,且所述第二MUFA组包含选自C22:1、C20:1和C18:1的至少一个成员。

3. 权利要求1的组合物,其中第一MUFA组以组合物的约18重量%至约40重量%存在,且第二MUFA组以组合物的约40重量%至约80重量%存在。

4. 权利要求1的组合物,其中第一MUFA组以组合物的约20重量%至约40重量%存在,且第二MUFA组以组合物的约60重量%至约80重量%存在。

5. 权利要求1的组合物,其中所述第一MUFA组以组合物的约18重量%至约23重量%存在,并且所述第二MUFA组以组合物的约60重量%至约80重量%存在。

6. 权利要求1的组合物,其中所述第一MUFA组以组合物的约20重量%至约23重量%存在,并且所述第二MUFA组以所述组合物的约60重量%至约80重量%存在。

7. 权利要求1的组合物,其中所述第一组和第二组中的MUFA选自游离脂肪酸、醇、甘油二酯、甘油三酯和盐中的至少一个成员。

8. 权利要求1的组合物,其中C16:1以组合物的约18重量%至约23重量%存在于第一MUFA组中,且其中C18:1以组合物的约60重量%至约80重量%存在于第二MUFA组中。

9. 权利要求8的组合物,其中C16:1选自C16:1n-7、C16:1n-6、C16:1n-5、C16:1n-4和C16:1n-3中的至少一个成员。

10. 权利要求8的组合物,其中C16:1是顺式异构体。

11. 权利要求8的组合物,其中C16:1和C18:1选自游离脂肪酸、醇、甘油二酯、甘油三酯和盐中的至少一个成员。

12. 权利要求8的组合物,其中C18:1是C18:1n-9。

13. 权利要求1的组合物,其中所述组合物还包含至多约15重量%的饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。

14. 权利要求13的组合物,其中饱和脂肪酸选自C16:0、C12:0、C14:0和C10:0。

15. 权利要求13的组合物,其中饱和脂肪酸为约1重量%至约5重量%。

16. 权利要求13的组合物,其中所述多不饱和脂肪酸选自C18:2、C18:3和C20:4。

17. 权利要求13的组合物,其中所述多不饱和脂肪酸为约1重量%至约5重量%。

18. 权利要求1的组合物,其还包含至多约3重量%的痕量脂肪酸。

19. 权利要求1的组合物,其中所述组合物是液体。

20. 权利要求1的组合物,其中所述组合物作为膳食补充剂或营养制品施用。

21. 一种组合物,其包含:

约20%至约40%重量的C16:1;

约40%至约80%重量的C18:1;

至多约7%的饱和脂肪酸;和

至多约7%的多不饱和脂肪酸。

22. 一种组合物,其包含:

约20%至约23%重量的C16:1;

约60%至约80%重量的C18:1;

约1-约5%的饱和脂肪酸;和

约1-约5%的多不饱和脂肪酸。

23. 用于治疗患者的动脉粥样硬化的方法,其包括以约15克/约40kg体重/天的量施用权利要求1的组合物。

24. 权利要求23的方法,其中所述组合物施用至少8周。

单不饱和脂肪酸组合物和治疗动脉粥样硬化的应用

发明领域

[0001] 本发明涉及用于治疗动脉粥样硬化斑块的高浓度的具有低熔点和高碘值的单不饱和脂肪酸组合物。

[0002] 发明背景

[0003] 动脉粥样硬化及其相关的血管并发症是引起心脏病发作和中风的心血管和脑血管疾病的主要原因。动脉粥样硬化是一种疾病,其特征在于在动脉内壁上沉积脂肪物质或斑块。随着时间的推移,斑块沉积物的大小增加,阻止氧气到达下游器官。当心脏的重要动脉被阻塞时,可引起心绞痛和心脏病发作,并可能导致死亡。动脉粥样硬化还影响通向脑部的动脉,引起脑血栓形成或中风,这可导致肌肉麻痹、认知能力丧失和痴呆风险。腿部的动脉也可能被动脉粥样硬化斑块阻塞,导致疼痛和行走困难,并可能导致受影响的组织的坏死和坏疽的危险。

[0004] 动脉粥样硬化斑块理论上是由于响应氧化胆固醇的积累而通过动脉壁迁移的单核细胞的相互作用引起的。在动脉壁内,单核细胞自己在氧化胆固醇上贪食,并转化为含脂肪的“泡沫细胞”。当泡沫细胞死亡时,它们释放其脂质内容物,在动脉壁内部形成脂质核。脂质核以及钙、脂肪酸和其他材料的积累最终形成斑块。随着时间的推移,斑块钙化和硬化。动脉壁内持续的斑块生长导致动脉壁向外扩张,以避免侵入内腔。当斑块生长超过动脉壁的补偿能力时,斑块侵入内腔。斑块的破裂将脂质核暴露于血液,产生血块。血块可阻塞动脉切断血流,或分离并阻塞动脉下游。患有动脉粥样硬化的患者可能多年无症状,而动脉粥样硬化斑块在动脉壁上积累。大多数患者直到发生中风或心脏病发作时才知道该疾病。

[0005] 治疗动脉粥样硬化的大多数方法都涉及处方药的使用。例如,被称为他汀类药物组被处方用于治疗高胆固醇患者的动脉粥样硬化,但其对妇女和70岁以上人群的影响尚不清楚。烟酸,一种维生素,也被处方用于治疗动脉粥样硬化,但它会引起皮肤潮红,并增加血糖水平,这对于糖尿病患者可能是危险的。用于限制胆固醇吸收的药物(如依折麦布(Ezetimibe))也已经被处方用于动脉粥样硬化患者,但其在降低这些患者心脏病发作和中风风险方面的功效尚不清楚。

[0006] 用于治疗动脉粥样硬化的其它方法包括医疗方法,例如外科支架术、斑块手术切除、消融斑块、以及旁路手术/移植。这些方法昂贵,且并非没有风险和限制。动脉壁的支架术伴有血栓的风险,支架本身可能随着时间的推移而被阻塞。手术切除和消融可能释放斑块颗粒,这可能导致通向脑的动脉阻塞,引起中风。用自体血管移植动脉也可能导致其他并发症,如中风、心脏病发作、肾功能减退和心跳不规律。所有这些外科手术方法也由于仅靶向特定动脉而未处理可能受动脉粥样硬化影响的其他动脉而受到严重限制。

[0007] 通过改善风险因素如戒烟、增加运动、管理肥胖患者的体重、降低血压、监测血脂水平和改变不良饮食习惯,可以预防或减轻动脉粥样硬化。另外,建议具有动脉粥样硬化发生危险的患者通过用天然油如橄榄油中的不饱和脂肪酸来替换他们的饮食来降低胆固醇和饱和脂肪摄入量。然而,橄榄油和其它天然存在的油也含有已知促成动脉粥样硬化的其它不需要的脂肪酸。

[0008] 尽管动脉粥样硬化的研究、预防和治疗取得了进步,但仍然是引起人们死亡或残疾的主要原因。因此,存在如下需求:有效地治疗动脉粥样硬化斑块,而不需要来自侵入的医学操作和处方药物的危险的副作用。

[0009] 发明概述

[0010] 已经发现,高浓度的具有低熔点温度和约50至约130的碘值的单不饱和脂肪酸(MUFA)可用于有效治疗动脉粥样硬化。流行病学研究表明,大量消耗发现于橄榄油中的C18:1的那些群体被保护免受血管疾病如动脉粥样硬化。然而,天然油如橄榄油也含有高浓度的其它饱和脂肪酸,可能有助于斑块的形成和可能进行交联反应以产生不需要的共价结合复合物的多不饱和脂肪酸。已经发现施用包含高浓度的具有约29°C至约34°C的低熔点和约50至约130的高碘值的MUFA的组合物显着降低血管组织中的动脉粥样硬化损伤。本文涉及的MUFA是具有短酰基长链和长酰基长链的脂肪酸的共混物或混合物。所述组合物作为膳食补充剂、营养制品和药物施用具有治疗动脉粥样硬化的附加益处,而没有手术操作的风险和成本。

[0011] 在本发明的一个实施方案中,提供包含至少两个具有约29°C至约34°C的熔点和约50至约130的碘值的脂肪酸组的MUFA组合物,其中第一MUFA组具有16个或更少碳的酰基碳链长度(“短碳链组”),而第二MUFA组具有18个或更多碳的酰基碳链长度(“长碳链组”),且以组合物的重量计,第一和第二脂肪酸组的总重量浓度大于约80%。

[0012] 在本发明的另一个实施方案中,第一组中的MUFA的至少一个成员选自C12:1、C14:1和C16:1脂肪酸,并且第二组中的至少一个MUFA成员选自C22:1、C20:1和C18:1脂肪酸。

[0013] 在本发明的另一个实施方案中,第一组包含以组合物的约18重量%至约40重量%存在的短碳链MUFA,且第二MUFA组包含以组合物的约40重量%至约80重量%存在的长碳链MUFA,其中组合物中MUFA的总浓度大于80%。

[0014] 在本发明的另一个实施方案中,第一组包含以组合物的约20重量%至约40重量%存在的短碳链MUFA,且第二MUFA组包含以组合物的约60重量%至约80重量%存在的长碳链MUFA,其中组合物中MUFA的总浓度大于80%。

[0015] 在本发明的另一个实施方案中,第一组包含以组合物重量的约18%至约23%存在的短碳链MUFA,且第二MUFA组包含以组合物重量的约60%至约80%存在的长碳链MUFA,其中组合物中MUFA的总浓度大于80%。

[0016] 在本发明的另一个实施方案中,第一组包含以组合物的约20重量%至约23重量%存在的短碳链MUFA,且第二MUFA组包含以组合物的约60重量%至约80重量%存在的长碳链MUFA,其中组合物中MUFA的总浓度大于80%。

[0017] 在本发明的另一个实施方案中,提供短和长碳链MUFA的高浓度组合物,其还包含至多约15重量%的饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。

[0018] 在本发明的另一个实施方案中,提供了用于治疗动脉粥样硬化的具有高浓度的MUFA的组合物,其包含约18%至约40%、优选约20%至约40%、更优选约18%至约23%、甚至更优选约20%至约23%重量的C16:1脂肪酸。所述组合物还包含约40%至约80%、优选约60%至约80%重量的C18:1脂肪酸,其中C16:1和C18:1的总浓度大于组合物重量的80%。C16:1和C18:1MUFA组合物可任选地包括至多15%的饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。

[0019] 在本发明的另一个实施方案中,提供了用高浓度MUFA治疗动脉粥样硬化的方法,

所述MUFA含有组合物的约18%至约40%、优选约20%至约40%、更优选约18%至约23%、甚至更优选约20%至约23%重量的短碳链MUFA和约40%至约80%、更优选约60%至约80%重量的长碳链MUFA,其中所述MUFA的总浓度大于组合物重量的80%。治疗包括每天每40kg体重施用约15克的所述MUFA组合物,施用至少8周。

[0020] 附图简述

[0021] 图1是在开始相应的膳食之后作为时间的函数的对照组和治疗组的体重(g)的曲线图。

[0022] 图2是显示在喂食3个月后来自喂食对照膳食和治疗膳食的动物的胸降主动脉的病变区域的图。

[0023] 发明详述

[0024] 本发明基于以下发现:动脉粥样硬化斑块的积聚是由于在碱性溶液(大于pH 7.0)和甘油三酯(脂肪)的存在下与二价或三价金属(例如钙、镁或铁)偶联的游离脂肪酸阴离子的结合所引起的。脂肪酸、钙和脂肪的比例将决定动脉粥样硬化斑块是否为“污点(smear)”或蜡质的(软斑块)或硬质沉淀物(硬斑块)。脂肪酸组分主要是饱和棕榈酸酯(C16:0)和硬脂酸(C18:0)脂肪酸。这些饱和脂肪酸具有高熔点,并与钙盐一起形成硬斑块。

[0025] 据认为可以通过规则和系统地施用含有具有非常低的熔点和高碘值(大于50且小于130)的MUFA作为活性成分的组合物来实现动脉粥样硬化斑块的逆转。已经观察到具有高熔点(即38°C或更高)的脂肪酸及其致动脉粥样硬化的相关效应。例如,饱和脂肪酸如棕榈酸(C16:0)和硬脂酸(C18:0)脂肪酸被认为是致动脉粥样硬化的。这些饱和脂肪酸在室温(约25°C)和生理温度(约37°C)都是固体。相比之下,脂肪酸如棕榈油酸(C16:1)、油酸(C18:1)和亚油酸(C18:2)通常具有与棕榈酸和硬脂酸相同长度的酰基链,但具有一个或多个不饱和键,具有低熔点温度,因此在所述温度下是液体。表1提供了一些常见的脂肪酸的熔点。

[0026] 表1

[0027]

脂肪酸结构	脂肪酸名称	熔点(°C)
C20:5	二十碳五烯酸	-54.0
C22:6	二十二碳六烯酸	-50.0
C4:0	丁酸	-8.0
C18:2	亚油酸	-5.0
C18:3	亚麻酸	-5.0
C14:1	肉豆蔻烯酸 (Myristoleic)	-4.5
C6:0	己酸	-3.4
C16:1	棕榈油酸	-0.5
C18:1	油酸	13.4

	C8:0	辛酸	16.7
	C20:1	二十碳烯酸	23.5
	C22:1	二十二碳烯酸	30.0
	C10:0	癸酸	31.6
	C24:1	二十四碳烯酸 (Tetracesenoic)	42.5
[0028]	C12:0	月桂酸	44.2
	C14:0	肉豆蔻酸	53.9
	C16:0	棕榈酸	63.1
	C18:0	硬脂酸	69.8
	C20:0	花生酸	75.3
	C22:0	二十二烷酸	79.9
	C24:0	二十四烷酸	84.2

[0029] 表1中的许多脂肪酸可以在天然来源如植物、坚果和动物中作为甘油三酸酯被发现。然而,这些天然甘油三酸酯来源含有许多在酰基链长度和饱和度上不同的脂肪酸的混合物。例如,猪油(来自猪)、牛脂(来自牛)和羊脂(来自羊)在室温下是固体脂肪,其酰基的40%至50%是饱和的C16:0和C18:0。单不饱和油酸(C18:1)构成其酰基含量的约40%至50%,其余部分大多为多不饱和亚油酸(C18:2)。相比之下,大多数植物油在室温下为液体,仅具有10%至20%的棕榈酸酯和硬脂酸酯,其余大部分为不饱和的油酸酯和亚油酸酯。

[0030] 碘值是油或脂肪的碳-碳双键程度的量度。饱和的(不含碳-碳双键)油和脂不吸收碘,因此碘值为零。相比之下,不饱和油和脂肪吸收碘。存在的双键越多,附着的碘就越多,碘值就越高,油或脂的反应性和不稳定性就越高。已经发现,碘值超过130的脂肪酸可以交联并聚合,在体内形成沉积物,而具有约50至约130的碘值的那些脂肪酸更稳定并且更不易于聚合和附着于动脉壁。

[0031] 表2提供了一些普通脂肪酸的碘值。

[0032] 表2

[0033]

脂肪酸结构	脂肪酸名称	碘值
C4:0	丁酸	0
C6:0	己酸	0
C8:0	辛酸	0
C10:0	癸酸	0
C12:0	月桂酸	0
C14:0	肉豆蔻酸	0
C16:0	棕榈酸	0
C18:0	硬脂酸	0
C20:0	花生酸	0

C22:0	二十二烷酸	0
C24:0	二十四烷酸	0
C24:1	二十四碳烯酸	69
C22:1	二十二碳烯酸	74
C20:1	二十碳烯酸	81
C18:1	油酸	89
C16:1	棕榈油酸	99
C14:1	肉豆蔻烯酸	112
C12:1	月桂烯酸	128
C18:2	亚油酸	181
C18:3	亚麻酸	273

[0034] 施用高浓度的包含大于约80重量%的作为膳食补充剂、营养制品和药物的、具有低熔点和碘值的MUFA的混合物或共混物可以有效治疗动脉粥样硬化。具体而言,本发明提供了高浓度的具有约29°C至约34°C的熔点和约50至约130的碘值的MUFA,其具有抗动脉粥样硬化作用。此类MUFA的代表性实例是C22:1、C20:1、C18:1、C16:1、C14:1和C12:1。

[0035] 本发明还提供了高MUFA浓度的组合物的施用,其包含至少两个具有约29°C至约34°C的熔点和约50至约130的碘值的脂肪酸组,其中第一脂肪酸组具有16个或更少碳的酰基碳链长度(“短碳链组”),第二脂肪酸组具有18个或更多碳的酰基碳链长度(“长碳链组”),并且第一和第二脂肪酸组的总重量大于组合物重量的80%,可用于治疗动脉粥样硬化。

[0036] 本文所述的MUFA组合物包含短碳链的第一脂肪酸组,其中至少一个成员选自C12:1、C14:1和C16:1,和长碳链的第二脂肪酸组,其中至少一个成员选自C22:1、C20:1和C18:1。

[0037] 提供了优选的MUFA组合物,其包含约18重量%至约40重量%的第一短碳链组和约40重量%至约80重量%的第二长碳链组。本文涉及的具有短碳链与长碳链MUFA比例浓度的组合物的代表性实例在表3中提供。

[0038] 表3

[0039]

短碳链MUFA	长碳链MUFA
18%-40%	60%-80%
20%-40%	60%-80%
18%-23%	60%-80%
20%-23%	60%-80%
20%-40%	40%-80%

[0040] 通过施用本文所述的组合物还提供了治疗动脉粥样硬化的方法。该方法的实例包括以约15g/40kg体重/天向患者施用表3所述的组合物,施用至少8周。

[0041] MUFA具有沿酰基链的单个乙烯基或碳-碳双键。在下文中,脂肪酸的结构将由符号如C_x:_yn-a表征。“C_x”表示脂肪酰基含有“x”个碳原子。“y”表示酰基链中的碳-碳双键数,“n-a”表示最末端的双键终止于从末端甲基末端计数的“a”碳。

[0042] 为本发明选择的MUFA包括具有约29°C至约34°C的低熔点温度和约50至约130的高碘值的脂肪酸的共混物或混合物。使用组合了高浓度的至少两组选择的MUFA的组合物的治

疗可用于减小动脉中斑块的大小和数量,其中第一MUFA组的至少一个成员选自短碳链MUFA(酰基碳长度为16个碳或更少),且第二组MUFA的至少一个成员选自长碳链MUFA(18个碳或更大的酰基碳长度)。本文涉及的MUFA的非限制性实例可以在下表4中找到。代表性的短碳链MUFA包括C12:1、C14:1和C16:1,长碳链MUFA包括C22:1、C20:1和C18:1。本发明中讨论的MUFA可以以顺式或反式构型存在,且本发明中涉及这两种几何异构体。

[0043] 表4

单不饱和脂肪酸	
结构	名称
C12:1	月桂烯酸
C14:1	肉豆蔻烯酸
C16:1	棕榈油酸
C18:1	油酸
C20:1	二十碳烯酸
C22:1	二十二碳烯酸

[0045] 本文所述的短碳链MUFA和长碳链MUFA应包含总组合物重量的至少约80%。优选地,短碳链MUFA组占组合物重量的约18%至约40%,更优选约占组合物的18%至约23%,甚至更优选约20%至约23%。长碳链MUFA组优选占组合物重量的约40%至约80%,更优选约60%至约80%。

[0046] 优选的脂肪酸是C16:1和C18:1。脂肪酸C16:1可以包括其位置异构体中的任何一种,包括C16:1n-7、C16:1n-6、C16:1n-5、C16:1n-4和C16:1n-3以及其顺式和反式几何异构体。更优选的脂肪酸是C16:1n7。C16:1n7的惯用名是棕榈油酸,其通常由式I表示。

[0047] $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

[0048] (式I)

[0049] C16:1通常可在天然存在的油(“源(source)油”)中获取,但量少。所需的含有C16:1的油级分可以通过本领域技术人员熟知的常规冷却和蒸馏技术和/或溶剂萃取(“精制”技术)容易地从各种类型的油(即,各种源油)获得,所述油如植物油、种子或坚果油、鱼油、动物脂肪或水生植物油、如咸水或淡水水生植物和某些微生物。通常,所需的C16:1在植物油以及坚果或种子油中含量不高。具有大量本发明的C16:1的油源包括鱼油,如沙丁鱼和鲱鱼(menhaden)可含有约10%至约16%(重量)的C16:1n-7,而抹香鲸油可含有约13%重量以上。虽然坚果油通常不具有C16:1n-7脂肪酸,但是例外是夏威夷核油(macadamia nut oil),其含有C16:1n-7的量为油的总重量的约16%至约25%,但也包含其它不需要的脂肪酸。动物脂肪如黄油、鸡脂、猪油和牛油通常具有高含量的C16:1n-7,但它们也含有高含量的其他不需要的脂肪酸。

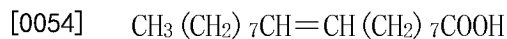
[0050] 通过首先将油冷却至低于所需的C16:1n-7的固化或熔点温度,然后除去剩余的液体部分,可以从上述类型的油(即源油)中提取C16:1n-7脂肪酸以及相应的醇、甘油二酯、甘油三酯和盐。然后将去除的液体油进行蒸馏,其中可以除去沸点高于C16:1n-7等、C14:1n-5等、C12:1n-3的化合物。对于本领域技术人员显而易见的是,可以重复冷却-蒸馏过程,

直到以浓缩的量获得C16:1或其相应的醇、甘油二酯、甘油三酯和/或盐。或者可以使用溶解C16:1(和/或相应的醇、甘油二酯、甘油三酯和盐)而不溶解油的其它组分的一种或多种溶剂,使得一旦溶剂蒸发,得到选择的脂肪酸(和/或相应的醇、甘油二酯、甘油三酯和盐)。这些技术和方法是本领域和文献中众所周知的。例如,参见美国专利5,198,250中的描述,例如其实施例1,据此全部并入本文作为参考。

[0051] 通过精制源油,可以获得高或浓缩量的C16:1,例如约10%至约35%或约50%或约75%或约90%。这些精制源油还可以含有低量的各种饱和脂肪酸组分,例如C12:0、C14:0、C16:0和C18:0、例如<20体积%、<15体积%、≤12体积%、<10体积%、甚至≤5体积%,基于组合中脂肪酸组分的总量。类似地,精制源油还含有低量的多不饱和脂肪酸油组分,例如C12:2或C12:3、C14:2或C14:3、C16:2或C16:3、C18:2或C18:3等,例如<20体积%、<15体积%、<12体积%、<10体积%、甚至<5体积%,基于组合中脂肪酸组分的总量。

[0052] 对于生产C16:1所需的源油,多种藻类菌株都是合适的。藻类可以在其中含有营养物质例如磷酸盐的池中生长。许多藻类株具有较高含量的棕榈油酸,如蓝细菌、Phormidium菌种NKBG 041105和Oscillatoria菌种NKBG 091600具有高含量的顺式棕榈油酸(分别占总脂肪酸的54.5%和54.4%)。Phormidium菌种NKBG 041105具有每生物质最高的顺式棕榈油酸含量(46.3mg(g干细胞重量)⁻¹),并且顺式-棕榈油酸组合物被发现随温度变化恒定。以类似的方式,其他水生植物如沙棘(sea buckthorn)也可以生长和利用。然后通过已知的技术如冷却蒸馏或溶剂萃取来处理藻类、沙棘等,以获得中等至高浓度的C16:1n-7油级分。此外,2009年8月29日公布的WO 2009/105620和2008年3月27日公开的WO 2008/036654鉴定了适于作为C16:1的源油的其他藻类。将这两篇出版物在此全文并入作为参考。

[0053] 脂肪酸C18:1可以包括其任何位置异构体,包括C18:1n9。脂肪酸C18:1n9惯用名为油酸,是优选的C18:1的脂肪酸,并且通常由式II表示。



[0055] (式II)

[0056] C18:1可以从天然来源如红花油或橄榄油中提取,如美国专利No.6,664,405号所述,或从商业来源如Sea Land Chemical、Cargill和Emory购买。

[0057] 本文涉及的MUFA可以以任何形式使用,包括游离脂肪酸、脂肪酸乙酯、脂肪酸酰胺或其衍生物、盐、甘油单酯、甘油二酯或甘油三酯。对MUFA的任何修饰应导致生理学上可接受的组合物。如本文所用,术语“生理学上可接受的”酯或盐是指活性成分的酯或盐形式,其与对接受组合物的个体无害的膳食补充剂、营养药物或药物组合物的其它成分相容。

[0058] 如本文所用,术语“甘油单酯”涉及通过酯键与甘油分子共价结合的脂肪酸。术语“甘油二酯”涉及通过酯键共价键合到甘油分子上的两个脂肪酸链。术语“甘油三酯”涉及通过酯键共价键合到甘油分子上的三个脂肪酸链。与甘油二酯或甘油三酸酯的甘油分子结合的各脂肪酸链可以是相同的或不相同的。

[0059] 单不饱和脂肪醇可以通过如文献和本领域已知的强碱(如氢化铝锂)还原和二次分离步骤例如但不限于蒸馏而衍生自上述MUFA。因此,脂肪醇衍生物在其中具有相同数目的总碳原子,将是单不饱和的,并且将在与本文所讨论的MUFA相同的位置处包含双键。上述MUFA或单不饱和脂肪醇或单不饱和脂肪酸、甘油单酯、甘油二酯或甘油三酯的合适的盐包括各种卤化物如氯化物。

[0060] 已经发现动脉粥样硬化可以通过施用含有大于80重量%的具有约29°C至约34°C的熔点和约50至约130、优选约68至约130的碘值的MUFA作为活性成分的组合来治疗。本文提供的MUFA组合物包含第一组短碳链MUFA和第二组长碳链MUFA。来自短碳链组的优选MUFA为C16:1,来自长碳链组的优选MUFA为C18:1。包含所述MUFA的共混物或混合物的组合物包含约18重量%至约40重量%的C16:1和约40重量%至约80重量%的C18:1。优选地,这样的浓度包括约18重量%至约23重量%的C16:1和约60重量%至约80重量%的C18:1。更优选约20%至约23%重量的C16:1和约60重量%至约80重量%的C18:1。所述组合物的规则和系统施用已显示抑制动脉粥样硬化斑块形成并减少动脉斑块的大小和数量。

[0061] “治疗”是指治疗性治疗和预防性或防止性措施,其中目的是减少、抑制、预防或减缓(减轻)不期望的生理变化或障碍,如动脉粥样硬化斑块的发展或进展。

[0062] 减少动脉粥样硬化斑块包括阻止形成新的动脉粥样硬化斑块和/或减小现有的动脉粥样硬化斑块的大小。减少斑块大小可以包括减少(i)在哺乳动物的一个或多个动脉中受动脉粥样硬化斑块影响的表面积百分比,(ii)在哺乳动物的一个或多个动脉中发现的斑块的数量,和/或(iii)所述斑块的严重程度。例如,减少可以包括与未治疗或对照个体相比5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的减少或其之间的任何点,如通过本文公开的或本领域已知的任何合适的测量技术或测定法所测定。动脉粥样硬化斑块减少可能发生在特定动脉,如主动脉、冠状动脉、颈动脉和脑动脉。

[0063] 本文所用的术语“组合物”包括治疗和饮食配制物。本发明的组合物如下配制:操作或调节膳食补充剂、营养制品或药物组合物的脂肪酸含量以提供期望的高浓度的具有低熔点和约50至约130的碘值的MUFA,其以短碳链和长碳链MUFA C22:1、C20:1、C18:1、C16:1、C14:1和C12:1为代表。术语“膳食补充剂”是用于摄取的含有营养物质的产品。营养物质可以是以下物质中的一种或任何组合:维生素、矿物质、纤维、脂肪酸或氨基酸等物质。术语“营养制品”是具有超过食品的生理活性的任何食品。本文涉及的高MUFA组合物通常不存在于食品中。

[0064] 配制本文提供的MUFA,意味着来自纯化的源的各个组分混合在一起,形成本文所述的高浓度的短和长碳链MUFA。或者,天然存在的食品可以增强至本文所述的高MUFA组合物中。这种增强的食品可能具有低水平的存在于食品中的MUFA。然后将本文提供的长和短碳链MUFA添加或补充到所述食品中,使得食品中的最终短和长碳链MUFA浓度大于总重量的约80%,并且每组短和长碳链MUFA的重量百分比在表3中提供的浓度范围内。

[0065] 本文涉及的组合物也可以以药物组合物的形式施用给哺乳动物。这样的药物组合物可以仅含有本文所述的MUFA作为活性成分。所述药物组合物还可以含有所述活性成分以及一种或多种药学上可接受的载体和任何额外成分。

[0066] “药学上可接受的载体”意在包括不干扰活性成分的活性的有效性并且对其所施用的宿主无毒的任何载体。药学上可接受的载体是本领域普通技术人员已知的。

[0067] “额外成分”是指以下一种或多种:赋形剂、表面活性剂、分散剂、惰性稀释剂、制粒剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、甜味剂、矫味剂、着色剂、防腐剂、生理可降解组合物(例如明胶)、水性溶媒、含水溶剂、油性溶媒和油性溶剂、助悬剂、分散剂、润湿剂、乳化剂、缓和剂(demulcents)、缓冲剂、盐、增稠剂、填充剂、乳化剂、抗氧化剂、抗生素、抗真菌剂、稳定剂和药学上可接受的聚合材料或疏水性材料。可以包括在药物组合物中的其它“额外成分”是已

知的。合适的额外成分描述于Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Genaro编撰, Easton, Pa. (1985)中。

[0068] 本文所述的药物组合物可以通过任何已知方法或之后在药理学领域开发的方法制备。通常,所述制备方法包括将所述活性成分与载体和/或一种或多种其它辅助成分组合的步骤,然后如果需要或期望,将产品成型或包装成所需的单剂量或多剂量单位。

[0069] 尽管本文提供的药物组合物主要针对适合于对人类进行伦理施用的药物组合物,但应理解,这些组合物通常适用于所有种类的哺乳动物。

[0070] 口服制剂可以作为离散固体剂量单位制备、包装和/或出售,所述离散固体剂量单位例如片剂、硬或软胶囊、扁囊剂、药片(troche)或锭剂,各包含预定量的活性成分。其他口服制剂包括粉末或颗粒制剂、水性或油性混悬剂、水性或油性溶液和乳剂。如本文所用,“油性”液体是显示出比水少的极性特征的含碳液体分子。含有活性成分的硬胶囊和软明胶胶囊可以使用生理上可降解的组合物如明胶来制备。硬胶囊还可以包含惰性固体稀释剂如碳酸钙、磷酸钙和高岭土。虽然钙稀释剂是可接受的,但其浓度应该被最小化以避免与脂肪酸的负面相互作用。含有作为活性成分的本文涉及的MUFA的软明胶胶囊可以使用生理上可降解的组合物如明胶来制备。该软胶囊含有可与其它赋形剂混合的活性成分。适用于口服施用的液体药物制剂可以以液体形式制备、包装和销售。

[0071] 本文所述的任何MUFA、膳食补充剂、营养制品和药物组合物可以根据本文所述的方法施用。通常,本文所述的组合物可以以每40kg体重约15克施用。剂量可以根据其他因素如人的年龄、健康和/或现有动脉粥样硬化斑块的严重程度而变化。

[0072] 作为非限制性实例,本文所述的组合物可以以约15克至约60克/天或其间的任何值施用于人。一个体重超过72kg的人,每天可以被施用总共约30克至约60克的剂量。优选总共约30克、约40克、约50克和约60克/天或其间的任何值。体重小于72kg的人可以每天被施用总共约15克至约30克或其间的任何值的剂量。优选约15克、约20克、约25克和约30克或之间的任何值。

[0073] 人们可以接受作为本文所述的任何形式包括液体、固体或半固体的膳食补充剂、营养制品或药物的高浓度的本文涉及的MUFA组合物。在检测到动脉粥样硬化斑块之前或之后,该人可以用所述高浓度的MUFA组合物进行治疗。将MUFA组合物施用于具有发展动脉粥样硬化斑块的高危因素的人可能是有利的。本文涉及的方法可以每天施用并持续约八周,或直到动脉粥样硬化斑块消失或甚至更长时间。

[0074] 用于治疗动脉粥样硬化的MUFA组合物包含具约29°C至约34°C的熔点温度和约50至约130的碘值的高浓度MUFA的组合、混合物或共混物。所述高浓度的MUFA可以占总组合物重量的至少约80%至约100%。所述MUFA可以进一步占总组合物重量的至少约90%和95%。任选地,可以将其它脂肪酸掺入所述高MUFA组合物中。此类任选的脂肪酸可以是饱和的和多不饱和的脂肪酸。优选的是,此类任选的脂肪酸不超过组合物总重量的15%。

[0075] 来自短碳链组的优选脂肪酸包括C16:1,来自长碳链组的优选脂肪酸包括C18:1。本文所述的组合物不限于选自每组的单一脂肪酸。例如,选择C16:1作为代表性的MUFA,然而,它可以与包括C12:1或C14:1在内的组的其他短碳链成员组合,使得短链MUFA成员整个组成不可超过组合物重量的40%。同样,本文讨论的MUFA的长碳链成员不限于C18:1,因为它可以由包括C22:1和C20:1在内的其他成员组成,使得长碳链成员整个组成不超过约

80%。短碳链和长碳链MUFA的组合可以占总组合物重量的至少约80%至约100%。组合的短碳链和长碳链MUFA可以进一步占总组合物重量的至少约90%和95%。

[0076] 任选地,可以将包括饱和和多不饱和脂肪酸的其它脂肪酸掺入C16:1和C18:1脂肪酸组合物中。此类任选的饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸不可超过整个组合物重量的约15%。饱和脂肪酸可以包含饱和脂肪酸的单个或多个成员,并且可以进一步包含总组合物的至多约15重量%、优选至多约7重量%、更优选总组合物的约1重量%至约5重量%的任何值。饱和脂肪酸的非限制性实例包括C16:0、C12:0、C14:0和C10:0。表5提供了本发明中涉及的常见的饱和脂肪酸。

[0077] 表5

饱和脂肪酸	
结构	名称
C4:0	丁酸
C6:0	己酸
C8:0	辛酸
C10:0	癸酸
C12:0	月桂酸
C14:0	肉豆蔻酸
C16:0	棕榈酸
C18:0	硬脂酸
C20:0	花生酸
C22:0	二十二烷酸
C24:0	二十四烷酸

[0078]

[0079] 多不饱和脂肪酸可以包含多不饱和脂肪酸的单个或多个成员,并且还可以包含总组合物的至多约15重量%、优选至多约7重量%、更优选总组合物的约1重量%至约5重量%的任何值。多不饱和脂肪酸的非限制性实例包括C18:2、C18:1和C20:4。表6提供了本发明涉及的常见的多不饱和脂肪酸。

[0080] 表6

多不饱和脂肪酸	
结构	名称
C16:2	十六碳二烯酸
C16:4	十六碳四烯酸 (Hexadecatetradienoic)
C18:2	亚油酸
C18:3	亚麻酸

[0081]

[0082]	C20:4	花生四烯酸
	C20:5	二十碳五烯酸
	C21:5	二十一碳五烯酸 (Heneicosanoic)
	C22:2	二十二碳二烯酸
	C22:3	二十二碳三烯酸
	C22:4	二十二碳四烯酸
	C22:6	二十二碳六烯酸

[0083] 任选地,组合物可以包含痕量或微量的其它脂肪酸。痕量脂肪酸将被理解为涉及在哺乳动物的饮食中通常可见的C8:0至C20:4范围的任何脂肪酸,包括本文所述的那些脂肪酸。这些痕量的脂肪酸可以任选地以总组合物的至多约3重量%存在。

[0084] 通常地配制本文中讨论的包含C16:1和C18:1的MUFA,意指首先将个体组分从其材料源中精制和纯化,然后混合在一起形成本文所述的所需组合物。进一步考虑,可以将天然存在的食品增强到本文所述的组合物中,其如下实现:用本文所述的MUFA中的至少一种来添加、调整或代替食品,使得达到所需的C16:1和C18:1的重量百分比。包括饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的其它脂肪酸可以任选地存在于所述增强的组合物中,然而,优选地,此类任选的脂肪酸不可超过总组合物重量的约15%。

[0085] 在下列实施例中提供了本发明所涵盖并且在本发明范围内的代表性组合物。提供下面的这些实施例和制备,以使本领域技术人员能够更清楚地理解和实施本发明。它们不应被认为是限制本发明的范围,而只是说明性和代表性的。

[0086] 组合物I

[0087]

18-23%	C16:1
60-80%	C18:1
0-5%	饱和脂肪酸
0-5%	多不饱和脂肪酸
0-3%.	痕量脂肪酸

[0088] 组合物II

[0089]

18-23%	C16:1
60-80%	C18:1
2-5%	C16:0
2-5%	C18:2
1-3%.	痕量脂肪酸

[0090] 组合物III

[0091]

20%	C16:1n7
60%-80%	C18:1

2%-5%	C16:0
2%-5%	C18:2
1%-3%	痕量脂肪酸

[0092] 组合物IV

[0093]

20%-40%	C16:1
40%-60%	C18:1
0-5%	饱和脂肪酸
0-5%	多不饱和脂肪酸
0-3%	痕量脂肪酸

[0094] 组合物V

[0095]

20%-23%	C16:1
60%-80%	C18:1
1%-5%	饱和脂肪酸
1%-5%	多不饱和脂肪酸

[0096] 组合物VI

[0097]

20%-40%	C16:1
40%-60%	C18:1
0%-5%	饱和脂肪酸
0%-5%	多不饱和脂肪酸

[0098] 组合物VII

[0099]

20%-40%	C16:1、C14:1和C12:1
40%-80%	C22:1、C20:1和C18:1
至多15%	饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸

[0100] 组合物VIII

[0101]

20%	C16:1n7
60%	C18:1
15%	C16:0
5%	C18:2

[0102] 实施例1

[0103] 在三十四只雄性Apo E敲除小鼠上进行动物饲养实验。对小鼠喂食正常小鼠食物至2月龄,然后随机分为两组(n=17)。一组小鼠喂食含有饱和脂肪和半固体形式的C18:1的对照西方高脂肪饮食(对照饮食)。另一组喂食液体形式的高浓度的C16:1和C18:1脂肪酸饮食(治疗饮食)。将粘稠的食物混合成糊状物,水可以自由获得。在饮食开始后的第8周和12周取得血液样品。在12周时,处死所有小鼠并进行结果分析。

[0104] 饮食组合物

	对照饮食	治疗饮食
	F5722	F5723
	20% 饱和脂肪	20% C16:1n-7
	60 - 80% C18:1	60 - 80% C18:1
[0105]	2 - 5% C16:0	2 - 5% C16:0
	2 - 5% C18:2	2 - 5% C18:2
	1 - 3% 痕量脂肪酸	1 - 3% 痕量脂肪酸
	胆固醇 2.1 gm/kg (Bio-Service, Frenchtown, NJ)	胆固醇 2.1 gm/kg (Bio-Service, Frenchtown, NJ)

[0106] 对照饮食中的20%饱和脂肪含有超过90%总重的饱和脂肪酸(包括:辛酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸和棕榈酸饱和脂肪酸)以及约10%总重的单不饱和油酸和其它脂肪酸。

[0107] 主动脉损伤的定量

[0108] 使用修改自Palinski等人的方法,“Increased autoantibody titers against epitopes of oxidized LDL in LDL receptor-deficient mice with increased atherosclerosis,”*Arterioscler Thromb Vas Biol.*1995;15(10):1569-76,通过纵剖面(en face)油红O染色对动脉粥样硬化损伤所占据的主动脉的表面积进行定量。杀死小鼠后,将导管插入左心室,用PBS(25ml)灌注动脉树,然后在100mmHg压力下灌注4%缓冲的甲醛(20ml,PH7.4)。在显微镜(Leica M500)下,将与心脏连接的整个主动脉解剖,并解剖外膜脂肪。将升主动脉切断,将心脏置于用于主动脉根部动脉粥样硬化评估的histo-choice中。将主动脉的其余部分用苏丹IV染色。将主动脉纵向打开,在覆盖黑色硅树脂的盘上固定纵剖面,并浸没在PBS中拍照。使用计算机化数字显微平面几何软件包(Image-pro Plus, Windows 4.0版,media Cybernetics,Silver Spring,MD)将损伤面积定量为苏丹IV红染色所占的表面积百分比。

[0109] 主动脉窦损伤的定量

[0110] 固定在histo-choice中后,将心脏置于最佳切割温度(OCT)化合物中,并在干冰上冷冻。在主动脉窦的水平切割低温恒温切片(10 μ m),在顶点开始并通过主动脉瓣区域进行至升主动脉,在Superfrost显微玻璃载玻片上收集,并在-20 $^{\circ}$ C储存直至分析。将切片用油红O和苏木精(Sigma)染色,并用亮绿(Sigma)复染色。使用计算机化的数字显微平面几何软件包(Image-pro Plus,Windows 4.0版,media Cybernetics,Silver Spring,MD)测量了主动脉窦的5个切片(每个间隔80 μ m)的损伤。

[0111] 血清脂质的测定

[0112] 对在开始时和2个月时间点通过尾静脉获得的血清样品和在3个月龄进行安乐死时通过心脏穿刺得到的血清样品,分别进行血脂评估。在罗氏(Roche)自动化临床化学分析

仪上使用用于直接定量测定甘油三酯、胆固醇和HDL-胆固醇的酶体外试验。所有试剂均来自Roche Diagnostics (Indianapolis IN), 仪器为Hitachi 911。所有测定均采用比色法, 校准标准品也来自Roche, 其为NIST (National Institute of Standards) 可追踪的。使用CDC (疾病控制中心 (the Center for Disease Control)) 脂质标准化程序进一步验证了测定结果。

[0113] 统计分析

[0114] 数据以平均值 \pm SD表示。用t检验进行统计学分析。 $P < 0.05$ 表示具有统计学显著性。

[0115] 结果体重

[0116] 在对照组和治疗组之间, 在基线、4周和12周跟进时观察到体重没有显著差异 ($P > 0.05$, 图1)。图1是表示作为在开始各自饮食后的时间函数的对照和治疗组的体重 (g) 的图表。基线和跟进时间点无统计学显著差异。

[0117] 血液脂质水平

[0118] 表7显示所得的血液脂质的血清浓度。8周和12周跟进时, 两组间总胆固醇和总甘油三酯水平无显著差异。实验治疗组的HDL-胆固醇在8周和12周跟进时与基线和对照组相比均显著升高 ($P < 0.01$)

[0119] 表7

	Chol (mg/dL)	Trig (mg/dL)	HDL (mg/dL)
基线			
对照	248.2 \pm 63.1	108.1 \pm 60.0	22.2 \pm 6.8
治疗	254.1 \pm 58.2	107.1 \pm 24.4	20.7 \pm 6.9
8 周跟进			
对照	1021.3 \pm 231.3	132.9 \pm 51.3	25.3 \pm 4.4
治疗	960.4 \pm 178.1	135.4 \pm 39.3	40.3 \pm 6.9*
12 周跟进			
对照	944.3 \pm 238.3	112.7 \pm 44.0	20.4 \pm 6.5
治疗	891.8 \pm 181.5	100.1 \pm 47.0	36.2 \pm 9.8*
* 与对照相比* $P < 0.01$			

[0120] 表7总结了接受对照西方饮食和治疗饮食的动物的基线、8周和12周跟进时的血液脂质水平。

[0122] 动脉粥样硬化损伤形成

[0123] 主动脉根部的油红O染色显示对照组的主动脉窦的严重动脉粥样硬化 (图2, 表8)。相对于对照组, 治疗组显示动脉粥样硬化损伤大小显著降低了47% (对照组为 0.33 ± 0.09 , 治疗组为 $0.18 \pm 0.07 \text{mm}^2$, $P < 0.00$)。实验治疗组主动脉动脉粥样硬化损伤面积也受到显著抑制 (表9) (对照组为 $9.63 \pm 2.80\%$, 治疗组为 $3.17 \pm 1.60\%$, $P < 0.001$)。

[0124] 表8

[0125]

	主动脉窦损伤大小(mm ²)	
	对照	治疗
	0.33±0.09	0.18±0.07**
Pilot, 20ug IFN 质粒	0.45±0.11	0.32±0.11
Cohort 2, 2ug IFN 质粒	0.31±0.08	0.31±0.10
Cohort 3, 20ug IFN 质粒 + 罗苏伐他汀	0.36±0.10	0.35±0.10

[0126] 表9

[0127]

	主动脉病损(%)	
	对照	治疗
	9.63±5.9	3.17±1.6*
Pilot, 20ug IFN 质粒	12.12±5.9	7.10±2.0*
Cohort 2, 2ug IFN 质粒	6.72±4.2	5.31±1.8
Cohort 3, 20ug IFN 质粒 + 罗苏伐他汀	6.40±3.6	7.80±6.3
罗苏伐他汀 (20mg/kg/天)(1)	21.9±2.9	11.9±1.9*
异槲皮苷研究 1 (2)	9.5±4.1	5.9±2.5*
异槲皮苷研究 2 (2)	8.8±3.5	4.4±1.5*
与对照组相比, *P<0.05, **P<0.001		
(1) Enomoto S.等人, Rosuvastatin prevents endothelial cell death and reduces atherosclerotic lesion formation in ApoE-deficient mice. Biomed Pharmacother. 2007; xx 1-8.		
(2) Motoyama, K.等人, Atheroprotective and plaque-stabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice.		

[0128] 图2显示喂食西方饮食(空心圆圈)和治疗饮食(红色圆圈)的动物的胸降主动脉在饮食后3个月的损伤区域。实心条代表平均损伤大小。进行代表性的主动脉根部油红O染色以检测接受对照西方饮食的动物(A)和接受治疗饮食(B)的动物的动脉粥样硬化损伤。结果表明,接受治疗饮食的动物主动脉根窦动脉粥样硬化程度急剧下降。

[0129] 与对照组相比,治疗组在8周和12周跟进时显示HDL-胆固醇显著增加。这种作用可归因于饮食中高浓度的C16:1和C18:1。数据进一步表明,施用高浓度的C16:1和C18:1可显

著抑制主动脉根部的动脉粥样硬化形成,并显著降低动脉粥样化apoE-缺陷型小鼠主动脉的动脉粥样硬化面积。

[0130] 出于清楚和理解的目的,已经通过说明和实施例的方式对前述发明进行了详细描述。对于本领域技术人员显而易见的是,可以在所附权利要求的范围内实施改变和修改。因此,应当理解,上述描述旨在是说明性的而不是限制性的。因此,本发明的范围不应参照上述描述来确定,而应当参考所附权利要求以及这些权利要求的等价体的全部范围来确定。

[0131] 本申请中引用的所有专利、专利申请和出版物以其整体并入本文作为参考,用于所有目的,就像每个单独的专利、专利申请或出版物如此单独地指明一样。

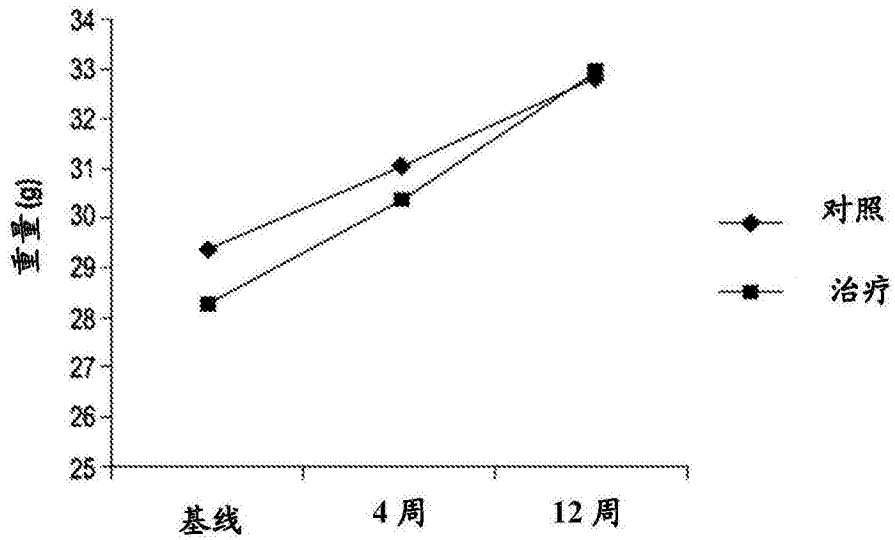


图1

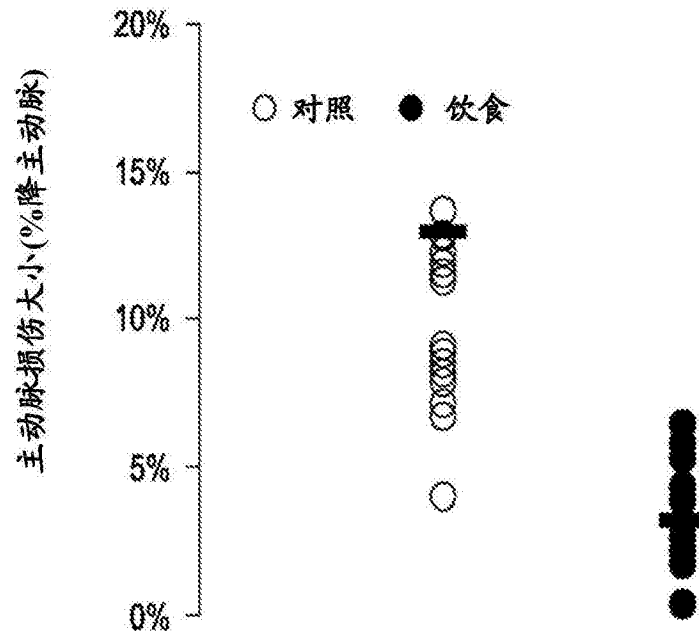


图2