



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102355897 B

(45) 授权公告日 2014. 06. 04

(21) 申请号 200980156029. 6

A61P 17/00(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 12. 04

A61P 25/28(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 29/00(2006. 01)

P200803480 2008. 12. 09 ES

A61P 3/00(2006. 01)

A61P 3/10(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 3/04(2006. 01)

2011. 08. 03

A61P 9/12(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 9/10(2006. 01)

PCT/ES2009/070561 2009. 12. 04

A61P 31/18(2006. 01)

A61P 33/06(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61P 25/16(2006. 01)

W02010/066931 ES 2010. 06. 17

A61Q 19/00(2006. 01)

(73) 专利权人 巴利阿里群岛大学

地址 西班牙帕尔马(马略卡岛)

(56) 对比文件

CN 1688302 A, 2005. 10. 26, 说明书第6页第5-11行, 第7页第14-16行.

(72) 发明人 帕布洛·维森特·埃斯科里巴鲁伊斯

赛维尔·巴斯奎特斯邹贝特

格温多琳·巴塞罗科比利基

维多利亚·拉都卡内拉斯

拉斐尔·阿尔瓦莱斯马蒂内丝

西尔维娅·泰瑞斯吉梅奈兹

丹尼尔·洛佩兹

乔安娜·巴塞罗埃斯塔瑞拉斯

朱利安·泰勒格林

吉尔拉多·艾维拉马汀

Oliver James et al..A Convenient Synthesis of α -Fluoro Carboxylic Acids. 《SYNTHESIS》. 1994, (第3期), 273-275.

RAMONA JENSKE et al..Gas Chromatography/Electron-Capture Negative Ion Mass Spectrometry for the Quantitative Determination of 2- and 3-Hydroxy Fatty Acids in Bovine Milk Fat. 《J. Agric Food Chem》. 2008, 第56卷(第14期), 5500-5505.

Hong-Sik Hwang et al..Highly Selective Asymmetric Synthesis of 2-Hydroxy Fatty Acid Methyl Esters Through Chiral Oxazolidinone Carboximides. 《JAOCs》. 2001, 第78卷(第2期), 205-211.

(74) 专利代理机构 北京市立方律师事务所

11330

代理人 郑瑜生

审查员 张晴

(51) Int. Cl.

A61K 31/201(2006. 01)

A61K 31/185(2006. 01)

A23L 1/30(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书26页 附图17页

(54) 发明名称

用作药物的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物

衍生物和盐, 其中 (a) 和 (b) 可以具有在 0 和 14 之间的任何值, (X) 可以由具有在 4 和 200Da 之间的重量的任何原子或原子团取代, 且 (R) 可以由具有在 1 和 200Da 之间的重量的任何原子或原子团取代。

(57) 摘要

本发明涉及预期用作药物的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物。更具体地, 本发明涉及预期用作药物的具有式 I 的化合物和其药学上可接受的

CN 102355897 B

1. 式 I 的化合物: 顺式 $\text{COONa-XCH-(CH}_2)_a\text{-CH=CH-(CH}_2)_b\text{-CH}_3$, 其中 (a) 和 (b) 可以具有在 0 和 14 之间的任何值, 且 (X) 是具有在 4 和 200Da 之间的原子量 / 分子量的任何原子或原子团, (X) 选自: 醇、有机酸、烷基、氨基、卤素、卤代烷、烷氧基和巯基。

2. 根据权利要求 1 所述的式 I 的化合物, 其选自: α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠、 α -乙酰基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠、 α -甲氧基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠或 α -二乙基-磷脂酰基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的式 I 的化合物, 其用作药物。

4. 根据权利要求 3 所述的式 I 的化合物, 用于预防和 / 或治疗癌症、血管病变、肥胖症、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程或传染性病变。

5. 根据权利要求 3 所述的式 I 的化合物, 用于诱导神经再生、预防和 / 或治疗神经纤维损伤和 / 或预防和 / 或治疗疼痛。

6. 根据权利要求 3 所述的式 I 的化合物, 其中所述化合物为 α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠, 其与白蛋白组合用于诱导神经再生、预防和 / 或治疗神经纤维损伤和 / 或预防和 / 或治疗疼痛。

7. 根据权利要求 3 所述的式 I 的化合物, 其中所述化合物为 α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠, 其用于预防和 / 或治疗癌症、肥胖症或高血压。

8. 根据权利要求 3 所述的式 I 的化合物, 其中所述化合物为 α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠, 其与选自以下的至少另一种化合物组合用于预防和 / 或治疗癌症: 替莫唑胺、厄洛替尼、吉西他滨和顺铂。

9. 药物和 / 或营养物组合物, 其包含权利要求 1 或 2 所述的化合物。

10. 根据权利要求 9 所述的药物和 / 或营养物组合物, 其包含 α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠、 α -乙酰基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠、 α -甲氧基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠、 α -二乙基-磷脂酰基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠或其组合。

11. 根据权利要求 9 所述的药物和 / 或营养物组合物, 其包含 α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸钠和选自以下的至少另一种具有治疗活性的化合物: 替莫唑胺、厄洛替尼、吉西他滨和顺铂。

用作药物的顺式单不饱和脂肪酸的 α - 衍生物

发明领域

[0001] 本发明涉及式 I 的顺式单不饱和的脂肪酸的药学上可接受的 α - 衍生物、它们的盐或衍生物（参见发明描述），它们被用作药物，优选地用于预防和 / 或治疗以下疾病，其中潜在的病因基于细胞膜中的脂质的变化（由于任何原因），例如，诸如脂质的水平、组成或结构的变化。本发明还涉及它们用于其中膜的脂质组成和结构的调节引起病理状态的逆转的病变的用途。此外，在本发明中，不包括其中 (X) 由 OH、NH₂ 或 CH₃ 取代且 (R) 由 H 取代的式 I 的化合物在人类中用于预防和治疗心血管疾病和肥胖症以及用于治疗肺癌、脑癌或前列腺癌用途。

[0002] 因此，由于本发明具有宽的应用范围，其可以被包括在药物和药学的一般领域中。

背景技术

[0003] 细胞膜是界定细胞实体和细胞包含的细胞器实体的结构。大部分生物学过程在膜中或在膜附近发生，且它们的组成脂质不仅具有结构作用而且调节重要过程的活性。此外，调节膜的脂质组成还影响在控制细胞生理学中参与的重要蛋白诸如蛋白 -G 和 PKC 的位置和功能 (Escribá 等人, 1995 ; 1997 ; Yang 等人 ; 2005 ; Martínez 等人, 2005)。这些和其他研究证明了脂质在控制重要的细胞功能上的重要性。实际上，包括癌症、心血管病变、神经变性过程、肥胖症、代谢障碍、炎症、传染病和自身免疫病的许多人类疾病与存在于生物膜中的脂质的水平的变化或脂质的组成的变化有关。另外的证据由用脂肪酸治疗的有益效果来提供，所述脂肪酸不同于调节膜脂质的组成和结构的本发明的脂肪酸，本发明中它们被用来使这些疾病逆转 (Escribá, 2006)。

[0004] 在饮食中被摄取的脂质调节细胞膜的脂质组成 (Alemany 等人, 2007)。并且，各种生理和病理状态可以改变存在于细胞膜中的脂质 (Buda 等人, 1994 ; Escribá, 2006)。膜的脂质组成的变化影响细胞信号传导，潜在地导致疾病发展或逆转疾病进展 (Escribá, 2006)。在食物中摄取的饱和脂肪酸对膜的组成和结构具有一些负面效果，可以导致各种病变，例如癌症、代谢病变（糖尿病、高胆固醇血症、高甘油三酯血症等）、肥胖症、心脏病和血管疾病、炎症、神经变性过程等。该理论还将解释由诸如变性菜籽油的其它脂肪引起的变化，变性菜籽油在许多病例中曾经造成具有破坏性后果的中毒综合征，导致永久的丧失工作能力和死亡。相反，具有有益健康效果的那些脂质对所有细胞是有益的，且因此，可以作用于多个病理过程，这意味着本发明的脂肪酸具有宽的治疗范围。

[0005] 另外，包括调节膜脂质的结构和 / 或功能的疗法可以被应用于其中这些脂质并不显示显著变化但由于对它们进行的干预（通过药物或营养物方式）而调节细胞功能从而使病态过程逆转的病变。

[0006] 近年来进行的各种研究已经表明，膜脂质具有比迄今已经知晓的重要得多的作用 (Escribá 等人, 2008)。该重要性的实例在温度变化的江中生活的鱼中示出，其中，当温度从 20°C（夏天）下降到 4°C（冬天）时，鱼的脂质经历显著的变化（在膜组成方面和在脂质类型方面）(Buda 等人 1994)。这些研究证明，膜脂质的变化引起一连串细胞功能的协调

变化以维持合适的细胞生理学。在可变温度的水中生活的鱼的情形中,调节膜脂质允许维持完全不同的细胞类型的功能。因此,可以说,膜脂质可以决定多种细胞信号传导机制的或好或差的运行。

[0007] 假定患病的生物体由于其细胞患病而患病,那么膜脂质的变化可以导致疾病的发生。类似地,涉及调节膜脂质水平的治疗的、营养的或局部的 / 化妆的干预可以预防或逆转(治愈)病理过程。另外,许多研究已经表明,饱和脂肪和反式-单不饱和脂肪的消耗与健康恶化有关。血管疾病和其他疾病以及肿瘤直接地与这些类型的脂质有关(Stender 和 Dyerberg, 2004)。生物体的恶化表现在这些和其他类型的疾病的表现上。从这个意义上说,消耗具体类型的脂质具有明显地正面或负面效果。一方面,如上所述的,饱和脂肪酸或反式-不饱和脂肪酸对许多生理参数具有负面效果,牵连脂质变化,导致许多病变,例如,诸如代谢病变(高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病、代谢综合征等)、癌症、心血管病变、炎症等。相反,顺式单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸与这些疾病的预防或从这些疾病恢复有关。所有这些结果清楚地表明,脂质变化可以对细胞生理学造成有害的变化,且膜的组成和脂质结构的调节可以通过某些细胞功能的协同调节来逆转这些负面变化。

[0008] 因此,膜的组成和结构的变化与许多病变的病因有关,且在许多情形中,特定疾病的表现是由于这些变化与影响特定蛋白的其他变化的组合,该特定蛋白对膜有影响并被包括在与它们相互作用的其他蛋白的信号序列中。因此,通过由本发明涵盖的分子对生物膜的结构和功能进行干预,可以有效地改变某些细胞的功能,最终结果是逆转具体病态过程。考虑到存在于细胞膜中的脂质的结构和功能的变化两者对各种类型的不同疾病的发展的已知关系,但与该病因单一地相关,本发明集中在用于治疗 and / 或预防这些疾病的顺式单不饱和脂肪酸的药学上可接受的 α -衍生物、它们的盐和衍生物上。令人惊讶地是,本发明中显示,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以成功地用于调节细胞信号传导、预防重大疾病的出现或引起从重大疾病恢复。

[0009] 专利 W02005041691 和 W02003030891 基本上涉及预防和治疗心血管疾病(例如,高血压)和肥胖症,且涉及借助于使用具有顺式或反式构型的式 $\text{COOH-CHR}-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$ 的化合物来治疗肺癌、脑癌或前列腺癌,其中 R 基团可以由 H、OH、 NH_2 或 CH_3 或具有小于 200Da 的分子量的其他基团取代,且其中羧基具有氢原子(H)。然而,专利 W02005041691 和 W02003030891 的文件并不涉及这些相同的化合物在预防癌症和 / 或在预防和 / 或治疗皮肤病变、神经变性病变、神经纤维损伤、疼痛、炎症过程、传染性病变或诸如高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病或代谢综合征的代谢病变中的用途。此外,这些专利也没有提及除了其中位置 R(本发明中的 X)可以由诸如 F、 F_3C 、HS 或 O-CH_3 的不同基团取代的该式化合物之外的该式化合物在预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程和传染性病变中的用途。并且,这些专利也没有披露除了其中位置 R(本发明中的 X)可以由例如诸如 OH、 NH_2 、 CH_3 、F、 F_3C 、HS、 O-CH_3 、 $\text{PO}_4(\text{CH}_2-\text{CH}_3)_2$ 或 CH_3COO 的不同基团取代且羧基(本发明中的 R)的位置 H 可以由例如诸如钠(Na)、甲酯(OMe)、乙酯(EE)或氨(NH_3)的不同基团取代的该式化合物之外的该式化合物在预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程和传染性病变中的用途。并且,这些专利也没有披露除了其中位置 R(本发明中的 X)可以由例如诸如 $\text{PO}_4(\text{CH}_2-\text{CH}_3)_2$ 或 CH_3COO 的不同基团取代且羧基(本发明中的 R)的位置 H 被保持为 H 的该式化合物之外的该式化

合物在预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程和传染性病变中的用途。最后,现有技术中找到的文件都没有披露除了其中位置 R(本发明中的 X) 可以由例如诸如 OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O-CH₃、PO₄(CH₂-CH₃)₂ 或 CH₃COO 的不同基团取代且羧基(本发明中的 R) 的位置 H 可以由例如诸如 H、钠 (Na)、甲酯 (OMe)、乙酯 (EE) 或氨 (NH₃) 的不同基团取代的该式化合物之外的该式化合物在诱导神经再生、预防和 / 或治疗神经纤维损伤和 / 或预防和 / 或治疗疼痛中的用途。

[0010] 因而,在本发明中证明了具有顺式构型的异构体的更高效力,且已经选择新的基团,以产生成功地用于预防和 / 或治疗其中一般病因基于细胞膜中存在的脂质的结构和 / 或功能变化的疾病的化合物,所述疾病例如:癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、神经纤维损伤、疼痛、炎症过程、HIV 和疟疾。此外,如先前所提及的,本发明证明了专利 W02005041691 和 W02003030891 中披露的化合物的新用途,所述新用途是:预防和治疗各种类型的癌症、皮肤病变、神经变性病变、炎症过程、传染性病变、神经纤维损伤和疼痛。并且,新的衍生物、以及本发明分子与其他活性成分和赋形剂的组合已经被发现,在两种情形下,具有用于治疗一些病变的更高的药物效力。

[0011] 对于本发明中所要求保护的用途,现有技术中找到的文件都没有涉及顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物和它们的盐与其他活性成分和赋形剂组合治疗的具体用途。此外,在本发明中证明了选择具有顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物的共有结构特征(顺式位置的双键,以及在 α -碳和羧基质子以及药学上可接受的相关结构上的特定取代)的化合物的特别重要性,使得这些可以被有效地应用于治疗其中病因与膜脂质中的结构和 / 或功能变化有关的疾病。因此,本发明示出了比较实施例,其中证明了类似于本发明中使用的化合物但没有共享这些结构特征的其他化合物不如本发明的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物那么有效。

[0012] 发明描述

[0013] 本发明涉及顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物和它们的盐或药学上可接受的形式,它们被用作药物,优选地用于治疗 and / 或预防与涉及膜脂质中的结构或功能变化的病因有关的疾病。不包括其中 (X) 由 OH、NH₂ 或 CH₃ 取代且 (R) 由 H 取代的式 I 的化合物在人类中用于预防和/或治疗心血管疾病和肥胖症以及用于治疗肺癌、脑癌或前列腺癌的用途。

[0014] 由它们的一般病因关联且借助于使用本发明的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物来预防或治疗的疾病或病变为,例如:

[0015] ● 癌症(参见表 2):前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、白血病、子宫颈癌、结肠癌、脑癌、肺癌。

[0016] ● 血管病变:动脉硬化、心肌病、血管生成、心肌增生和高血压。

[0017] ● 皮肤病变:脂肪团 (cellulite)、白癜风和银屑病。

[0018] ● 代谢病变:高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病、代谢综合征和肥胖症。

[0019] ● 神经变性病变:阿尔茨海默病、帕金森病和硬化。

[0020] ● 导致疼痛的炎症过程、心血管疾病、全身性疾病、老化、呼吸疾病和类风湿性关节炎。

[0021] ● 传染性病变:AIDS 和疟疾。

[0022] ● 神经纤维损伤:与神经元损伤有关的病变、带有或不带有皮质脊髓束功能障碍

或锥体外系运动麻痹的随意运动功能异常、由有或没有中枢敏化组成部分的脊髓损伤引起的痉挛状态等。因此本发明的化合物可有效诱导神经再生。

[0023] ●由对中枢神经系统的损伤引起的疼痛：需要痛觉缺失的过程、神经性疼痛、伤害性知觉的变化等。

[0024] 用于该目的的在本发明中使用的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物（下文称为本发明的脂肪酸）属于表 1 中示出的结构基团 1，并属于表 5 的化合物，且由以下通式 (I) 来表征：

[0025] 顺式 $-\text{COOR}-\text{XCH}-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_b-\text{CH}_3$

[0026] 式 I

[0027] 其中 (a) 和 (b) 可以采用在 0 和 14 之间的任何值，键合至 α -碳原子的 (X) 可以由具有在 4 和 200Da 之间的原子量 / 分子量的任何原子或原子团取代，且 (R) 可以由具有在 1 和 200Da 之间的原子量 / 分子量的任何原子或原子团取代，(X) 和 (R) 两者选自例如：醇、有机酸、烷基、氨基、卤素、卤代烷、烷氧基和巯基。

[0028] 在本发明的一个具体实施方式中，基团 (X) 可以由选自以下的基团取代： OH 、 NH_2 、 CH_3 、 F 、 F_3C 、 HS 、 $\text{O}-\text{CH}_3$ 、 PO_4 、 $(\text{CH}_2-\text{CH}_3)_2$ 和 CH_3COO 。

[0029] 在本发明的另一个具体实施方式中，基团 (R) 可以由以下基团取代： H 、钠 (Na)、甲酯 (OMe)、乙酯 (EE)、氨 (NH_3) 和产生式 I 的化合物的盐或药学上可接受的形式任何其他基团。

[0030] 对于该结构的有效功能，顺式构型中的双键 (=) 和 α -碳上的这些取代是必要的。用类似于式 I 中描述的那些分子但没有 α -碳原子上的取代 (X 为氢原子)、具有反式双键或没有双键 (饱和脂肪酸) 的分子进行的试验，显示出相对于由本发明的脂肪酸显示的预防或治疗活性的更低的预防或治疗活性。

[0031] 已经研究了本发明的分子的不同盐 (表 5)。它们的效力在一些情形中显著超过游离脂肪酸的效力。该效果可能是由于化合物的吸收或分布方面的改善。因此，羧基 (R) 的氢的取代在本发明中已经被证明为产生显示出比游离脂肪酸本身的活性更好的药学上活性的某些盐或衍生物。例如，R 由 Na 取代的钠盐比 R 由 H 取代的形式诱导更大的肿瘤体积减少，使得钠盐将是用于制备用来预防或治疗癌症的药物或营养物组合物的优选选择中的一种。

[0032] 在将信息传播至细胞内部中涉及的某些周围信号传导蛋白可以被锚定在表面的包装是松散的区域中 (图 1)。为顺式构型不饱和的且具有在 α -碳上的不同于由 H 取代的脂肪酸，位于膜中 (或以它们的游离形式或形成诸如磷脂的更大结构的一部分)，造成存在于可以结合蛋白 -G、PKC 和 Ras- 型蛋白的细胞屏障的表面上的磷脂的极性头部的包装的不连续性。相反，饱和脂肪酸或反式-单不饱和脂肪酸阻止这些蛋白附接于膜，干扰细胞信号传导。这并不意味着饱和脂肪酸必须从饮食中去除，除非在具有平均达到高发展水平的国家中存在于标准饮食中的这些脂质的消耗水平高于细胞适当地执行它们的功能所需的水平。实际上，在膜中存在的各种脂微区 (例如，脂筏 (lipid raft)) 是时空平台 (spaciotemporal platform)，其中对这些结构域具有亲和力的蛋白 (基于蛋白-脂质相互作用) 可以聚集且可以具有使细胞信号传播的生产性的相互作用。这些结构域的密度或结构的任何变化对细胞信号传导具有影响，使得导致膜脂质的调节的药物和营养物干预相比

于直接靶向蛋白或核酸的那些药物和营养物干预,可以更有效或更低效。

[0033] 由本发明的脂肪酸提供的广谱的治疗应用通过各种现象来证明。首先,摄取具有负面效果的脂质(饱和的和反式-单不饱和的脂肪)或具有正面效果的脂质(顺式-单不饱和的脂肪)以相似的方式影响生物体中所有的细胞,使得它们的负面效果和正面效果以许多方式示出:诱导或减少肥胖症、高血压、癌症等。当摄取特定类型的脂质时,该脂质被分布遍及生物体并引起所有器官的细胞膜中的脂质物质的调节。由于特定的生理学过程或病理过程(例如,变温鱼对冷水环境的适应)的脂质水平的变化实际上影响生物体的所有细胞(Buda 等人,1994)。最后,脂肪酸可以被储存或降解以产生能量。实际上,这些分子是优越的细胞燃料,使得未改性的脂肪酸的直接使用对健康具有适度的影响。然而,通过引入对 α -碳原子的改性来阻碍这些分子的降解,使这些分子在细胞质中和在膜中都存留长时间,从而使它们具有治疗作用。从这个意义上说,已经表明,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物在被注入后一小时的血浆水平被维持在高水平(初始水平的50-60%),然而,天然脂肪酸在该期间之后实际上已经消失(2-4%的水平)。因此,本发明中使用的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物引起宽范围的正面效果而没有可观察到的副作用。为了证明仅仅处于顺式构象的不饱和的并在 α -碳上用不同于H的原子取代且没有其他相似结构的脂肪酸,以各种水平具有治疗性质,在本发明中测试了属于不同的结构基团(1-4)的不同类型的脂肪酸(参见表1):顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物(本发明的脂肪酸)(1),具有顺式构型的双键但在 α -碳上没有不同于H的改性的脂肪酸(2),具有由不同于H的基团取代的 α -碳但没有顺式构型的双键的脂肪酸(3),没有顺式构型的双键且在 α -碳上没有不同于H的取代的脂肪酸(4)。

[0034] 这些分子的作用机理(基于生物膜的组成和结构的调节)不同于用于治疗人类病变的大部分药物(基于与蛋白的相互作用(在大部分情形下),或基于核酸的相互作用)。因此,它们可以用于组合疗法,在组合疗法中除了至少另一种分子(活性成分和/或赋形剂)之外还使用本发明的化合物中的一种,且组合疗法可以比仅使用化合物中的一种的单一疗法有效得多。在本发明中,证明了例如,与所研究的抗肿瘤药物(替莫唑胺、厄洛替尼、吉西他滨、顺铂)中的任一种组合的OHOD比单独使用的化合物中的任一种具有更好的治疗效果。

[0035] 由本发明的脂肪酸提供的广谱治疗应用允许一般的假设:具有顺式单不饱和的结构脂质赋予特定的结构性能,允许在这些膜中进行的和由这些膜进行的过程的适当活性。换句话说,本发明的脂肪酸可以有效地用于预防和/或治疗任何疾病,其中病因与生物膜脂质的水平、组成、结构的变化或任何其他类型变化有关或与由于存在于生物膜中的脂质的这些变化引起的细胞信号传导的改变调节有关。

[0036] 因此,本发明涉及独立地或与其他化合物组合地用作人类和动物的药物的式I的化合物:药学上可接受的顺式 $\text{COOR-XCH}-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_b-\text{CH}_3$ 、其盐和其衍生物,其中(a)和(b)可以采用在0和14之间的任何值,(X)可以由具有在4和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代,且(R)可以由具有在1和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代,(X)和(R)两者选自:醇、有机酸、烷基、氨基、卤素、卤代烷、烷氧基和巯基;不包括用于预防和治疗心血管疾病和肥胖症以及用于治疗肺癌、脑癌和前列腺癌的其中(R)为H且(X)由OH、 NH_2 或 CH_3 取代的式I的化合物。

[0037] 在一个优选的实施方式中,在式 I 中 (X) 由选自以下的基团取代:OH、NH₂ 和 CH₃,且 (R) 由 H 取代,产生了用于预防癌症和 / 或用于预防和 / 或治疗皮肤病变、神经变性病变、炎症过程、传染性病变或诸如高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病或代谢综合征的代谢病变的化合物。

[0038] 在另一个优选的实施方式中,在式 I 中 (X) 由选自以下的基团取代:F、F₃C、HS 和 O-CH₃,且 (R) 由 H 取代,产生了用于预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程和传染性病变的化合物。

[0039] 在另一个优选的实施方式中,在式 I 中 (X) 由选自以下的基团取代:OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O-CH₃、PO₄(CH₂-CH₃)₂ 和 CH₃COO,且 (R) 可以由钠 (Na)、甲酯 (OMe)、乙酯 (EE) 或氨 (NH₃) 取代,产生了用于预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程和传染性病变的化合物。

[0040] 在另一个优选的实施方式中,在式 I 中 (X) 由选自以下的基团取代:PO₄(CH₂-CH₃)₂ 和 CH₃COO 且 (R) 由 H 取代,产生了用于预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程和传染性病变的化合物。

[0041] 在另一个优选的实施方式中,在式 I 中 (X) 由选自以下的基团取代:OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O-CH₃、PO₄(CH₂-CH₃)₂ 和 CH₃COO,且 (R) 由选自以下的基团取代:H、钠 (Na)、甲酯 (OMe)、乙酯 (EE) 或氨 (NH₃),用于诱导神经再生、预防和 / 或治疗神经纤维损伤和 / 或预防和 / 或治疗疼痛。

[0042] 在另一个优选的实施方式中,式 I 的化合物为:OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHOD11、OHEE、OHDE、Na-OHOD、OMe-OHOD、EE-OHOD、NH₃-OHOD、ACOD、Na-ACOD、OMe-ACOD、EE-ACOD、Na-MOOD、OMe-MOOD、EE-MOOD、DEPOD、Na-DEPOD、OMe-DEPOD 和 EE-DEPOD。

[0043] 如前所述,化合物可与其他活性成分或赋形剂组合使用以产生可用于预防和 / 或治疗癌症、血管病变、皮肤病变、代谢病变、神经变性病变、炎症过程或传染性病变和 / 或用于诱导神经再生、预防和 / 或治疗神经纤维损伤和 / 或预防和 / 或治疗疼痛的药物和 / 或营养物组合物。

[0044] 因此,本发明的脂肪酸可以被独立地施用或被配制在它们与赋形剂组合的药物或营养物组合物中,赋形剂例如,诸如:粘合剂、填料、崩解剂、润滑剂、包被剂 (coater)、甜味剂、调味剂、着色剂、载体等及其组合。并且,本发明的脂肪酸可以与其他活性成分组合形成药物或营养物组合物的一部分。为了本发明的目的,术语营养物被定义为在给食期间或作为食物补充物定期摄取的且用来预防或逆转疾病的化合物,在该情形中疾病的病因与细胞膜的脂质的变化有关联。

[0045] 本发明的脂肪酸的施用可以以上面指出的形式或以例如诸如甲基、乙基、磷酸盐、其他酯类型基团、醚、烷基等的任何药学上可接受的形式通过任何途径来进行,所述途径例如诸如经肠的 (通过消化道)、口服的 (丸剂、胶囊剂、粉剂、乳剂、片剂或糖浆)、直肠的 (栓剂或灌肠剂)、局部的 (乳膏或贴片)、吸入、肠胃外注射、静脉内注射、肌肉注射或皮下注射。

[0046] 因此,本发明还涉及药物和 / 或营养物组合物,该组合物包含:式 I 的化合物,其中 (a) 和 (b) 可以采用在 0 和 14 之间的任何值,(X) 可以由具有在 4 和 200Da 之间的原子量

/分子量的任何原子或原子团取代,且(R)可以由具有在1和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代;和具有治疗或赋形剂活性的至少一种第二化合物。

[0047] 在本发明的一个优选的实施方式中,与本发明的化合物组合配制的赋形剂为白蛋白,例如:卵白蛋白;乳白蛋白;人类、牛、鼠科动物或兔源的天然的或重组白蛋白,更优选地人血清白蛋白或牛血清白蛋白。因此,包含本发明的脂肪酸和白蛋白的组合物有效预防和治疗上面列出的适应症,优选地有效诱导神经再生、预防和/或治疗神经纤维损伤和/或预防和/或治疗疼痛。在一个优选的实施方式中,组合物包含OHOD或其衍生物中的任一种以及白蛋白,衍生物例如诸如Na-OHOD。

[0048] 包含本发明的脂肪酸和其他活性成分的组合物能有效预防和治疗上面列出的适应症,优选地当活性成分为抗癌化合物时有效预防和/或治疗癌症。在一个优选的实施方式中,组合物包含OHOD和/或Na-OHOD以及选自诸如以下的抗癌化合物:替莫唑胺、厄洛替尼、吉西他滨和顺铂。

[0049] 本发明的另一个方面涉及用于改进皮肤外观的非治疗的化妆方法,所述方法包括将有效量的至少一种药学上或化妆上可接受的式I的化合物和/或其盐或衍生物施用在皮肤上,其中(a)和(b)可以采用在0和14之间的任何值,(X)可以由具有在4和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代,且(R)可以由具有在1和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代,选自:醇、有机酸、烷基、氨基、卤素、卤代烷、烷氧基和巯基。

[0050] 最后,本发明涉及一种用于预防和/或治疗处理人类和动物中的疾病的方法,其中一般病因与细胞膜的脂质的结构和/或功能变化有关,所述方法包括向患者独立地或与其他化合物组合地施用治疗有效量的至少一种药学上可接受的式I的化合物、治疗有效量的其盐或衍生物,其中(a)和(b)可以采用在0和14之间的任何值,(X)可以由具有在4和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代,且(R)可以由具有在1和200Da之间的原子量/分子量的任何原子或原子团取代,(X)和(R)两者选自:醇、有机酸、烷基、氨基、卤素、卤代烷、烷氧基和巯基;不包括施用用于预防和/或治疗心血管疾病和肥胖症以及用于治疗肺癌、脑癌和前列腺癌的其中(R)为H且(X)由OH、NH₂或CH₃取代的式I的化合物。

[0051] 为了本发明的目的,术语“治疗有效量”被理解为逆转疾病或预防疾病而不显示出不利的副作用的用量,或根据由药物管理机构定义的标准在引起的这样的效果的情形时它们是可接受的量(基本上其中益处大于造成的损害;例如,恶心事件在患有严重预后的癌症的患者中是可接受的)。

附图说明

[0052] 图1. 细胞信号传导蛋白与细胞膜结合。周围信号蛋白(A、B和C)通过一种或若干种机理结合至膜,所述机理例如与膜脂质的特定相互作用、静电相互作用和/或将疏水区域插入高的非层状特性的区、由顺式单不饱和的脂质介导。因此,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以调节某些膜和细胞信号传导蛋白的相互作用。

[0053] 图2. 各种脂肪酸对抗肿瘤发展的预防性效果。横轴示出用于预防癌症发展的脂肪酸的类型,且纵轴示出肿瘤体积。动物在注射肿瘤细胞之前接受治疗且随后维持治疗。对

照组的动物未被治疗且它们的肿瘤体积被视为参考值(100%)。本发明的脂肪酸(OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHOD11、OHEE和OHDE)比没有在 α -位置处衍生化的顺式单不饱和脂肪酸(EE、DE、HOD、ODO),比具有相同长度的饱和脂肪酸(HD、OD、EO)和不是顺式单不饱和的脂肪酸的 α -衍生物(OHS、tOHOD)具有更显著的效果(在所有的情形下 $p < 0.05$)(参见表1)。

[0054] 图3.

[0055] A. 癌细胞(A549)用各种浓度的OHOD和MOD11来处理以确定效果是否取决于浓度。横轴示出所使用的脂肪酸的 μM 浓度,且纵轴示出未处理的A549细胞的生活力(%对照)。这些细胞用不同的浓度(0-400 μM)的OHOD和MOD11来处理,且细胞的数量通过流式细胞计来确定。两种化合物减少肿瘤细胞的生长,在温育48小时之后显示出在50到100 μM 范围内的 IC_{50} 值(将活细胞的数量减少至50%的浓度)。在所有情形中,200至400 μM 的剂量导致肿瘤细胞的全部消除。

[0056] B. 癌细胞(A549)用在横轴上指出的化合物以150 μM 处理48小时。然后,对细胞进行计数,且细胞的数量和未处理的(对照)百分数在纵轴上呈现。在这些培养物中,用150 μM 的本发明脂肪酸温育导致肿瘤细胞生长受到抑制(在所有的情形下 $p < 0.05$),表明这些是用于治疗癌症的有效分子。

[0057] 图4. 将癌细胞(A549)在不存在(左边)和存在(右边)OHOD(100 μM ,48h)的情况下温育。然后,它们在对钙粘蛋白的抗体的存在下被固定、温育并通过共聚焦显微镜观察。用50 μM OHOD治疗(48h)诱导该蛋白的水平增加 $73.6 \pm 5.4\%$ 。在用本发明的脂肪酸治疗中,观察到钙粘蛋白水平的显著增加。

[0058] 图5. 肺癌细胞(A549)在培养物中不存在(对照,C)或存在50 μM (M50)和100 μM (M100)的OHOD(2-羟基-9-顺式-十八碳烯酸)下和在不同的时间下的侵袭能力。在OHOD存在下培养的肺癌细胞比由未处理的细胞(C)显示的侵袭能力低($p < 0.05$)。这些结果表明本发明的脂肪酸可以用于预防或治疗肿瘤转移的发展。

[0059] 在这些结果的右边的图在纵轴上表示侵袭细胞的数量,并在横轴上表示以小时计的时间。

[0060] 图6. OHOD的不同的盐对动物癌症模型中的人类肺癌的效果。

[0061] A. 接受各种治疗的受SF767人类脑癌细胞感染的裸鼠中的肿瘤的体积(表示为与对照相比的百分数)。动物每天接受媒介物(水:对照)、600mg/kg的以游离脂肪酸形式的OHOD(OHOD)、600mg/kg的OHOD的钠盐(Na-OHOD)或600mg/kg的OHOD的铵盐(NH_3OHOD),持续50天。所有的治疗导致受治疗的动物中的肿瘤的大小显著减小($***p < 0.001$),且用Na-OHOD治疗比用游离脂肪酸OHOD治疗显著更有效($\#p < 0.05$)。

[0062] B. 示出了不同剂量的OHOD的钠盐(Na-OHOD)对受SF767细胞感染并用媒介物(对照,0mg/kg)、100mg/kg(100)、200mg/kg(200)、400mg/kg(400)和600mg/kg(600)治疗50天的小鼠中的肿瘤的体积的影响。 $*p < 0.05$; $***p < 0.001$ 。

[0063] 图7. OHOD的钠盐(Na-OHOD)对动物模型中的各种类型的人类肿瘤的效果。

[0064] A. Na-OHOD(每天600mg/kg,持续50天)对缺乏免疫的小鼠(“裸的”)和受人类白血病细胞(Jurkat细胞)感染的缺乏免疫的小鼠中的肿瘤的体积的影响。

[0065] B. Na-OHOD(每天600mg/kg,持续50天)对用人类前列腺癌细胞(PC3细胞)接种

的裸鼠中的肿瘤的体积的影响。

[0066] C. Na-OHOD(每天 600mg/kg,持续 50 天)对用人类乳腺癌细胞(MDA-MB-231 细胞)接种的裸鼠中的肿瘤的体积的影响。

[0067] D. 同上,用人类结肠癌细胞(HT29 细胞)接种。所有的治疗连续 50 天,且对照动物用媒介物(水)来治疗。 $**p < 0.01$; $***p < 0.001$ 。

[0068] 该图证明了,Na-OHOD 形式(OHOD 的钠盐)在治疗被异物移植入缺乏免疫的小鼠中的以下各种类型的人类癌症中比相应的游离脂肪酸显示出更高的效力:白血病、前列腺癌、乳腺癌和结肠癌。

[0069] 图 8. Na-OHOD(OHOD 的钠盐)和与以下各种药物的组合对模型中的各种类型的人类癌症的效果:替莫唑胺(TMZ)、厄洛替尼、吉西他滨和顺铂(顺式-Pt)。

[0070] A. 在受人类脑癌症(SF767)感染的缺乏免疫的小鼠中用媒介物(对照)、替莫唑胺(TMZ, 80mg/kg)、Na-OHOD(OHOD, 600mg/kg)和 TMZ 加上 Na-OHOD(同时地,以相同剂量)治疗 60 天的效果。

[0071] B. 同上,在受人类肺癌细胞(A549)感染的裸鼠中用 Na-OHOD(OHOD, 600mg/kg)、厄洛替尼(Erlotinib, 40mg/kg)、顺铂(顺式-Pt, 100mg/kg)加上厄洛替尼(OH0 Er)或 Na-OHOD 加上顺铂(OH0 Pt)治疗 60 天的效果。

[0072] C. 同上,在受人类胰腺癌细胞(BXPC3)感染的裸鼠中用 Na-OHOD(OHOD, 600mg/kg)、吉西他滨(Gemcitab, 40mg/kg)或使用相同剂量的 Na-OHOD 加上吉西他滨(OH0 Gem)治疗 60 天的效果。

[0073] Na-OHOD 与这些药物中的任一种的组合显示出产生肿瘤体积的显著减小和比单独给予 Na-OHOD 或单独给予上面指出的抗肿瘤药物中的任一种之后的那些肿瘤显著更小的肿瘤。此外,在用 Na-OHOD 治疗的大部分动物中和在同时地用两种分子治疗的几乎所有的动物中观察到的残余肿瘤由没有再生肿瘤的能力的死细胞组成。因此,可以认为,这些组合疗法能有效治疗被植入到动物中的人类肿瘤。

[0074] 图 9. 在 $200 \mu\text{M}$ 的浓度下温育 48 小时之后各种分子对 A10 主动脉细胞的增殖的效果。所使用的脂肪酸在横轴上显示,且细胞(%对照)的数量在纵轴上显示。所有的细胞在相同的温度、pH 和培养基条件下生长,除了其中的一个烧瓶(不含血清)除去了血清。本发明的脂肪酸在 $200 \mu\text{M}$ 的浓度下诱导细胞增殖的停止(在所有的情形下 $p < 0.05$),该细胞增殖的停止类似于通过除去胎牛血清(其包含许多细胞生长因子)引起的细胞增殖的停止。该结果表明,这些分子中止了心血管细胞的增殖,而不具有毒性效果(细胞数量与不含血清的样品中的细胞数量相同或比其高)。

[0075] 图 10. 各种脂肪酸在预防和治疗 SHR 大鼠中的高血压发展的效果。所使用的脂肪酸在横轴上显示,且动脉压(Hg)在纵轴上显示。用本发明的脂肪酸处理的动物未被观察到发展高血压(在所有的情形下 $p < 0.05$),而未处理的动物或用不具有式 I 中显示的结构脂肪酸处理的动物发展高血压。

[0076] 图 11. OHOD 对在 SHR 大鼠的主动脉中由去甲肾上腺素(NA)诱导的收缩响应的影响。NA 的对数在横轴上显示,且浓度(g)在纵轴上显示。主动脉用 OHOD(实心圆)或媒介物(空心圆)在 37°C 器官浴中在具有氧气的格林介质中处理 60 分钟。该图表明,由去甲肾上腺素(NA)诱导的收缩响应比用该脂肪酸预处理的大鼠主动脉中的收缩响应大得多

($p < 0.05$)。该结果清楚地表明,血管组织的柔性在本发明的脂肪酸存在下显著增加 ($p < 0.05$)。

[0077] 图 12. 本发明的脂肪酸(在横轴上显示)对小鼠黑色素细胞(B16 细胞,较浅的左边条)中的黑色素的产生和对脂肪细胞(3T3-L1 细胞,较深的右边条)的增殖的影响。该结果是三个独立实验的平均值。从这个意义上说,100 μ M 浓度的这些化合物处理 48 小时导致 B16 细胞的黑色素含量降低(在所有的情形下 $p < 0.05$)。并且,具有式 I 结构的分子抑制 3T3-L1 细胞的生长(脂细胞或脂肪细胞,在所有的情形下 $p < 0.05$),而不具有式 I 结构的分子对脂肪细胞的增殖不具有显著效果。

[0078] 图 13. 从左边到右边的四个条分别显示,用媒介物(对照,第一条)、200mg/kg 的 OHOD(第二条)、400mg/kg 的 OHOD(第三条)和 600mg/kg 的 OHOD(第四条)治疗对胆固醇水平(四条组中的左边)、甘油三酯(四条组中的中间)和葡萄糖(四条组中的右边)的影响。在所有的情形下治疗是口服的并被维持 30 天。所示出的值是在每组 6 个动物中获得的平均值。用 OHOD 治疗被观察到已经造成胆固醇、甘油三酯和葡萄糖的水平显著降低(在所有的情形下 $p < 0.05$)。

[0079] 图 14. 用媒介物(对照)或用本发明的脂肪酸(600mg/kg)治疗对胆固醇、甘油三酯和葡萄糖的水平的影响。所示出的值是在 6 个动物中获得的值的平均值。三条每组表示用不同的脂肪酸治疗,且左边条对应于胆固醇,中间条对应于甘油三酯,且右边条对应于葡萄糖。具有式 I 结构的脂肪酸被观察到造成三个参数的显著降低 ($p < 0.05$),而不具有式 I 结构的相似分子并不具有有效治疗诸如高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病和代谢综合征的代谢病变的效果。

[0080] 图 15. 具有阿尔茨海默病的小鼠的认知指数。对于该研究,使用具有与造成人类中的阿尔茨海默病的突变相同的一系列突变并显示出该疾病的神经学和认知病症的六个月大的小鼠(Jackson Laboratories-Charles River)。条对应于认知指数值,认知指数值被确定为在米勒旋臂迷宫测试中获得的结果的平均值。在米勒测试中,在学习之前用于找到平台的时间除以在学习之后用于找到平台的时间被测量并被表示为 100%。在该测试中,用媒介物(水,对照)治疗的动物花费的时间被视为 100%。该参数的值越高对应于在学习之后找到平台的时间越少,这是由动物的记忆力方面的改进引起的。在旋臂迷宫中,获得了在训练之前直到用刺激物(食物)找到迷宫中的平台的尝试的平均次数除以在训练之后尝试的次数。对照动物的该平均系数被视为 100%,且该参数的增加是由于与动物的记忆容量有关的较少的尝试次数。所使用的脂肪酸在横轴上显示。每组动物($n = 8$)用媒介物(对照)或本发明的脂肪酸(100mg/kg)治疗。在该研究之后,观察到,基于认知参数的改进,本发明的脂肪酸在预防神经变性过程(阿尔茨海默病)的发展方面是高度有效的(在所有的情形下 $p < 0.05$)。

[0081] 图 16.

[0082] A. 在由于挫伤的神经纤维损伤之后(对照)随在转棒(Rotarod)上随意运动(Y 轴)而变的在神经纤维损伤之后 4 到 28 天的运动恢复的变化(X 轴),被表示为相比于在挫伤之前获得的每组的对照(100%) 在设备上花费的时间的百分数。示出了用单独的 10 μ l 盐水(Sa1)、白蛋白-油酸(A1b-0A 4mM)、白蛋白-OHOD(A1b-2OHOD 4mM)治疗的组的结果。

[0083] B. 人类胶质瘤细胞(U118)为中枢神经系统(CMS)的已经失去了它们的分化的星

形胶质细胞（对照）。在 Na-OHOD (200 μ M) 存在下, 胶质瘤细胞分化并向神经胶质表型发展, 生出星形胶质细胞典型的突起 (projection)。该分化行为可以涉及恢复运动行为所需的神经再生过程。这些结果表明, OHOD 和衍生物 (例如, Na-OHOD) 在治疗神经纤维损伤所需的神经再生治疗中是有效的。

[0084] 图 17. 10 μ l 的钠盐水、白蛋白 - 油酸 (Alb-OA-4mM) 和白蛋白 -2- 羟基 - 油酸 (Alb-2OHOA-4mM) 对在中等水平 T8 挫伤下方呈现的胫骨前肌足跖反射 (TA) 的时间总和的影响被表示为初始响应的百分数。该图的 X- 轴表示刺激的次数, 且 Y- 轴表示胫骨前肌反射的整体的增加 (以初始响应的 % 计)。

[0085] 相比于用盐水或用白蛋白 - 油酸治疗的大鼠, 用白蛋白 -OHOD (4mM, 10 μ l, 通过鞘内途径) 治疗的大鼠显示出对在神经纤维损伤之后 28 天的胫骨前肌的足跖逃避反射的时间总和的更大的抑制。这些结果表明白蛋白 -OHOD 复合物在治疗急性疼痛和慢性疼痛方面是高度有效的。

[0086] 图 18. 在不存在 (对照) 或存在细菌脂多糖 (LPS) 时进行促炎症处理时人类单核细胞中的白介素 6 IL-6 (左边条) 和转录因子 TNF- α (右边条) 的水平。用 LPS 处理的细胞在不存在 (对照 +LPS) 或存在横轴上示出的各种脂肪酸下被培养。在细胞炎症模型 (在用细菌脂多糖 LPS 刺激的培养物中的 U937 单核细胞) 中, 本发明的脂肪酸 (250 μ M, 72h) 显著地抑制大部分重要的促炎症细胞因子的表达 (IL-6 和 TNF- α , $p < 0.05$)。

[0087] 图 19.

[0088] A. 各种脂肪酸抑制环加氧酶 -1 (COX-1) (Cayman COX-1 抑制剂筛分系统) 的活性的效果。横轴示出所使用的脂肪酸的类型, 且纵轴示出 COX-1 活性 (对照的 %)。细胞培养物 (U937 分化的单核细胞) 用本发明的脂肪酸处理 (250 μ M, 6 小时)。纵轴示出治疗之后的 COX-1 活性。观察到本发明的脂肪酸 (OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHOD11、OHEE 和 OHDE) 比在 α - 位置处没有衍生化的顺式单不饱和脂肪酸 (EE、DE、HOD、ODO)、比具有相同长度的饱和脂肪酸 (HD、OD、EO) 和不是顺式单不饱和的脂肪酸的 α - 衍生物 (OHS、tOHOD) 具有更显著的效果 (在所有的情形下 $p < 0.05$)。

[0089] B. 各种脂肪酸抑制环加氧酶 -2 (COX-2 的免疫印迹) 的 (蛋白的浓度) 的效果。横轴示出所使用的脂肪酸的类型, 且纵轴示出 COX-2 的细胞浓度 (对照的 %)。细胞培养物 (U937 分化的单核细胞) 用本发明的脂肪酸处理 (250 μ M, 6 小时)。观察到本发明的脂肪酸 (OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHOD11、OHEE 和 OHDE) 比在 α - 位置处没有衍生化的顺式单不饱和脂肪酸 (EE、DE、HOD、ODO)、比具有相同长度的饱和脂肪酸 (HD、OD、EO) 和不是顺式单不饱和的脂肪酸的 α - 衍生物 (OHS、tOHOD) 具有更显著的效果 (在所有的情形下 $p < 0.05$)。

[0090] 图 20. 通过差示扫描量热法测量的二反油酰基磷脂酰乙醇胺 (dielaidoyl phosphatidylethanolamine) (DEPE) 的模型膜中的片状六角相变温度。所使用的脂肪酸在横轴上显示, 且温度在纵轴上显示。该转变温度的变化越大, 调节诸如围绕人类细胞或 AIDS 病毒的膜的膜的结构的能力越高。本发明的脂肪酸 (脂肪酸 : DEPE 的比例为 1 : 20, mol : mol) 引起片状六角转变温度显著降低 (在所有的情形下 $p < 0.05$)。

[0091] 图 21.

[0092] A. 表示本发明的脂肪酸对“膜筏”的效果的实例。在不存在 (左边) 或存在 (右

边)OHOD 下的鞘磷脂 / 磷脂酰胆碱 / 胆固醇 (膜筏模型) 的模型膜。该脂肪酸的存在引起由膜筏占据的表面和它们的平均大小减小。

[0093] B. 该图示出在鞘磷脂 / 磷脂酰胆碱 / 胆固醇膜中, 相比于 Ld 区域 (膜的无序片状区域; 100% 的值被指派给对照膜) 的各种脂肪酸对膜筏 (或膜的有序片状区域, Lo, 左列) 的总表面积的影响的定量以及膜筏的平均大小 (平均直径) (右列)。本发明的脂肪酸通过干预引起和放大病毒感染所需的病毒-细胞相互作用来调节“脂筏”的结构。

[0094] 图 22. 用在 100 μ M 浓度的各种脂肪酸 (横轴) 处理 48 小时之后 A549 细胞中的 DHFR (二氢叶酸还原酶) 的水平。本发明的脂肪酸引起该酶非常显著地减少, 所以它们在预防和 / 或治疗疟疾和其他传染性过程方面具有显著的活性。

[0095] 表 1

[0096]

脂肪酸	系列	缩写	结构基团	(a), (b)	(X)
α -羟基-顺式- Δ 9-十六碳烯酸	16: 1	OHHD	1	4, 7	OH
α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	OHOD	1	6, 7	OH
α -甲基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	MOD	1	6, 7	CH ₃
α -氨基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	AOD	1	6, 7	NH ₂
α -氟代-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	FOD	1	6, 7	F
α -三氟甲基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	TFMOD	1	6, 7	F ₃ C
α -甲氧基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	MOOD	1	6, 7	O-CH ₃
α -巯基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸	18: 1	SHOD	1	6, 7	HS
α -甲基-顺式- Δ 11-十八碳烯酸	18: 1	MOD11	1	4, 9	CH ₃
α -羟基-顺式- Δ 11-十八碳烯酸	18: 1	OHOD11	1	4, 9	OH
α -羟基-顺式- Δ 11-二十碳烯酸	20: 1	OHEE	1	6, 9	OH
α -羟基-顺式- Δ 13-二十二碳烯酸	22: 1	OHDE	1	6, 11	OH
顺式-二十碳烯酸	20: 1	EE	2	6, 9	-
顺式-二十二碳烯酸	22: 1	DE	2	6, 11	-
α -羟基-十八烷酸	18: 0	OHS	3	-	OH
[0097]					
反式-十六碳烯酸	16: 1	HD	2	4, 7	-
反式-十八碳烯酸	18: 1	OD	4	6, 7	-
花生酸	20: 0	EO	4	-	-
十六烷酸	16: 0	HDO	4	-	-
十八烷酸	18: 0	ODO	4	-	-
α -羟基-反式-十八碳烯酸	18: 1	tOHOD	3	6, 7	OH

[0098] (1) 顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物 (本发明的脂肪酸)。

- [0099] (2) 具有顺式构型的双键但没有 α -碳上的改性的脂肪酸。
[0100] (3) 具有改性的 α -碳但没有顺式构型的双键的脂肪酸。
[0101] (4) 没有顺式构型的双键且没有 α -碳上的改性的脂肪酸。

实施例

[0102] 实施例 1 本发明的脂肪酸和它们的盐用于预防和 / 或治疗癌症的用途。

[0103] 为了确定本发明的脂肪酸在预防肿瘤过程的发展中是否具有应用,使用动物癌症模型。该模型由缺乏免疫的动物 ([Cr1 :Nu(Ico)-Fox1] 裸鼠,组成,其中将非小红细胞人类肺癌细胞注射入该裸鼠中 (5×10^6 A549 细胞每动物)。对照组 (受癌细胞感染但未被治疗) 在几天之后开始发展可见的肿瘤。在移植肿瘤之后第 10 天首次测量肿瘤的大小,且测量持续直到在植入有数字卡尺之后第 31 天。肿瘤的体积用下面的方程式来计算:

$$[0104] \quad v = w^2 \times l / 2$$

[0105] 其中 v 是肿瘤的体积, w 是肿瘤的宽度且 l 是长度。应用对抗癌症发展的预防性治疗。为了进行这些治疗,在注射肿瘤细胞之前,每天施用 400mg/kg,持续 2 个星期。该治疗在植入肿瘤细胞之后持续一个月,并测量动物中的肿瘤的体积。每个实验组由 8 只动物组成。口服施用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物预防癌症发展 (人类肺腺癌的 A549 细胞) (图 2)。然而,施用饱和脂肪酸或反式-单不饱和脂肪酸 (两者为天然的 α -衍生物) 并不会在实验室动物中预防癌症的出现。因此,推断出在脂肪酸的结构中引入顺式构型的双键是脂肪酸预防和治疗癌症发展的关键因素。并且, α -碳上的改性的存在显著地和非常明显地增加通过单不饱和脂肪酸预防和治疗癌症发展的效力 (图 2)。从这个意义上说,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物 (OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHEE 和 OHDE) 比在 α -位置没有衍生化的顺式单不饱和脂肪酸 (EE、DE、HOD、ODO)、具有相同长度的饱和脂肪酸 (HD、OD、EO) 或不是顺式单不饱和的脂肪酸的 α -衍生物 (OHS、tOHOD) 具有更明显的效果 (参见表 1)。

[0106] 并且,一系列顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物被用于研究它们在癌症治疗中的效力。进行了两种类型的实验。首先,研究了抗肿瘤效果对浓度的依赖性。为了进行这些实验,在 37°C 和在 5% CO_2 存在下,将人类肺癌细胞 (A549) 在补充有 10% 胎牛血清白蛋白、10mM Hepes (pH 7.4)、2mM 谷氨酰胺、2g/l 碳酸氢盐、1g/l 葡萄糖、100 单位 /ml 青霉素、0.1mg/ml 链霉素、0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 两性霉素 B 的 RPMI 介质中培养。在第一实验系列中,这些细胞用各种浓度 (0-400 μM) 的 OHOD 和 MOD11 来处理,且细胞的数量通过流式细胞计来确定 (图 3A)。两种化合物减少肿瘤细胞的生长,在温育 48 小时之后显示出在 50 到 100 μM 范围内的 IC_{50} 值 (将活细胞的数量减少至 50% 的浓度)。200 至 400 μM 的剂量导致肿瘤细胞的全部消除。在第二系列中,以单一浓度 (150 μM) 和 48 小时的时间研究对 A549 肺癌细胞的抗肿瘤效力 (图 3B)。在这些培养物中,用 150 μM 的顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物温育导致抑制肿瘤细胞生长,表明这些 α -衍生物是用于癌症治疗的有效分子。具有 α -碳上的衍生物 (独立地具有改性的类型) 且具有顺式构型的双键的分子,与上面示出的式一致 (但不是处于反式构型),显示出抗肿瘤效力。相反,缺乏 α -碳上的改性的分子 (EE、DE、HD、OD、EO、HDO、ODO) 并不显示出抗肿瘤效力。同样地,具有反式构型的双键的分子 (tOHOD) 或不具有双键的分子 (OHS、EO、HDO、ODO、OHS) 缺乏抗肿瘤

效力。显然,在先前分子当中,一些分子既缺乏 α -碳上的改性又不具有顺式构型的双键(E0、HDO、ODO)且不具有治疗效果。这些结果表明仅仅具有对应于式 I 的结构的那些脂肪酸是治疗上有效的。

[0107] 在被设计成查明这些分子是否有效治疗不同类型的肿瘤的第二实验系列中,研究了各种浓度的 OHOD 对不同类型的癌症的人类细胞的效果。这些实验按照前面所述的进行,除了 M220 和 HT-29 细胞系在 DMEM 介质中培养且 MDA-MB-231 细胞系在补充有 15% 胎牛血清白蛋白的 Leibowitz L-15 介质中培养之外。发现这些分子具有广谱的作用,所以它们可以用于治疗各种类型的癌症(肺癌、胶质瘤、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、白血病、子宫颈癌、结肠癌等,表 2)。假定这些分子不会引起严重的副作用,可以被口服施用且可以被大量地服用,那么它们可以用作营养物以及药物制剂。当肿瘤过程的本质需要时,应用可以是局部的(将活性产品使用在皮肤上,用于治疗黑色素瘤和具有癌性本质的其他皮肤异常),当进行尝试以矫正美学缺陷时这可以被视为化妆处理(cosmetic treatment)。

[0108] 表 2

[0109]

细胞系	癌症类型	作用机理 ¹	抗肿瘤效果 ²
PC3	前列腺癌	P A	+++
LNcaP	前列腺癌	A	+++
MDA-MB-231	乳腺癌	A	++
M220	胰腺癌	A	++
L-1210	淋巴-白血病	A	+++
Jurkat	淋巴-白血病	A	+++
HL-60	骨髓-白血病	P D A	+++
HeLa	子宫颈癌	A	+++
HT-29	结肠癌	A	++
C-6	Glio-脑癌	P D	+++
SH-SY5Y	成神经细胞瘤	P	+
A549	肺癌	P D	+++
T98G	神经胶质瘤	D	+++
A172	神经胶质瘤	D	++

A118	神经胶质瘤	D	+++
SF-767	神经胶质瘤	D	++
U87-MG	神经胶质瘤	D	+++
SF-268	神经胶质瘤	nd	+++
MCF7	乳腺癌	nd	+++
NCI-H460	肺癌 (CPNM)	nd	+++
IMR90	正常成纤维细胞	nd	-

[0111] ¹P[抗增殖]D[分化]A[细胞凋亡]nd[未检测]

[0112] ²+ [生长抑制], ++ [生长全部停止], +++ [肿瘤细胞全部除去]

[0113] 此外,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物能够诱导钙粘蛋白表达。钙粘蛋白是细胞粘附蛋白。表达钙粘蛋白的细胞常常不被从它们的组织位置转移,因为它们粘附至周围的细胞。丧失合成该蛋白的能力的肿瘤细胞从产生它们的组织迁移到其他身体组织,在其他身体组织中它们可以通过被称为转移的过程发展新的肿瘤病灶。在用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物处理中,观察到钙粘蛋白水平的显著增加(图4)。还在培养板入侵模型(culture plate invasion model)中研究癌细胞的侵袭能力。在该模型中,允许细胞生长,直到它们入侵培养皿的全部底物。然后,刮去培养皿的一个区域,并对在存在和不存在抗转移化合物下在不同时间内入侵该区域的细胞的数量进行计数。如图5示出的,在OHOD存在下培养的肺癌细胞比未处理的细胞的侵袭能力低。这些结果表明顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以用于预防或治疗肿瘤转移的发展。

[0114] 此外,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物阻止血管细胞的增殖(参见下文),这防止形成肿瘤发展所需的血管。因此,这些分子可用作肿瘤抗血管生成剂。

[0115] 本发明中涵盖的分子的一个重要特征是它们可以形成各种类型的盐。图6A和表5示出了顺式单不饱和脂肪酸的各种 α -衍生物和它们的盐的治疗效果。从这个意义上说,或许是由于这些分子的更好的吸收或分布,这些化合物中的一些比由游离脂肪酸形式显示出的更显著的效果,意味着当制备药物或设计用于治疗该疾病的疗法时,这些形式将是优选的。该效果的特异性通过在剂量和这些分子对被植入在动物中的人类肿瘤的体积的影响之间的关系来确定(图6B)。假定Na-OHOD形式(OHOD的钠盐)比相应的游离脂肪酸更有效,那么其抗肿瘤作用在异体移植以下各种类型的人类癌症之后的缺乏免疫的小鼠中进行研究:白血病、前列腺癌、乳腺癌和结肠癌(图7)。

[0116] 假定顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物具有与目前使用的其他抗肿瘤药物的作用机理完全不同的作用机理,那么这些脂肪酸与任何抗肿瘤药物的组合可以产生更高的效力,且它们甚至可以成功治疗受人类癌症感染的动物。图8示出单独的和与替莫唑胺、厄洛替尼、吉西他滨和顺铂组合的Na-OHOD用于治疗在缺乏免疫的小鼠模型中的人类胶质瘤(脑癌)、人类肺癌和人类胰腺癌的效果。在一方面,观察到Na-OHOD比用于人类的癌症治疗的其他药物更有效。在另一方面,Na-OHOD与这些药物中的任一种的

组合引起肿瘤的体积的显著减小和比单独给予 Na-OHOD 或单独给与上面指示的抗肿瘤药物中的任一种之后的肿瘤显著更小的肿瘤。此外,在用 Na-OHOD 治疗的大部分动物中和在同时地用两种分子治疗的几乎所有的动物中观察到的残余肿瘤由没有再生肿瘤的能力的死细胞组成。因此,可以认为,这些组合疗法能有效治疗被植入动物中的人类肿瘤。

[0117] 所有这些信息表明,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以通过它们对肿瘤细胞的直接作用而被用于 (a) 预防和 (b) 治疗癌症。此外,它们是具有广谱的药剂,因为它们阻止各种各样的完全不同类型的肿瘤细胞的生长。因为它们是无毒的,所以它们可以用于处于高风险的群体,例如吸烟者、暴露于可以导致癌症发展的生物学或放射性风险的人们、与不同类型的肿瘤的发展相关的基因异常或躯体异常的携带者等。它们还可以在已经发展一些肿瘤过程的患者中用于预防和治疗转移和血管生成过程。这些分子可以被口服施用且并不显示出明显的毒性效应,所以它们可以用作药物或功能食品。此外,它们在皮肤肿瘤中的使用可以是经由局部途径。

[0118] 实施例 2 本发明的脂肪酸用于预防和 / 或治疗血管细胞增殖以及心脏和血管的其他病变的用途。

[0119] 血管细胞的增殖位于某些病变的基础上,病变例如动脉粥样硬化、心肌病、心肌增生、高血压与其他心脏病变和血管病变以及肿瘤血管生成。为了确定顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物对抗血管细胞的增殖的效力,研究了各种脂肪酸对 A10 细胞的繁殖的影响,A10 细胞是源自于主动脉的正常血管细胞。顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物显示出抑制 A10 血管细胞的过度增殖的高效力。该作用是无毒的,因为细胞的数量在添加化合物之后并不减少,但它们的增殖在包含诱导细胞繁殖的分子的胎牛血清存在下被阻止。对于 A10 细胞的培养,使用补充有胎牛血清的 RPMI 1640 介质,使用先前指出的其他添加剂和条件。将表 1 中列出的脂肪酸添加到使用两个生长对照的培养基中。这些中的第一个缺乏任何脂肪酸,而第二个缺乏脂肪酸和胎牛血清(不含血清)。最后,细胞通过流式细胞计来进行计数。

[0120] 顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物在 200 μ M 的浓度下诱导细胞增殖的停止,该细胞增殖的停止类似于通过除去胎牛血清(其包含许多细胞生长因子)引起的细胞增殖的停止(图 9)。这些数据表明,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物是可以用于通过药物或功能食品来预防和治疗动脉粥样硬化、心肌病、依赖于肿瘤的血管生成、心肌增生、高血压和其他相关病变的分子。

[0121] 相反,不具有双键或双键具有反式构型的脂肪酸在减少 A10 主动脉细胞的增殖方面并不有效。同样地,不具有 α -碳上的改性的脂肪酸对 A10 细胞的增殖不具有显著的效果。相反,具有顺式构型的双键和 α -碳上的改性的脂肪酸产生效果,该效果与被引入到该碳上的基团无关。肿瘤血管生成通过在癌性细胞周围的血管细胞的增殖来介导。因此,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物是可以用于预防向新形成的肿瘤提供营养物的血管的增殖的有效的抗血管生成因子。

[0122] 在另一系列的实验中,研究了各种脂肪酸在预防高血压的出现方面的效力。高血压大鼠(SHR)用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物和其他脂肪酸来治疗(图 10)。SHR 大鼠在生命的第一个月期间是血压正常的,直到达到成熟并获得高血压病状(在 3 和 4 个月

大之间)。为了确定所使用的衍生物是否能够预防高血压的发展,10 个星期大的 SHR 大鼠用各种脂肪酸来处理。动物在该阶段仍然是血压正常的,具有在 130 和 140mmHg 之间的动脉压,这是在处理开始时测量的。以使得平均动脉压在所有的组中是相似的方式将动物分成 8 只动物的实验组(在实验开始时,对于所有的组,平均值在 128 和 132mmHg 之间)。通过以下来进行预防高血压发展的研究:向动物施用每天 200mg/kg 的剂量,持续 10 个星期并在处理结束时测量它们的动脉压。在图 10 中,用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物处理的动物未被观察到发展高血压,而未处理的动物或用不具有式 I 中显示的结构脂肪酸处理的动物发展高血压。该结果明显不同于高血压治疗的效果,因为预防阻止动物在它们的生命中某个时候患上高血压。因此,预防高血压发展避免与该状态相关的所有问题,例如心肌肥厚、心血管意外的风险、缺血(ischemia)等。实际上,相比于高血压动物,在用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物处理的动物中,观察到心脏重量的显著降低(对于本发明中涵盖的化合物,SHR 大鼠的心脏的重量降低在 2%和 7%之间)。高血压动物进行过度的心脏努力来补偿血管系统的阻力以使血液通过,所以它们呈现心肌肥厚。因此,本发明的化合物可以用于治疗与心肌肥厚过程相关的各种病变。

[0123] 在另一个实验中,使用一系列的顺式单不饱和脂肪酸(表 5),再次表明 Na-OHOD 比 OHOD 更有效,表明在 R 位置由钠(Na)取代氢(H)增加了脂肪酸在高血压治疗中的治疗功效。

[0124] 所有这些结果证明了,式 I 中所示的结构最适合用于预防以及用于治疗与心脏和血管的细胞增殖相关的病变两者。这些治疗可以作为药物、营养物或局部/美学制剂来施用。

[0125] 动脉粥样硬化或动脉硬化是以丧失血管的收缩性为特征的病变。该丧失与各种因素有关,在这些因素当中的是在血管管腔上形成沉积物,引起了血管细胞的增殖、血流减少和对神经递质(例如,去甲肾上腺素)的血管收缩的响应和对激素的血管扩张的响应。在器官浴槽中在分离出的大鼠主动脉的研究中,表明,响应于去甲肾上腺素的主动脉肌肉的收缩力在用 OHOD 酸预处理之后非常显著地增加。此外,具有式 I 结构的所有化合物对血管肌肉具有相似的效果。这些结果清楚地表明了这些化合物在预防或治疗动脉粥样硬化和相关病变中的能力。图 11 示出了用 OHOD 体外预处理(器官浴槽)对 SHR 大鼠主动脉的收缩能力的影响。该图示出了由去甲肾上腺素(NA)诱导的收缩能力比在用该脂肪酸预处理的大鼠的主动脉中的收缩能力大得多。该结果清楚地表明,在该化合物存在下,血管组织柔性显著增加($p < 0.05$),证明了顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物在预防和治疗动脉粥样硬化和其他心血管病变中的效用。此外,主动脉收缩响应的改善表明,这些化合物还可以用于维持健康受试者中的血管组织和用于治疗患有心血管病变的患者中的受损血管。

[0126] 实施例 3 本发明的脂肪酸用于预防和/或治疗皮肤病变和相关疾病的用途。

[0127] 黑色素产生的异常引起皮肤色素沉着的异常且在本质上可以是病态的。为了研究顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物在治疗黑变病中的潜在应用,测量了小鼠黑色素细胞(B16 细胞)中的黑色素的产生。细胞用 NaOH 来破裂,且黑色素的浓度通过吸收光谱在 490nm,使用由 Curto 等人先前描述的方法(1999)来确定。100 μ M 浓度的这些化合物持续 48 小时引起 B16 细胞的黑色素含量的降低(图 12)。这些结果表明,具有式 I 结构的顺式

单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以用于治疗与色素沉着病变有关的皮肤病学问题。类似于其他病变的治疗的研究结果,不具有式 I 结构的脂肪酸在调节黑色素含量方面缺乏显著效果(图 12)。

[0128] 图 12 还示出了顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物(100 μ M, 48 小时)对脂肪细胞(3T3-L1 细胞)的增殖的影响。具有式 I 结构的分子抑制 3T3-L1 细胞的生长,而不具有式 I 结构的分子对脂肪细胞的增殖不具有显著影响(图 12)。这些类型的脂细胞可以异常生长或在皮下区域中异常增殖(脂肪细胞的肥大或增生)。该异常生长可以引起各种类型的病理过程,例如肥胖症和蜂窝织炎。

[0129] 本文示出的结果表明顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以用于预防和治疗病变,例如肥胖症、蜂窝织炎、银屑病、皮肤色斑和类似病变。考虑到皮肤和其下面的层的血型学(typology),这些病变中的一些治疗可以局部地进行,所以这些分子可以用作化妆品。这些病变还可以通过药理学制剂和营养物制剂来治疗。

[0130] 实施例 4 本发明的脂肪酸用于预防和/或治疗代谢病变(代谢病变:高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病)和肥胖症的用途。

[0131] 代谢疾病形成以血清或组织中某些分子(胆固醇、甘油三酯、葡萄糖等)的累积或缺乏为特征的一组病变。这些变化通常是与某些酶的行为中或这些蛋白的控制中的错误有关的功能障碍的反映。在最重要的代谢病变中的是高胆固醇血症(高水平的胆固醇)、高甘油三酯血症(高水平的甘油三酯)和糖尿病(高水平的葡萄糖)。这些病变具有高的感染率、发病率和死亡率,所以治疗是首位需要的。从这个意义上说,用 OHOD 治疗导致 Sprague-Dawley 大鼠(300g 的雌性)中的胆固醇、甘油三酯和葡萄糖的水平显著降低(图 13)。对于这些实验,所示出的脂肪酸的剂量(0、200、400 和 600mg/kg)经由口服途径每天被供给。在治疗结束时(30 天),从对照和受治疗的动物中抽取血液($n = 6$),且胆固醇、甘油三酯和葡萄糖的水平使用标准比色法来确定。所观察的效果取决于剂量,表明效果是特异的。

[0132] 在另外的实验中,研究了单一剂量(600mg/kg)的各种分子的效果。在这些研究中,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物显示出对胆固醇、甘油三酯和葡萄糖的减少的显著效果。相反,不具有式 I 中所示结构的分子并不显示出治疗效果(图 13)。从这个意义上说, α -碳上的改性和顺式构型的双键是用于产生上面指出的治疗效果的关键要素。不具有式 I 结构的类似分子并不有效治疗高胆固醇血症、高甘油三酯血症和糖尿病(图 14)。最后,研究了顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物对预防肥胖症的效果。为此,使用由自助饮食引起的大鼠肥胖症的模型,其中高热量食物非常显著地增加动物的重量。有各种实验组(参见表 3),每个实验组由 6 只 250-300g 重量的雌性 Kyoto 大鼠组成。所有的动物接受标准饮食 2 个星期。此外,所述组中的 2 个组接受媒介物的口服预防性预处理,且其他组接受 300mg/kg 的下面指出的脂肪酸。之后,对照组中的一个被维持在标准饮食(瘦的对照),而另一个被供给自助饮食(肥胖的对照)。受治疗的动物组被供给自助饮食。对于所有组,维持预防性预处理。按照这些饮食在两个星期之后,瘦的对照组已经增加它们的体重 16 ± 16 g(平均值),而肥胖的对照组已经增加它们的体重 43 ± 17 g(平均值,统计学上有显著性差异, $p < 0.01$)。用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物治疗的大鼠显示出类似于瘦的对照组的重量增加且显著小于消耗相同饮食

的肥胖的对照组的重量增加 ($p < 0.05$)。因此,相比于接受相同的自助饮食的动物,用这些脂肪酸预处理的动物显示出明显的和统计学上显著的较少重量增加。在上下文中,在一些情形中使用本发明中涵盖的脂肪酸的某些衍生物(盐)导致更好的治疗效果,且胆固醇(CHO)和甘油三酯(TG)的水平降低大于用游离脂肪酸治疗之后所观察到的那些水平降低(表5)。

[0133] 受治疗的动物的重量在统计学上小于肥胖的对照大鼠的重量且与瘦的对照大鼠的重量在统计学上不能区别。这些结果连同预防重量增加(表3)和抑制脂肪细胞发展(图12),表明顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物是用于治疗 and 预防肥胖症的发展的活性分子。应突出的是,在该动物实验系列中(表5),没有预处理,这表明Na-OHOD比OHOD更有效用于治疗肥胖症。并且,用于治疗这些和其他代谢病变的盐和其他药学上可接受的形式两者显示出高的治疗活性,使得它们中的任一种可以被使用或选自显示出最好的药物学安全性的那些形式。

[0134] 表3

[0135]

	初始重量	最终重量
所接受的饮食和预防性治疗		
标准+媒介物治疗 (瘦的对照)	264±21	280±16
自助+媒介物治疗 (肥胖的对照)	265±14	308±17
自助+OHHD 治疗	259±21	275±19*
自助+OHOD 治疗	269±11	284±13*
自助+MOD 治疗	255±12	268±12*
自助+AOD 治疗	249±14	272±15*
自助+FOD 治疗	261±13	279±13*
自助+TFMOD 治疗	262±12	278±14*
自助+MOOD 治疗	251±21	263±22*
自助+SHOD 治疗	254±16	269±16*
自助+MOD11 治疗	257±16	274±18*
自助+OHOD11 治疗	256±10	269±12*
自助+OHDE 治疗	252±9	264±11*
自助+OHDE 治疗	260±12	273±15*
自助+EE 治疗	258±14	301±17‡
自助+DE 治疗	253±11	305±12‡
自助+HDO 治疗	255±15	299±15‡
自助+ODO 治疗	259±19	301±18‡
自助+EO 治疗	262±12	298±12‡
自助+HD 治疗	260±16	309±15‡
自助+OD 治疗	259±14	311±17‡
自助+OHS 治疗	251±10	314±11‡
自助+OHOD 治疗	258±17	312±19‡

[0136] * 显著地低于肥胖的对照 ($p < 0.05$)

[0137] ‡与肥胖的对照在统计学上不能区别 ($p < 0.05$)

[0138] 这些病变中的各种组合产生被称为代谢综合征的过程。在该部分中示出的结果清楚地表明,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物是用于通过药物或营养物制剂预防和治疗高胆固醇血症、高甘油三酯血症、糖尿病、代谢综合征、肥胖症和其他代谢病变的非常活性的分子。

[0139] 实施例 5 本发明的脂肪酸用于预防和 / 或治疗神经变性病变的用途。

[0140] 神经变性过程产生具有各种表现的一系列疾病,但共同的特征是中枢神经系统和 / 或周围神经系统的细胞的变性。这些神经变性过程中的一些,例如阿尔茨海默病或老年痴呆症表示患者的认知能力的显著下降。其他神经变性过程产生运动变化例如帕金森病和各

种类型的硬化。最后,某些神经变性病变可以导致引起失明、听觉问题、定向障碍、情感变化等过程。

[0141] 非常有代表性的神经变性病症的实例是阿尔茨海默病,其中已经观察到老年斑的形成,老年斑由被错误地加工和积聚在细胞和在细胞内部出现的神经丝缠结外部的膜蛋白(例如, β -淀粉样肽)的残余物形成。该过程与膜中的胆固醇代谢变化和随后的胆固醇水平的变化有关(Raid 等人,2007)。实际上,该疾病的发展与其他病变有关,在其他病变中,脂类代谢的变化且更具体地胆固醇代谢的变化已经被描述为例如心血管类型的那些。

[0142] 硬化和其他神经变性过程与“脱髓鞘”有关,“脱髓鞘”的最终结果是神经轴突鞘中脂质的损失,具有电信号的传播过程的随后的变化。髓磷脂是围绕许多神经元的轴突并由神经胶质细胞(Schwann 细胞)的质膜的一连串螺旋膜形成的脂质层。对于这些原因,很明显,脂质在神经变性病变的发展中起到非常重要的作用。

[0143] 假定具有式 I 结构的脂质能够降低胆固醇水平(图 13 和 14),则可以推断它们可以有效治疗神经变性疾病。顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物在研究中被表明为在预防动物模型中的神经变性方面是高度有效的(图 15)。在该研究中使用的转基因小鼠,过度表达 ApoB-100,以类似于阿尔茨海默病的综合征的早期开始(early start)为特征,具有与人类中的神经变性过程中发现的那些显著的认知损失和组织细胞学特征相似的显著的认知损失和组织细胞学特征。在这些动物中,用顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物治疗在动物中产生认知参数的明显的和显著的改善。对于该研究,用口服施用一周 5 次(星期一至星期五)的 100mg/kg 脂肪酸治疗小鼠($n = 8$)6 个月。对照组由以对测试组相似的方式用媒介物(水)治疗的小鼠($n = 8$)组成。为了确定动物的认知能力,使用径向迷宫和米勒测试,且对照动物(未处理的)的认知能力被定义为 100%(Wise 等人,2007;Patil 等人,2006)。用各种类型的脂肪酸治疗的动物的认知能力被表示为在进行这些测试中测量的百分数改进。结果表明,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以通过药物和营养物制剂用于治疗神经变性病变,例如阿尔茨海默病、各种类型的硬化、帕金森病等。

[0144] 实施例 6 本发明的脂肪酸用于预防和/或治疗神经纤维损伤和疼痛的用途。

[0145] 中枢神经系统,次于脂肪组织,包含生物体中的最高量的脂质。由此可以推断出,脂质对于神经元和神经胶质细胞将是非常重要的。在上下文中,本发明中涵盖的脂肪酸可以预防和治疗功能症状,功能症状例如诸如,运动功能损失、由神经纤维损伤引起的神经性疼痛或痉挛状态。为了延长在单独注射化合物之后的 OHOD 和类似脂肪酸的释放,它们被结合到牛血清白蛋白(白蛋白-脂肪酸复合物 A-AG,其中 AG 可以是 OHOD),且观察到运动活动的恢复(图 16)。

[0146] 如图 16A 示出的,相比于用盐水或白蛋白-油酸复合物治疗的动物,大鼠中通过鞘内途径给予的 $10 \mu\text{l}$ 的 4mM 剂量的白蛋白-OHOD 复合物通常增强在神经纤维损伤之后 4 到 28 天的随意运动功能的恢复。这些结果证明,白蛋白-OHOD 复合物在神经纤维损伤的慢性期间在神经再生和神经营养方面有效。该效果可能是由于诱导对重建因神经纤维损伤损失的连接所需的神经突起发芽(neural projection sprouting)引起的。OHOD(钠盐)对 U118 细胞的突起的分化和发射的影响在图 16B 中示出,图 16B 证明了顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物的神经再生和神经营养能力。

[0147] 体内测定也已经证明,施用 A-AG 复合物可以抑制敏感性的变化和感觉运动功能,

所以它可以应用于治疗伤害性知觉的变化和疼痛。特别地,相比于用盐水或用白蛋白-油酸治疗的大鼠,用白蛋白-OHOD(4mM, 10 μ l, 通过鞘内途径)治疗的大鼠在神经纤维损伤之后 28 天显示出对胫骨前肌的足跖逃避反射的时间总和更大的抑制(图 17)。这些结果表明,白蛋白-OHOD 复合物在治疗慢性疼痛方面是高度有效的。

[0148] 因此,所进行的试验表明,包括在本发明中的分子可以用于预防运动麻痹的出现和用于治疗源自于神经纤维损伤的神经性疼痛和痉挛状态。

[0149] 鉴于上面的发现,基于 A-AG 复合物的药物能够治疗神经纤维损伤,尤其是外伤性损伤。

[0150] 在一个具体的实施方式中,白蛋白选自人类、牛、鼠科动物和兔源的天然的或重组白蛋白、或卵白蛋白和乳白蛋白,更优选地,所使用的白蛋白为人血清白蛋白或牛血清白蛋白,例如用于本文件的实施例中。所有这些白蛋白具有相似的结构和功能。例如,比较牛白蛋白和人类白蛋白的序列显示 76% 的氨基酸序列的一致性。当保守变化被考虑在内时,该一致性上升至 88%。

[0151] 对于这些试验,将白蛋白-脂肪酸复合物(A-AG)制备在 2% (w/v) 白蛋白和油酸的溶液中,或将 OHOD 添加至 78mM 的最终浓度。制备 78mM 浓度的溶解于盐水中的 50% 白蛋白-脂肪酸(1 : 1) 溶液。

[0152] 对神经纤维损伤之后的运动恢复的效果可以由对未损伤的神经元的脂质膜的神经营养性效果来解释(例如, Kim 等人, *J. Gen. Physiol.* 2000 ;115(3) :287-304), 尤其是在神经突的基底处,这导致树状生长、GAP-43 的高调节和与微管关联的蛋白(MAP-2, Taberner, Lavado 等人, 2001 ;Rodríguez-Rodríguez 等人, 2004)。已经在少突胶质细胞的膜中尤其是在脊髓延髓中识别白蛋白受体、巨蛋白(Wicher 等人, *J. Neurol. Res.* 2006 ; 83(5) :864-73)。

[0153] 对神经纤维损伤之后的伤害性刺激的中枢敏感性的影响可以通过以下来解释:由油酸抑制间隙连接而通过脂质膜调节胶质细胞增生(Lavado 等人, *J. Neurochem.* 1997 ; 69(2) :71-8) 或通过由白蛋白减少星形胶质细胞的反应形态学(Manning 和 Sntheimer, *Glia* 1997 ;20(2) :163-72)。

[0154] 实施例 7 本发明的脂肪酸用于预防和 / 或治疗炎症过程的用途。

[0155] 组织和细胞炎症过程是由免疫系统的细胞(囊依赖性淋巴细胞、中性白细胞、单核细胞、巨噬细胞等)在由病原体(感染)或抗原侵入引起的刺激之后释放的促炎细胞因子(白介素-4、白介素-6、白介素-8、白介素-10、TNF- α 等)的作用表征的。炎症过程引起多种疾病,其中有心血管疾病、全身性疾病、运动器疾病、老化疾病和呼吸疾病,例如哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)和各种类型的炎症。这种不受控制的促炎细胞因子的释放根本上是由 NF κ B 转录因子的病理学活动(Barnes 等人, 1997)引起的。

[0156] 在细胞炎症模型(在用细菌脂多糖 LPS 刺激的培养物中的 U937 单核细胞)中,顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物(250 μ M, 72h)显著抑制了大部分重要的促炎细胞因子(IL-6 和 TNF- α)的表达。相反,不具有式 I 结构的化合物并不抑制这些促炎细胞因子的表达(图 18)。

[0157] 在对用细菌脂多糖(LPS)刺激的 U937 单核细胞中的各种促炎细胞因子(IL-1b、IL-6、IL-8、IL-10)和 TNF- α 的释放的另外的研究中,用 250 μ M 浓度的 OHHD 治疗和 72h

温育之后观察到这些分子水平的显著降低（表 4）。在同一系统中研究了顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物（250 μ M, 6h）对 COX-1 和 COX-2 环加氧酶的活性和表达的影响。这些脂肪酸显著地抑制 COX-1 的活性（图 19A）和 COX-2 的表达（图 19B）。相反，不具有式 I 结构的化合物并不抑制这些促炎细胞因子的表达（图 19）。

[0158] 这些结果表明，顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以通过抑制促炎细胞因子的产生来有效用于治疗被称为类风湿性关节炎的自身免疫炎性疾病，在类风湿性关节炎病人中促炎细胞因子的水平显著增加。这些脂肪酸对 COX-1 和 COX-2 功能的抑制表明这些化合物可用于治疗疼痛和炎症。这些脂肪酸可以被认为是新一代的非甾体类抗炎药 (NSAID)。因此，COX-1 和 COX-2 功能的活性的抑制表明这些脂肪酸还可以用于治疗或预防心血管疾病并减少诸如心脏病发作的局部缺血事件 (ischemic event) 的风险。因此，由于顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物对促炎细胞因子的表达的重要抑制，所以它们可以用于以全身性水平和局部水平两者且通过药物、营养物和局部 / 化妆品制剂来预防和治疗炎症和衍生的过程，例如疼痛和类风湿性关节炎。

[0159] 表 4. OHHD 对促炎细胞因子的释放的抑制。

	细胞因子	对照 (pg/ml)	LPS (pg/ml)	LPS+OHHD (pg/ml)
[0160]	IL-1b	12±2	132±2	41±5
	IL-6	24±3	1072±4	68±8
	IL-8	345±7	967±8	529±7
[0161]	IL-10	32±1	315±9	53±3
	TNF-	1 ±6	1504±7	65±9

[0162] $p < 0.001$ 。平均值 \pm 以一式三份进行的 6 个实验的标准误差。

[0163] 实施例 8 本发明的脂肪酸用于预防和 / 或治疗传染性病变的用途。

[0164] 获得性免疫缺陷综合症 (AIDS) 由人类免疫缺陷小核糖核酸病毒 (HIV) 的感染引起。这种病毒具有脂质覆盖，且病毒性覆盖的完整性对人类细胞膜的融合是必不可少的。顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物改变了类似于 AIDS 病毒上的那些模型膜结构的模型膜结构（图 20），使得它们可以用于治疗这种疾病。

[0165] 在 HIV 和宿主细胞之间的结合也由 CD4 受体介导的。这种真核生物细胞位于细胞膜的被称为“膜筏”的特定区域。顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物分裂了“脂筏”的结构，因此它们干扰了引起和扩大感染所必需的病毒-细胞相互作用（图 21）。因此，顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物可以用于预防和治疗 AIDS。

[0166] 疟疾像 AIDS 一样，是传染性疾病，在这种情况下由被称为恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*) 的原生动物引起。这种生物体具有非常迅速的细胞分裂，因此它需要不断地合成 DNA。对于 DNA 的合成，需要高水平的四氢叶酸，四氢叶酸充当产生用于合成 DNA 的核苷酸的一些酶的辅酶。产生四氢叶酸的酶是二氢叶酸还原酶 (DHFR)。因此，DHFR 的抑制剂例如氨甲蝶呤目前被用于治疗疟疾 (Nduati 等人 2008)。顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物引起这种酶非常显著的减少，这导致 DHFR 水平的显著下降（图 22），因此它们可以具有对抗疟疾发展的重要活性。与例如氨甲蝶呤的药物相比，顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物具有两个优点。首先，它们的毒性较低。其次，酶表达的减少是比其抑制有效

得多的机理（抑制产生在治疗结束时可以被激活的高水平的酶）。因此，顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物是可以用于疟疾治疗的有效药物。

[0167] 并且，抑制四氢叶酸的产生的药剂是有效的抗菌剂。这一事实连同在关于顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物对抗不同类型的传染性过程的发展的效力的该实施例中呈现的证据，表明这些分子是可以用于预防或治疗传染性病变的有效药剂。

[0168] 实施例 9 本发明的脂肪酸和各种盐用于预防和 / 或治疗各种病变的用途。

[0169] 在具有药理学活性的分子上的界定位置处的某些原子可以改变其在生物体中的吸收、分布或者其与细胞大分子的相互作用。这可以隐含活性成分的治疗效力在正方向或负方向上的变化。表 5 示出了顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物的各种盐用于治疗癌症、代谢病变（高胆固醇血症、高甘油三酯血症）、肥胖症和高血压的潜在治疗效力。从这个意义上说，可以证明，对于逆转各种病变，OHOD 的钠盐 (Na-OHOD) 比游离脂肪酸更为有效。对于 Na-DEPOD，与 DEPOD 相比，可以观察到同样的情况。因此，在具有顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物的药物制剂中，使用这些物质的钠衍生物是更好的。

[0170] 表 5

[0171]

顺式单不饱和脂肪酸的 α -衍生物和它们的盐的各种衍生物在各种病变中的治疗效果						
	IC ₅₀		% 对照		体重 (g) (对照=311 g)	PA (对照 214 mmHg)
	A549	SF767	CHO	TG		
OHOD	62	71	55	38	292	146
Na-OHOD	47	52	51	32	281	128
OMe-OHOD	94	107	71	64	299	155
EE-OHOD	79	68	62	47	295	161
NH ₃ -OHOD	81	85	59	62	290	149
ACOD	153	179	59	53	301	157
Na-ACOD	124	132	49	35	298	166
OMe-ACOD	246	214	86	74	296	152
EE-ACOD	185	176	72	56	294	158
MOOD	61	73	65	64	279	142
Na-MOOD	77	91	63	68	272	131
OMe-MOOD	149	128	77	69	296	143
EE-MOOD	168	195	64	66	297	154
DEPOD	57	99	58	43	301	147
Na-DEPOD	32	104	45	37	298	159
OMe-DEPOD	66	43	63	45	293	175
EE-DEPOD	77	82	69	49	295	168

[0172] OHOD： α -羟基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸；ACOD： α -乙酰基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸；MOOD： α -甲氧基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸；DEPOD： α -二乙基-磷脂酰基-顺式- Δ 9-十八碳烯酸。代替式 I 中的 R 的原子或分子是钠（带有前缀“Na”）、甲酯 (OMe)、乙酯 (EE)、氨 (NH₃) 或氢（没有前缀）。为确定抗肿瘤效力而测量的参数是 A549 和 SF767 人类肿瘤细胞中的 IC₅₀（将细胞的数量减少至一半的浓度）。这些值以微摩尔浓度 (μ M) 表示。第二列示出与未处理的对照 (100%) 相比以百分数计的胆固醇 (CHO) 和甘油三酯 (TG) 的水平。大鼠接受的日剂量为 600mg/kg 的表中列出的物质（对于处理的其他细节，参见文本）。第三列示出了接受 2 周的自助饮食的大鼠的体重 (g)。对照大鼠，在治疗结束时重为 311g (6 只动物的平均值)，接受媒介物（水），而受处理的动物每日接受 300mg/kg 的表中所列出的物质。PA：动脉压 (mmHg)。在用所列出的化合物中的每一种 (400mg/kg) 治疗 8 天

之后,测量高血压大鼠的动脉压。如表头中所指出,未处理的大鼠的平均PA是214mmHg。在该表中示出的动物的所有实验系列中,处理总是口服。

[0173] 参考文献

[0174] 1. Alemany R, Perona JS, Sánchez-Domínguez JM, Montero E, Cañizares J, Brezan R, EscribáPV 和 Ruiz-Gutiérrez V(2007). G protein-coupled receptor systems and their lipid environment in health disorders during aging(老化期间健康障碍中的G蛋白耦合受体系统和它们的脂质环境). BBA Biomembr. 1768 :964-975.

[0175] 2. Barnes PJ, Karin M(1997). Nuclear factor-kappaB :a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases(慢性炎症疾病中的关键转录因子). N Engl J Med 336 :1066-71.

[0176] 3. Buda C, Dey I, Balogh N, Horvath LI, Maderspach K, Juhasz M, Yeo YK, Farkas T (1994). Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization(在热驯化期间膜和磷脂组合物在鱼脑细胞中的结构次序). Proc. Natl. Acad. Sci USA 91 :8234-8238.

[0177] 4. Curto EV, Kwong C, Hersmerdorfer H, Glatt H, Santis C, Virador V, Hearing VJ, Jr., Dooley TP(1999). Biochem Pharmacol 57 :663-672.

[0178] 5. Escriba PV, Sastre M, Garcia-Sevilla JA. (1995). Disruption of cellular signaling pathways by daunomycin through destabilization of nonlamellar membrane structures(由道诺霉素通过扰动非层状膜结构分裂细胞信号传导通路). Proc Natl Acad Sci USA. 92 :7595-7599.

[0179] 6. Escriba PV, Ozaita A, Ribas C, Miralles A, Fodor E, Farkas T, García-Sevilla JA(1997), Role of lipid polymorphism in G protein-membrane interactions :nonlamellar-prone phospholipids and peripheral protein binding to membranes(G蛋白-膜相互作用中的脂质多态性的作用 ;结合到膜的非层状倾向的磷脂和外周蛋白). Proc Natl Acad Sci USA. 94 :11375-11380.

[0180] 7. EscribáPV(2006). Membrane-lipid therapy :a new approach in molecular medicine(膜-脂质疗法 :分子药物的新方法). Trends Mol. Med. 12 :34-43.

[0181] 8. EscribáPV, González-Ros JM, Goñi FM, Kinnunen PKJ, Vigh L, Sánchez-Magraner L, Fernández AM, Busquets X, Horváth I, Barceló-Coblijn G(2008). Membranes :A meeting point for lipids, proteins and therapies(膜 :脂质、蛋白和疗法的交汇点). J Cell. Mol. Med. 12 :829-875.

[0182] 9. Martínez JO, Casas J F, Alemany R, Prades J, Nagy T, Baamonde C, Kasprzyk P, Terés S, Saus C, EscribáPV. (2005). Membrane structure modulation, protein kinase C alpha activation, and anticancer activity of minerval(minerval的膜结构调节、C蛋白激酶α活化和抗癌作用). Mol Pharmacol 67 :531-40.

[0183] 10. Nduati 等人 (2008). Effect of folate derivatives on the activity of antifo late drugs used against malaria and cancer(叶酸盐衍生物对用于对抗疟疾和癌症的抗叶酸盐药物的活性的影响). Parasitol Res 102 :1227-1234.

[0184] 11. Patil CS, Singh VP, Kulkarni SK(2006). Modulatory effect of

Sildenafil in diabetes and electroconvulsive shock-induced cognitive dysfunction in rats(西地那非对大鼠糖尿病和电休克疗法引起的认知障碍的调节作用). *Pharmacological Reports* 58 :373-380.

[0185] 12. Raid PC, Urano Y, Kodama T, Hamakubo T(2007). Alzheimer's disease: cholesterol, membrane rafts, isoprenoids and statins(阿尔茨海默病:胆固醇、膜筏、类异戊二烯和他汀类药物). *J Cell Mol Med* 11 :383-392.

[0186] 13. Stender S, Dyerberg J(2004). Influence of trans fatty acids on health(反式脂肪酸对健康的影响). *Ann. Nutr. Metab.* 48 :61-66.

[0187] 14. Wise LE, Iredale PA, Stokes RJ, Litchman AH(2007). Combination of Rimonabant and Donepezil prolongs spatial memory duration(利莫那班和多奈哌齐的组合延长了空间记忆持续时间). *Neuropsychopharmacology* 32 :1805-1812.

[0188] 15. Yang, Q, Alemany, R, Casas, J, Kitajka, K, Lanier, SM, EscribáPV(2005). Influence of the membrane lipid structure on signal processing via G protein-coupled receptors(膜脂质结构对经由G蛋白耦合的受体的信号处理的影响). *Mol Pharmacol* 68 :210-7.

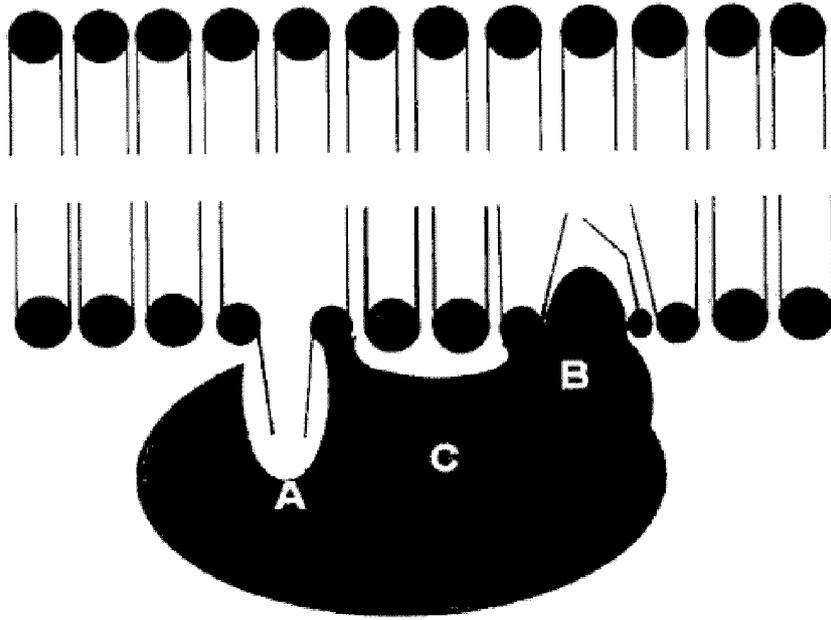


图 1

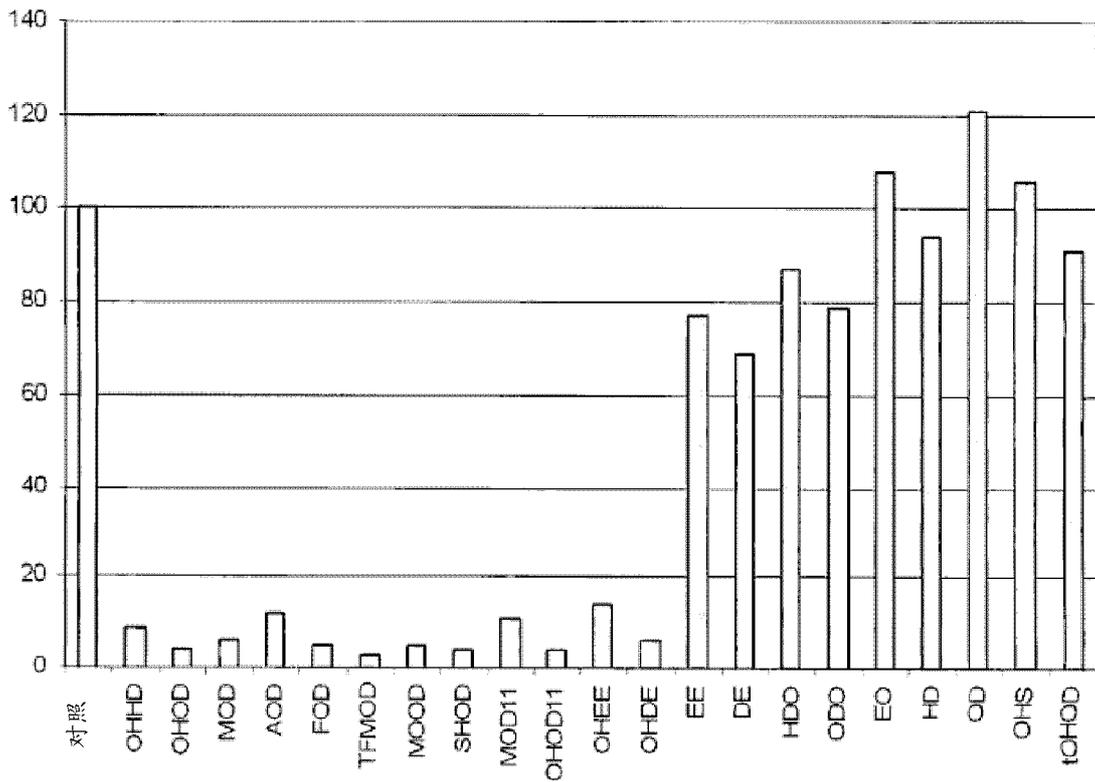


图 2

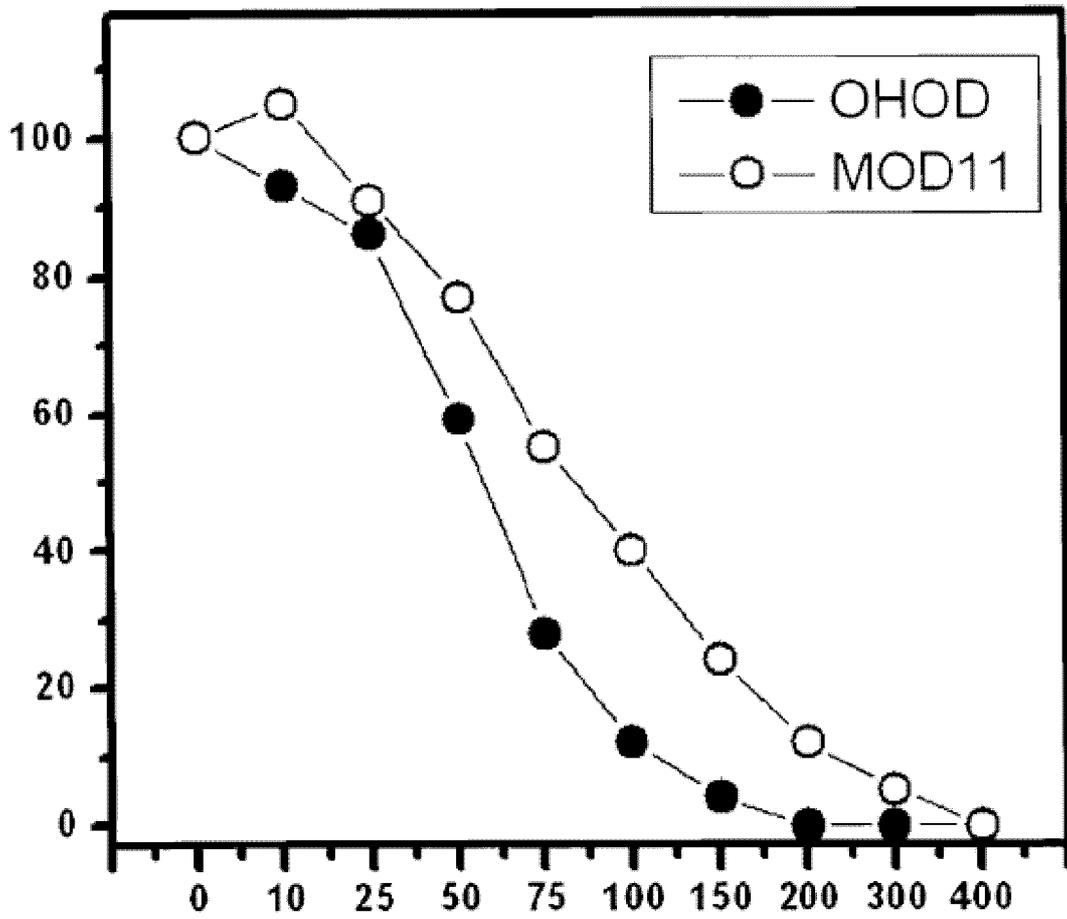


图 3A

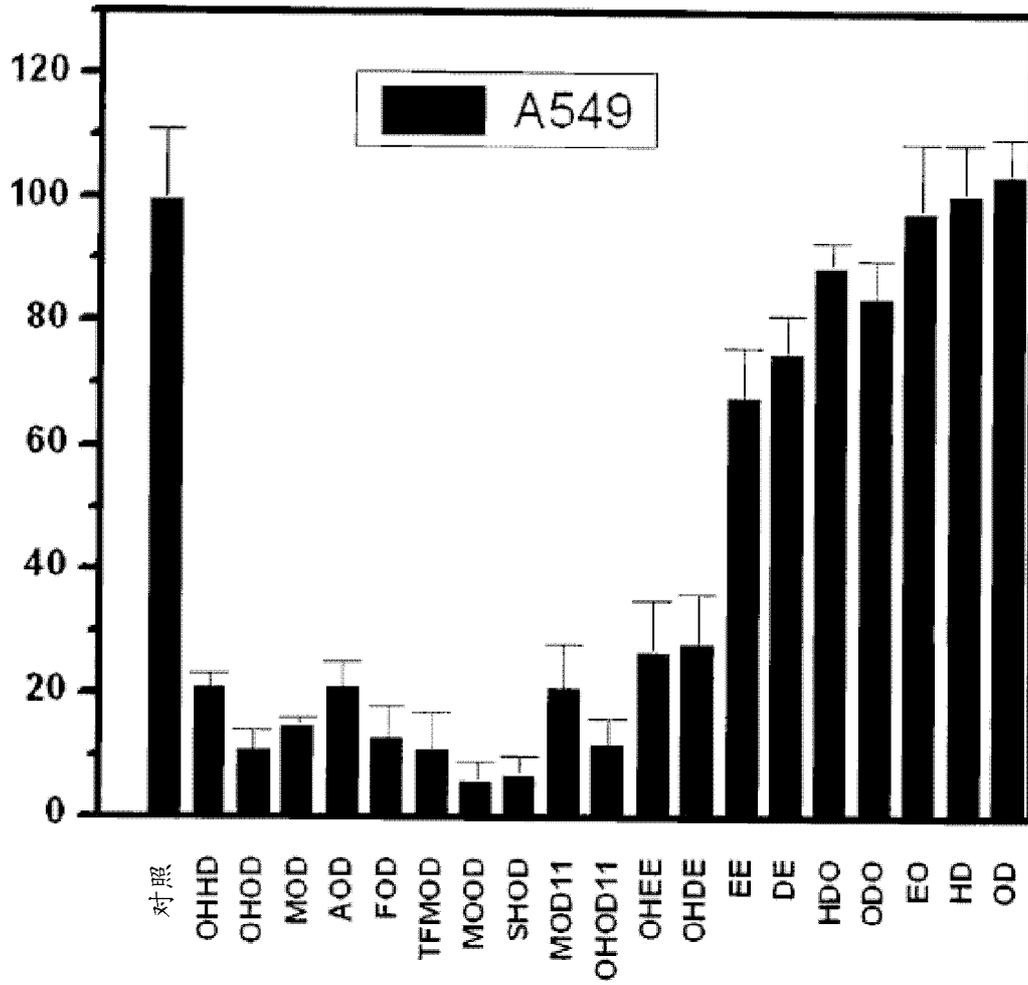


图 3B

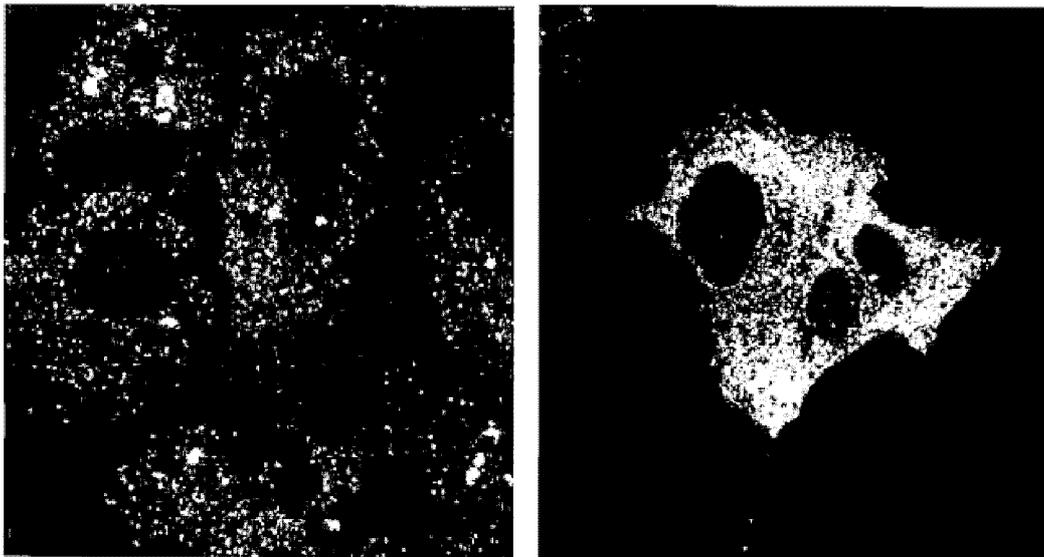


图 4

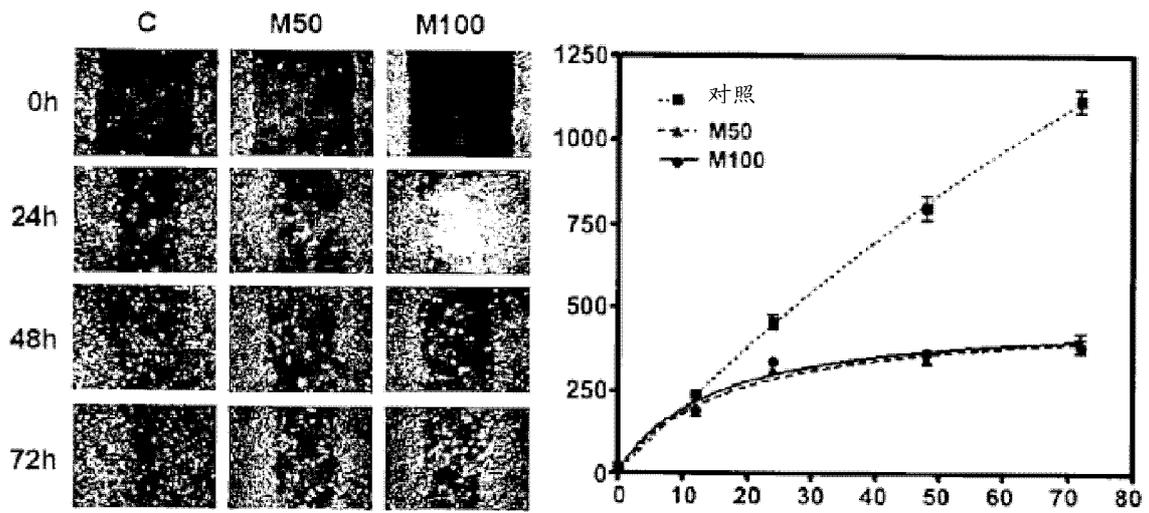


图 5

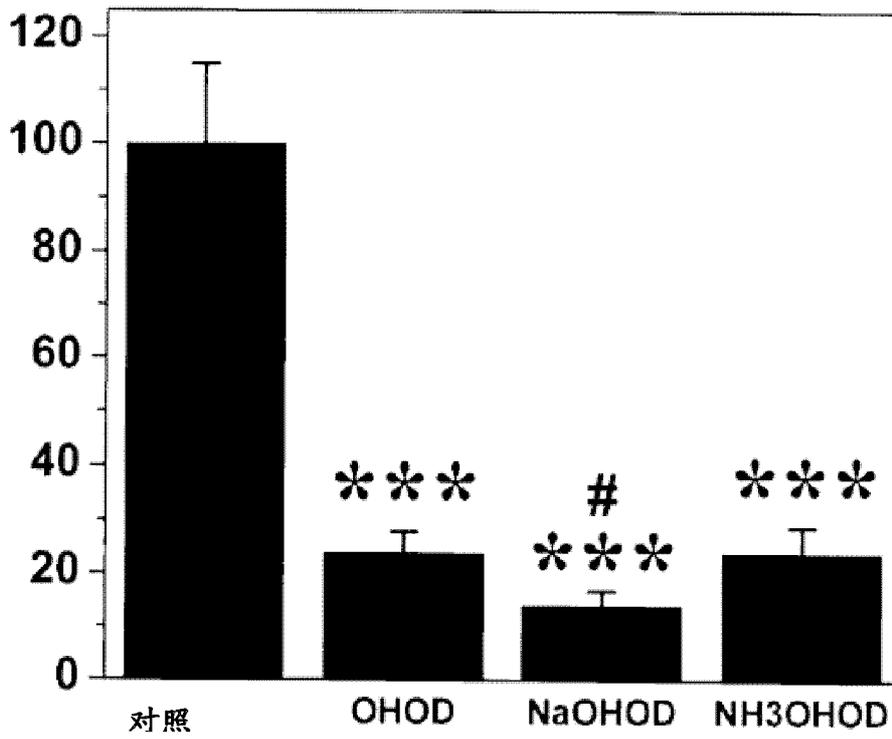


图 6A

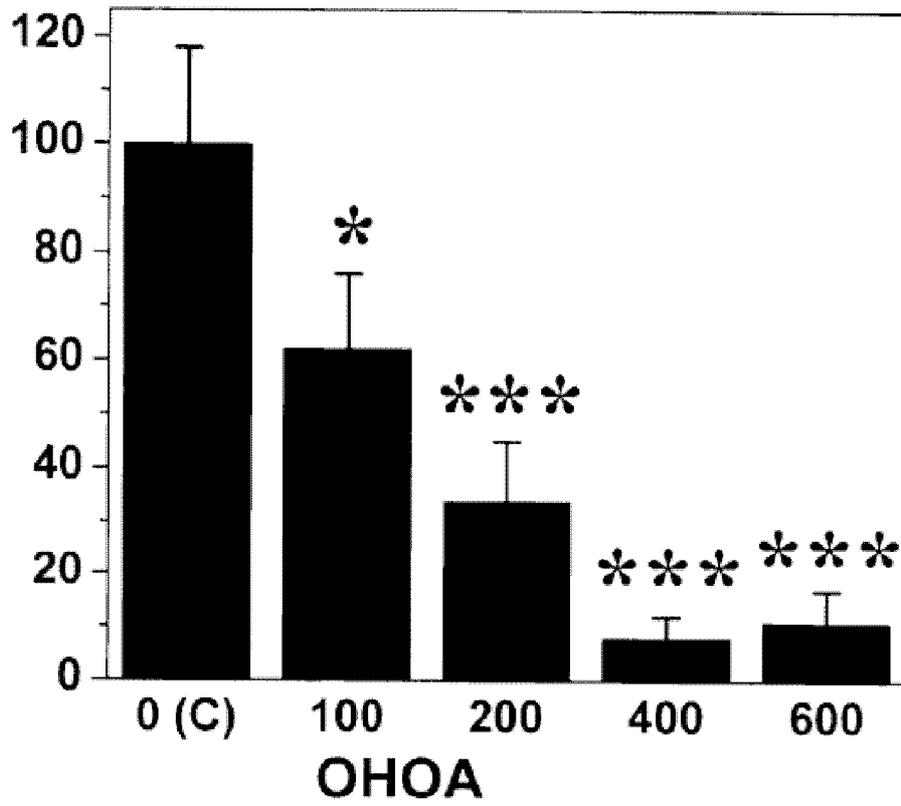


图 6B

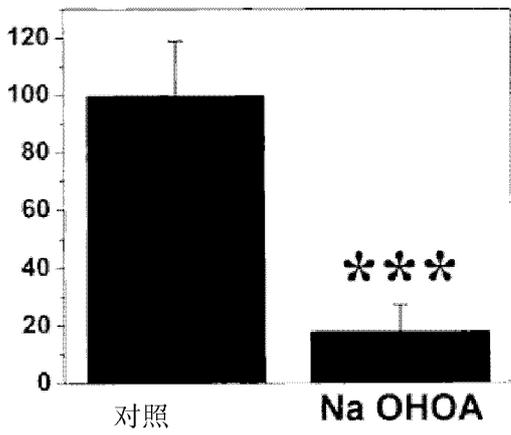


图 7A

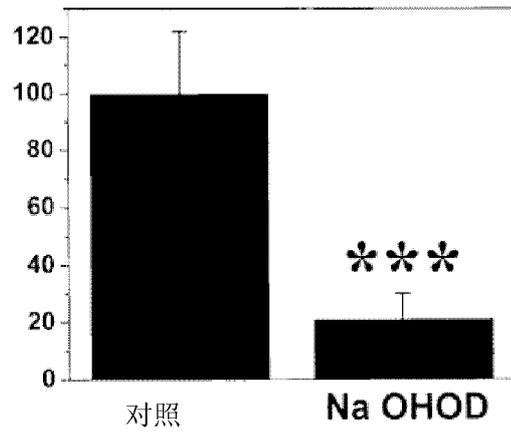


图 7B

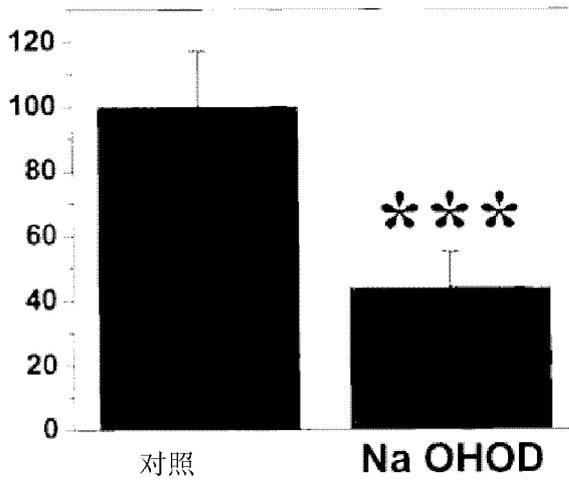


图 7C

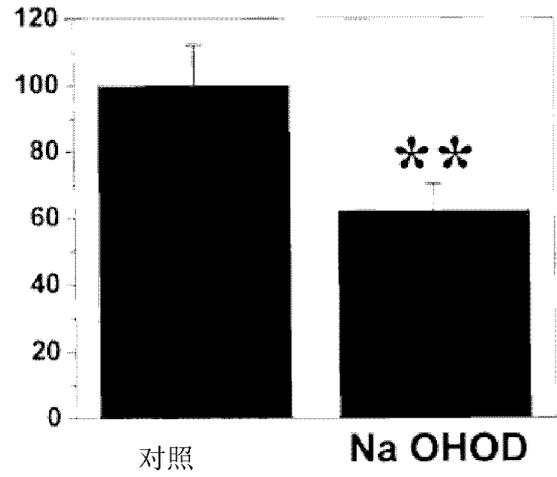


图 7D

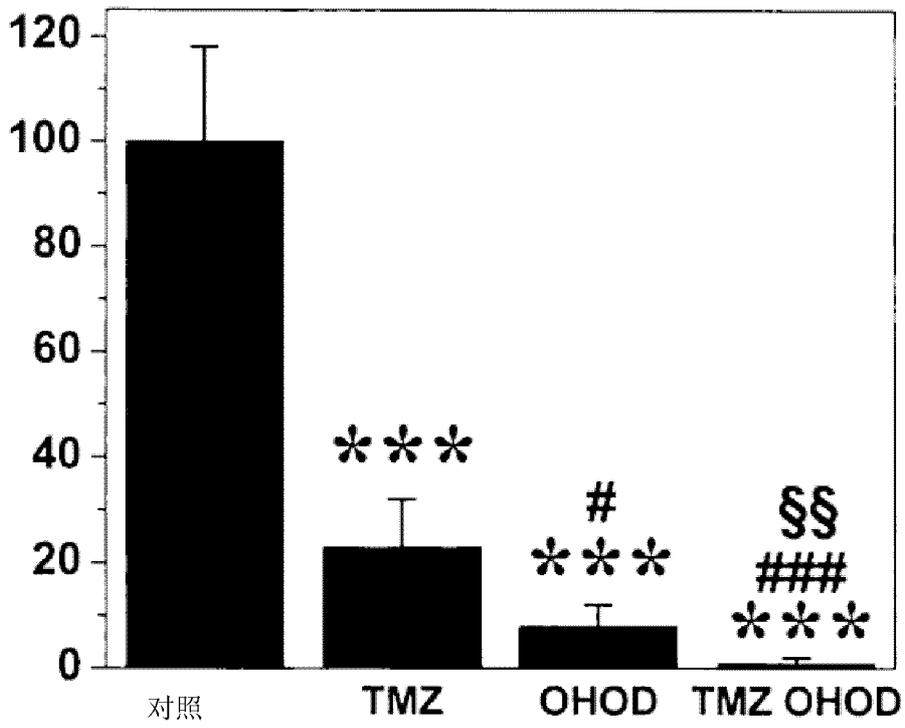


图 8A

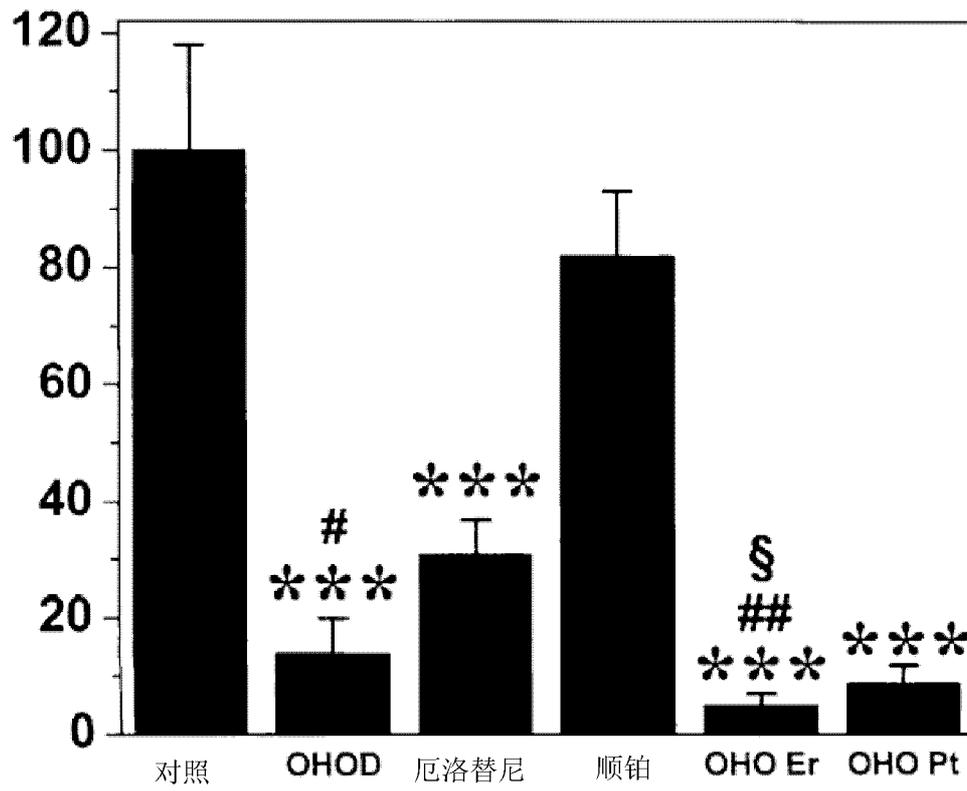


图 8B

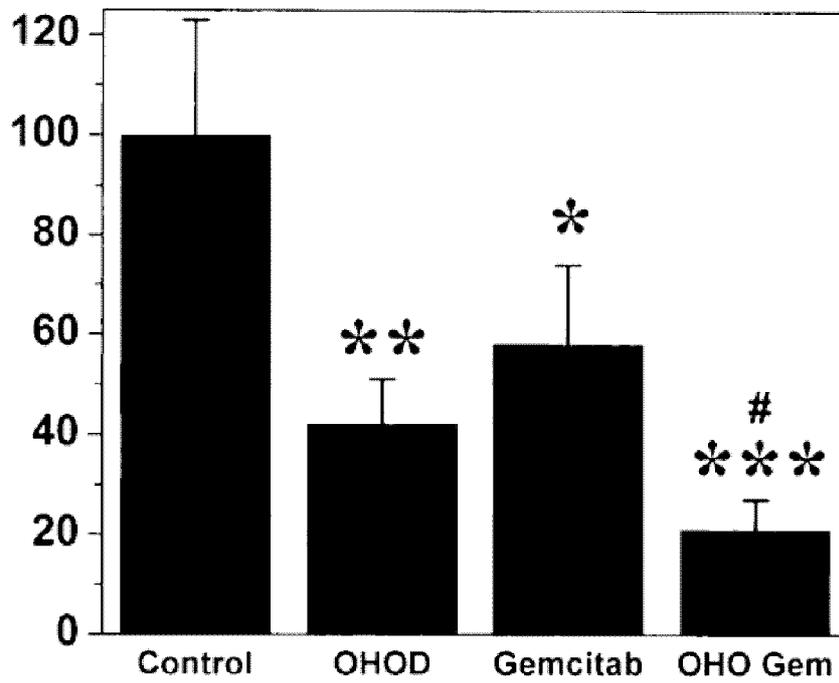


图 8C

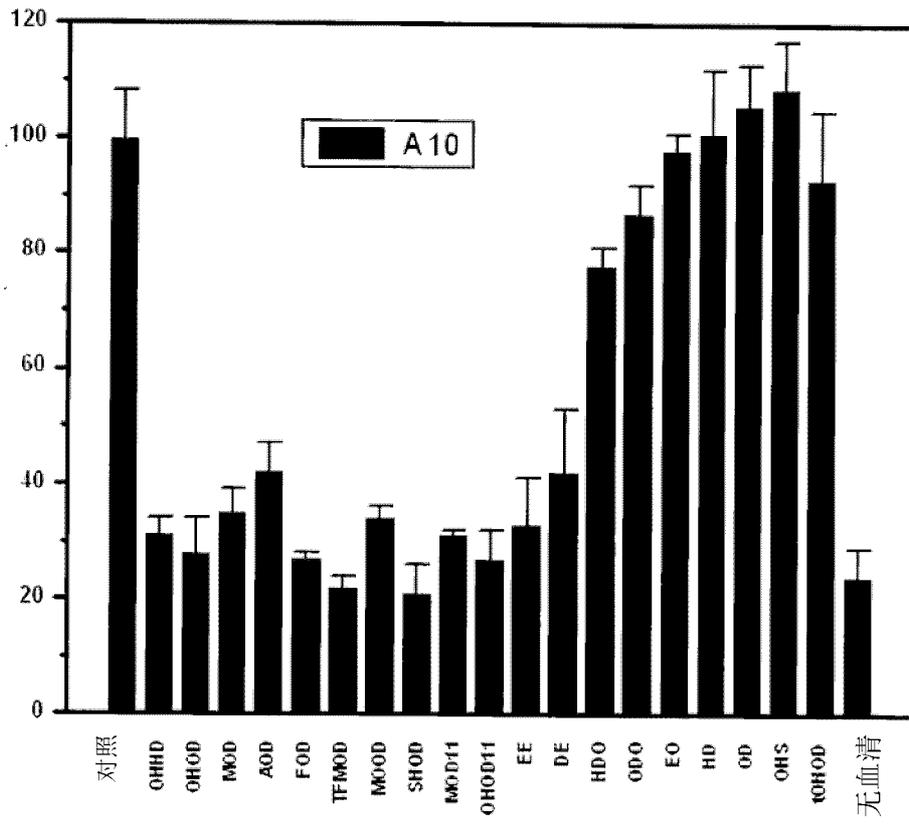


图 9

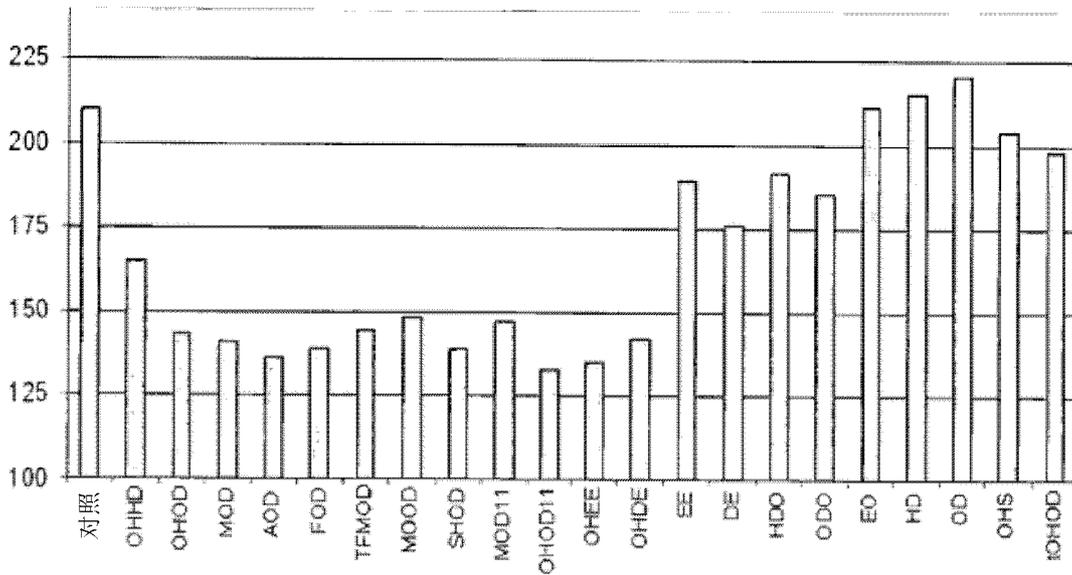


图 10

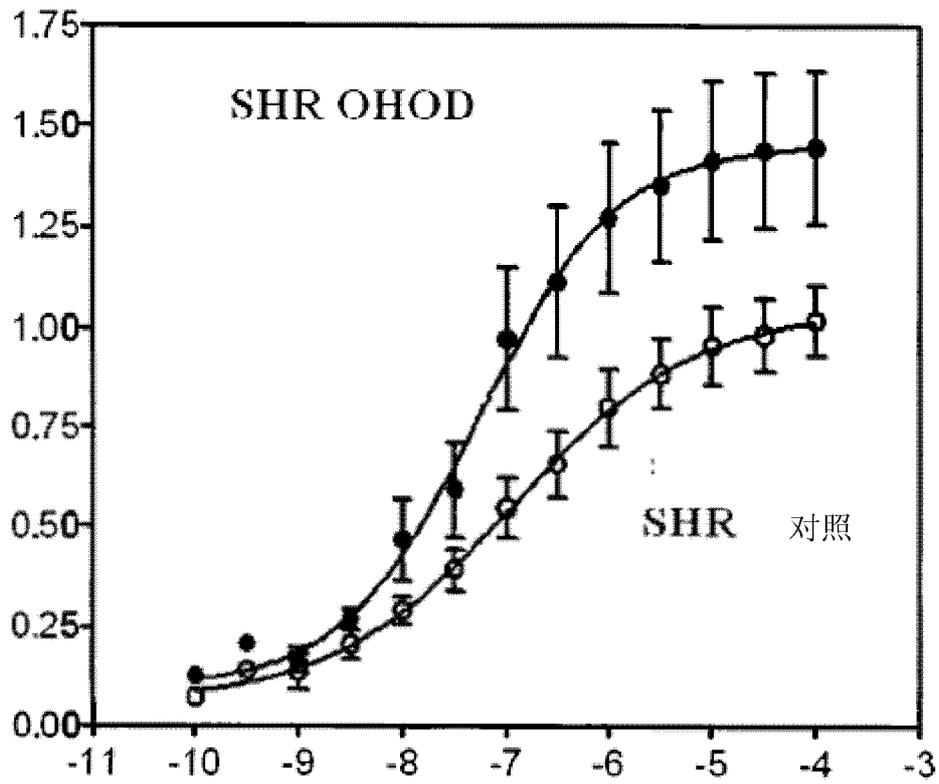


图 11

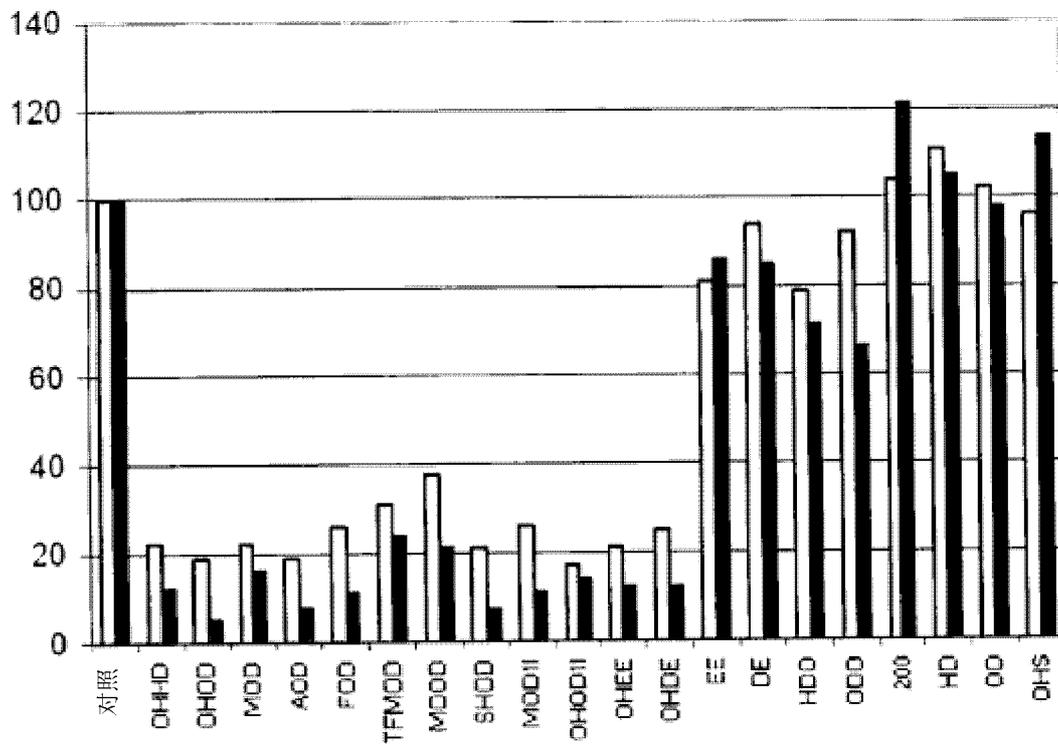


图 12

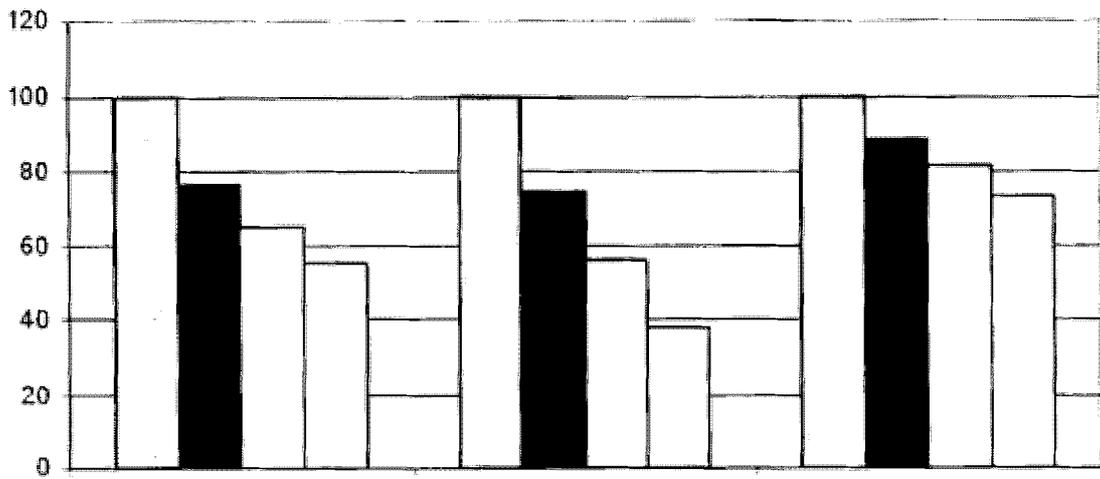


图 13

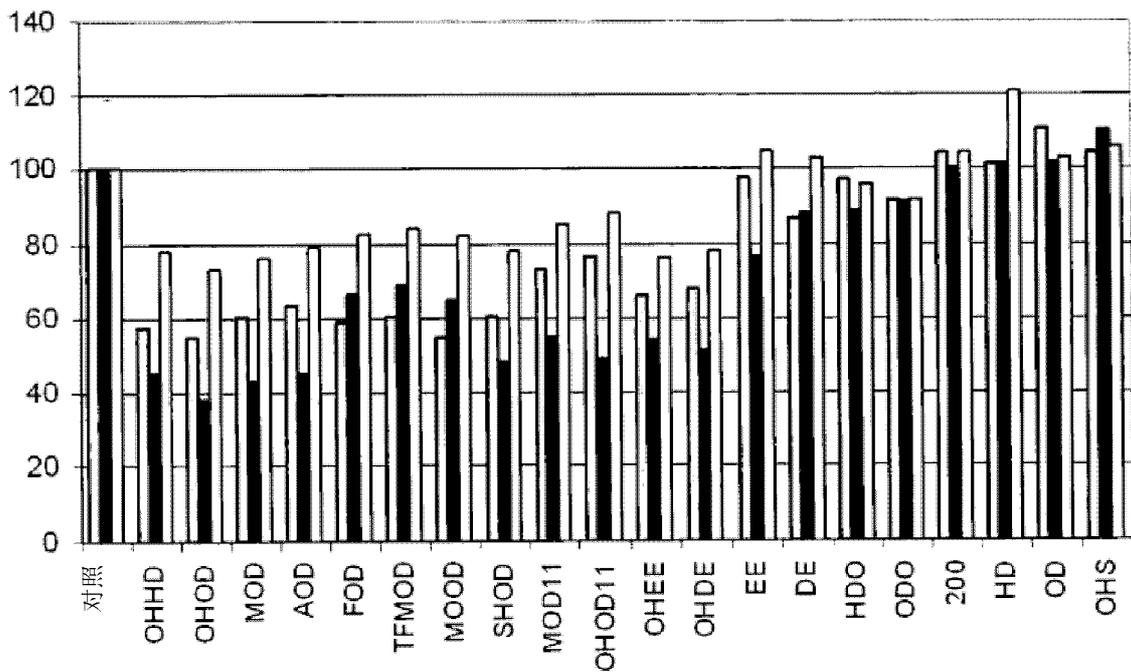


图 14

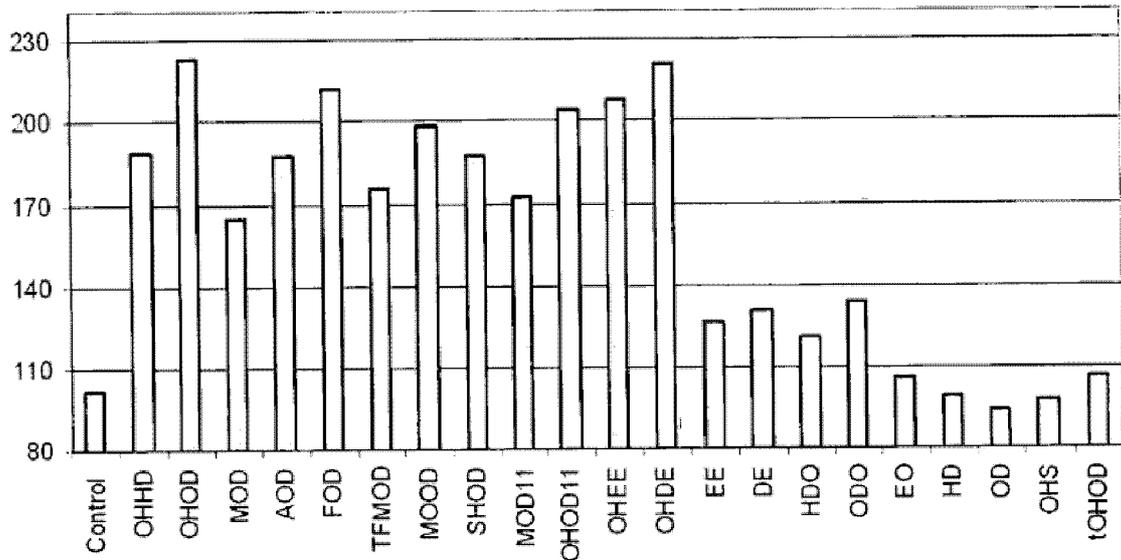


图 15

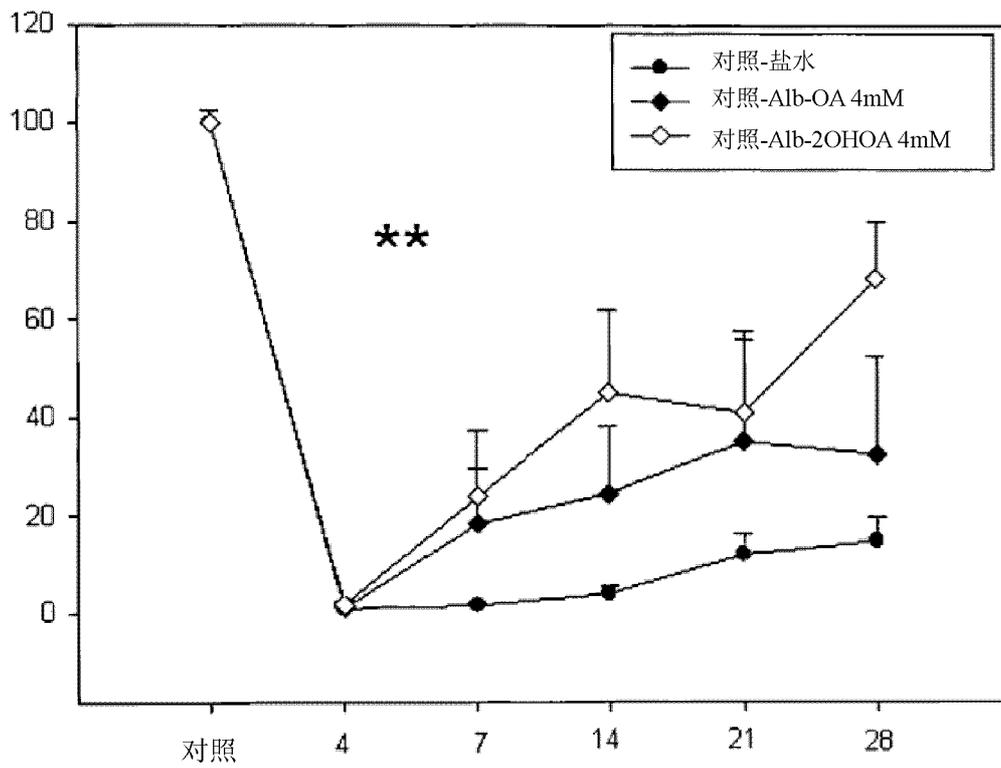


图 16A

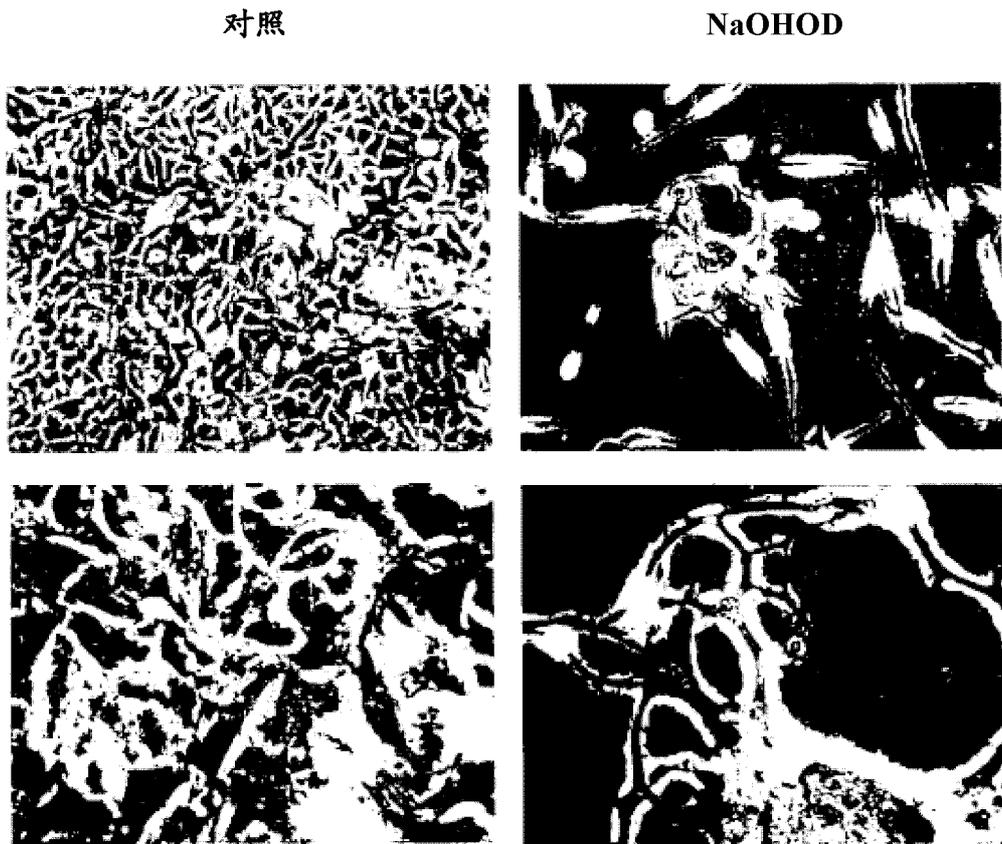


图 16B

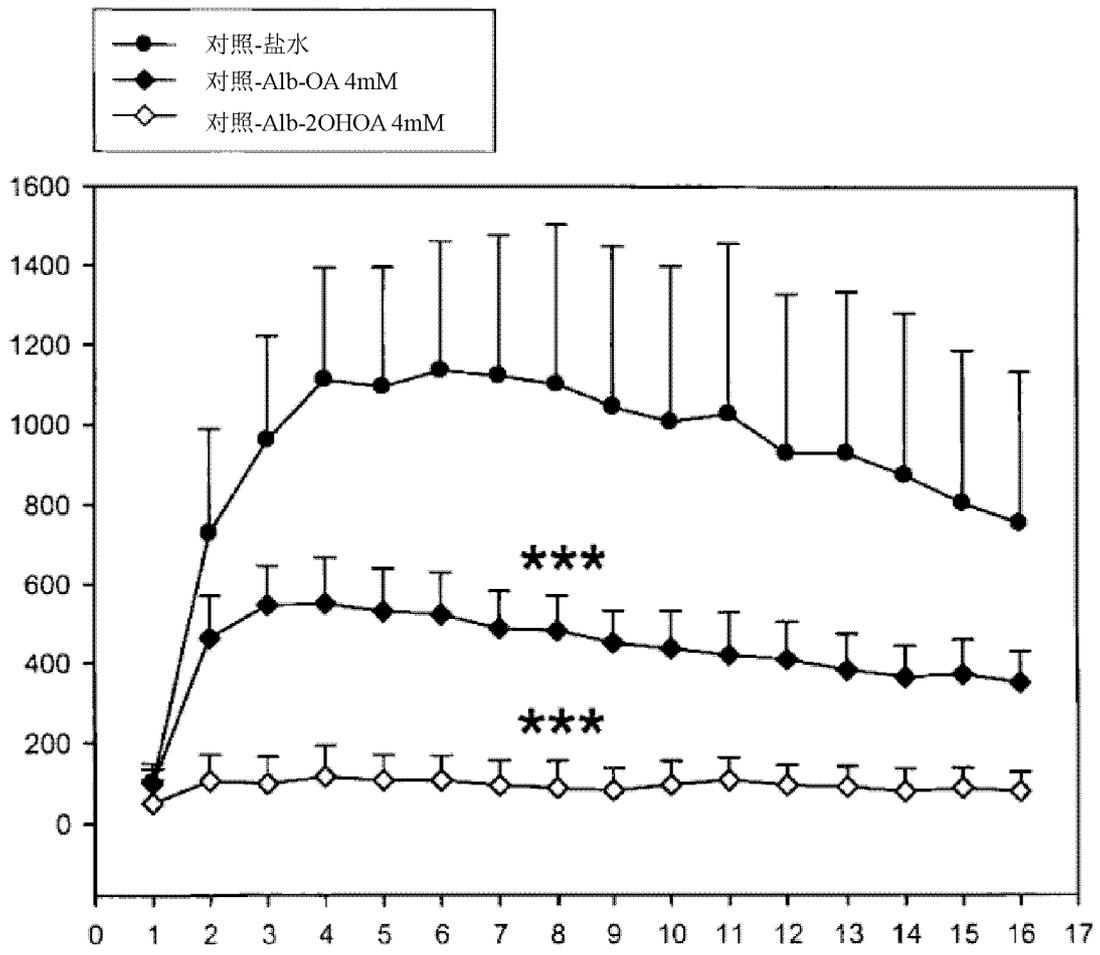


图 17

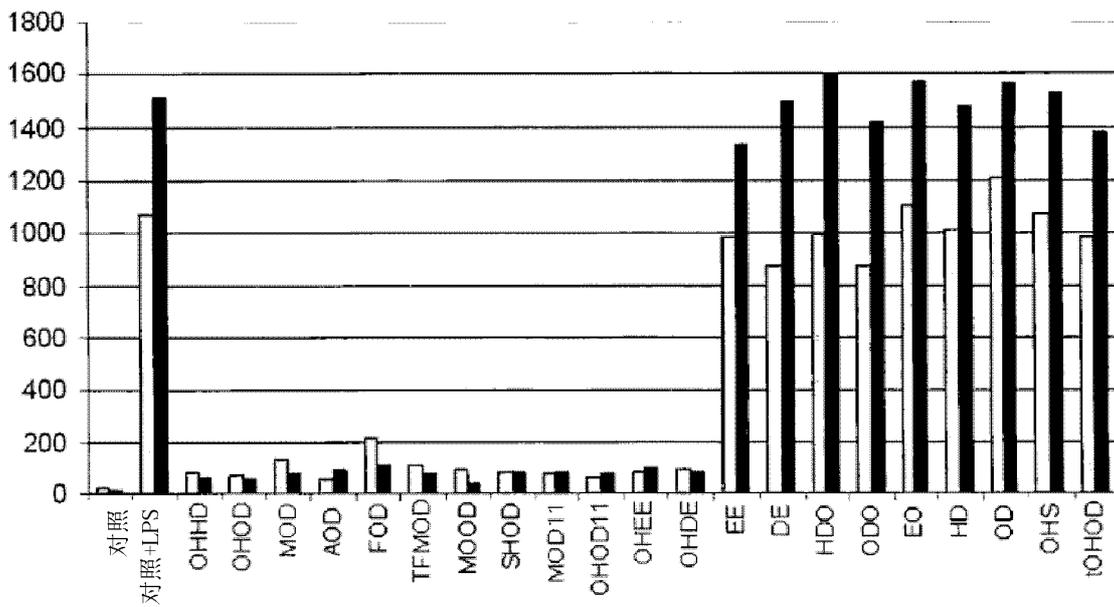


图 18

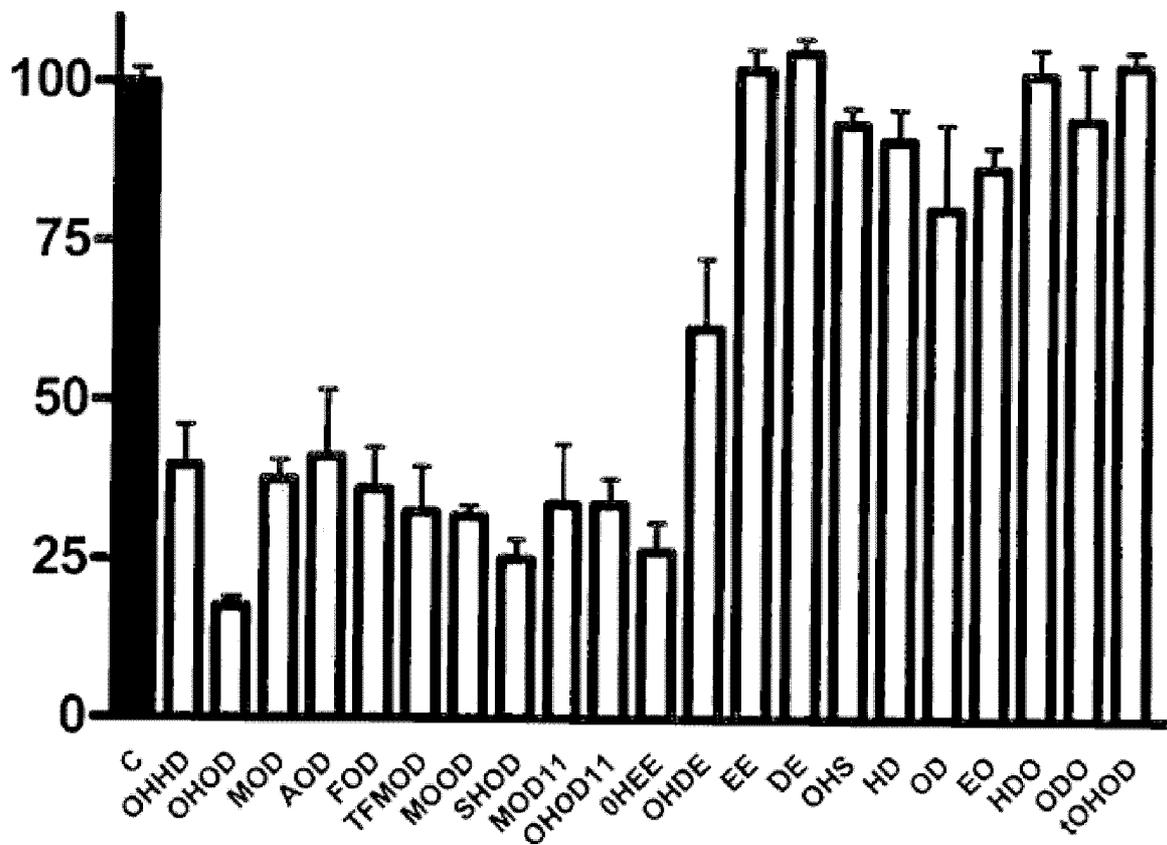


图 19A

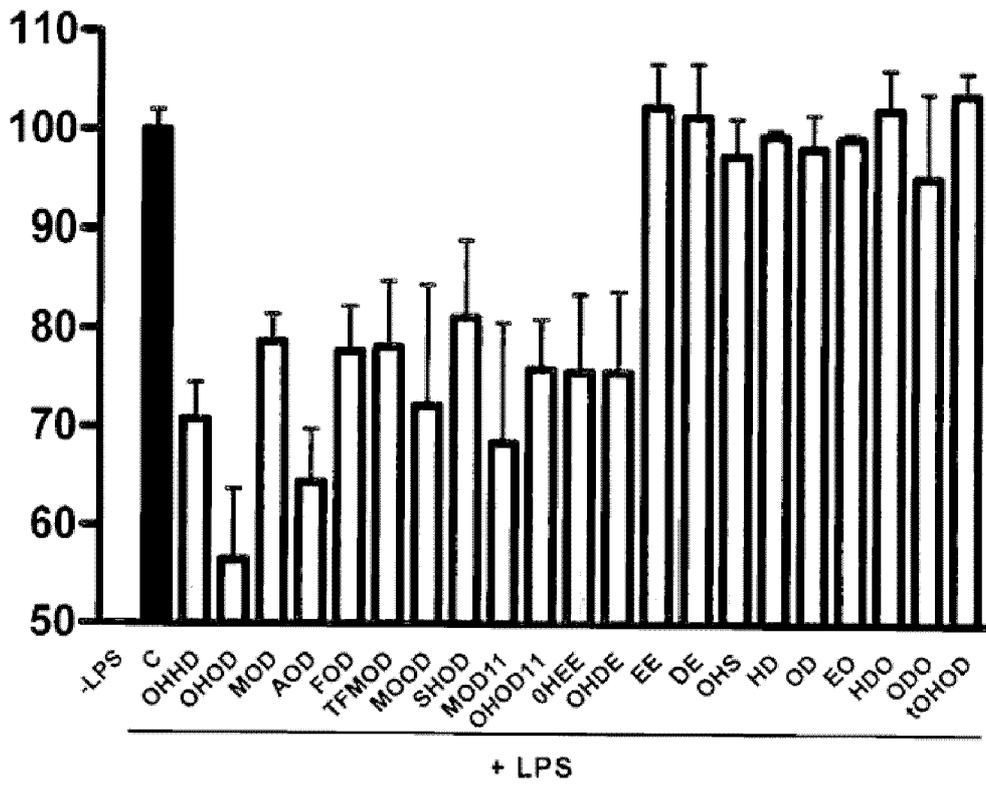


图 19B

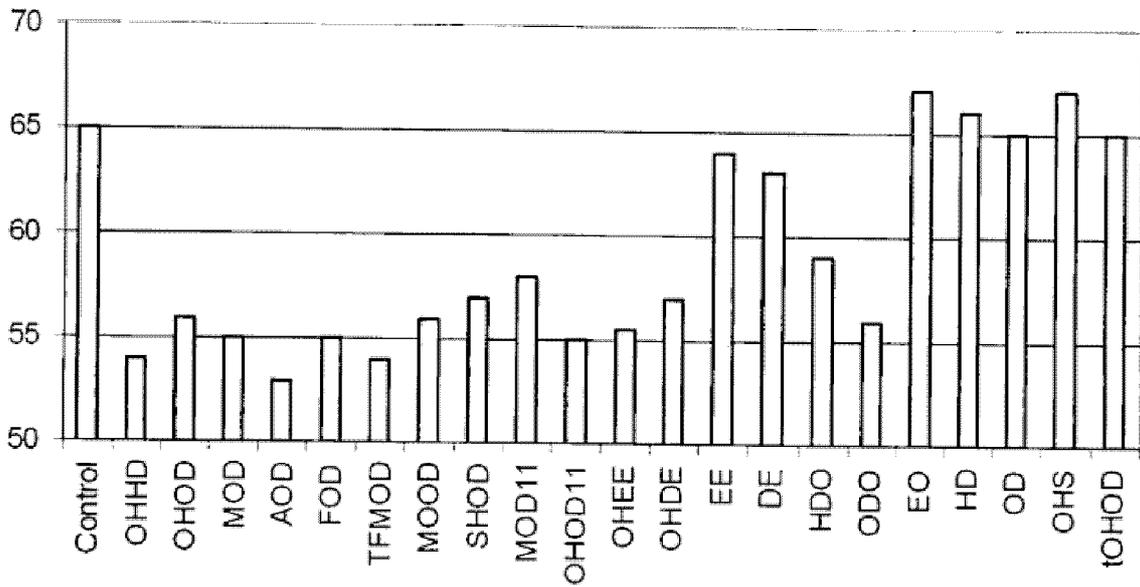


图 20

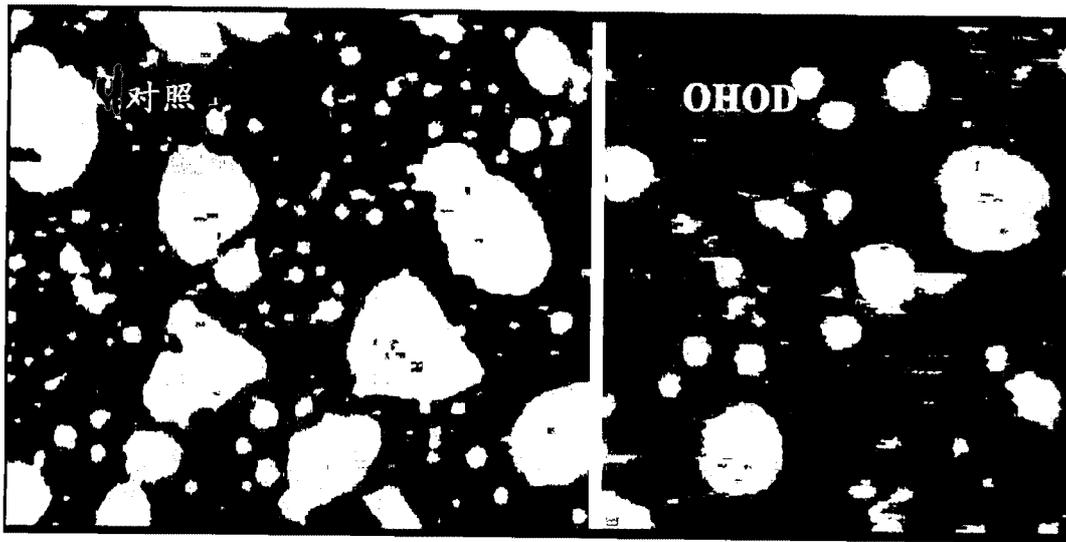


图 21A

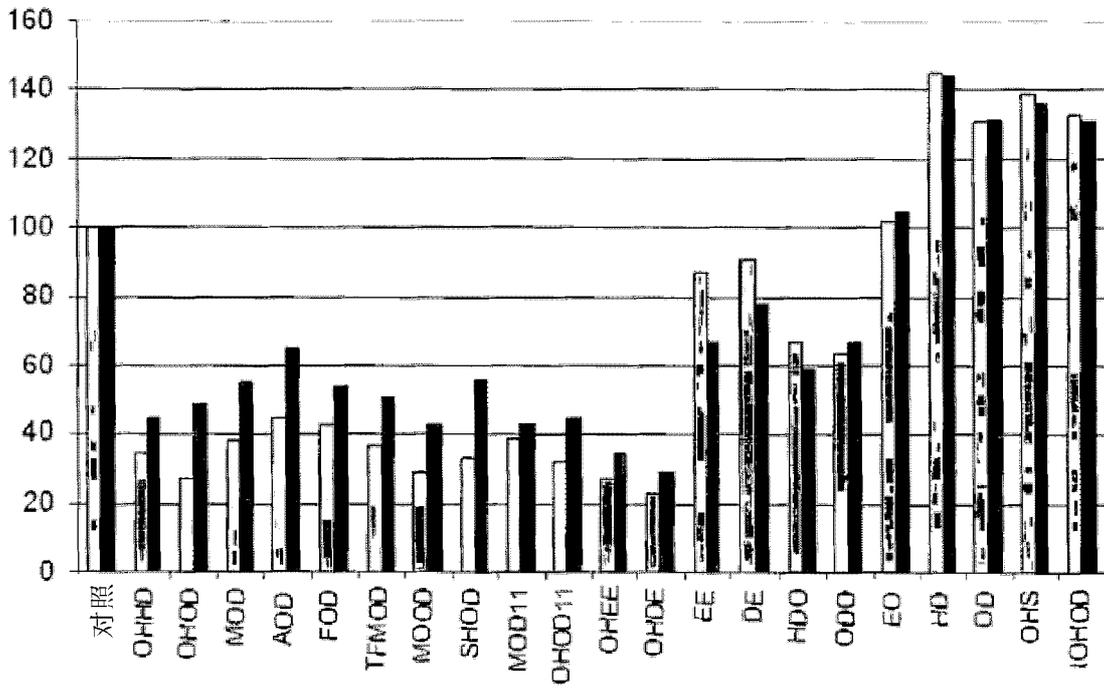


图 21B

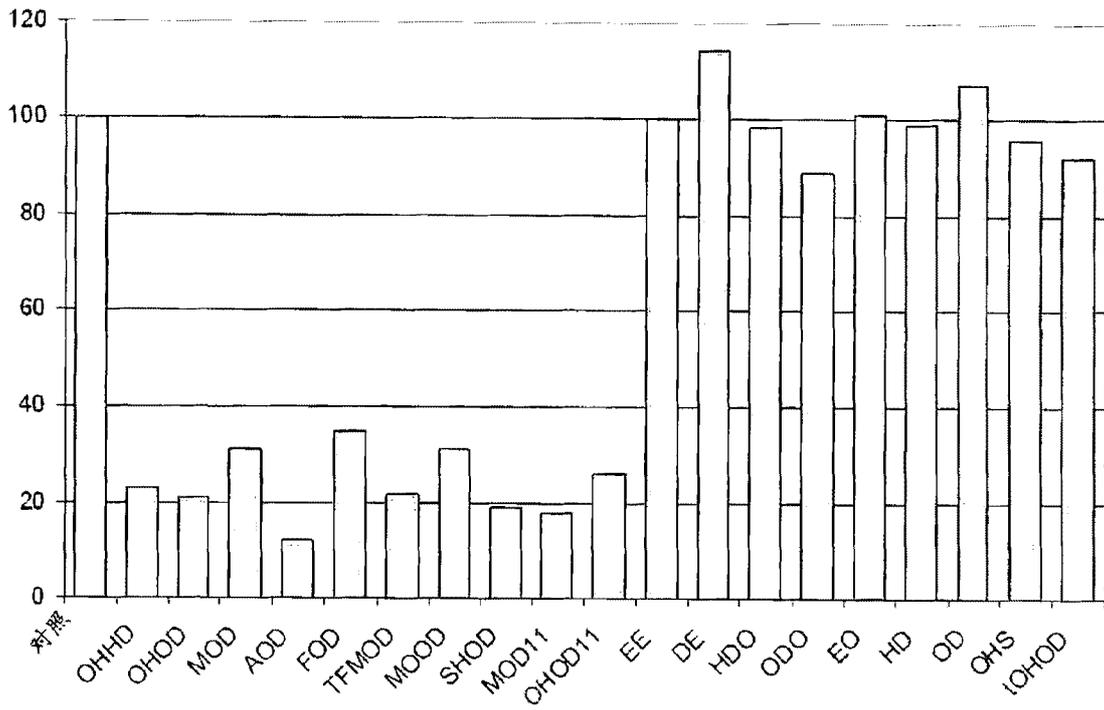


图 22