

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 31/19

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 93118320.0

[45]授权公告日 2000 年 2 月 16 日

[11]授权公告号 CN 1049334C

[22]申请日 1993.8.21 [24]颁证日 1999.11.20

[21]申请号 93118320.0

[30]优先权

[32]1992.8.21 [33]GB [31]9217780.7

[73]专利权人 斯科舍集团有限公司

地址 英国英格兰

[72]发明人 D·F·霍罗宾 B·E·雷诺兹

[56]参考文献

EP0261814 1988. 3.30 A61K33/06

审查员 安佩东

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗才希

权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 酯肪酸药剂的新用途

[57]摘要

通过以 GLA,DGLA 和 LA 本身或其盐或其他药
学上可接受的形式给药,或者与相似形式的 EPA,DHA 或
其他 EFA 联合给药,来增加人或动物的 肠钙吸收,特别
是用于治疗骨质疏松症。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. GLA、DGLA 或 LA 本身或其盐或其他药学上可接受的形式与任选的 EPA、DHA 或其他基本脂肪酸在制备用于增加肠钙吸收药物中的应用。

2. GLA、DGLA 或 LA 本身或其盐或其他药学上可接受的形式与任选的 EPA、DHA 或其他基本脂肪酸在制备用于通过激发钙吸收增加和尿钙排泄减少而增加系统钙储存的药物中的应用。

3. 根据权利要求 1 或 2 的用途，其中一种或多种主要脂肪酸以钙盐形式存在于所说药物中。

4. 根据权利要求 1 或 2 的用途，其中所说药物是以单位剂量的形式存在的。

5. 根据权利要求 3 的用途，其中所说药物是以单位剂量的形式存在的。

说明书

脂肪酸药剂的新用途

本发明涉及脂肪酸药剂，特别涉及增加肠对钙的吸收，具体讲涉及治疗骨质疏松症。

体内主要系列多不饱和脂肪酸的转换路径示于下表 1；

表 1

n - 6		n - 3
18:2 δ -9,12 (亚油酸)		18:3 δ -9,12,15 (α -亚麻酸)
	δ -6去饱和酶	
18:3 Γ -6,9,12 (γ -亚麻酸)	↓ 延伸	18:4 δ -6,9,12,15 (十八碳四烯酸)
20:3 δ -8,11,14 (二高 γ -亚麻酸)	↓	20:4 δ -8,11,14,17
	δ -5去饱和酶	
20:4 δ -5,8,11,14 (花生四烯酸)	↓ 延伸	20:5 δ -5,8,11,14,17 (二十碳五烯酸)
22:4 δ -7,10,13,16 (肾上腺四烯酸)	↓	22:5 δ -7,10,13,16,19
22:5 δ -4,7,10,13,16	δ -4去饱和酶	22:6 δ -4,7,10,13,16,19 (二十二碳六烯酸)

上述路径一般是不可逆的， $n-3$ 和 $n-6$ 系列酸在人体中也是不能互相调换的。

事实上，全顺式构型的这些酸系统命名为相应的十八碳酸，二十碳酸或二十二碳酸的衍生物，如 $\alpha-9$ ， 12 -十八碳二烯酸或 $\delta-4$ ， 7 ， 10 ， 13 ， 16 ， 19 二十二碳六烯酸，但是用数字命名如 $18:2$ $n-6$ 或 $22:6$ $n-3$ 是方便的。例如 $20:5$ $n-3$ 酸（二十碳五烯酸）用其开头的第一个英文大写字母EPA来表示，而对 $22:6$ $n-3$ 酸（二十二碳六烯酸）利用其相应的DHA表示，但是当同样链长和不饱和度的 $n-3$ 和 $n-6$ 酸存在时（如 $22:5$ 酸类），则不用此种办法。较为普遍的用于 $n-6$ 系列酸的俗名如图所示。虽然十八碳四烯酸（stearidonic acid）名称将用于 $18:4$ $n-3$ 酸和二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸名称也按这种办法来使用。但此 $n-3$ 系列中仅有 $18:3$ $n-3$ 酸已普遍使用俗名 α -亚麻酸。说明亚麻酸的 α -异构体特征化要比 γ -亚麻酸早，在仅涉及亚麻酸的文献，特别是早期的文献提到的是 α -酸。

由于下述二个原因，人和动物对钙的有效吸收是重要的：

1. 低钙吸收和一般或过量的尿钙排泄均导致负钙平衡。
2. 正常的骨强度需要钙，肠对钙的吸收不足则会导致骨脆弱，骨质疏松（一种主要的健康问题）。

我们以前已发现一种通过使用 γ -亚麻酸（GLA）或GLA和二十碳五烯酸（EPA）配伍来降低钙排泄的新的安全的办法，这是EPA 1-0，517，425专利的主题。正如前面所讨论的那样，GLA是亚油酸的（食物中的主要脂肪酸）第一代谢物，由 $\delta-6$ -去饱和酶把亚油酸转化为GLA。然而，即使在正常的身体内这

一转化也是缓慢的，速度是受到限制的，基于此，直接使用 G L A 是有利的。

在动物和人中进行的研究表明：虽然 G L A 和 E P A 单独使用均可引起应答，但 G L A 和 E P A 配伍可以对尿中钙的排泄的降低获得最佳效果。

所以在 30 个复发的高钙石形成者中进一步对人进行了临床研究。开始实验时，所有患者均停止了以前的治疗。实验期间使用标准钙食物（800 mg 钙/天）。食用标准食物 14 天后，把患者分成三组并按下述方法治疗 12 周。

第 1 组：每天 6 g 冷水海鱼油（F O）（300 mg E P A）。

第 2 组：每天 6 g 月见草油（E P O）（540 mg G L A）。

第 3 组：6 g E P O 和 F O（80：20）的混合物（475 mg G L A，238 mg E P A）。

在 14 天稳定期结束时，进行了钙⁴⁵基线水平吸收实验，治疗 12 周后，按上述方法重复此实验，C a⁴⁵的吸收结果摘录于下：

治疗	基线水平	12周
F O	0.36±0.04	0.44±0.06
E P O	0.38±0.03	0.55±0.07
E P O/F O	0.43±0.07	0.68±0.11

虽然用 E P O / F O 治疗的患者对钙的吸收比 E P O 高，但用 E P O 和 E P O / F O 治疗的患者对钙（C a⁴⁵）的吸收均增加了。

基于上述研究，本发明的一个方面在于 G L A 和 / 或其中间体及迅速产生的代谢物 D G L A 在用于制备增加肠对钙吸收的药物的用途

或在提高肠对钙吸收的方法中的应用。由于亚油酸 (L A) 是 G L A 的前体, 所以虽然是转换慢, 但 L A 还是一定效果。所以本发明还涉及亚油酸的用途, 正如下面将予提出的, 本发明特别涉及对骨质疏松症或其他钙缺乏病的治疗的用途。

本发明还提供了一种促进对钙的吸收的提高和降低尿对钙的排泄来增加系统钙量的方法, 其中以任何方便的形式给患骨质疏松或其他钙缺乏病或有患此类病的危险的动物或人使用每天有效量的 G L A 或 D G L A, 或 L A。本发明还提供了将 G L A、D G L A 或 L A 用于制备按上述方法使用的药物的用途。

同样, 如用 G L A 和 / 或 D G L A 来制备药物或进行上述治疗时, 本发明则提供了预防或治疗动物或人骨质疏松症或其他症状的疾病的方法。

如上所述, 体内的 G L A 迅速地转化为二高 (dihomo) - γ - 亚麻酸 (D G L A); 因此, D G L A 同 G L A 具有十分类似的效果。

正如下面将讨论的那样, G L A 或 D G L A 可以任何适宜的形式来使用, 如包括但不限于三甘油酯、二甘油酯、一甘油酯、游离脂肪酸、任何适宜的酯、任何适宜的盐、包括锂、钠、钾、钙、锌、镁的盐及其他任何适宜的盐、磷脂、酰胺或药学上可接受的任何其他形式来予使用。

G L A 或 D G L A 的优选剂量范围为 0.01 - 1, 000 mg / kg / 天, 更优选 0.5 - 50 mg / kg / 天, 最优选 2 - 30 mg / kg / 天, 可容易地按这种用药量 (相对于 70 kg 的成年人) 的剂量单位来制备成药。由于钙盐在增加钙吸收和减少排泄的同时可以补充钙, 所以钙盐特别适用于治疗骨质疏松病。

GLA或DGLA可同 $n-6$ 或 $n-3$ 系列中的任何基本脂肪酸（如花生四烯酸、 α -亚麻酸、二十碳五烯酸或二十二碳六烯酸等）以类似剂量一起使用。特别是，鉴于人的肠对钙的吸收情况，最好将GLA同EPA和/或其代谢物DHA配伍，这可以获得特别显著的效果。

口服、非肠道的（皮下、肌肉内、静脉内或任何其他适宜途径）、肠内的、含GLA的适宜的软膏、乳剂、洗剂、贴剂（patches）等局部使用的、阴道或直肠的给药途径均是适宜的。

可按如上面所指出的那样，使用所说的酸或按其中进行详细介绍的GLA和DGLA那样的药学上可接受的且生理上等效的衍生物来使用这些酸，如所说酸为这种形式的衍生物的话，所提到的任何酸均可作为其中的酸。如同与这些酸本身或其他天然的甘油酯的效果相应的效果所证明的那样，将其应用于本说明书中所引的路径证明了这种等效性。适宜的衍生物的间接证明是它们在身体中具有酸本身那样的重要效果，可用气相色谱分析血、身体脂肪或其他组织中的浓度，用标准技术（如Pelick等人所介绍的技术，第23页“Analysis of Lipids and Lipoproteins” Ed Perkins American Oil Chemists Society Champaign, Illinois, U. S. A）来证明这种转换。

概括地讲，适宜的情况是，本方法为用氯仿：甲醇（2：1）提取血浆样本（1 ml），提取液用硫酸钠过滤，蒸发至干，取出并放入0.5 ml 氯仿：甲醇中。用薄层色谱或硅胶平板分离去脂质部分，用三氟化硼-甲醇使能最灵敏地反映出基本的脂肪酸含量的磷脂部分甲基化。分离出得到的脂肪酸的甲酯，用装有红色硅藻土色谱载体（Chromosorb）WAW 106 / 230（上有10% Silar）的六

英尺的柱子对其进行Hewlett Packard 5880 气相色谱测定。氮为载气 (30 ml / 分)。以 2 °C / 分的升温速率使烘箱温度从 164 °C 升至 190 °C。检测器的温度为 220 °C, 注射器温度为 200 °C。用Hewlett-Packard Level 4 型积分仪自动计算停留时间和峰面积。通过与标准的脂肪酸甲酯进行比较来识别峰。

本发明主要涉及治疗方法和将 GLA 或 DGLA 用于制备药物组合物的用途, 但应当提出的是, 每天食谱所需的 γ -亚麻酸和其他 EFAs 可加入食用黄油或其他食品中, 并且当为了实现所说目的时, 这些食品将被认为是药物组合物或本文中 (包括权利要求所定义的) 所说的药物。

如有必要, 可将这样的或作为衍生物的天然或合成酸同医药上接受的载体进行混合生产的药物组合物用于本发明。然而, 在目前至少提供具有高的 GLA 含量的可获得油的形式的 GLA 是方便的, 因此在本说明书中提及了“油”这一术语。

目前可获得的油源之一是月见草种籽油 (如 *Oenothera biennis*. 和 *Oenothera amarckiana*) 月见草籽提取的油提取物含 8% GLA 和约 72% 的亚油酸 (其甘油酯形的), 同时还含其他甘油酯 (这里的百分含量是以总的脂肪酸为基准计算的)。其他的 GLA 来源有琉璃苣种的, 如 *Borago officinalis*, 这提供的油源要比 *Oenothera* 油丰富。*Ribes* 科成员的籽油也富含 GLA。最近通过对用发酵培养的真菌的研究表明真菌油源是大有希望的油源。某些水藻也可以产生 GLA, 可以培养并收集这些水藻。合成也是可能的。

可用惯常的提取方法如冷压、螺杆挤压 (部分炒过的种籽) 或用溶剂萃取等法从种籽中提取所说油。

用于本说明书所说目的月见草油部分样品（甲基酯形式）的相对比例列于下表：

棕榈酸酯	6 . 1 5
硬脂酸酯	1 . 6
油酸酯	1 0 . 1 5
亚油酸酯	7 2 . 6
γ - 亚麻酸酯	8 . 9

上述的种籽油提取物可以此种形式使用或如需要的话可分离制备成一种含 γ - 亚麻酸和亚油酸的三甘油酯作为主要的脂肪酸成分， γ - 亚麻酸（如需要的话）占绝大部分的油组合物。种籽油提取物似乎有稳定 D G L A（如存在的话）的效果。

可用化学合成或用真菌或海藻发酵的方法制备 D G L A。对于高级 $n - 6$ 酸而言，22 : 4 和 22 : 5 $n - 6$ 酸的天然来源包括从屠宰场获取的肾上腺（22 : 5）和肾（22 : 4），这些也为 A A 源。

$n - 3$ 酸长期以来一直从海鱼油获取，特别是 20 : 5 $n - 3$ （E P A）和 22 : 6 $n - 3$ （D H A）酸更是如此，近来也从微生物和海藻发酵来制取。可用如在温和非氧化条件下进行皂化，其后再用制备性的气液相色谱法从上述油源中分离出油。合成是困难的，但并非是不可能的，此法提供了另一种油源。

如上简述，所说组合物可方便地与适宜于经口、局部、非肠道或其他给药途径给药的形式，其中有适宜药用的载体，此组合物可配制成多种制剂，因此，例如，在需要时可配制成片剂、胶囊剂、可吸收的液体或粉形制剂，如当 γ - 亚麻酸或其他酸可通过皮肤吸收时，也

可配制为局部用制剂。可用蛋白增溶所述游离酸以制备水解的月见草 (Oenothera) 或其他油的可注射溶液剂。乳液剂或盐剂也可经输液注射给药。

所述制剂也可方便地加入防腐剂。业已发现浓度为 0.1% (重量计) 左右的 α -生育酚适合于本发明所述目的, 且是本领域中众所周知的诸多可能的稳定剂中的一种稳定剂, 所述稳定剂还包括如抗坏血酸棕榈酸酯和硬脂酸酯。

当然, 存在于任何剂量单位中的活性物质的绝对量在不超过适宜于所用给药速度和给药方式的量, 但另一方面, 也希望在少量剂量下也能足以获得所需要的给药速度。给药速度取决于所要求的药理作用。

所述组合物也可作为泡沫剂、乳剂、悬浮剂、阴道栓剂、栓剂、透皮吸收剂、以及其他合适的剂型。

下面是为实现本发明所述目的组合物和给药实施例。

1. 每天以软或硬明胶胶囊或片剂的形式给药 100 - 2000 mg GLA, 其条件是:

a. 每个胶囊 40 - 80 mg GLA (月见草油形式的)。

b. 每个胶囊 50 - 150 mg GLA (琉璃苣油、黑茶藨子油、真菌油或其他适宜油形式的)。

c. 每个胶囊 100 - 150 mg GLA (三甘油酯, 或任何适宜的 GLA 盐、如锂、钙、镁、锌或钾盐形式的)。

2. 每天给药 DGLA, 剂量为 100 - 2000 mg (上述 1 c 形式)。

3. 给药 GLA 或 DGLA (同 EPA 配伍) (有或无 DHA), 如每胶囊 40 - 80 mg GLA (月见草形式的) 同时给每胶囊 10

- 100 mg EPA (冷水海鱼油形式的)。

4. 给药 GLA 或 DGLA, 给药剂型是由如上述 1 c 中 GLA 的任何适宜的盐和赋形剂 (如柠檬酸-水合物、碳酸氢钠或其他二价酸如酒石酸或马来酸) 以及甜味剂 (如乳糖或山梨糖醇) 和调味剂制得的可溶性粉剂或起泡颗粒剂。

5. 给药 GLA 或 DGLA, 给药剂型是液体月见草油、琉璃苣或其他形式油本身或用适宜增味剂或稳定剂制备的泡沫剂或乳剂形式。

6. 给药 GLA 或 DGLA, 给药剂型可以用淀粉、明胶、何拉伯树脂或其他配方微囊包封的任何适宜药剂形式。

7. 给药 GLA, 给药剂型是阴道栓剂、栓剂、皮肤用贴剂 (Patches) 或其他任何适宜给药途径的剂型。

8. 含 500 mg 钙 - GLA 盐的钙 - GLA 片剂或软或硬明胶胶囊, 1-5 次/天。