

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A01N 57/00 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680049859.5

[43] 公开日 2009 年 4 月 1 日

[11] 公开号 CN 101400262A

[22] 申请日 2006.12.29

[21] 申请号 200680049859.5

[30] 优先权

[32] 2005.12.30 [33] US [31] 11/320,834

[86] 国际申请 PCT/US2006/049477 2006.12.29

[87] 国际公布 WO2007/079177 英 2007.7.12

[85] 进入国家阶段日期 2008.6.30

[71] 申请人 IP-6 研究公司

地址 美国马里兰

[72] 发明人 C·A·科波利诺

A·M·山姆萨丁

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 王磊 过晓东

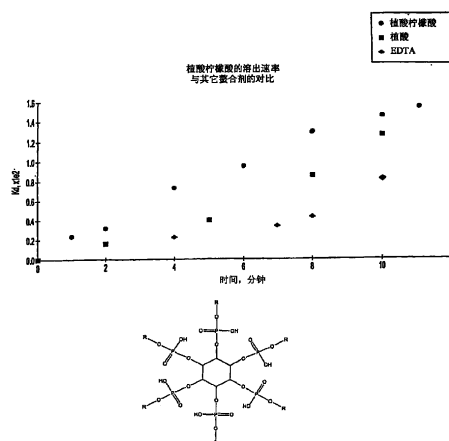
权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图 2 页

[54] 发明名称

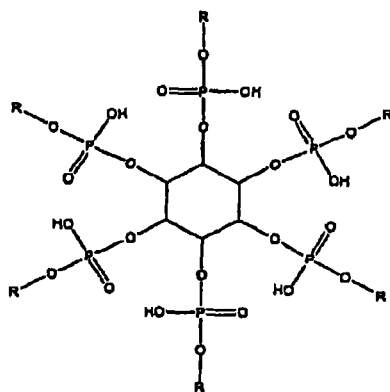
新植酸柠檬酸化合物及其制备方法

[57] 摘要

本发明提供了具有式(I)结构的化合物或其盐，其中所述 R 为 H 或柠檬酸根并且其中至少一个 R 为柠檬酸根。化合物的盐为所述化合物的 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 或 Ca^{2+} 盐。所述化合物是螯合剂，其可以螯合钠、钾或锂、镁、钙、铜、铁、铅、锌、铝、汞、镉或铬。其还可以用作动脉斑块溶解剂和/或用于治疗与年龄相关的退化性疾病例如阿尔茨海默症。本发明还提供了制备所述植酸柠檬酸化合物和/或其盐的方法。



1、化合物或其盐，其中所述化合物由下式表示：



其中，R 为 H 或柠檬酸根；并且其中至少一个 R 为柠檬酸根。

2、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述化合物的所述盐包含二价离子，所述二价离子选自 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ 之一。

3、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述化合物为晶体形式。

4、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述化合物溶于含水溶液。

5、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述含水溶液为水。

6、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述化合物是螯合剂。

7、如权利要求 6 所述的化合物或其盐，其中所述化合物螯合钠、钾或锂、镁、钙、铜、铁、铅、锌、铝、汞、镉或铬。

8、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述化合物或其盐是动脉斑块溶解剂。

9、如权利要求 1 所述的化合物或其盐，其中所述化合物或其盐对于治疗主体

中与年龄相关的退化性疾病具有治疗作用。

10、如权利要求 1 的化合物或其盐，其中所述与年龄相关的退化性疾病是阿尔茨海默症。

11、药物组合物，其包含如权利要求 1 所述的化合物或其盐以及药学上可接受的载体。

12、制备如权利要求 1 所述的化合物的方法，其包括：

将植酸的盐溶于含水溶液中；

向所述已溶解的植酸盐中加入柠檬酸和/或柠檬酸盐并搅拌以形成柠檬酸化的植酸盐溶液；

将所述柠檬酸化的植酸盐溶液结晶以形成所述化合物或其盐。

13、如权利要求 12 所述的方法，其中所述化合物为植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸或植酸六柠檬酸。

14、如权利要求 12 所述的方法，其中所述植酸单柠檬酸、所述植酸二柠檬酸、所述植酸三柠檬酸、所述植酸四柠檬酸、所述植酸五柠檬酸或所述植酸六柠檬酸分别是当植酸的盐与柠檬酸/柠檬酸盐的摩尔比分别为约 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 或 1:6 时制备的。

15、如权利要求 12 所述的方法，其中所述植酸的盐为植酸钠、植酸钾、植酸镁、植酸钙或植酸钙镁。

16、如权利要求 12 所述的方法，其中所述含水溶液是水。

17、如权利要求 12 所述的方法，其中所述柠檬酸化的植酸盐通过加热形成。

18、如权利要求 12 所述的方法，其中所述化合物或其盐通过干燥结晶。

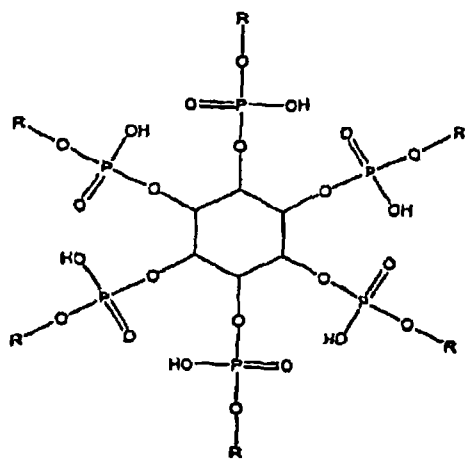
新植酸柠檬酸化合物及其制备方法

相关申请

本申请是要求于2004年7月19日提交的第10/894,919号美国专利申请的优先权的部分继续申请,所述专利申请在此通过引用纳入本文。

技术领域

本发明涉及一组具有以下化学式的化合物(以下称为“植酸柠檬酸(phytic citrate)化合物”)和/或其盐:



其中, R 为 H 或柠檬酸根并且其中至少一个 R 为柠檬酸根。植酸柠檬酸化合物的盐包括植酸柠檬酸化合物的 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和/或 Ca^{2+} 盐。植酸柠檬酸化合物是优秀的金属螯合剂,其可以有效地螯合钠、钾或锂、镁、钙、铜、铁、铅、锌、铝、汞、镉或铬。其也是良好的动脉斑块(artery plaque)溶解剂,可用于治疗与年龄相关的退化性疾病,例如阿尔茨海默症。本发明还提供了制备植酸柠檬酸化合物和/或其盐的方法。

背景技术

螯合剂是能与金属离子非常紧密地结合的小分子。一些螯合剂是容易制备的简单分子(例如乙二胺四乙酸[EDTA])。另一些螯合剂是由活器官制备的复合蛋白(例如转铁蛋白)。所有螯合剂共有的关键特性为结合到螯合剂上的金属离子是化学

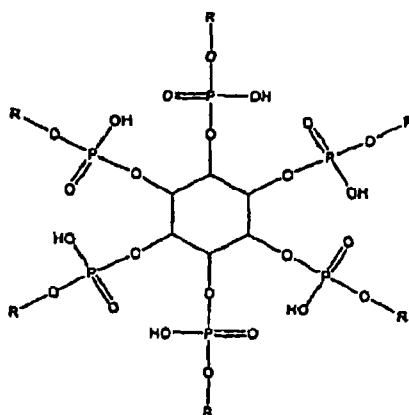
惰性的。因此，螯合剂的重要作用之一是使金属离子解毒和防止中毒。例如，乙二胺四乙酸(EDTA)用于治疗患有极严重的、威胁生命的血钙过多的患者，而铁螯合剂去铁胺(desferrioxamine)则用于去除长期输血累积的过量铁。虽然存在许多不同种类的螯合剂，但由于其多数具有严重的副作用，因此仅有少数可用于临床。EDTA 长期以来都被认为是重要的螯合剂，然而，已知当大量和高浓度的 EDTA 进入血管系统时会有毒性(参见第 5,114,974 和第 6,114,387 号美国专利)。

同时，在医学领域已知植酸作为螯合剂是 EDTA 的替代物。植酸是所有植物种子中的成分，存在于许多谷类和种子中。虽然其极易溶于水、醇(95 体积%)和丙酮，但其仅相对溶于含水丙二醇和含水的甘油，并且几乎不溶于醚、苯和己烷。植酸的水溶液为强酸性的：在 66 克/升时 pH 为 0.9。虽然植酸是稳定的生物活性成分和自由基抑制剂，具有金属螯合能力和强缓冲和抗氧化性质，但其不能用作专有的旗舰产品。

在下述的发明中，将介绍一组新化合物(以下称为“植酸柠檬酸化合物”)。这些新化合物具有至少一个柠檬酸根(citrate)分子，所述柠檬酸的羟基与植酸分子的磷酸相连。所述新化合物显示出比 EDTA 更强的螯合作用，并且由于其具有可生物降解及无毒的特性因此具有可用于人类的优点。

发明内容

本发明提供了一组新化合物(“植酸柠檬酸化合物”)和/或它们各自的盐。这些新化合物的结构如下：



其中，R 为 H 或柠檬酸根；并且其中至少一个 R 为柠檬酸根。因此，以上确定的化合物包括植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸和植酸六柠檬酸。最优的化合物是植酸六柠檬酸。各植酸柠檬酸

化合物的盐包括所述化合物的 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 或 Ca^{2+} 盐。最优选的盐是所述化合物的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ 盐。

各植酸柠檬酸化合物是晶体形式的，优选是晶体粉末形式。另外，植酸柠檬酸化合物可溶于含水溶液，优选溶于水溶液。

所述植酸柠檬酸化合物是有效的金属螯合剂，其能够螯合单、二和三价离子，例如钠、钾或锂、镁、钙、铜、铁、铅、锌、铝、汞、镉和/或铬。

所述植酸柠檬酸化合物还对溶解动脉斑块和/或治疗与年龄相关的退化性疾病例如阿尔茨海默症具有治疗作用。

本发明还提供了药物组合物，所述药物组合物包含植酸柠檬酸化合物或其盐和药学上可接受的载体。

本发明还提供了制备植酸柠檬酸化合物的方法。所述方法包括以下步骤：(1) 将植酸的盐溶于含水溶液中；(2) 向已溶解的植酸盐中加入柠檬酸和/或柠檬酸盐并搅拌，以形成植酸柠檬酸溶液；和(3) 将所述植酸柠檬酸溶液结晶，以形成植酸柠檬酸化合物和/或其盐。

根据反应中使用的植酸钠以及柠檬酸/柠檬酸盐的不同量，制备植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸和植酸六柠檬酸。例如，摩尔比分别为约 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 和 1:6 的植酸钠和柠檬酸(或柠檬酸盐)可分别制备植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸和植酸六柠檬酸。

植酸柠檬酸化合物的制备中所使用的植酸盐包括植酸钠、植酸钾、植酸镁、植酸钙和/或植酸钙镁。植酸盐优选溶于水中。优选加热溶解的植酸柠檬酸溶液，但加热至高至低于 100°C 。所述植酸柠檬酸化合物可以通过任何常规的干燥方法进行结晶，优选在 40°C 以下结晶，最优选在 10°C 以下结晶。

附图简述

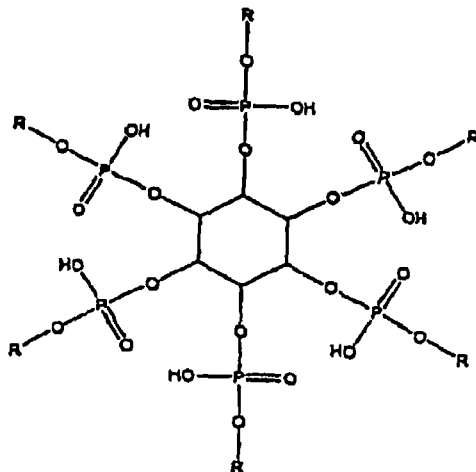
图 1 显示本发明的植酸柠檬酸化合物(植酸六柠檬酸)(●)的溶出速率与植酸(■)和 EDTA (◆)的溶出速率的对比。

图 2 显示本发明的植酸柠檬酸化合物(植酸六柠檬酸)(●)的 Fe^{2+} 再溶出速率与植酸 (■)和 EDTA (◆)的 Fe^{2+} 再溶出速率的对比。结果证明，植酸柠檬酸显示优于植酸和 EDTA 的再溶解能力。

具体实施方式

本发明提供了被称为植酸柠檬酸化合物的一组新化合物和/或这些化合物的盐。本发明还提供了用于制备这些化合物和/或其盐的方法。所述植酸柠檬酸化合物通过将柠檬酸中三个羧基支链转换成三个羟基而使一至六个柠檬酸根分子与单个植酸分子连接，因此，由于存在亲水的羟基而使所述新化合物可溶于水。

在植酸柠檬酸化合物中，柠檬酸被转化成每分子具有三个羟基的柠檬酸根。柠檬酸根的六个碳中的每一个都具有与柠檬酸根分子相连的氧原子，并且三个羟基与柠檬酸根分子中的每个碳原子相连接。由于这些新化合物的化学结构，特别是由于具有众多羟基的大极性分子，因此这些化合物具有高溶解性和螯合特性。这些新植酸柠檬酸化合物具有一至六个柠檬酸根分子，所述柠檬酸根分子的柠檬酸的羟基与植酸分子的磷酸相连。生成的植酸柠檬酸化合物具有如下结构：



其中 R 为 H 或柠檬酸根并且其中至少一个 R 为柠檬酸根。

以下实施例说明了制备植酸柠檬酸化合物的方法以及植酸柠檬酸化合物的特性。然而，这些实施例的目的仅仅是为了说明。其不应被看作是对本发明的范围的限制。本文在不背离本发明的范围的情况下可以对其进行合理的改变，例如对技术人员来说合理的改变。

实施例

实施例 1

制备植酸柠檬酸化合物的方法

植酸钠是可商购的。通过将植酸钠溶于水制备植酸柠檬酸化合物。如果需要，可采用加热和回流促进植酸钠溶解。优选控制使溶液的加热不高于 100℃ 且不超过

30 分钟。然后将足量的柠檬酸或柠檬酸钠加入到溶解的植酸盐溶液中, 将混合物充分搅拌, 然后在不超过 40°C 下静置(sat), 优选在冷藏环境(即, 约 4-10°C)下静置约 6-8 小时, 以使得新形成的植酸柠檬酸化合物结晶或直到结晶过程停止。在室温下将植酸柠檬酸化合物通过任意的常规的方法干燥, 所述方法包括但不限于真空干燥、冷冻干燥、或在室温下干燥。根据加入的柠檬酸/柠檬酸盐的量制备植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸和植酸六柠檬酸。例如, 摩尔比分别为约 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 和 1:6 的植酸钠和柠檬酸(或柠檬酸盐)可分别制备植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸和植酸六柠檬酸。

实施例 2

制备植酸六柠檬酸的方法

或者, 通过以下方法制备植酸六柠檬酸化合物: 首先, 将 0.33 kg 碳酸钙以 0.1 kg 的增量缓慢加入到 0.87 kg 植酸液中。混合物于约 90°C 下加热回流约 1 小时。分离两固体并过滤。收集白色固体植酸钙。将约 1 kg 植酸钙溶于 2.0 升水, 加热至约 89°C 约 10-15 分钟, 直至植酸钙完全溶解在水溶液中。接着向植酸钙溶液中加入约 0.9 kg 柠檬酸并且搅拌至柠檬酸完全溶解。移走加热源, 将得到的混合物在不超过 40°C 下或温度为约 5-10°C 的冷藏环境下静置约 6-8 小时, 以使得新形成的植酸六柠檬酸化合物结晶或直到结晶过程停止。在室温下干燥混合物直至看不到液体。于不超过 40°C 下将晶体在干燥盘中铺开约 24 小时, 得到约 1.2 kg 六柠檬酸化的植酸。

实施例 3

植酸柠檬酸化合物的螯合作用

如下表 1 和图 1-2 所示, 植酸柠檬酸化合物是十分有效的口服螯合剂, 其在血液的盐溶液中可以保持金属和非金属。所述新化合物还能非常有效地溶解动脉斑块, 并能去除脑组织中过量的铜、锌、铝和铁, 因此, 为患有阿尔茨海默症(已知其由金属在患者的脑组织中积聚而导致)的患者的治疗提供了治疗手段。

术语螯合是指保持离子、原子或分子的可溶(溶解)状态。螯合剂是可使得已混悬于溶液中或已在溶液中沉淀的固体物质再溶解的添加剂。强螯合剂不仅能溶解固体沉淀, 而且还能有效地保持具体固体的溶解状态。螯合剂在工业上用于抑

制重金属从溶液中沉淀或析出。可商购获得许多用于水处理或使溶液中的成分保持长时间(indefinitely)溶解的工业螯合剂。螯合剂使得本应是固体的物质保持溶解的机理如下：螯合剂包围那些通常不能溶于水的原子、离子或分子。然后螯合剂通过疏水末端与固体连接。一旦完全包围了固体，螯合剂分子就产生了螯合剂亲水性末端的外壳，使得(即使先前以沉淀固体形式存在的)固体分子能完全溶解于溶液中。

植酸是二价和三价重金属例如汞、镉、铬、铁、铅和铝的极强的螯合剂。另一方面，柠檬酸是单价离子例如钠、钾和锂的十分有效的螯合剂。在考虑了许多不同的营养补充剂和大量食品，并在无数实验和计算机模拟后发现，柠檬酸的分子结构能与植酸结合以形成具有植酸和柠檬酸大多数有益特性的新化合物，已将其命名为植酸柠檬酸化合物。这些化合物包括植酸单柠檬酸、植酸二柠檬酸、植酸三柠檬酸、植酸四柠檬酸、植酸五柠檬酸和/或植酸六柠檬酸。在这些化合物中，六柠檬酸化的植酸具有最佳的螯合作用。与其他已知的螯合剂例如 EDTA、醋酸、乳酸、柠檬酸、葡萄糖酸和多磷酸相比，六柠檬酸化的植酸的更强的螯合作用如下表所示：

表 1. 螯合作用比较

	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cu ²⁺	Fe ²⁺	Zn ²⁺
	(螯合的金属的浓度)				
植酸柠檬酸	11.56	12.24	12.11	20.44	21.01
植酸(PH 3)	9.56	9.73	10.41	16.84	15.50
植酸(PH 5)	10.77	10.55	10.85	17.35	14.96
植酸(PH 7)	11.24	10.57			
EDTA	8.69	10.70	18.80	17.35	16.50
醋酸	0.51	0.53			1.03
乳酸	0.93	1.07	3.02	6.40	1.86
柠檬酸	2.80	3.50	6.10	11.85	4.50
葡萄糖酸	0.70	1.20			1.70
多磷酸	3.20	3.0	3.5		2.00

通过本领域技术人员已知的常规方法测定不同螯合剂的螯合作用。被螯合剂

螯合的离子的浓度使用二价阳离子电极(如 Model 93-32, Orion Research Incorporated 制造)和离子分析仪(如 Model EA 920, Orion Research Incorporated 制造)测定。

表 1 的结果证明植酸柠檬酸具有比其它螯合剂更强的螯合作用。

图 1 显示植酸柠檬酸(图 1)的溶出速率(Kd)与植酸和 EDTA 的溶出速率的对比。结果表明,在溶解动脉中的斑块方面,植酸柠檬酸具有比其它螯合剂更强的溶解能力。

图 2 显示植酸柠檬酸、植酸和 EDTA 的 Fe²⁺的(脑组织中)再溶出速率。植酸组织对脑组织中铁离子的优良的再溶解能力为治疗与年龄相关的退化性疾病例如阿尔茨海默症提供了途径。

实施例 4

植酸柠檬酸化合物的晶体性质

表 2 显示植酸柠檬酸的晶体性质与植酸、植酸钙和植酸钙镁的对比:

表 2 植酸柠檬酸、植酸、植酸钙、植酸钙镁和植酸钠的性质

	植酸柠檬酸	植酸	植酸钙	植酸钙镁
外观	白色晶体粉末	微黄色粘稠液体	白色粉末	白色粉末
溶解度	极易溶于水	N/A	易溶于酸 但不溶于水	极易溶于酸 但不溶于水
重金属 (如铅)	最大值 0.0013%	最大值 0.0025%	最大值 0.005%	最大值 0.005%
砷	最大值 0.0002%	最大值 0.0003%	最大值 0.0005%	最大值 0.0005%
硫酸盐	最大值 0.007%	最大值 0.071%	ND*	ND*

*: 未测定

表 2 显示的结果证明植酸柠檬酸(植酸六柠檬酸)为晶体形式。其极易溶于水,并且包含极少量的重金属(铅)、砷和硫酸盐。这些结果支持了植酸柠檬酸易溶、包含低毒性物质的观点,因此能被安全地用于人类。

实施例 5

植酸柠檬酸的生物降解性

植酸柠檬酸的生物降解性根据“301 A DOC Die-Away Test” (1993),

OECDGuidelines for Testing of Chemicals 的方法进行评价。7 天和 14 天的降解结果均列于表 3。

表 3 植酸柠檬酸的生物降解性

试验烧瓶	不同天的降解(%)		
	7	14	14(平均)
试验混悬液			
1	>90 (98.0)	>90 (98.6)	
2	>90 (97.6)	>90 (100)	>90 (99.5)
3	>90 (99.4)	>90 (100)	
非生物无菌对照	<10	<10	-----
吸收	<10	<10	-----
苯胺对照	>90 (100)	>90 (99.7)	-----

表 3 中显示的结果证明植酸柠檬酸可容易地生物降解，因此能安全地用于人。

结论

本发明的植酸柠檬酸化合物包含了柠檬酸和植酸两者的一些特性，其不但是非常有益的人类食品添加剂而且没有毒性。因此，植酸柠檬酸化合物不仅显示出具有比 EDTA 更强的螯合作用(如表 1 所示)而且无毒(如表 2 所示)，并且能被生物降解(如表 3 所示)，因此优于具有毒性和致癌性质的 EDTA。

另外，由于柠檬酸根通过芳环每个碳原子上的碳氧键与植酸结合，因此植酸的氧原子和柠檬酸根复合物之间的键形成极强的共价键，其有助于防止分子的不稳定性。而且，尽管植酸柠檬酸化合物的分子量极大，但其极易溶(如表 2 所示)。由于具有众多的羟基，因此植酸柠檬酸化合物是极性超强的分子，其溶解性和螯合性质远远超越其它常规螯合剂例如肌醇、植酸和柠檬酸。

由于其良好的金属溶解性/螯合率(如表 2 所示)，植酸柠檬酸化合物的一个主要的应用是作为动脉斑块溶解剂。已知血液作为包含溶解和悬浮固体的浓盐溶液通过动脉和微动脉快速循环。血液中溶解的固体包括由结肠和/或肠道吸收的营养物。混悬的固体包括血小板、红细胞和白细胞。随时间流逝，一些溶解的固体形成了附着在循环系统的内壁上的固体沉淀，形成固体动脉斑块，其主血管中导致严重的堵塞。然而，由于植酸柠檬酸化合物的许多化学性质，因此其能特别成功地从动脉和微动脉中去除斑块。例如，植酸柠檬酸化合物是同时具有亲水和亲

脂性质的极易溶的分子。所述特性使得植酸柠檬酸化合物由于其亲水特性而能够在水中保持溶解，同时由于其亲脂特性使其自身能与所接触的固体连接或粘附。这样，植酸柠檬酸化合物起与表面活性剂类似的作用，使其在快速流经心血管系统时可以充当动脉和微动脉的斑块去除剂。

另外，植酸柠檬酸化合物具有能使沉淀固体再溶解的极强的螯合性质。这些再溶解的物质能一直保持其溶解状态直至其最终通过肾系统排出。如图 2 所示，植酸柠檬酸化合物尤对于再溶解脑组织中的铁离子特别有效，其可以用于治疗患有退化性疾病例如阿尔茨海默症的患者。

最后，植酸柠檬酸化合物与常规螯合剂相比具有多种新颖的和显著的差异。首先，所述化合物具有快速的溶解常数，因而使其能迅速并容易地溶解。由于这种增强的螯合能力，金属和非金属与结合产物的结合可产生可溶的离子物质，其可在血液的盐溶液在较高浓度下保持溶解状态。因此，极低浓度的所述化合物具有溶解动脉斑块以治疗动脉硬化的能力，以及去除脑组织中的铜、锌和铁沉淀以治疗阿尔茨海默症和其它与年龄相关的退化性疾病的能力。

尽管以上描述中包含多个特征，但这些特征不应被认为是对本发明范围的限制，而应被认为是对其优选的实施方案的说明，在本发明的教导中可能有许多其它的衍生和改变。因此，本发明的范围应由所附的权利要求和其法律上的等效物确定，而不是由实施例给出的范围确定。

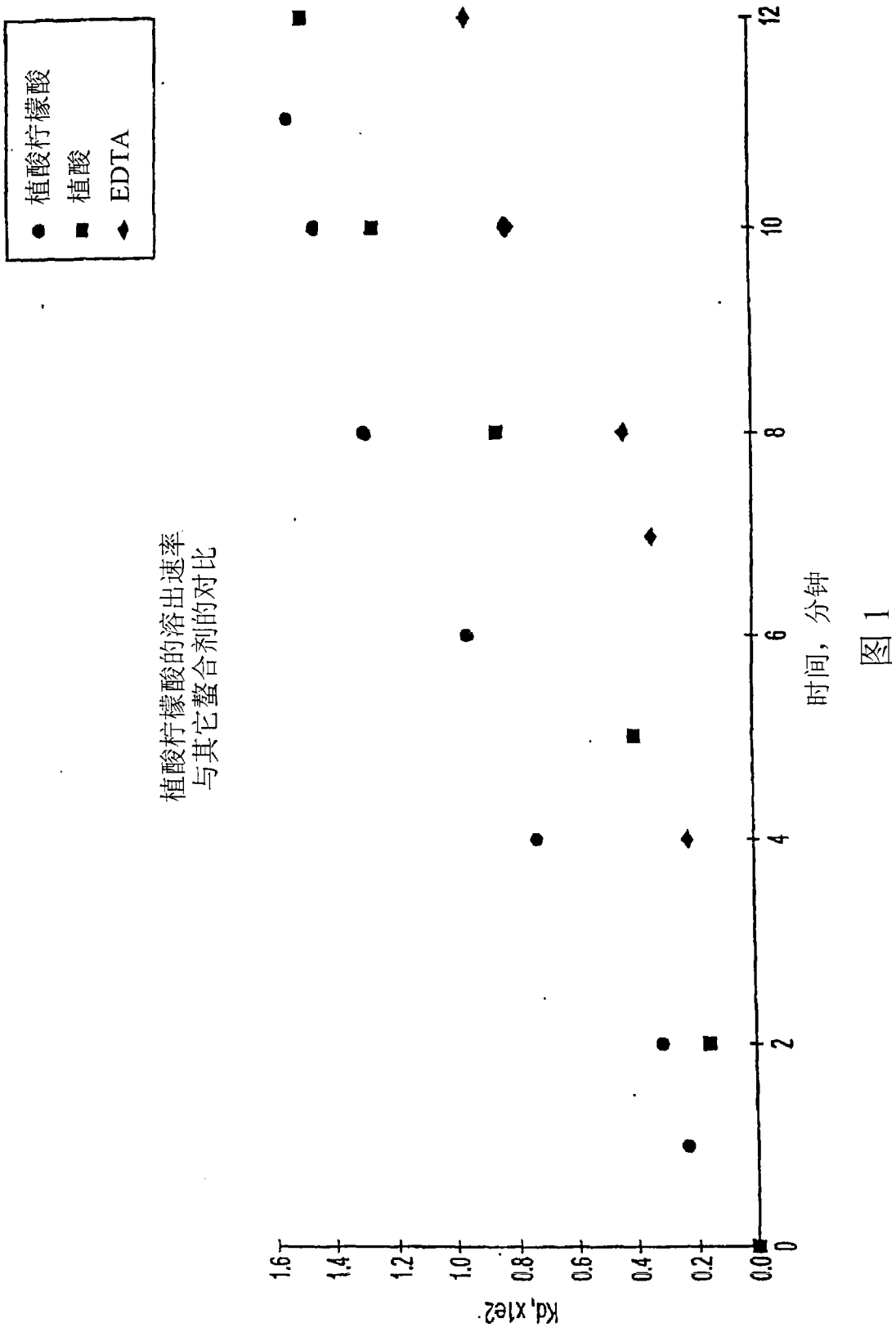


图 1

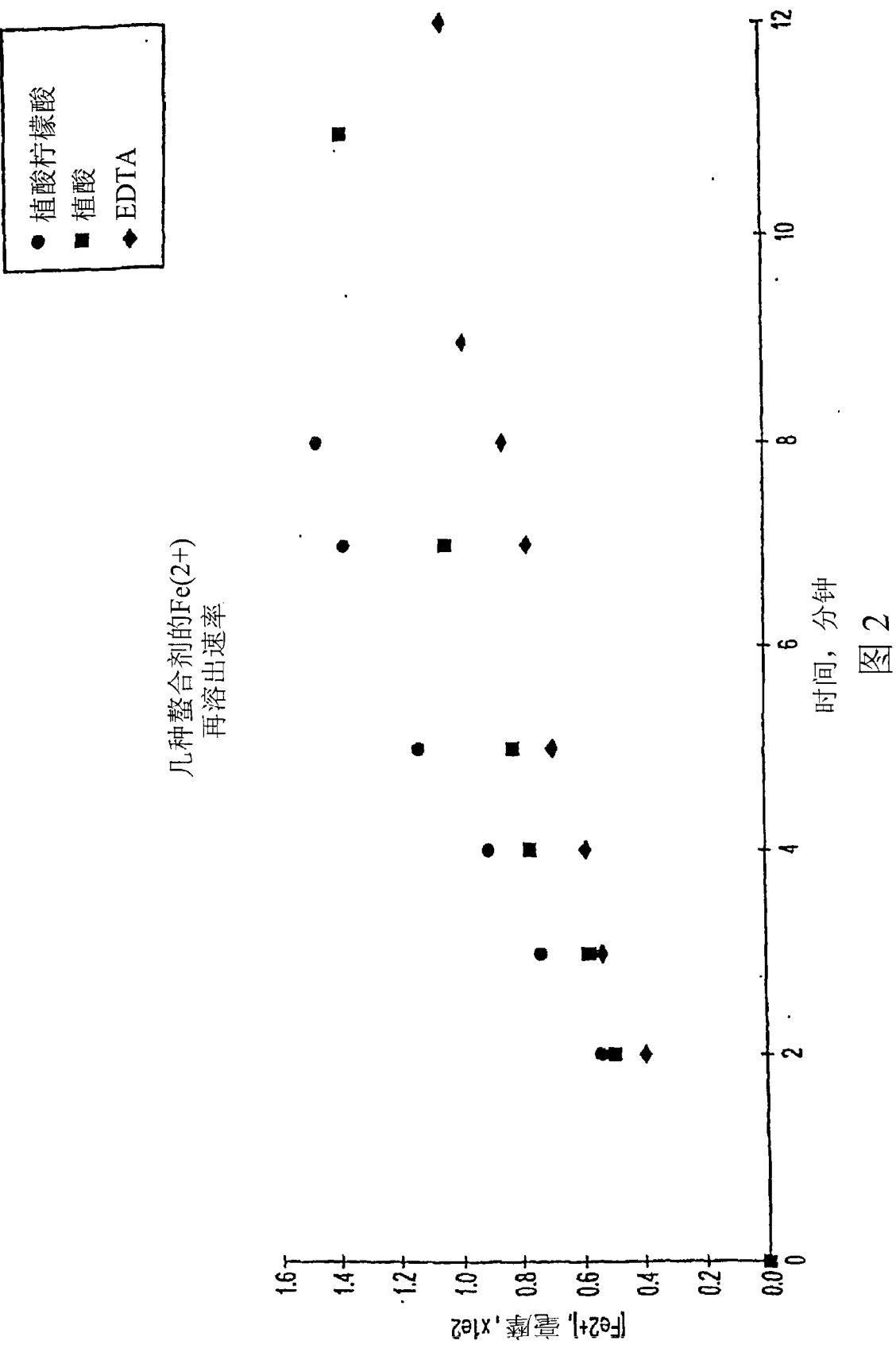


图 2