

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/194

A61K 31/122 A61K 38/41

A61K 31/198 A61P 3/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02800284.9

[43] 公开日 2003 年 11 月 19 日

[11] 公开号 CN 1457255A

[22] 申请日 2002. 2. 14 [21] 申请号 02800284. 9

[30] 优先权

[32] 2001. 2. 14 [33] US [31] 60/268,825

[86] 国际申请 PCT/EP02/01545 2002. 2. 14

[87] 国际公布 WO02/064129 英 2002. 8. 22

[85] 进入国家阶段日期 2002. 10. 11

[71] 申请人 马蒂亚斯·拉特

地址 荷兰 RG - 阿尔默洛

[72] 发明人 马蒂亚斯·拉特

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图 3 页

[54] 发明名称 参与细胞生物能代谢的生物化学化
合物的组合物和其使用方法

[57] 摘要

参与细胞生物能代谢的生物化学化合物的组合物及其在预防和治疗疾病中的使用方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 参与通过 Krebs 循环、呼吸链和尿素循环进行的细胞生物能代谢的化学物质的组合物，包括所述循环的一种或多种中间产物和/或其前体及辅因子以改善细胞能量代谢。

2. 两种或多种下列生物化学物质的组合物：琥珀酸，延胡索酸，L-苹果酸， α -酮戊二酸-不考虑其量-用于改善细胞能量代谢。

3. 两种或多种下列生物化学物质的组合物：柠檬酸，顺乌头酸，异柠檬酸，草酰琥珀酸， α -酮戊二酸，琥珀酰辅酶 A，琥珀酸，延胡索酸，L-苹果酸，草酰乙酸，乙酰辅酶 A 和丙酮酸-不考虑其量-用于改善细胞能量代谢。

4. 两种或多种下列生物化学物质的组合物：辅酶 Q-10(泛醌)，还原型辅酶 Q(泛醇)，泛醌/泛醇家族化合物的其他化合物，血红素 a(细胞色素 a 的部分)，血红素 b(细胞色素 b 的部分)和血红素 c(细胞色素 c 的部分)-不考虑其量-用于改善细胞能量代谢。

5. 任何或所有下列生物化学化合物的组合物：瓜氨酸，精氨酸琥珀酸，精氨酸，鸟氨酸和天冬氨酸-不考虑其量-用于改善细胞能量代谢。

6. 权利要求 1-5 所述的组合物，还包括任何或所有下列生物化学化合物：硫辛酸，硫辛酰胺，乙酰硫辛酰胺，赖氨酸，肉碱，抗坏血酸，硫胺素，核黄素，烟酸，烟酰胺，泛酸，烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)，还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)，烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)，还原型 NADP(NADPH)，喹啉酸(NAD/NADP 前体)，黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)，还原型黄素腺嘌呤二核苷酸(FADH)，黄素单核苷酸(FMN)，还原型黄素单核苷酸(FMNH₂)，腺苷二磷酸(ADP)，腺苷三磷酸(ATP)，鸟苷二磷酸(GDP)，鸟苷三磷酸(GTP)，镁(Mg⁺⁺)，钙(Ca⁺⁺)，锰(Mn⁺⁺)，铜，硫酸铁，钼-不考虑其量-用于改善细胞能量代谢。

7. 权利要求 1-6 所述的生物化学物质的组合物，其中所述组合物以下列形式提供给病人：片剂，丸剂，注射液，浸剂，吸入剂，栓剂或其他药学可接受载体和/或递送方式。

8. 权利要求 1-7 所述的生物化学物质的组合物, 其中组合物中所选择的各生物化学物质的剂量足以发挥预防和/或治疗效果但低于会引起副作用的水平。

参与细胞生物能代谢的生物化学 化合物的组合物和其使用方法

本发明涉及参与活细胞生物能代谢的生物化学化合物的组合物以及其在预防和治疗人和动物的疾病和其他健康状况中的使用方法。

已经证实许多人体疾病是在细胞水平上发生的。Rudolph Virchow的“细胞病理学”[1854]已经成为病理学的主导原理。当这些疾病的起始的定位-细胞-确定后，引起细胞功能失调的各种机制仍然没有得到充分理解。

没有在细胞水平产生足够的生物能，生命是不可能的。在一系列的代谢途径中，蛋白质、碳水化合物和脂肪转化成腺苷三磷酸(ATP)。细胞能的最适利用是健康的前提。在正常的条件下，例如，在年轻健康的个体中，机体细胞产生最适量的细胞能以维持各种机体功能。

年龄较大并且处于病理状态时，尽管食物的摄入是最适的，机体细胞也经常不能提供足够的能量维持机体的生理功能。另外，已经鉴定了几种遗传性疾病，其中细胞能代谢的酶受影响，导致了神经障碍和其他的临床表现。

仍然不清楚的这些病理机制之一是细胞中生物能的不足或缺乏。在生理条件下，细胞的生物能是由细胞中分解代谢的糖、蛋白质和脂肪提供的。分解食物和产生ATP形式的生物能的一般途径是三羧酸循环或柠檬酸途径[Krebs循环]和随后的细胞能途径，细胞呼吸链[呼吸链]以及紧密相连的尿素循环。

这些生物化学途径的基本成分已经阐明，并且概括在图1-3。尽管这些化合物的生物化学结构是已知的，它们目前不用于医学中作为预防剂和治疗剂。我没有发现任何医学教科书建议把这些化合物用于预防和/或治疗病人。

由于这些生物化学途径涉及多个酶步骤，所以缺乏一种或多种

Krebs-循环、呼吸链和尿素循环的化合物的可能性进一步加大。就在最近，鉴定了涉及 Krebs 循环的酶缺乏的第一类分子疾病。涉及这些酶中的一种或几种和/或辅酶的一种或几种的遗传疾病不可避免地导致了这些途径中的一种或几种生物化学化合物的缺乏。

最近，Krebs 循环的几种辅酶(例如，硫胺素，烟酸，抗坏血酸，核黄素， Mg^{++})已经成功地用于预防和辅助治疗某些健康病症。但是，Krebs 循环本身、呼吸链和紧密相关的尿素循环的生物化学化合物没有被应用。

已经发现(Stumpf 等，弗里德赖希共济失调:III. 线粒体苹果酸酶缺乏，神经学(Neurology)，1982: 32: 221 - 7)许多神经肌肉疾病可能是线粒体苹果酸酶活性降低而具有潜在的线粒体代谢缺陷。另外还发现(Walker 等，遗传代谢疾病杂志(Journal of Inherited Metabolism Disorder)，12(1989)，331 - 332; Gellera 等，神经学(Neurology)，1990，40(3 Pt 1):495 - 9; Bourgeron 等，具有进行性脑病和延胡索酸酶缺乏的两个胞亲中延胡索酸酶基因的突变，临床研究杂志(Journal of Clinical Investigations)，1994年6月，93(6): 2514 - 8; Narayanan 等，表现出张力减退和无反射的先天性延胡索酸酶缺乏，儿童神经学杂志(Journal of Children Neurologie)，1996年5月，11(3): 252 - 55; Coughlin 等人延胡索酸酶缺乏的分子分析和产前诊断，Mol. Genet. Meta. 1998年4月; 254 - 62; Zinn 等，延胡索酸酶缺乏中的 succinal purins 异常)，延胡索酸酶缺乏具有严重的神经损伤，延胡索酸酶缺乏是影响线粒体酶和胞质酶的常染色体隐性脑病。另外还有报道，顺乌头酸酶缺乏和 2-酮戊二酸脱氢酶缺乏和琥珀酸脱氢酶缺乏可以产生神经变性疾病(Drugge J. J. Med. Genet.，1995年5月; 32(5): 344 - 7，有 legtic archdiocese，琥珀酸脱氢酶和顺乌头酸酶缺乏的遗传性肌病; Dunkelmann 等，Neuropediatric 2000年2月; 31(1):35-8; 有间歇 2-酮戊二酸尿的 2-酮戊二酸脱氢酶缺乏)。已经有人提出，脑肌病、心肌病和其他神经疾病可能是由于在生物能代谢中，特别是在 Krebs-循环、呼吸链和尿素循环中，编码催化中间步骤的酶的 DNA 的遗传性或获得性突变。已发现许多这样的神经疾病是致命的。

很明显，上述缺乏不限于神经疾病，而反映细胞生物能代谢的重要性，和 Krebs-循环，呼吸链和尿素循环这样的代谢途径中缺乏的重要性。其中的缺乏导致生物能的缺乏从而不仅仅引起神经效应而且引起所有种类的人疾病包括心力衰竭病症。最常见的形式，特发性心肌病是上百万个心肌细胞的细胞功能失调引起的。这种功能失调的最常见原因是细胞能的利用不足，使心肌细胞丧失心脏泵功能需要的基本能量。

所以，需要预防和治疗细胞生物能代谢的功能失调的方法和组合物。

由于已经发现遗传缺陷影响细胞的 Krebs 循环和其他代谢能量循环，显然要寻找修复编码补偿在 Krebs 循环和其他代谢能量循环中的缺乏所必须的酶的基因的遗传性和获得性突变的方法和手段。但是，尽管基因技术变得越来越先进，但它在很大程度上仍然是理论性的，有功能障碍，并且可能引起至今尚未知的副作用。

在另一方面，通过对机体施用所缺乏的成分而补偿在生物能代谢中的这类缺乏似乎也是显然的。但是，生物能代谢途径，特别是 Krebs-循环是在很久以前发现的，生物能代谢是在大多封闭的系统中发生的非常复杂的过程。在骨骼肌中，三羧酸循环的主要作用是提供给 ATP 合成的电子传递链以还原当量，并且作为一个封闭的循环而起作用，其中二氧化碳基本上完全氧化进入碳骨架。在肝中，三羧酸循环作为开放的循环起作用，碳骨架在不同侧进入循环和离开循环，以提供线粒体和胞质中生物合成过程的底物(Zinn 等，延胡索酸酶缺乏：线粒体脑肌病的新原因，新英格兰医学杂志，315 卷，1986 年 8 月 21 日)。

所以，Krebs-循环、尿素循环和/或呼吸链的真正的生物化学成分的缺乏不被理解为疾病病理的原因或起作用的因素。另外，目前没有已知的含有这些途径的生物化学化合物的组合的预防或治疗处方。虽然，这些缺乏许多年以前就已发现，但对施用化合物以补偿这些缺乏似乎存在偏见，因为已有的一个事实是，这样的循环是封闭的或只允许有限的化学成分如碳骨架进入。

令人吃惊的是，我已经发现补偿代谢循环中酶缺乏的化合物的某些组合物能够修复遗传性或获得性缺陷，尽管还不知道这样的化合物以何

种方式起效，是进入这些途径还是以不同的方式起作用。我还发现不必检测这些循环中的哪个中间步骤存在缺乏，所以化合物的组合物可用以覆盖可能的酶缺乏而不用考虑何处存在这样的缺乏。因为我利用的这些组合物没有已知的副作用，所以补偿作用中不需要的化合物被排出体外而不造成任何伤害。

所以，本发明的目的是发现克服这些缺乏的组合物和方法。

本发明的特征是参与活细胞生物能代谢的生物化学化合物的组合物，以及用于预防和治疗人和动物中的疾病和其他健康状况的方法。

因为细胞生物能的缺乏是重要的病理机制，需要提供参与 Krebs 循环，呼吸链和/或尿素循环中的生物化学化合物的组合物。

这些生物化学途径的生物化学化合物的组合物可以提供维持细胞中细胞能代谢最佳水平的必需生物能分子，从而有助于预防和治疗器官功能失调和疾病。

我还没有在科学文献中发现任何关于这样的生物化学化合物的组合物或它们的治疗用途的叙述。

本发明的一个或多个实施方案的细节在附图和下面的说明中得到阐述。本发明的其他特征，目的和优点将从说明书和附图以及权利要求来阐明。

本发明的特征是 Krebs 循环，和/或呼吸链和/或尿素循环的生物化学中间产物单独或与生化辅因子联合的预防和治疗用途。

a) Krebs - 循环

Krebs - 循环的生化中间产物是柠檬酸，顺乌头酸，异柠檬酸，草酰琥珀酸， α -酮戊二酸，琥珀酰辅酶 A，琥珀酸，延胡索酸，苹果酸，草酰乙酸，以及 Krebs 循环的直接前体生化化合物，即乙酰辅酶 A 和丙酮酸。

由于这些化合物在能量代谢中的重要性不同，出于本发明的目的将它们分成两类：

A. A 类(表 1)：琥珀酸，延胡索酸，L-苹果酸， α -酮戊二酸。

B. B 类(表 2)：柠檬酸，顺乌头酸，异柠檬酸，草酰琥珀酸，琥珀酰辅

酶 A, 草酰乙酸以及乙酰辅酶 A 和丙酮酸。

b) 呼吸链

呼吸链的生物化学化合物(表 3)是辅酶 Q-10(泛醌), 还原型辅酶 Q(泛醇), 泛醌/泛醇化合物家族的其他化合物, 血红素 a(细胞色素 a 的部分), 血红素 b(细胞色素 b 的部分)和血红素 c(细胞色素 c 的部分)。

c) 尿素循环

尿素循环的生物化学化合物(表 4)是瓜氨酸, 精氨琥珀酸, 精氨酸, 鸟氨酸和天冬氨酸。

d) 细胞能量代谢的辅因子

细胞能量代谢的生物化学辅因子(表 5)是硫辛酸, 硫辛酰胺, 乙酰硫辛酰胺, 赖氨酸, 肉碱, 抗坏血酸, 硫胺素, 核黄素, 烟酸, 烟酰胺, 泛酸, 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD), 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH), 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP), 还原型 NADP(NADPH), 喹啉酸(NAD/NADP 前体), 黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD), 还原型黄素腺嘌呤二核苷酸(FADH), 黄素单核苷酸(FMN), 还原型黄素单核苷酸(FMNH₂), 腺苷二磷酸(ADP), 腺苷三磷酸(ATP), 鸟苷二磷酸(GDP), 鸟苷三磷酸(GTP), 镁(Mg⁺⁺), 钙(Ca⁺⁺), 锰(Mn⁺⁺), 铜、硫酸铁、钼。

本专利中要求保护的化合物在医学中有广泛的应用。在本专利中要求保护的化合物可以用于维持和恢复机体中基本上每个细胞系统的细胞能量。所以, 本文要求保护的化合物可以用于预防和治疗人和动物中的多种疾病。

在组合物的第一个实施方案中, 要求保护参与 Krebs 循环, 呼吸链和尿素循环细胞生物能代谢的化学物质的组合物, 均紧密相关包括这些循环的中间产物及其前体和辅因子, 因为可能不确定在这些循环的哪个中间步骤存在酶缺乏。

在另外的一个实施方案中, 如表 1, A 类中所示要求保护 Krebs 循环的生物化学物质。

在另外的实施方案中, 要求保护 Krebs 循环的其他中间步骤的生物物质。

在另外的一个实施方案中，要求保护呼吸链的生物化学化合物(表3)包括辅酶。

在另外的一个实施方案中，要求保护尿素循环的生物化学化合物。

在另外的一个实施方案中，要求保护加强代谢的酶反应的辅因子及其前体、维生素和辅基和酶活化剂。

表 1: Krebs 循环化合物类别 A

生物化学物质	单位	要求保护的量
琥珀酸	mg	0.001-100,000
延胡索酸	mg	0.001-100,000
L-苹果酸	mg	0.001-100,000
α -酮戊二酸	mg	0.001-100,000

表 2: Krebs 循环化合物类别 B

生物化学物质	单位	要求保护的量
丙酮酸	mg	0.001-100,000
乙酰辅酶 A	mg	0.001-100,000
柠檬酸	mg	0.001-100,000
顺乌头酸	mg	0.001-100,000
异柠檬酸	mg	0.001-100,000
草酰琥珀酸	mg	0.001-100,000
2-酮戊二酸	mg	0.001-100,000
琥珀酰辅酶 A	mg	0.001-100,000
草酰乙酸	mg	0.001-100,000

表 3: 细胞呼吸链化合物

生物化学物质	单位	要求保护的量
辅酶 Q-10(泛醌)	mg	0.001-100,000
还原型辅酶 Q(泛醇)	mg	0.001-100,000
血红素 a(细胞色素 a 的部分)	mg	0.001-10,000

血红素 b(细胞色素 b 的部分)	mg	0.001-10,000
血红素 c(细胞色素 c 的部分)	mg	0.001-10,000

表 4: 细胞尿素循环化合物

生物化学物质	单位	要求保护的量
瓜氨酸	mg	0.001-100,000
精氨酸琥珀酸	mg	0.001-100,000
精氨酸	mg	0.001-10,000
鸟氨酸	mg	0.001-10,000
天冬氨酸	mg	0.001-10,000

表 5: 细胞能量代谢的生物化学辅因子

生物化学物质	单位	要求保护的量
硫辛酸	mg	0.001-100,000
硫辛酰胺(硫辛酸 + 赖氨酸)	mg	0.001-100,000
乙酰硫辛酰胺	mg	0.001-100,000
赖氨酸	mg	0.001-100,000
肉碱	mg	0.001-100,000
抗坏血酸	mg	0.001-100,000
硫胺素	mg	0.001-100,000
核黄素	mg	0.001-100,000
烟酸	mg	0.001-100,000
烟酰胺	mg	0.001-100,000
泛酸	mg	0.001-100,000
烟酰胺 - 腺嘌呤二核苷酸(NAD)	mg	0.001-100,000
还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)	mg	0.001-100,000

烟酰胺-腺嘌呤二核苷酸

磷酸(NADP)	mg	0.001-100,000
还原型 NADP (NADPH)	mg	0.001-100,000
喹啉酸(NAD/NADP 前体)	mg	0.001-100,000
黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)	mg	0.001-100,000
还原型黄素腺嘌呤二核苷酸(FADH) mg		0.001-100,000
黄素单核苷酸(FMN)	mg	0.001-100,000
还原型黄素单核苷酸(FMNH ₂)	mg	0.001-100,000
腺苷二磷酸(ADP)	mg	0.001-100,000
腺苷三磷酸(ATP)	mg	0.001-100,000
鸟苷二磷酸(GDP)	mg	0.001-100,000
鸟苷三磷酸(GTP)	mg	0.001-100,000
镁(Mg ⁺⁺)	mg	0.001-100,000
钙(Ca ⁺⁺)	mg	0.001-100,000
锰(Mn ⁺⁺)	mg	0.001-100,000
铜	mg	0.001-1,000
硫酸铁	mg	0.001-1,000
钼	mg	0.001-1,000

mg=毫克

已经叙述了本发明的许多实施方案。但是可以理解可以作出各种修改而不脱离本发明的实质和范围。因此，其他实施方案也在下列权利要求的范围之内。

图 1 是 Krebs 循环，也称为三羧酸循环或柠檬酸循环的代谢途径的示意图。

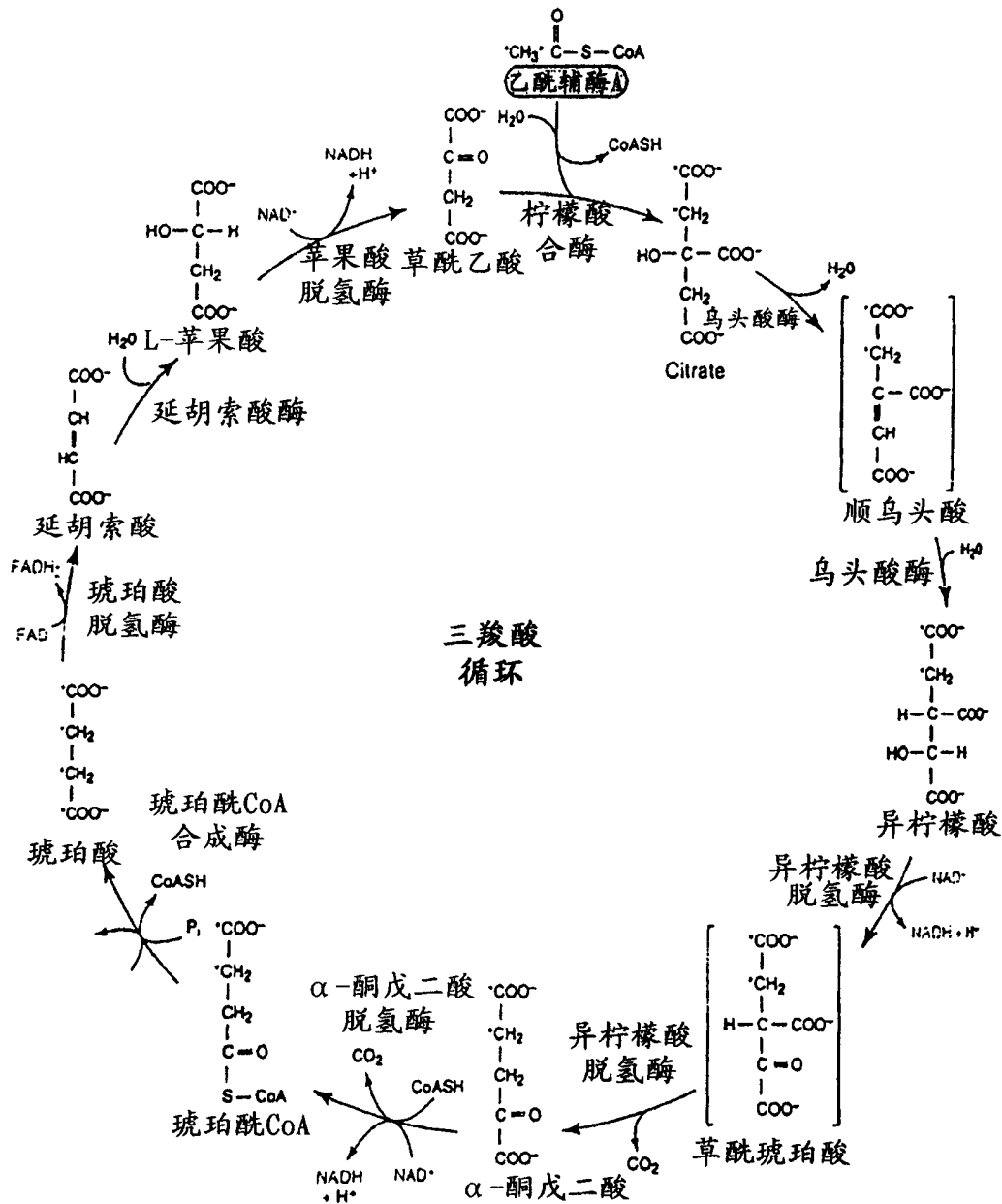


图 1

图 2 是呼吸链，也称为氧化磷酸化的代谢途径的示意图。

酶复合体	辅基
NADH-Q还原酶	黄素单核苷酸 Fe-S
琥珀酸-Q还原酶	FAD Fe-S
细胞色素还原酶	血红素b 血红素b 血红素c Fe-S
细胞色素C	血红素c
细胞色素氧化酶	血红素a 血红素a

图 2

图 3 是尿素循环的代谢途径的示意图。

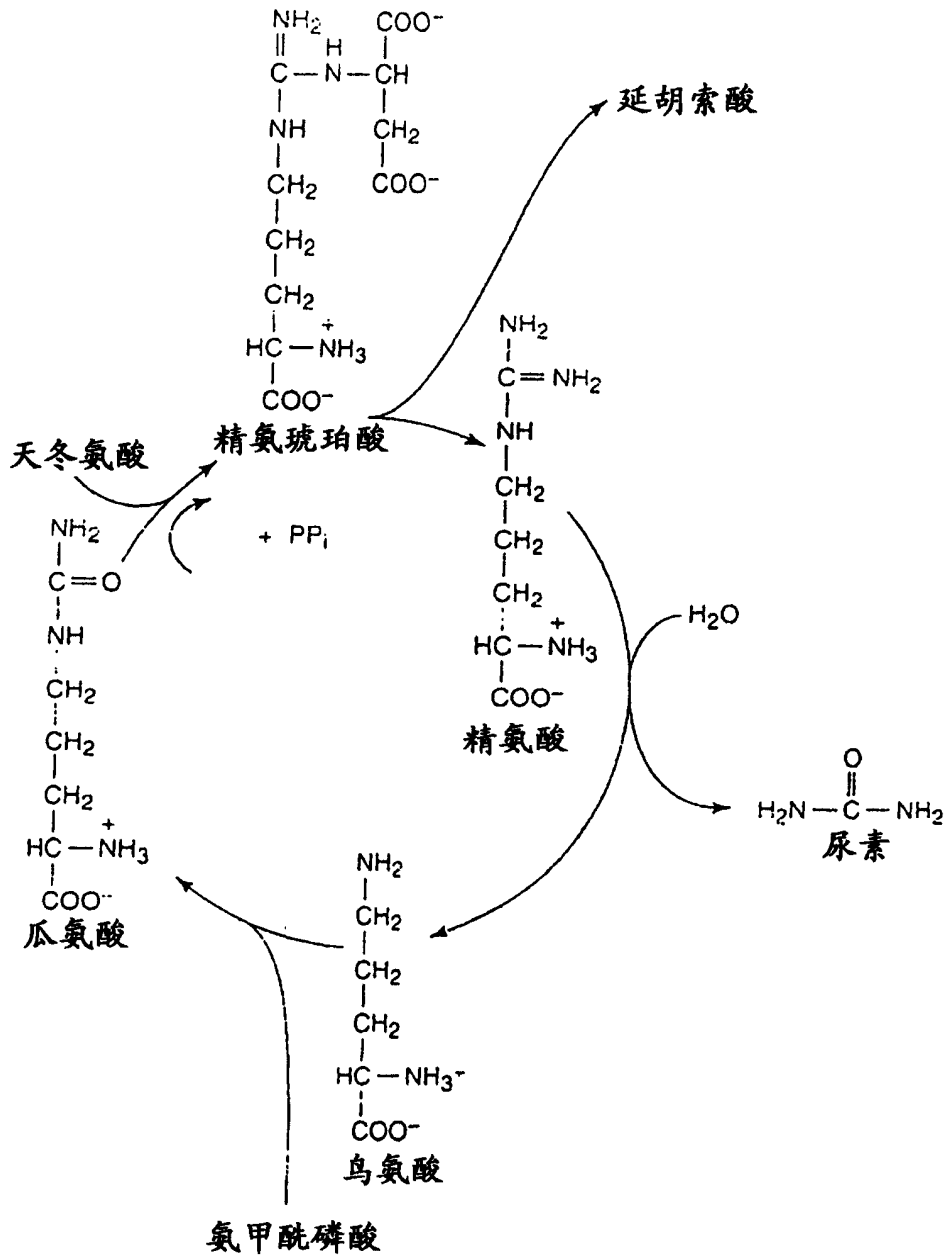


图 3