



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102164884 B

(45) 授权公告日 2015. 03. 11

(21) 申请号 200980136723. 1

(22) 申请日 2009. 04. 16

(30) 优先权数据

61/090, 751 2008. 08. 21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 03. 21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/040766 2009. 04. 16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/021766 EN 2010. 02. 25

(73) 专利权人 伊希斯创新有限公司

地址 英国牛津

专利权人 (由卫生与公众服务部部长代表的) 美利坚合众国政府

(72) 发明人 K·克拉克 R·L·韦奇

(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 11038

代理人 李瑛

(51) Int. Cl.

C07C 69/675(2006. 01)

A61K 31/22(2006. 01)

A61P 3/04(2006. 01)

A61P 3/10(2006. 01)

A61P 25/00(2006. 01)

A23L 1/30(2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2004108740 A2, 2004. 12. 16,

W0 2004108740 A2, 2004. 12. 16,

W0 2007063037 A2, 2007. 06. 07,

US 5112865 A, 1992. 05. 12,

GB 1524611 A, 1978. 09. 13,

审查员 赵愈林

权利要求书1页 说明书13页 附图9页

(54) 发明名称

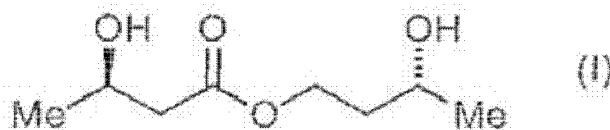
羟基丁酸酯及其医学用途

(57) 摘要

一种化合物,其是对式(I)的(3R)-羟基丁基(3R)-羟基丁酸酯对映体富集的(3)-羟基丁基(3)-羟基丁酸酯;其是酮体(3R)-羟基丁酸酯的有效且可口的前体,并且因此可以用于治疗人或动物受试者中由提高的游离脂肪酸血浆水平引起、加剧或与之相关的病症,例如,涉及体重减轻或体重增加的病症,或提高警觉性或改善认知功能,或治疗、预防或降低神经退化、自由基毒性、含氧量低状况或高血糖的影响。



1. 一种化合物,其是对式 (I) 的 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯对映体富集的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯:



2. 根据权利要求 1 的化合物,该化合物相对于 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯被富集到至少 90%。

3. 一种可摄取的组合物,其包含如权利要求 1 中所限定的化合物和饮食或药物学上可接受的载体。

4. 根据权利要求 3 的组合物,其是食品、饮料、饮品、食物补充物、膳食补充剂、功能食品、营养保健品或药物。

5. 权利要求 1 中所限定的化合物,用于通过疗法治疗人或动物体的方法中。

6. 权利要求 5 中所要求的化合物,用于治疗人或动物受试者中由提高的游离脂肪酸血浆水平引起、加剧或与之相关的病症。

7. 权利要求 5 中所要求的化合物,用于治疗涉及体重减轻或体重增加的病症、抑制受试者的食欲、治疗肥胖症、促进体重减轻、维持健康体重或减少脂肪与瘦肉的比例。

8. 权利要求 5 中所要求的化合物,用于预防或治疗选自认知障碍、神经变性疾病或障碍、肌肉损伤、疲劳和肌肉疲劳的病症。

9. 权利要求 5 中所要求的化合物,用于治疗患有选自糖尿病、甲状腺功能亢进、代谢综合征 X 的病症的患者,或用于治疗老年患者。

10. 权利要求 5 中所要求的化合物,用于治疗、预防或降低神经变性,自由基毒性,缺氧状况或高血糖的影响。

11. 权利要求 10 中所要求的化合物,其中神经变性是由老化、创伤、缺氧-低氧或神经变性疾病或障碍引起的。

12. 权利要求 5 中所要求的化合物,用于治疗选自阿尔茨海默氏病,帕金森病,肌萎缩性侧索硬化,癫痫症,星形细胞瘤,恶性胶质瘤和亨廷顿氏舞蹈病的神经变性疾病或障碍。

13. 权利要求 1 或权利要求 5 中所要求的化合物,用于提高警觉性或改善认知功能。

14. 权利要求 6 至 13 任一项中所要求的化合物,用于与待治疗病症的标准疗法联合使用。

15. 一种通过转酯反应生产对式 (I) 的 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁基酯对映体富集的 3-羟基丁基 3-羟基丁基酯的方法,包括在脂酶存在下,在进行转酯反应的反应条件下使 3R-羟基丁基酯与 R-1,3-丁二醇接触。

16. 根据权利要求 15 的方法,其中脂酶包括南极洲假丝酵母脂酶 B。

羟基丁酸酯及其医学用途

发明领域

[0001] 本发明涉及提高酮体血液水平的羟基丁酸酯,以及这些酯的医学用途。

[0002] 发明背景

[0003] 酮体是通过肝从脂肪组织释放的脂肪酸产生的化合物。酮体自身可以用作大多数身体组织中的能量来源。提高血液中酮体水平的化合物的摄入可以导致多种临床益处,包括身体和认知能力的提高以及心血管病症、糖尿病、神经变性疾病和癫痫的治疗。

[0004] 酮体包括 (R)-3- 羟基丁酸酯和乙酸乙酯。如 WO 2004/108740 中所讨论的,理论上这些化合物可以直接给药以获得受试者体内酮体水平的提高。然而,该化合物的直接给药是不切实际的并且具有潜在危险。例如,(R)-3- 羟基丁酸酯或乙酸乙酯以其游离酸形式的直接给药可能在快速的胃肠道吸收后导致显著的酸中毒。由于可能伴随治疗相关量的该化合物的给药造成的具有潜在危险的钠超负荷,这些化合物的钠盐以未调整量的给药也是不合适的。

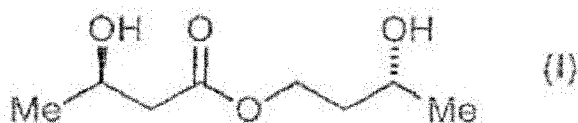
[0005] 在这个背景下,WO 2004/108740 公开了用作酮体前体,如乙酸乙酯和 (R)-3- 羟基丁酸酯,并且因此在给予受试者时,可以提高酮体的血浓度的 (R)-3- 羟基丁酸酯的衍生物。该衍生物的实例包括酯类,例如,源自各种醇的酯。WO 2004/108740 进一步公开了这些衍生物用于治疗代谢性疾病(如,胰岛素缺乏和胰岛素抗性)和作为用于提高体能的营养补充剂的用途。

[0006] WO 04/105742 教导了降低循环于受试者血浆中的游离脂肪酸水平的化合物可以用于治疗肌肉损伤或疲劳。酮体,如酮体酯类,是这些化合物的特定实例。

[0007] 发明概述

[0008] 目前令人惊讶地发现了一种特定 3- 羟基丁酸盐的酯的一种特定对映异构体是酮体 (3R)- 羟基丁酸酯的有效且可口的前体。因此,本发明提供了一种化合物,其是对式 (I) 的 (3R)- 羟基丁基 (3R)- 羟基丁酸酯对映体富集的 3- 羟基丁基 3- 羟基丁酸酯:

[0009]



[0010] 本发明进一步提供了一种可摄入组合物,其包括如上定义的本发明的化合物和饮食或药物学上可接受的载体。

[0011] (3R)- 羟基丁基 (3R)- 羟基丁酸盐降低脂肪酸的血浆水平。因此,本发明进一步提供了如上定义的本发明的化合物用于治疗人或动物受试者中由提高的游离脂肪酸的血浆水平引起、加剧或与之相关的病症。

[0012] 在一个实施方案中,本发明进一步提供了如上定义的本发明的化合物用于治疗涉及体重减轻或体重增加的病症。因此,该化合物可以用于治疗肥胖或其他超重病症,以促进体重减轻,保持健康的体重,或者用于降低受试者(可以是健康的受试者或受到损伤的受试者)中脂肪与瘦肉的比率。该化合物可以用作膳食补充剂。

[0013] 本发明进一步提供了如上定义的本发明的化合物用于提高警觉性或改善认知功能,或治疗认知障碍。

[0014] 本发明还提供了如上定义的本发明的化合物用于治疗、预防或减少神经变性、自由基毒性、缺氧状况或高血糖的影响。

[0015] 附图简述

[0016] 图 1 显示了在实施例 3 中所述的试验中喂以碳水化合物、脂肪或本发明化合物(“酮”)的饮食的大鼠的日体重(克/大鼠/天)图。

[0017] 图 2 显示了在实施例 3 中所述的试验中喂以碳水化合物、脂肪或本发明化合物(“酮”)的饮食的大鼠的日食物摄入(克/大鼠/天)图。

[0018] 图 3 包括显微照片,这些显微照片显示了在实施例 5 中所述的试验中,用脂肪、碳水化合物或本发明化合物(“酮”)的饮食处理 14 天的大鼠下丘脑室旁核(PVN)区域中和海马体中 BDNF 阳性细胞体的水平。与脂肪和碳水化合物饮食处理的大鼠相比,用酮饮食处理的大鼠的 PVN 中看到了明显较多数量的 BDNF 阳性细胞体。在用酮处理的大鼠的海马体中也有类似的发现。

[0019] 图 4 呈现了显微照片,这些显微照片显示了在实施例 5 中所述的试验中,用脂肪、碳水化合物或本发明化合物(“酮”)的饮食处理 14 天的大鼠下丘脑室旁核(PVN)区域中 MC4R 阳性细胞体的水平。与脂肪和碳水化合物饮食处理的大鼠相比,用酮饮食处理的大鼠中的 PVN 的后部大细胞(pm)和中间小细胞(mpd)区域观察到明显较多数量的 MC4R 阳性细胞体。

[0020] 图 5 显示了图 5 中显微照片的放大图。显微照片显示了与脂肪饮食的大鼠相比,酮饮食或碳水化合物(Cho)饮食的大鼠的 PVN 中存在 MC4R 阳性细胞体的显著致密区。

[0021] 图 6 包括显微照片,这些显微照片显示了在实施例 5 中所述的试验中,用脂肪、碳水化合物或本发明化合物(“酮”)的饮食处理 14 天的大鼠后部下丘脑室旁核(PVN)区域中的 CART 水平。与脂肪饮食处理的大鼠相比,在用酮和碳水化合物饮食处理的大鼠中的 PVN 的后部中看到了明显较多数量的 CART 阳性细胞。在用酮饮食处理的大鼠的 PVN 中看到了最高水平的 CART。

[0022] 图 7 呈现了显微照片,这些显微照片显示了在实施例 5 中所述的测试中,用脂肪、碳水化合物或本发明化合物(“酮”)的饮食处理 14 天的大鼠腹内侧核(VMH)、漏斗核(ARC)和正中隆起(ME)中的 CART 水平。在用酮饮食处理的大鼠中看到了这些区域中最高数量的 CART 阳性细胞体。

[0023] 图 8 显示了图 7 中各张显微照片的放大图。放大图清楚地显示了与喂以脂肪和碳水化合物饮食大鼠相比,喂以酮饮食大鼠 PVN 中存在明显较大数量的 CART 阳性细胞体。

[0024] 图 9 显示了图 7 和 9 中显微照片的更多放大图,显示了用酮饮食处理的大鼠的 PVN 具有最高密度的 CART 阳性细胞。

[0025] 发明详述

[0026] 本发明的化合物是对(3R,3R')对映体的对映体富集的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯。在此所用的术语“富集”意思是富集异构体的水平高于通常在外消旋混合物中产生的异构体水平。在涉及富集百分比的情况中,富集对映体构成存在的总的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯的百分比。通常,本发明中的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯是对(3R)-羟基丁基(3R)-羟

基丁酸酯的对映体富集至至少 90%，优选 95%。换句话说，存在的总的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯中，至少 90%，优选 95% 是 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯异构体。在另一个实施方案中，3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯可以包含至少 97%，例如 98%，或 99% 的 (3R, 3R') 异构体。

[0027] 如上定义的本发明的化合物可以通过以下方法来制备，该方法包括在脂酶存在下进行乙基 (3R)-羟基丁酸酯和 (R)-1,3-丁二醇之间的转酯反应。反应通常在约 40℃ 下进行约 96 小时。在以下的实施例 1 中描述了该方法的一个实例。通常使反应产物接受刮膜式蒸馏 (GMP)。该过程包括脱气关口，除去起始原料的第二轻馏分关口，然后最终关口。最终关口的条件通常为 145℃, 1.8 托。

[0028] 当口服摄入时，对 (3R, 3R') 异构体富集的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯的样品显著增加了 (3R)-羟基丁酸酯（一种酮体）的血液水平。因此，本发明化合物代表了将 (3R)-羟基丁酸酯递送至受试者的有效方法。

[0029] 本发明具有两个特别的优点。首先，(3R, 3R') 异构体是可口的，并且苦味低于其他酮体。因此其特别适合用于口服给药。这与众所周知口味差并且因此在口服摄入时难以忍受的许多其他酮体及其衍生物和前体形成对照。其次，(3R, 3R') 对映体在体内分裂成 (3R)-羟基丁酸酯和 (R)-1,3-丁二醇。(3R)-羟基丁酸酯立即得到释放，在吸收后产生快速的作用。(R)-1,3-丁二醇在肝中转化成 (3R)-羟基丁酸酯，然后释放至血液中。全部这些给出了良好的药物动力学特征，因为所需的提高的 (R)-3-羟基丁酸酯的血液水平很快得到实现，并且随后在摄入本发明化合物后持续一段时间。

[0030] 如上定义的本发明的化合物可以降低脂肪酸的血浆水平。因此，本发明的化合物可以用于降低受试者血浆中循环的游离脂肪酸的水平。同样地，其可以用于治疗人或动物受试者中由提高的游离脂肪酸血浆水平引起、加剧或与之相关的病症。因此，可以通过包括给予如上定义的本发明化合物的方法来治疗人或动物受试者。该受试者的病症由此得到改善或减轻。

[0031] 由提高的游离脂肪酸血浆水平引起、加剧或与之相关的病症包括，但不限于：神经变性病或障碍，例如阿耳茨海默氏病，帕金森氏病，亨廷顿氏舞蹈病；缺氧状态，例如心绞痛，极端强体力活动，间歇性跛行，缺氧，中风和心肌梗死；胰岛素抗性状态，例如感染，紧张，肥胖症，糖尿病和心力衰竭；和炎症状态，包括感染和自体免疫疾病。

[0032] 除了降低脂肪酸的血浆水平，本发明的化合物还作用于脑中的食欲中心。特别地，本发明化合物增加大脑食欲中心中各种减食欲神经肽（已知与食物摄入减少和食欲降低有关的神经肽）的水平，以及还诱导较高水平的丙二酰 CoA，丙二酰 CoA 是与降低的食欲和食物摄入相关的一种代谢产物。因此，本发明还提供了如上定义的本发明的化合物用于治疗涉及体重减轻或体重增加的病症。例如，该化合物可以用于受试者中抑制食欲，治疗肥胖症，促进体重减轻，保持健康体重或降低脂肪与瘦肉的比例。在各种情况中的受试者可以是健康的受试者或受到损伤的受试者。

[0033] 健康的受试者可以是例如健康体重的个体，体能和 / 或外表特征对于他们来讲很重要。实例包括军人、运动员、健身者和时装模特。受到损伤的受试者可以是非健康体重的个体，例如超重、临床肥胖或临床非常肥胖的个体。受到损伤的受试者或者可以是患有临床病症（例如，下文中所列病症）的健康或非健康体重的个体。

[0034] 健康体重的个体具有 18.5 至 24.9 的体重指数 (BMI) ;超重个体具有 25 至 29.9 的体重指数 (BMI) ;临床肥胖的个体具有 30 至 39.9 的体重指数 ;临床非常肥胖的个体具有 40 或更高的体重指数。

[0035] 除了降低脂肪酸的血浆水平和作用于大脑食欲中心,本发明的化合物还可以通过增加脑磷酸化势能和 ATP 水解的 $\Delta G'$ 来提高大脑代谢效率。因此,本发明的化合物促进了改善的认知功能,并且可以用于治疗认知障碍或降低神经变性的影响。

[0036] 本发明的化合物还增加了室旁核 (大脑食欲中心) 和海马体 (已知对记忆重要的部分) 中神经肽脑源性神经营养因子 (BDNF) 的水平。除了降低食欲,已知 BDNF 还可以防止凋亡,并且促进基底核和其他目标区域中的神经元生长,因此由本发明的化合物产生的增加的 BDNF 水平预期可以抑制神经变性,限制缺氧或创伤后的神经组织死亡,并促进神经组织生长。

[0037] 本发明的化合物还可以提高使食欲降低的神经肽古柯碱和安非他明反应性转录物 (CART) 的水平。已知 CART 可以提高警觉性,以及降低食欲。因此,由本发明的化合物产生的增加的 CART 水平预期可以改善认知功能。

[0038] 因此本发明的化合物可以用于 (a) 提高警觉性和改善的认知功能,和 (b) 抑制神经变性。

[0039] 因此,本发明进一步提供了如上定义的本发明的化合物用于提高警觉性或改善认知功能,或治疗认知障碍。

[0040] 本发明还提供了一种如上定义的本发明化合物用于治疗、预防或降低神经变性、自由基毒性、含氧量低状态或高血糖的影响。

[0041] 在一个实施方案中,如上定义的本发明化合物用于治疗、预防或降低神经变性的影响。本发明化合物可以用于治疗、预防或降低由任何特定原因引起的神经变性的影响。神经变性例如可以由神经变性疾病或障碍引起,或可以由老年化、创伤、缺氧等引起。可以用本发明化合物治疗的神经变性疾病或障碍的实例包括,但不限于,阿尔茨海默氏病,帕金森氏病,肌萎缩性侧索硬化,癫痫症,星形细胞瘤,恶性胶质瘤和亨廷顿氏舞蹈病。

[0042] 可以使用本发明化合物来预防或治疗的病症的更多实例包括肌肉损伤,疲劳和肌肉疲劳。可以预防治疗健康或受到损伤的受试者中的肌肉损伤和肌肉疲劳。受到损伤的受试者可以是例如患有肌痛性脑病 (ME, 或慢性疲劳综合征) 或其症状的个体。本发明化合物还可以用于治疗患有例如糖尿病、代谢综合征 X 或甲状腺功能亢进状况的患者,或老年患者。

[0043] 上述病症是由提高的游离脂肪酸血浆水平引起、加剧或相关的病症的更多实例 ;因此,本发明的单酯化合物可以用于治疗这些病症。

[0044] 在另一个实施方案中,本发明的化合物用于治疗患有选自糖尿病、高烧、甲状腺机能亢进、代谢综合征 X, 发热和感染病症的患者,或老年患者。

[0045] 本发明的化合物可以与一种或多种其他物质结合给药,例如选自微量营养素和药物的物质。本发明化合物和其他物质配制在用于摄取的单个组合物中。或者,本发明的化合物和其他物质可以分开配制,用于分开、同时或连续的给药。

[0046] 当其他物质是药物时,其可以是例如对受试者所患病症的标准疗法。例如,本发明的化合物可以结合常规抗糖尿病剂一起给予患有糖尿病的受试者。常规抗糖尿病剂包括如

噻唑烷二酮类的胰岛素敏化剂,如磺脲类的胰岛素促分泌剂,如二甲双胍的双胍抗高血糖剂,及其组合。

[0047] 当其他物质是微量营养素时,其可以是例如矿物质或维生素。实例包括铁,钙,镁,维生素 A, B 族维生素,维生素 C,维生素 D 和维生素 E。

[0048] 酮体作用于烟酸受体。因此,本发明的化合物可以有利地结合烟酸(维生素 B3)来给药,因为酮体和烟酸都作用于脂肪组织,从而抑制游离脂肪酸释放。

[0049] 如上定义的本发明的化合物,即对(3R, 3R')对映体进行对映体富集的 3-羟基丁基 3-羟基丁酸酯,可以配制成可摄入的组合物中,该组合物进一步包含饮食或药理学上可接受的载体。该组合物可以是食品,饮料,饮品,补充剂,膳食补充剂,功能食品,营养保健品或药物。

[0050] 本发明化合物在可摄入组合物中的浓度取决于各种因素,包括组合物的特定形式、组合物的预期用途和目标人群。通常,该组合物含有能有效降低游离脂肪酸血浆水平量的本发明化合物。通常,该量为在摄取组合物的受试者中获得 10 μ M 至 20mM 的 β -羟丁酸酯(bHB)和/或乙酰乙酸循环浓度所需的量,优选浓度为 50 μ M 至 10mM,更优选 100 μ M 至 5mM。在一个实施方案中,用量达到 0.7mM 至 5mM,例如 1mM 至 5mM 的循环浓度。

[0051] 本发明的化合物被快速水解成两个自然产物, β -羟丁酸酯(bHB)和(R)-1,3-丁二醇,因此其是天然卡路里来源的,所述卡路里来源可以归类为食品或可以形成食品的一部分。

[0052] 食品是一种主要由大量营养素蛋白质、碳水化合物和脂肪中的一种或多种组成的可食性原料,这些营养素用于生物体中来支持生长,修复损伤,辅助生命过程或供给能量。食品还可以含有一种或多种微量营养素,如维生素或矿物质,或其他膳食成分,如调味料和色素。

[0053] 其中可以作为添加剂掺入本发明的化合物的食品实例包括小吃棒,食物替代棒,谷物,糖果和包括益生菌制剂的酸奶。

[0054] 饮料和饮品的实例包括软饮料,能量饮料,干饮品混合物,营养饮料,膳食或食物替代饮料,用于复水的组合物(例如运动期间或之后)和用于浸泡的花草茶或在水中煎煮的花草茶。

[0055] 通常,用于复水的组合物包含水、糖碳水化合物和本发明的化合物。该组合物还可以包含合适的本领域技术人员公知的调味料,色素和防腐剂。碳水化合物糖作为能量源存在,并且合适的糖是已知的,包括葡萄糖和海藻糖。膳食或食物替代饮料可以是通常宣传用于体重减轻方案中的类型。这样的饮料配方通常包含适当量的一种或多种大量营养素,即蛋白质,脂肪和/或碳水化合物源,和任选的其他成分,如增溶剂,防腐剂,甜味剂,调味剂和色素。

[0056] 营养保健品是一种食物成分,食物补充剂或食品,其被认为可提供医学或健康益处,包括疾病的预防和治疗。通常,营养保健品特别适于给消费者提供特别的保健益处。营养保健品通常包含高于相应常规食品中所发现水平的微量营养素,如维生素,矿物质,草药或植物化学物。通常选择这种水平来优化当以单独份摄取或作为膳食疗法或营养治疗过程的一部分摄取时所预期的营养保健品的健康益处。在本发明的情况中,所述水平为能有效降低脂肪酸血浆水平的水平。

[0057] 功能食品是以作为向消费者提供除提供纯营养素外的健康益处而销售的一种食品。功能食品通常掺入了如上所述的成分,如微量营养素,其除了营养作用外,还给予了特定的医学或生理学益处。功能食品通常在包装上带有保健功能的记载。

[0058] 根据本发明,营养保健品或功能食品通常含有含量能有效降低受试者游离脂肪酸血浆水平的如上定义的本发明化合物。更特别地,营养保健品或功能食品含有能有效抑制受试者食欲、治疗肥胖症或促进体重减轻量的化合物。

[0059] 膳食补充剂是打算用来补充人受试者正常饮食的产品,其含有膳食成分,如维生素,矿物质,草药或其他植物产品,或氨基酸。膳食补充剂通常以单位剂型存在,并且设计用于与食物一起,或在其之前,或在其之后使用,但是不代替食物。因此,膳食补充剂常常作为片剂或胶囊存在,或作为洒在食物上或加入到水或饮料中的干粉或颗粒存在。

[0060] 如上定义的本发明的化合物可以通过与饮食或药物学上可接受的载体或赋形剂混合来配制成药物或膳食补充剂中。这些载体或赋形剂可以是溶剂,分散介质,包衣,等渗或吸收延迟剂,甜味剂等等。这些包括任何一种溶剂,分散介质,包衣,等渗或吸收延迟剂,甜味剂等等。合适的载体可以从多种原料制得,包括,但不限于,稀释剂,粘合剂和胶粘剂,润滑剂,崩解剂,着色剂,填充剂,调味剂,甜味剂和各种各样的材料,例如制备特定剂型所需的缓冲剂和吸附剂。将这些介质或试剂用于药物活性物质是本领域公知的。

[0061] 例如,固体口服形式可以与活性化合物一起含有稀释剂,如乳糖,葡萄糖,蔗糖,纤维素,玉米淀粉或马铃薯淀粉;润滑剂,如二氧化硅,滑石,硬脂酸,硬脂酸镁或钙和/或聚乙二醇;粘合剂,如淀粉,阿拉伯胶,明胶,甲基纤维素,羧甲基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮;崩解剂,如淀粉,海藻酸,海藻酸盐或淀粉羟乙酸钠;泡腾剂混合物;染料,甜味剂;湿润剂,如卵磷脂,聚山梨醇酯,月桂基硫酸酯。这样的制剂可以以已知的方法制备,例如通过混合,造粒,压片,包糖衣或薄膜包衣处理。

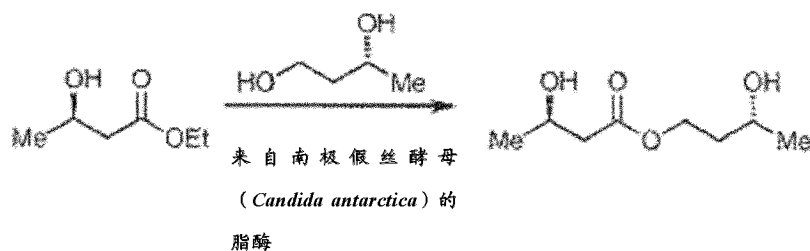
[0062] 用于口服给药的液体分散物可以是糖浆、乳状液和悬浮液。糖浆可以含有载体,例如,蔗糖或蔗糖与甘油和/或甘露醇和/或山梨糖醇。特别地,用于糖尿病患者的糖浆可以含有只作为载体的产品,例如山梨糖醇,其不会代谢形成葡萄糖或仅仅代谢形成很少量的葡萄糖。悬浮液和乳状液可以含有载体,例如,天然胶体,琼脂,海藻酸钠,果胶,甲基纤维素,羟甲基纤维素或聚乙烯醇。

[0063] 如上定义的本发明的化合物还适于配制成颗粒或粉末中。在这种形式中,其可以立即分散到水中或其他供人受试者饮用的液体中,如茶或软饮料,例如如上所述的饮料或饮品。还可以将其包胶、压片或与生理学上可接受的载体一起配制成单位剂型。单位剂量可以包含用于单日给药的治疗有效量的提取物,或者其可以配制成较小的量,用于在一天中的多次给药。因此,该组合物可以配制成片剂、胶囊剂、糖浆、酏剂、肠制剂或其他任何口服给药形式。生理学上可接受载体的实例包括水、油、乳状液、醇或任何其他合适的材料。

[0064] 在以下的实施例中将进一步说明本发明。

[0065] 实施例 1 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯的合成

[0066]



[0067] 将乙基 (3R)-羟基丁酸酯 (大约 3kg), (R)-1,3-丁二醇 (大约 1.5kg) 和固体支持的南极假丝酵母脂酶 B (大约 300g) 在 20L 的旋转蒸发器烧瓶中混合, 然后置于大型 **Büchi** 蒸发器上。将该系统在 40-45°C 下旋转抽真空到 8-10 托, 直至二元醇耗尽 (如通过 ^1H NMR 光谱分析的; 大约 3 天)。将粗原料过滤 (纯净的), 将酶分离, 并且通过蒸发 (2-3 托和 80-85°C 的最终压力和温度) 除去过量的乙基 (3R)-羟基丁酸酯。自始至终, 冷却水是循环的 [反应期间 -5°C, 乙基 (3R)-羟基丁酸酯除去期间 +5°C]。加入活性炭 (8 个刮勺的量), 旋转蒸发器上的混合持续进行 15 分钟, 然后纯的混合物通过 **Celite**[®] 塞过滤, 产物 (滤液) 直接倒入用于储存的塑料管中。用醚 (大约 500mL) 清洗 **Celite**[®] 塞, 在真空下从洗出物中除去溶剂, 并且将残余物加入批料中用于贮藏。

[0068] **实施例 2**: (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯 - 热量控制膳食的体内测试

[0069] 年轻的成年雄性 Wistar 大鼠 (起始体重 70g) (Harlan UK Limited) (n = 50) 在约 20°C 下在 12 小时 : 12 小时亮 : 暗反复光周期下进行圈养。在开始实验膳食之前用标准实验室食物 (Chow) (SDS, Essex, UK) 进行喂养, 实验膳食为: (a) 正常“西方”膳食 (Western) (n = 20), 其中 34% 的卡路里来自加入的棕榈酸酯, (b) 高碳水化合物 (CHO) (n = 10), 其中 70% 的卡路里来自加入的玉米淀粉或 (c) (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯膳食 (单酯) (n = 20), 其中 30% 的卡路里来自 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯。

[0070] 以下显示了这三种膳食的大量营养素示。所有膳食含有以 kCal/g 计的相同能量, 但是具有不同的大量营养素。

[0071] **表 1**

[0072]

膳食	能量 (kCal/g)	脂肪	蛋白质	碳水化合物 (% kCal)	单酯
西方膳食	1.76	34	27	39	0
碳水化合物膳食	1.76	4	26	70	0
单酯膳食	1.76	4	27	39	30

[0073] 膳食和单酯在牛津大学制备。水随意引用。该研究项目由 Oxford Animal Ethics Review Committees and the Home Office 批准。

[0074] 在实验开始前一周, 大鼠单独圈养, 使它们在研究开始之前适应生活在孤独的环境中。它们随意食用标准实验室食物, 直至喂以它们实验膳食。喂以西方和碳水化合物膳食的大鼠获得了与前一天食用单酯膳食的大鼠消耗的那些相同的热量

[0075] 所有大鼠喂养 66 天。这段时期之后, 确定大鼠的体重, 心脏和脂肪垫的重量。结果显示在表 2 中。

[0076] 表 2

[0077]

大鼠的身体特征	西方膳食 (n=20)	碳水化合物膳食 (n=10)	单酯膳食 (n=20)
最终体重 (g)	226 ± 5	213 ± 8	213 ± 5
心脏重量 (g)	0.69 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.64 ± 0.02
心脏体重比 (g)	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.29 ± 0.01
附睾脂肪 (g)	2.49 ± 0.3	1.99 ± 0.2	1.48 ± 0.2*
附睾脂肪体重比	1.08 ± 0.2	0.93 ± 0.2	0.69 ± 0.1*

[0078] *P < 0.05

[0079] 表 2 中的结果显示在 66 天测试结束时, 喂以单酯膳食的大鼠的脂肪垫重量明显低于喂以西方 (即, 高脂肪) 膳食或碳水化合物膳食的大鼠。喂以单酯的大鼠的脂肪体重比也明显较低。

[0080] 实施例 3: (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯 - 进餐喂养膳食的体内试验

[0081] 使用如表 1 中所示的相同食物重复实施例 2, 不同的是其中大鼠是进餐喂养 (meal-fed) 的。因此, 该实施例中的大鼠可以在每次进餐时自由选择吃多少食物, 而非实施例 2 中那样控制热量。

[0082] 在测试的头 6 天中, 就三个膳食组中各只大鼠的日体重 (以 g 计每只大鼠每天) 随时间变化绘图。结果图显示于图 1 中。使用 Tukey-Kramer 多重比较测试的单项方差分析法 (n = 8 每组, **p < 0.001)。在喂以单酯膳食的大鼠中, 从第 3 天到第 6 天观察到了明显减少的体重。喂以碳水化合物膳食组的大鼠体重在整个喂养过程中保持在高水平。

[0083] 单酯膳食进餐喂养的大鼠相比其他两种膳食的大鼠, 吃的较少并且体重减轻较多。在测试的头 7 天中, 就三个膳食组中各只大鼠的日食物摄入 (以 g 计每只大鼠每天) 随时间变化绘图。结果图显示于图 2 中。再次使用 Tukey-Kramer 多重比较试验的单向方差分析法 (n = 8 每组, ***p < 0.001)。相比碳水化合物和西方膳食的大鼠, 单酯膳食的大鼠表现出在整个喂养过程中连续减少的日食物摄入。

[0084] 实施例 4: (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯 - 等氮和等热量膳食的体内测试

[0085] 在 28 天的研究中, 将体重约为 350g 的雄性和雌性 Wistar 大鼠随机分配到三个膳食组中的一个 (n = 10 雄性和 10 雌性 / 组), 并且喂以碳水化合物膳食 (CHOD), 普通人膳食 (NHD) 或酮膳食 (KD)。膳食是等氮和等热量的, 只在碳水化合物、脂肪和酮的相对含量上不同。在 KD 中, 所用的酮酯是酮单酯 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯膳食 (即, 本发明的化合物)。在 KD 中, 大约 1/3 的能量来自于酮酯, 然而在 NHD 和 CHOD, 1/3 的能量分别来自于棕榈酸盐和淀粉。实验膳食的组成 (就 % 热量来表示) 概述于表 3 中。

[0086] 表 3

[0087]

	酮膳食 (KD)	普通人膳食 (NHD)	碳水化合物膳食 (CHOD)
碳水化合物	38.5	38.6	70.2

蛋白质	26.9	27.0	26.2
脂肪	3.7	34.3	3.7
酮单酯	31	0	0
总计	100	100	100

[0088] 实验饮食的组成 (g/100g) 概括于以下的表 4 中。

[0089] 表 4

[0090]

	酮膳食	普通人膳食 (NHD)	碳水化合物膳食 (CHOD)
啮鼠动物食物	25.7	25.7	25.7
无糖果冻	13.4	13.4	13.4
水	49.6	55.1	46.3
棕榈油	0	5.8	0
玉米粉	0	0	14.5
酮单酯	11.4	0	0
总计	100	100	100

[0091] 在研究的第 28 天, KD 组中的雄性大鼠相比 CHOD 和 NHD 组中的雄性大鼠体重明显较轻 (分别为 $390 \pm 26\text{g}$ vs. $418 \pm 15\text{g}$ 和 $413 \pm 16\text{g}$)。KD 组中雄性大鼠的体重增加总量明显少于 CHOD 和 NHD 组的体重增加总量。喂以 KD 的雄性大鼠的饲料消耗比喂以 CHOD 和 NHD 饮食的雄性大鼠明显较少 (第 22 至 29 天期间的饲料摄入 : 分别为 $239 \pm 17\text{g}$ vs. $269 \pm 7\text{g}$ 和 $269 \pm 7\text{g}$)。雄性大鼠中酮单酯的平均摄入为约 11g/kg 体重 / 天。

[0092] 在研究的第 15、22 和 28 天, KD 组中雌性大鼠的体重明显低于 CHOD 和 NHD 组 (在第 28 天 : 分别为 $240 \pm 13\text{g}$ vs. $253 \pm 12\text{g}$ 和 $258 \pm 13\text{g}$)。KD 组中雌性大鼠的体重增加总量明显少于 CHOD 和 NHD 组的体重增加总量。喂以 KD 的雌性大鼠的饲料消耗比喂以 CHOD 和 NHD 饮食的雌性大鼠明显较少 (在第 22 至 29 天期间的饲料摄入 : 分别为 $175 \pm 12\text{g}$ vs. $191 \pm 5\text{g}$ 和 $194 \pm 7\text{g}$)。雌性大鼠中酮单酯的平均摄入为约 13.0g/kg 体重 / 天。

[0093] 实施例 5 : (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯对大脑中的神经肽水平、克雷布斯循环水平和 CoA 中间产物水平, 以及游离核苷酸水平的作用

[0094] 在 14 天的研究中, 体重约为 250g 的 Wistar 大鼠随机分配到三个膳食组 ($n = 6$ 大鼠 / 组) 中的一个, 并且喂以碳水化合物 (“淀粉”) 膳食, 普通人 (“脂肪”) 膳食或酮酯膳食, 其中所用的酮酯是酮单酯 (3R)-羟基丁基 (3R)-羟基丁酸酯膳食 (即, 本发明的化合物)。这三种膳食在成对饲喂进餐中食用, 每天食用 3 小时。以 g/100g 表示的膳食组成

概括于表 5 中,并且以%热量表示的组成概括于表 6 中。

[0095] 表 5

[0096]

成分	淀粉	脂肪	酮酯
食物	25.7	25.7	25.7
无糖果冻	13.4	13.4	13.4
水	46.3	55.1	49.6
棕榈油	0	5.8	0
玉米淀粉	14.5	0	0
酮酯	0	0	11.4
总计	100	100	100

[0097] 表 6

[0098]

成分	淀粉	脂肪	酮酯
碳水化合物	70.2	38.6	38.5
蛋白质	26.2	27	26.9
脂肪	3.7	34.3	3.7
酮酯	0	0	31
总计	100	100	100

[0099] 发现酮酯膳食的大鼠比那些食用补充了淀粉(碳水化合物)或脂肪的膳食的大鼠消耗较少的食物,并且体重增加较少。该结果与实施例 2 至 4 中的结果一致。

[0100] 在以成对饲喂进餐每天 3 小时的形式食用 3 种膳食 14 天后,使用标准技术通过酶法或通过质谱检测大脑中不同的克雷布斯循环和 CoA 中间产物的水平。结果显示在表 7 中。

[0101] 从表 7 中可以看出,发现酮酯喂养的大鼠在大脑中具有较高的丙二酰 CoA 水平(表中的粗体字)。丙二酸 CoA 是已知与减少的食物摄入相关的代谢产物;已知其可以降低食欲(Wolfgang, M. J. 和 Lane, M. D. (2006) J. Biol. Chem. 281, 37265-37269)。这些数据与使用包含降低食欲的本发明的酮化合物的膳食是一致的。表 7 中的数据是平均值,以 $\mu\text{moles/g}$ 湿重计, $\pm\text{SEM}$, $n = 6$ 至 8。CoA 的值以 nmol/g 湿重的形式给出。

[0102] 表 7: 大脑克雷布斯循环和 CoA 中间产物

[0103]

	淀粉	脂肪	酮酯
柠檬酸盐	0.199 ± 0.006	0.205 ± 0.005	0.222 ± 0.010
异柠檬酸盐	0.0080 ± 0.0006	0.0086 ± 0.0004	0.0093 ± 0.008
α -酮戊二酸盐	0.128 ± 0.007	0.138 ± 0.008	0.140 ± 0.008
琥珀酰 CoA (μ M)	0.831 ± 0.075	0.777 ± 0.158	0.910 ± 0.207
琥珀酸盐	0.0800 ± 0.0022	0.0822 ± 0.0034	0.0864 ± 0.0033
延胡索酸盐	0.0728 ± 0.0042	0.0801 ± 0.0055	0.0745 ± 0.0058
L-苹果酸盐	0.179 ± 0.011	0.192 ± 0.012	0.181 ± 0.013
草酰乙酸钙	0.0026 ± 0.0003	0.0021 ± 0.0001	0.0026 ± 0.0004
乙酰基 CoA (μ M)	7.87 ± 1.32	8.20 ± 1.02	6.43 ± 0.53
丙二酰 CoA (μ M)	0.954 ± 0.061	1.02 ± 0.14	$1.26 \pm 0.13a$

[0104] 酮酯和淀粉之间 $^a p < 0.05$

[0105] 在大鼠喂养膳食 14 天后,测定游离核苷酸的比例和游离核苷酸的浓度。测定在冷冻膨胀的大脑上完成,并且按照之前所述的 (Veech, R. L. 等, J. Biol. Chem. 254 :6538-47, 1979) 来计算大鼠的代谢产物比例。结果显示在表 8 中。表 8 中的数值以平均值 $\pm$ SEM (n = 6 至 8) 给出。认为细胞溶质的 pH 为 7.2。

[0106] 表 8 :计算的游离核苷酸比例和计算的游离核苷酸浓度

[0107]

	淀粉	脂肪	酮酯
来自乳酸盐/丙酮酸盐的游离 [NAD ⁺] / [NADH] 细胞溶质	319 ± 23	$256 \pm 29^{a,b}$	357 ± 27
来自 α KGxNH ₄ ⁺ /Glut 的游离 [NAD ⁺] / [NADH] 线粒体	0.62 ± 0.08	0.66 ± 0.06	0.80 ± 0.17
来自 α KGxCO ₂ /IsoCit 的游离 [NAD ⁺] / [NADPH] 细胞溶质	0.028 ± 0.002	0.028 ± 0.002	0.026 ± 0.003
来自 Fum/Succ 的 E _b CoQ/CoQH ₂ mV	29.6 ± 0.5	30.5 ± 0.8	28.9 ± 0.6
来自 [Cit]/[Isocit] 的游离 [Mg ²⁺] mM	1.5 ± 0.26	1.5 ± 0.11	1.5 ± 0.13
来自 Kg+g (Eqn 1) M ⁻¹ 的磷酸化电	$27,100 \pm$	$26,800 \pm$	$38100 \pm$

[0108]

势	4, 020	2, 700	3, 390 ^{a, b}
$\Delta G'$ ATP kJ/mol	-58.6 $\pm$ 0.4	-58.6 $\pm$ 0.2	-59.6 $\pm$ 0.2 ^{a, b}
来自 PCr/Cr 的游离 [ADP] 细胞溶质 μ M/g	0.027 $\pm$ 0.001	0.027 $\pm$ 0.001	0.027 $\pm$ 0.001
来自 K _{肌激酶} 的游离 [AMP] 细胞溶质 μ M/g	0.0004 $\pm$ 0.00003	0.0004 $\pm$ 0.00003	0.0004 $\pm$ 0.00003

[0109] 酮酯和淀粉之间^ap < 0.05, 酮酯和脂肪之间^bp < 0.05, 均通过 Mann-Whitney U 测试来判定。

[0110] 表 8 的结果显示, 在 14 天的膳食后, 酮酯喂养大鼠的大脑磷酸化电势和 ATP 水解的 $\Delta G'$ 明显高于用碳水化合物和脂肪膳食喂养的大鼠。酮喂养大鼠的大脑中的唯一变化是增加的能量: 磷酸化作用和 ΔG 。该增加的能量与酮在灌注作用的大鼠心脏中的作用是一致的 (Sato, K., Kashiwaya, Y., Keon, C. A., Tsuchiya, N., King, M. T., Radda, G. K., Chance, B., Clarke, K. 和 Veech, R. L. (1995) FASEB J. 9, 651-658)。然而, 酮灌注中并没有观察到心脏中观察到的巨大氧化还原变化。

[0111] 这些数据与使用含有本发明酮化合物的膳食一致, 能提高脑代谢效率并且由此促进改善的认知功能, 治疗或降低神经变性疾病的影响, 如阿尔茨海默氏病, 帕金森病和亨廷顿氏舞蹈病, 或例如, 保护大脑和中枢神经系统对抗老化、创伤、缺氧等引起的神经变性。

[0112] 本发明的酮化合物对大脑中的神经肽信号的作用

[0113] 在用脂肪、碳水化合物或酮酯膳食喂养 14 天后, 在大鼠大脑的下丘脑室旁核 (PVN) 区域和海马体中观察到了各种与减少的食物摄入和降低的食欲有关的神经肽 (“减食欲”肽) 的水平。使用在大鼠切开的大脑上进行的标准抗体技术来测定神经肽水平。结果显示于图 3 至 9 的显微照片中。

[0114] 测定的肽是脑源性神经营养因子 (BDNF), 色素细胞刺激激素受体 4 (MC4R), 以及古柯碱和安非他明应答性转录物 (CART)。除了可以减少食欲, 这些肽具有其他重要作用, 如下:

[0115] -BDNF 可以降低食欲, 并且已知其还可以预防基底神经节和其他目标区域中的凋亡, 因此, 提高的 BDNF 水平预期能抑制神经变性以及降低食欲;

[0116] -CART 已知可以以与咖啡因或莫达非尼 (改善情绪和提高记忆刺激药物) 相似的方式提高警觉性和降低食欲, 因此提高的 CART 水平预期可以改善认知功能, 并且降低食欲;

[0117] -MC4R 促进大的肽分裂成包括促黑激素的不同激素, 其随后调节食欲。已知 MC4R 的突变可以引起肥胖症。

[0118] 因此, 除了抑制食欲外, 这些肽在酮酯喂养的很多重要治疗方面中具有重要意义。最特别地, 在 a) 提高警觉性和改善认知功能, 和 b) 抑制各种诱因如衰老, 创伤, 缺氧等引起的神经变性。

[0119] 图 3 中的结果显示与脂肪和碳水化合物膳食处理的大鼠相比, 在用酮膳食处理的大鼠的 PVN 中存在明显更多的 BDNF 阳性细胞体。在用酮处理的大鼠的海马体中观察到了相似的结果。PVN 是已知控制食欲的大脑的一部分, 然而, 海马体已知对记忆是重要的。因

此,该结果支持含有本发明酮化合物的膳食可以用于降低食欲,抑制神经变性和促进改善的认知功能。

[0120] 图4和5的显微照片显示与用脂肪膳食处理的大鼠相比,用酮或碳水化合物(Cho)膳食处理的大鼠中PVN的后部大细胞(pm)和中间小细胞(mpd)区域中有明显较高密度的MC4R阳性细胞体。这支持包含本发明酮化合物的膳食可以用于降低食欲和促进体重减轻。

[0121] 图6、8和9显示了用脂肪膳食、碳水化合物膳食或含有本发明酮化合物的膳食处理14天的大鼠下丘脑的后部室旁核(PVN)区域中的CART水平。图7显示了下丘脑的腹内侧核(VMH),漏斗核(ARC)和正中隆起(ME)区域中的CART水平。在用酮和碳水化合物膳食处理的大鼠的PVN中看到了比用脂肪膳食处理的大鼠中明显更大数量的CART阳性细胞体。在用酮膳食处理的大鼠中的PVN中观察到了最高水平的CART。此外,用酮膳食处理的大鼠在下丘脑的腹内侧核(VMH),漏斗核(ARC)和正中隆起(ME)区域中含有最高数量的CART阳性细胞体。这些结果进一步支持含有本发明酮化合物的膳食可以用于降低食欲,抑制神经变性和促进改善的认知功能。总之,图3至9中的显微照片显示酮膳食产生了

[0122] - 室旁核和海马体中更多的BDNF(图3)

[0123] - 室旁核中更多的CART(图6至9);和

[0124] - 室旁核中更多的MC4R活性(图4和5)

[0125] 这些数据与使用含有本发明酮化合物的膳食来降低食欲,抑制神经变性和促进改善的认知功能相一致。

[0126] 实施例6片剂组合物

[0127] 片剂,各片重量为0.15g,并且含有25mg本发明的化合物,如下制备:

[0128] 10,000片的组成

[0129] 本发明的化合物(250g)

[0130] 乳糖(800g)

[0131] 玉米淀粉(415g)

[0132] 滑石粉(30g)

[0133] 硬脂酸镁(5g)

[0134] 将本发明的化合物,乳糖和一半玉米淀粉混合。然后该混合物通过0.5mm筛目尺寸的筛网。将玉米淀粉(10g)悬浮于温水(90ml)中。所得糊状物用于造粒制粉。将颗粒物干燥,并1.4mm筛目尺寸的筛网上粉碎成小碎片。加入剩下量的淀粉,滑石和硬脂酸镁,充分混合并且加工成片剂。

[0135] 实施例7糖浆配方

[0136] 本发明的化合物 250mg

[0137] 山梨糖醇溶液 1.50g

[0138] 甘油 2.00g

[0139] 苯甲酸钠 0.005g

[0140] 香料 0.0125ml

[0141] 纯水补足至 5.00ml

[0142] 将本发明的化合物溶解于甘油和大部分纯水的混合物中。然后将苯甲酸钠水溶液加入溶液中,然后加入山梨糖醇溶液,并且最后加入香料。用纯水补足体积并且充分混合。

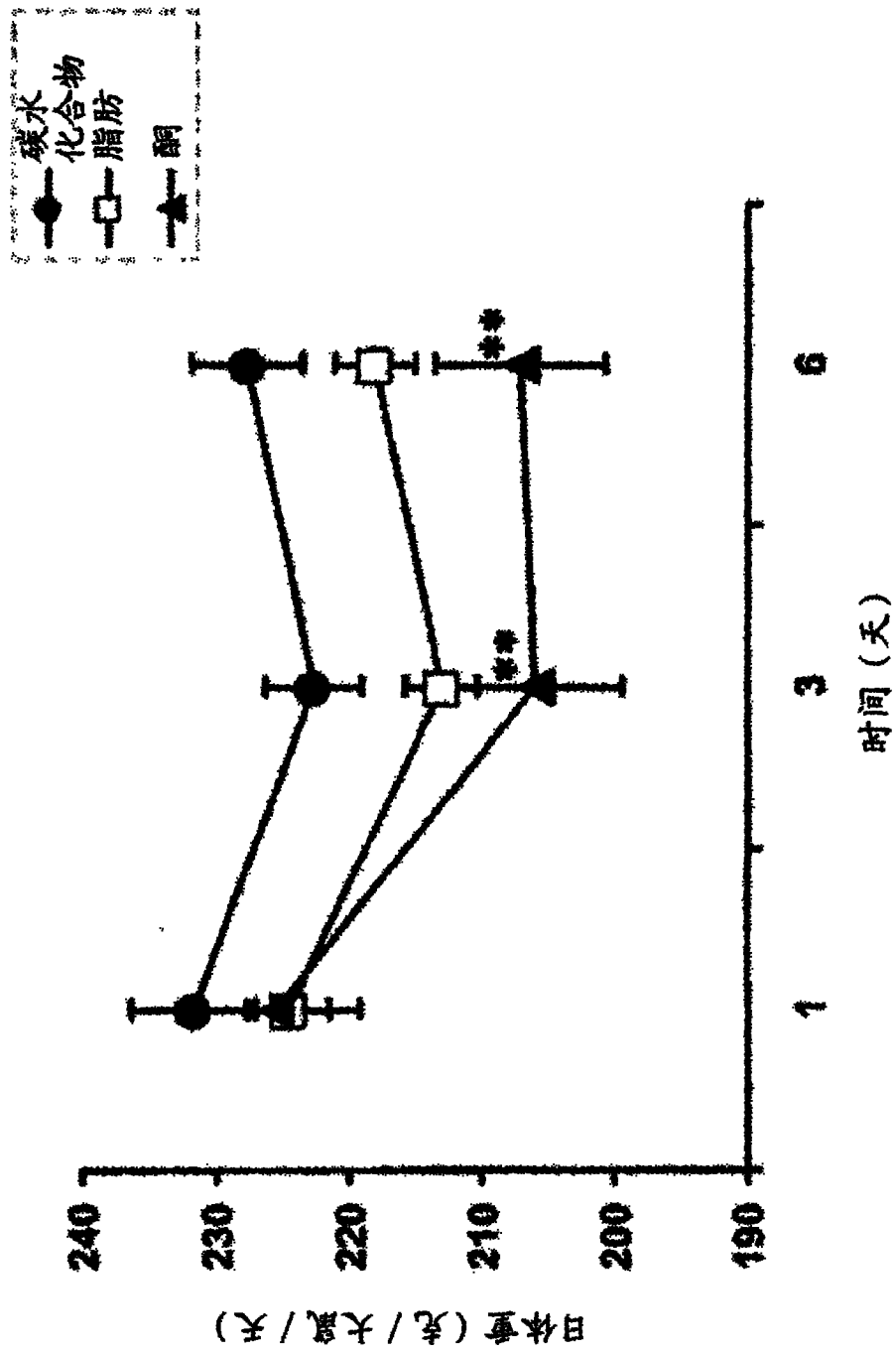


图 1

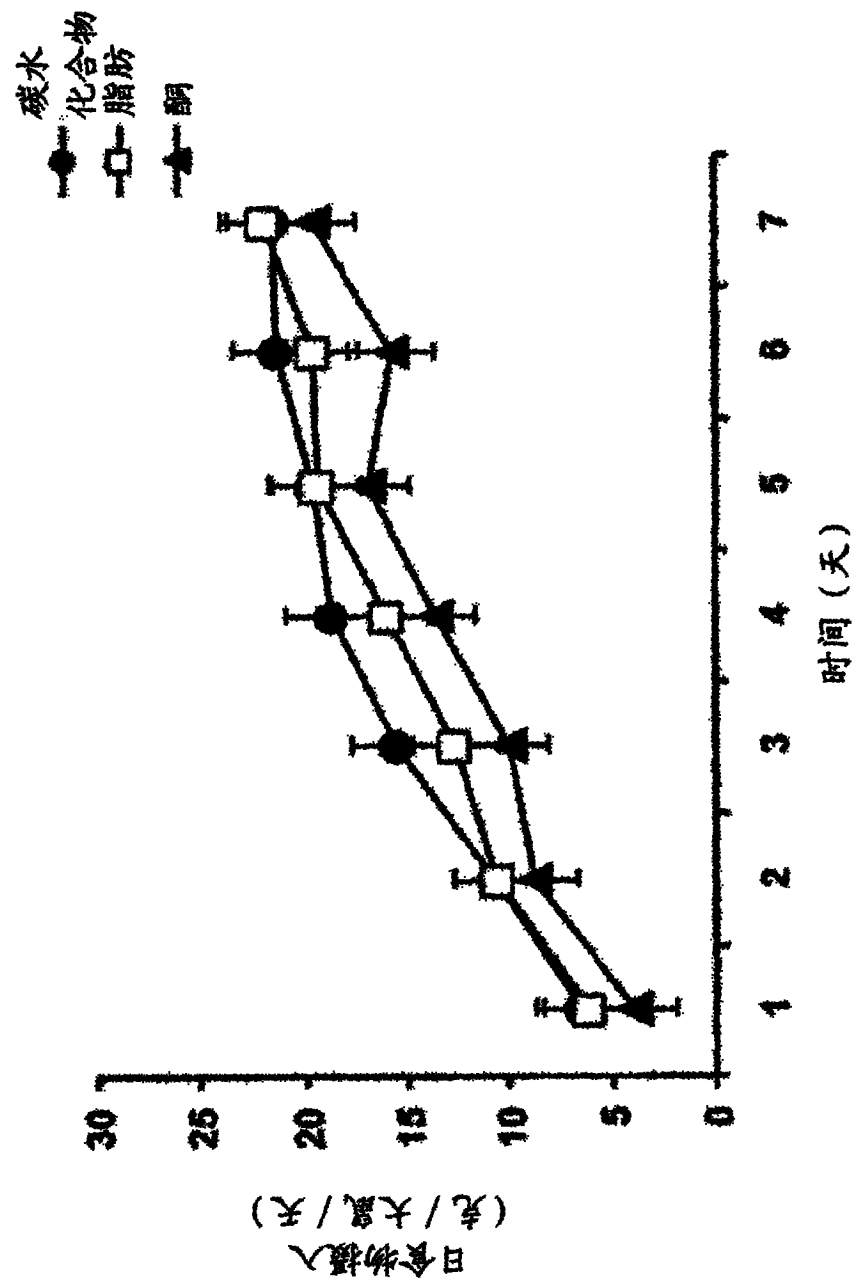


图 2

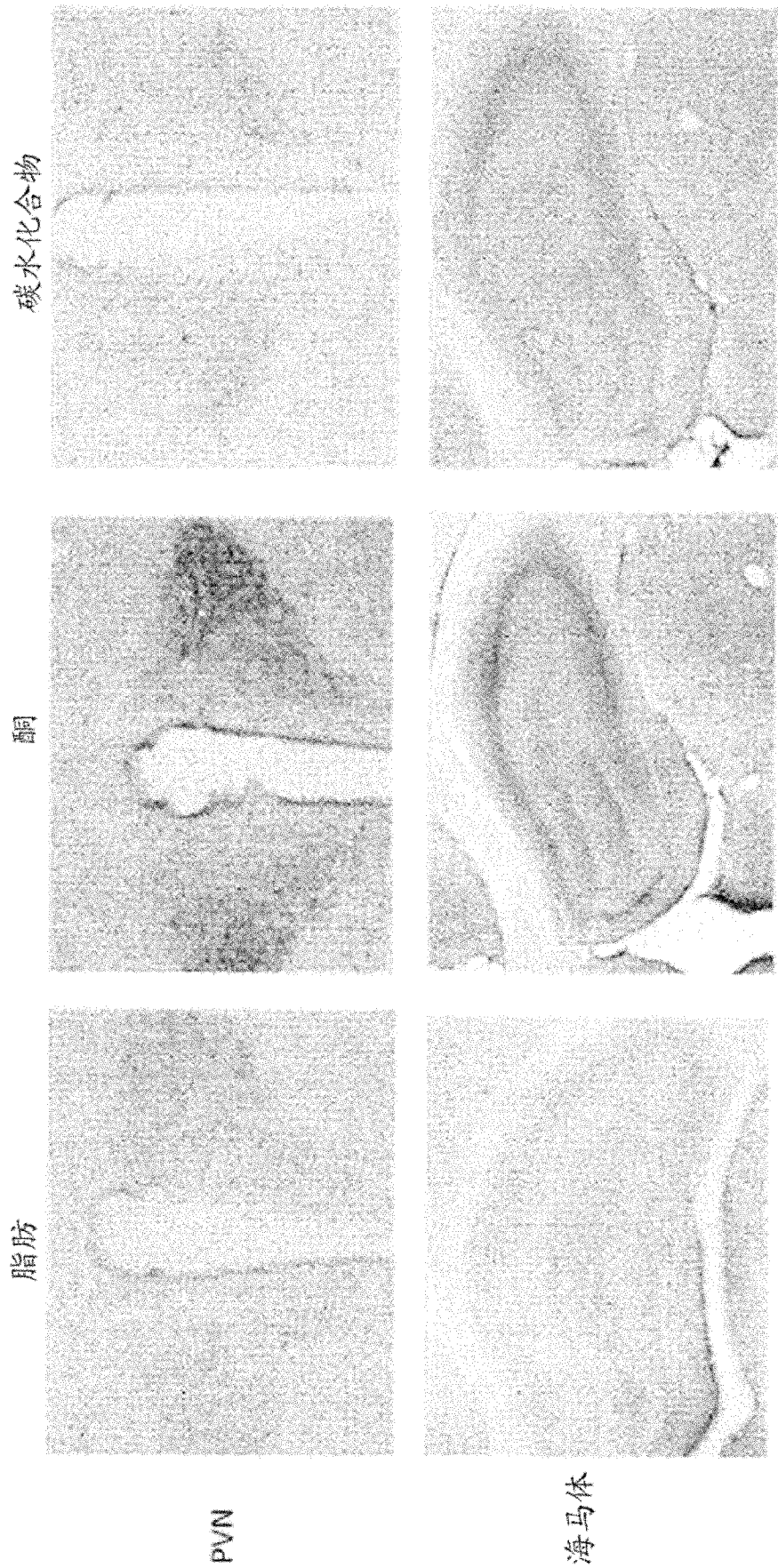


图 3

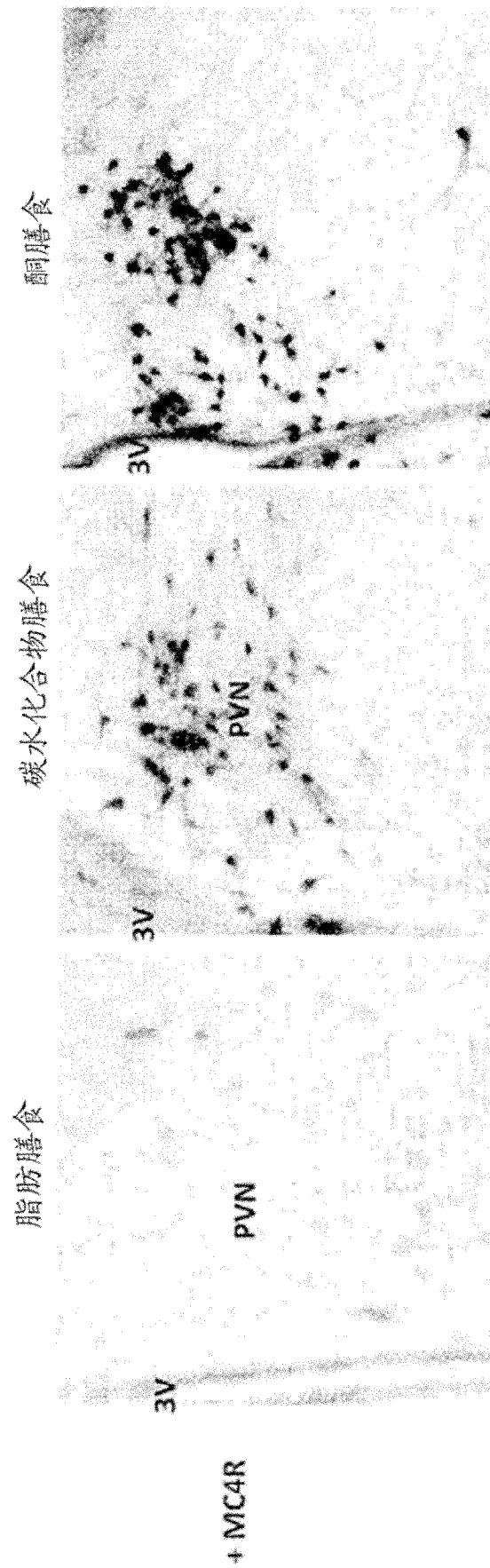


图 4

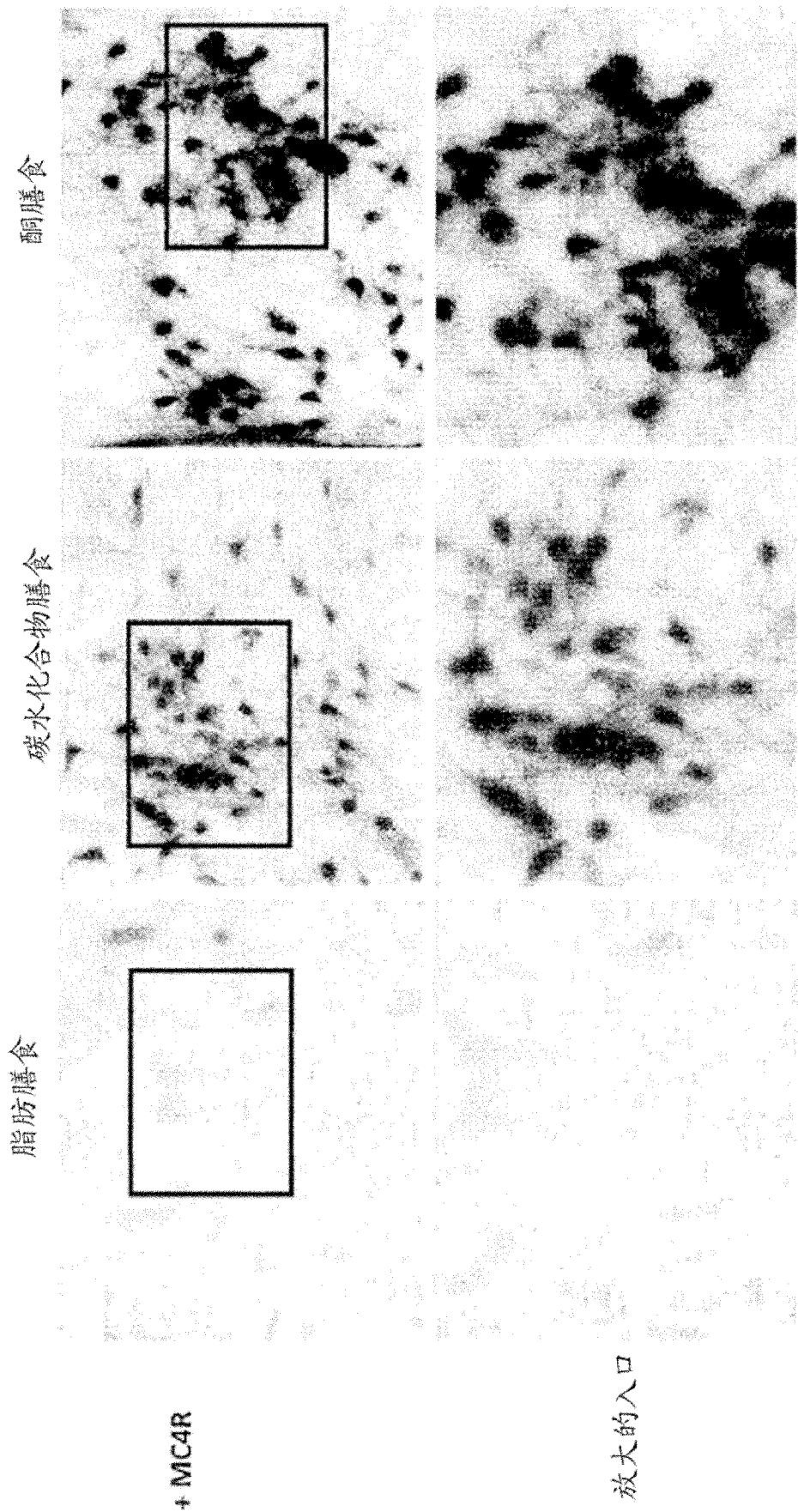


图 5

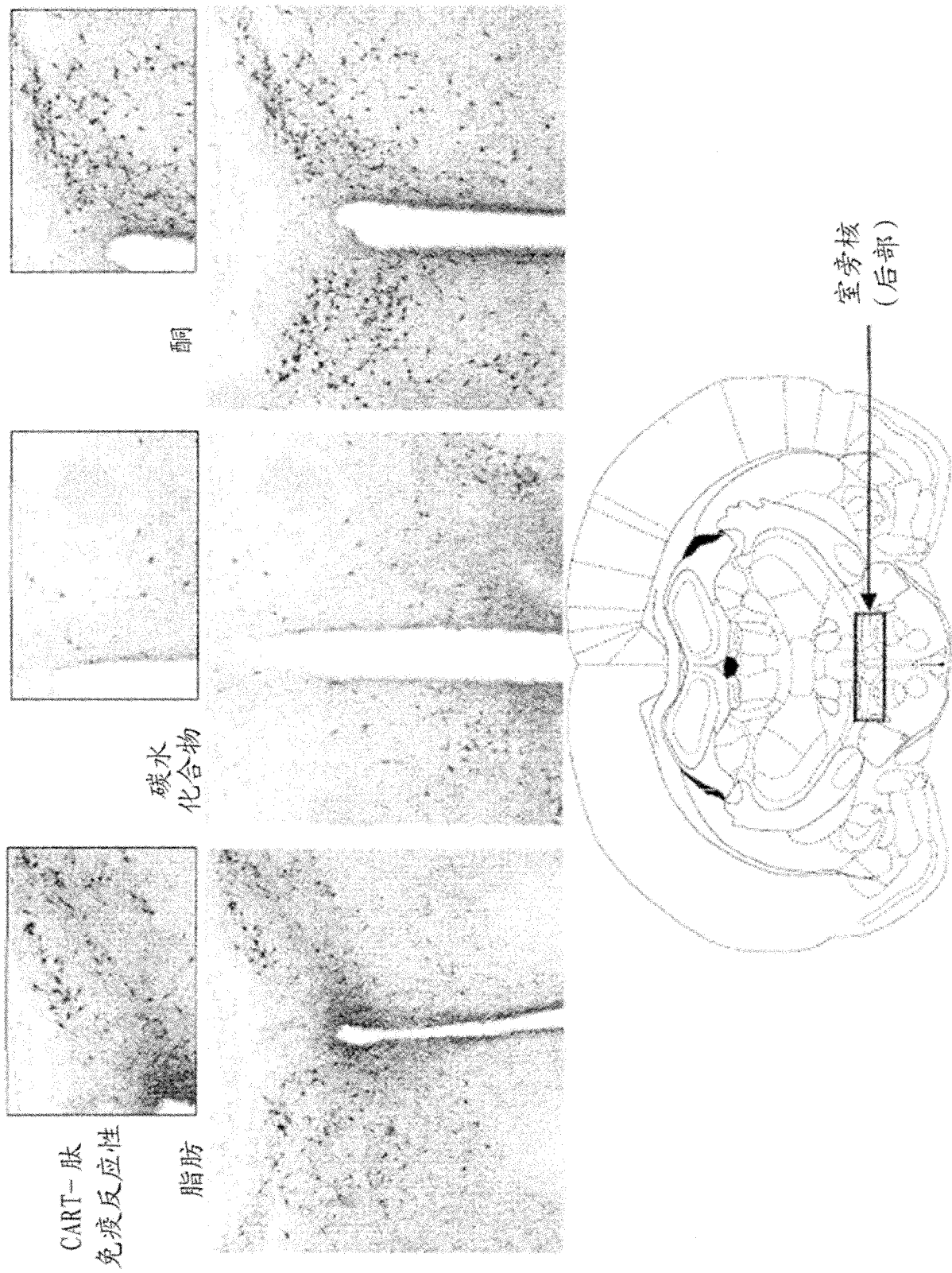


图 6

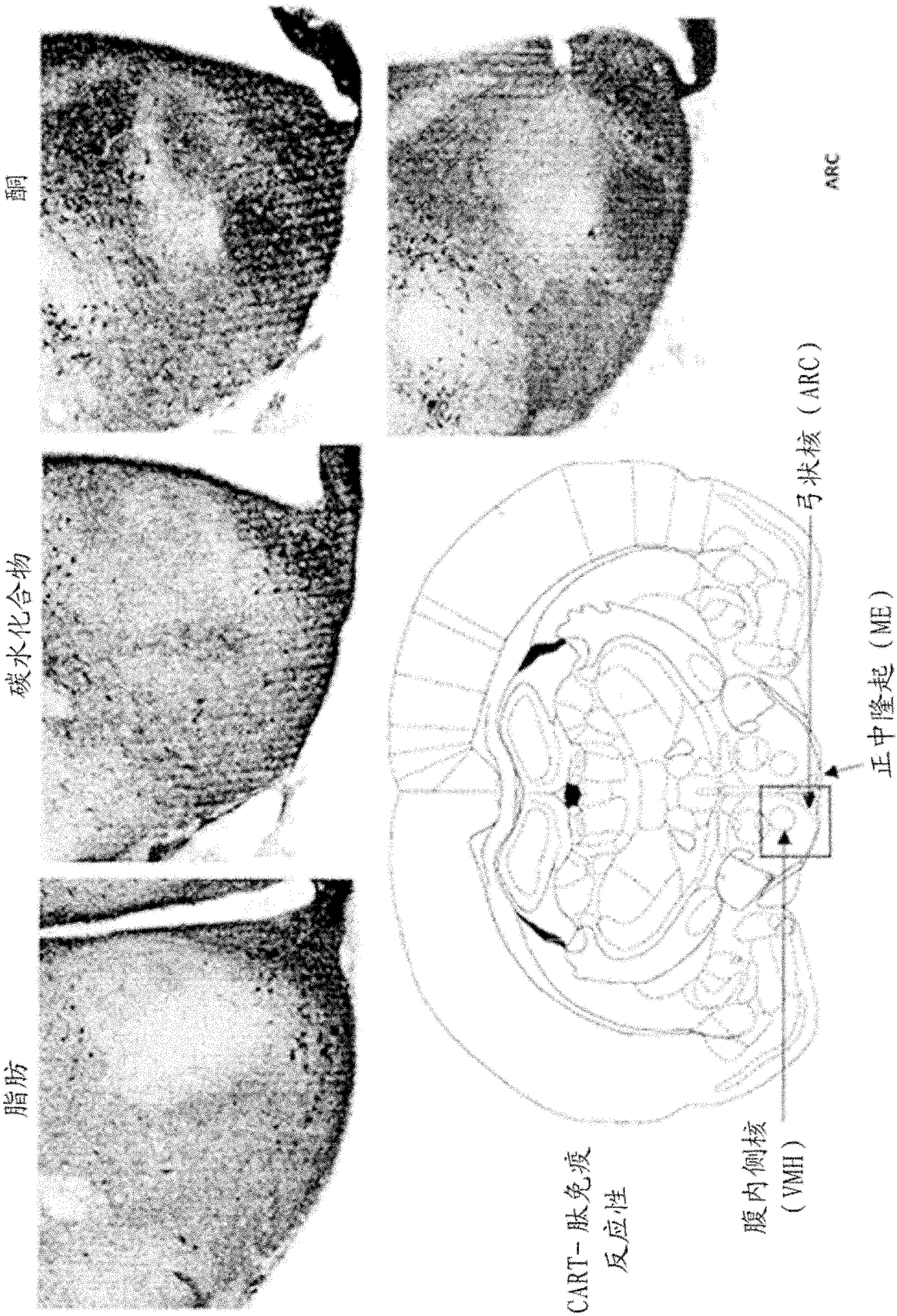


图 7

CART-肽免疫反应性

脂肪

碳水化合物

酮

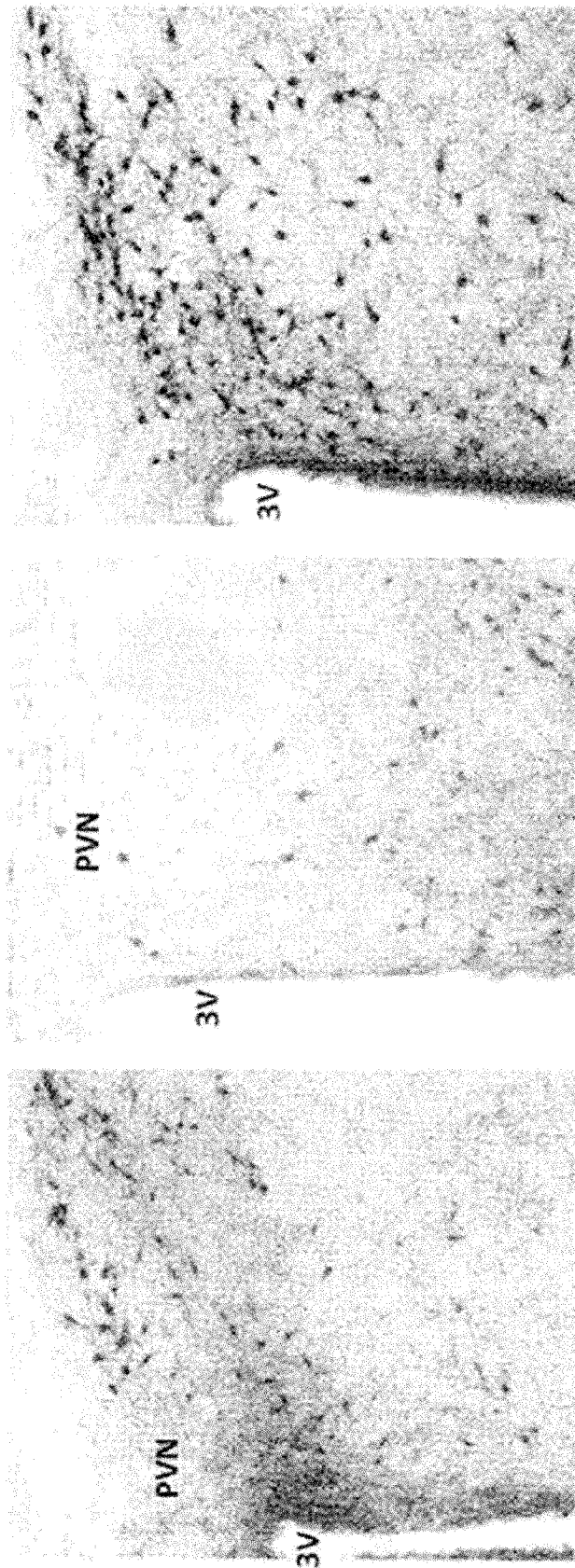


图 8

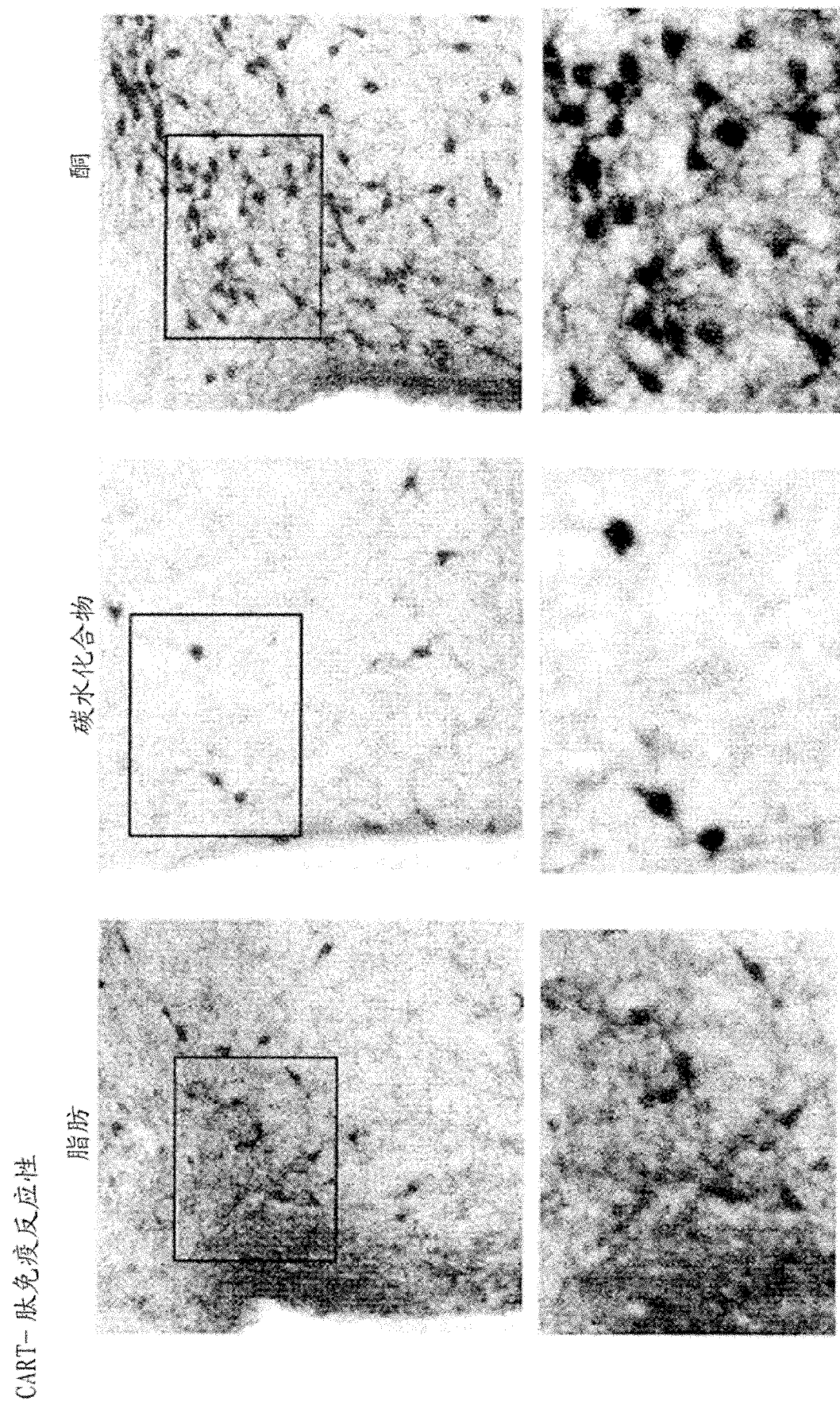


图 9