



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104114709 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 22

(21) 申请号 201280066370. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 11. 29

C12P 7/64 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/564, 652 2011. 11. 29 US

61/711, 585 2012. 10. 09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 07. 08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/067030 2012. 11. 29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/082265 EN 2013. 06. 06

(71) 申请人 尊贵科学有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 M·曼库 J·罗维

(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 于巧玲

权利要求书3页 说明书20页 附图1页

(54) 发明名称

包含 20- 碳脂肪酸的组合物及其制备和使用
方法

(57) 摘要

本公开内容提供了用于由植物种子油产生
20- 碳脂肪酸的方法, 该方法包括 :a) 提供包含脂
肪酸的植物种子油, 其中该脂肪酸包括 18- 碳脂
肪酸 ; 和 b) 使该脂肪酸延长两个碳原子, 以产生
包含 20- 碳脂肪酸的组合物。

1. 一种用于由包含 18- 碳脂肪酸的植物种子油产生 20- 碳脂肪酸的方法,所述方法包括使所述植物种子油中存在的至少一部分 18- 碳脂肪酸延长两个碳原子,以产生 20- 碳脂肪酸。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述延长步骤包括使所述 18- 碳脂肪酸与酶接触。

3. 根据权利要求 2 所述的方法,其中所述酶包含延长酶。

4. 根据权利要求 3 所述的方法,所述方法还包括使至少一部分所述 20- 碳脂肪酸酯化的步骤。

5. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述 18- 碳脂肪酸包括多种不同的 18- 碳脂肪酸。

6. 权利要求 1-5 中任一项所述的方法,其中所述 18- 碳脂肪酸包含 SDA、GLA 和 ALA 中的一种或多种,并且所述 20- 碳脂肪酸包含 ETA、ETE 和 DGLA 中的一种或多种。

7. 根据权利要求 1 所述的方法,所述方法还包括在所述延长步骤前,从所述植物种子油中提取所述 18- 碳脂肪酸的步骤。

8. 根据权利要求 7 所述的方法,其中所述 18- 碳脂肪酸通过有机溶剂提取或超临界流体提取从所述植物种子油中提取。

9. 根据权利要求 8 所述的方法,其中所述超临界流体提取包括 CO₂ 超临界流体提取(CO₂-SFE)。

10. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法,所述方法还包括任选通过尿素分馏、低温结晶、色谱分离、HPLC 或蒸馏来纯化所述 20- 碳脂肪酸。

11. 根据权利要求 10 所述的方法,其中使所述 20- 碳脂肪酸纯化,以产生具有按重量计至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或超过 90%纯度的 20- 碳脂肪酸。

12. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述植物种子油选自:蓝蓟种子油、黑醋栗种子油、琉璃苣种子油、月见草种子油、假鹤虱种子油、毛束草种子油、拟紫草种子油及其组合。

13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的方法,所述方法还包括任选通过使所述 20- 碳脂肪酸与二氧化硅和炭的混合物混合,或使所述 20- 碳脂肪酸经过硅藻土过滤器,使所述 20- 碳脂肪酸脱臭。

14. 根据权利要求 6 所述的方法,所述方法还包括任选通过使所述 DGLA 与醇和酸接触,使所述 DGLA、ETE 和 / 或 ETA 酯化,以产生 DGLA、ETE 和 / 或 ETA 酯,所述酯任选选自烷基酯、杂烷基酯、芳基酯、杂芳基酯、甲酯、乙酯、丙酯、异丙酯、丁酯、异丁酯、叔丁酯及其组合。

15. 根据权利要求 1 所述的方法,其中产生的 20- 碳脂肪酸与所述植物种子油中的 18- 碳脂肪酸的摩尔比为约 1:1。

16. 根据权利要求 1 所述的方法,其中产生的 20- 碳脂肪酸具有的 20- 碳 Ω -6 脂肪酸与 20- 碳 Ω -3 脂肪酸的摩尔比大于所述植物种子油中的 18- 碳脂肪酸摩尔比,所述 18- 碳脂肪酸摩尔比由 18- 碳 Ω -6 脂肪酸与 18- 碳 Ω -3 脂肪酸的摩尔比限定。

17. 一种组合物,所述组合物包含通过根据权利要求 1-16 中任一项所述的方法产生的 20- 碳脂肪酸。

18. 根据权利要求 17 所述的组合物,所述组合物包含按重量计至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或超过 90%的 DGLA、ETA 和 ETE 中的一种或多种。

19. 一种用于延长植物种子油中的脂肪酸的方法,所述方法包括:从植物种子油中提取所述 18- 碳脂肪酸,和使所述脂肪酸延长两个碳原子。

20. 根据权利要求 2 或 19 中任一项所述的方法,其中所述植物种子油中的两种或更多种所述 18- 碳脂肪酸同步延长。

21. 一种用于产生包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物的方法,所述方法包括:富集包含 SDA、ALA 和 GLA 的植物种子油中的 SDA、ALA 和 GLA;使所述 SDA、ALA 和 GLA 各自同步延长两个碳原子,以提供 DGLA、ETE 和 ETA;和任选富集包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物。

22. 通过根据权利要求 21 所述的方法产生的组合物,其中所述组合物包含至少 50 重量%的 DGLA、ETE 和 / 或 ETA。

23. 通过根据权利要求 21 所述的方法产生的组合物,其中所述组合物包含约 1:10 至约 10:1 的 DGLA:ETE 加上 ETA 的摩尔比。

24. 根据权利要求 21 所述的方法,其中富集所述植物种子油中的 SDA、ALA 和 GLA 的步骤包括 (i) 使所述植物种子油与由丙酮、水和庚烷组成的溶剂系统接触,(ii) 使所得的混合物冷却至足以诱导晶体形成的温度,和 (iii) 从所述植物种子油-溶剂系统混合物中分离所述晶体,以产生富含 SDA、ALA 和 GLA 的植物种子油。

25. 根据权利要求 21 所述的方法,其中使所述 SDA、ALA 和 GLA 各自同步延长两个碳原子的步骤包括:

- (i) 使所述 SDA、ALA 和 GLA 酯化,以形成 SDA、ALA 和 GLA 酯;
- (ii) 使所述 SDA、ALA 和 GLA 酯还原,以形成 SDA、ALA 和 GLA 伯醇;
- (iii) 使所述 SDA、ALA 和 GLA 伯醇甲磺酰化,以形成 SDA、ALA 和 GLA 甲磺酸酯;
- (iv) 使所述 SDA、ALA 和 GLA 甲磺酸酯与 C₂ 延长块接触,其中所述 C₂ 延长块是去质子化的丙二酸二酯,以形成延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酯;
- (v) 使所述延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酯水解,以形成延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酸;和
- (vi) 使所述延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酸脱羧,以形成 DGLA、ETE 和 ETA。

26. 根据权利要求 21 所述的方法,其中富集 DGLA、ETE 和 ETA 的任选步骤包括 (i) 使所述包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物与包含庚烷的溶剂系统接触,(ii) 使所得的混合物冷却至足以诱导晶体形成的温度,和 (iii) 从所述组合物-溶剂系统混合物中分离所述晶体,以产生包含 DGLA、ETE 和 ETA 的富集的组合物。

27. 一种用于由植物种子油产生 20- 碳脂肪酸的方法,所述方法包括:

- (a) 通过使植物种子油暴露于脂肪酶,消化所述植物种子油中的 18- 碳脂肪酸甘油三酯的甘油主链,以形成包含 18- 碳游离脂肪酸的油,
- (b) 任选使来自所述油的一种或多种所述 18- 碳游离脂肪酸浓缩,
- (c) 用延长酶处理所述油或所述任选浓缩的 18- 碳游离脂肪酸,以产生 20- 碳脂肪酸,
- (d) 使至少一部分所述 20- 碳脂肪酸酯化,和
- (e) 任选使至少一部分酯化的 20- 碳脂肪酸浓缩。

28. 一种药物组合物,所述药物组合物包含具有约 1:10 至约 10:1 的 DGLA 与 ETE 加上 ETA 的摩尔比的 DGLA、ETE 和 ETA。

29. 根据权利要求 28 所述的药物组合物,其中 DGLA、ETE 和 ETA 共同占按重量计至少 70%、80%或 90%的所述组合物中存在的所有脂肪酸。

30. 一种治疗有此需要的受试者中的炎性疾病、心血管疾病、呼吸性疾病、神经学疾病、癌症、精神病或皮肤疾病的方法,所述方法包括给所述受试者施用根据权利要求 28 或 29 所述的药物组合物。

包含 20- 碳脂肪酸的组合物及其制备和使用方法

技术领域

[0001] 本发明总体涉及包含 20- 碳脂肪酸的组合物及其制造和使用方法。

发明内容

[0002] 本公开内容提供了用于由包含 18- 碳脂肪酸的油（例如植物种子油）产生包含 20- 碳脂肪酸的组合物的方法。该方法一般涉及使两种或更多种不同的 18- 碳脂肪酸延长两个碳原子，其中 20- 碳脂肪酸由 18- 碳脂肪酸产生。在一些实施例中，超过一种 18- 碳脂肪酸在单个反应（例如单罐反应）中延长两个碳原子。在一些实施例中，18- 碳脂肪酸包含十八碳四烯酸（“SDA”）、 α 亚麻酸（“ALA”）和 γ 亚麻酸（gamoleic acid）（也称为 γ 亚麻酸（gamma-linolenic acid）或 GLA）。在一些实施例中，20- 碳脂肪酸包含二十碳四烯酸（“ETA”）、二十碳三烯酸（“ETE”）和二高- γ - 亚麻酸（“DGLA”）。

[0003] 在多个实施例中，该方法包括步骤 (a) 提供包含 18- 碳脂肪酸和 / 或 18- 碳脂肪酸甘油三酯的油（例如植物种子油例如黑醋栗油），(b) 使 18- 碳脂肪酸酯和 / 或 18- 碳脂肪酸甘油三酯皂化，以形成包含 18- 碳游离脂肪酸的组合物，(c) 任选使 18- 碳脂肪酸中的一种或多种浓缩，(d) 延长 18- 碳游离脂肪酸，以产生包含 20- 碳脂肪酸的组合物，和 (e) 任选使 20- 碳脂肪酸中的一种或多种浓缩，以产生包含 20- 碳脂肪酸的富集的组合物。

[0004] 在一些实施例中，包含 18- 碳游离脂肪酸的组合物通过包括至少一个结晶步骤的方法在步骤 (c) 中浓缩。在一些实施例中，步骤 (c) 包括：(i) 使用第一溶剂系统的第一结晶步骤，和 (ii) 使用第二溶剂系统的第二结晶步骤。在一些实施例中，第一和第二溶剂系统是相同的。在一些实施例中，第一和第二溶剂系统是不同的。在一些实施例中，第一溶剂系统包含丙酮、水和非极性非质子溶剂例如庚烷。在一些实施例中，第二溶剂系统包含非极性非质子溶剂例如庚烷。在一些实施例中，与在步骤 (c) 前的组合物相比较，在步骤 (c) 后的组合物包含更多 18- 碳脂肪酸化合物。在一些实施例中，在步骤 (c) 后的组合物中的 18- 碳脂肪酸量是在步骤 (c) 前的组合物中的 18- 碳脂肪酸量的约 1.1 倍至约 10 倍。在一些实施例中，该组合物包含约 18% - 约 80%、例如约 50% 或更多量的 18- 碳脂肪酸。在一些实施例中，组合物中的亚油酸量减少约 25% 或更多，例如约 50%。

[0005] 在一些实施例中，油中的脂肪酸包含 Ω -3 和 Ω -6 脂肪酸的混合物。

[0006] 在一些实施例中，油中的两种或更多种 18- 碳脂肪酸和 / 或 18- 碳脂肪酸甘油三酯同步延长。

[0007] 在一些实施例中，步骤 (d) 中的 18- 碳游离脂肪酸的延长通过下述发生：(i) 18- 碳游离脂肪酸的酯化，以形成 18- 碳脂肪酸酯；(ii) 18- 碳脂肪酸酯的还原，以形成 18- 碳脂肪酸伯醇；(iii) 在 18- 碳脂肪酸伯醇上的伯醇基序转换为伯离去基团（例如甲磺酸酯），以形成 18- 碳脂肪酸亲电子试剂；(iv) 所得的 18- 碳脂肪酸亲电子试剂与亲核试剂例如去质子化丙二酸二甲酯（DMM: -）反应；和 (v) 如果亲核试剂是 DMM: - 或相似的去质子化二酯，则二酯水解以形成相应二酸，随后脱羧以形成包含 20- 碳游离脂肪酸的组合物。在一些实施例中，该组合物包含至少约 35%、例如约 50% 20- 碳游离酸。

[0008] 在一些实施例中,18-碳脂肪酸和/或18-碳脂肪酸甘油三酯包含 SDA、GLA 和 ALA 中的一种或多种。

[0009] 在一些实施例中,20-碳脂肪酸包含 ETA、ETE 和 DGLA 中的一种或多种。

[0010] 在一些实施例中,该方法还包括在脂肪酸延长两个碳原子之前,从油中提取至少一部分 18-碳脂肪酸。在一些实施例中,提取步骤包括有机溶剂提取或 CO₂ 超临界流体提取 (CO₂-SFE)。

[0011] 在一些实施例中,该方法还包括使 20-碳脂肪酸纯化或浓缩。在一些实施例中,使 20-碳脂肪酸纯化的步骤包括尿素分馏、低温结晶、色谱分离例如 HPLC 或蒸馏。

[0012] 在一些实施例中,至少一部分 18-碳脂肪酸通过使 18-碳脂肪酸与酶例如延长酶接触而延长两个碳原子。

[0013] 在一些实施例中,至少一部分 18-碳脂肪酸通过例如下述化学延长两个碳原子:使 18-碳脂肪酸与还原剂接触,使所得的伯醇溴化,使溴化物与 C₂ 延长块 (elongation block) 例如任选取代的噁唑啉偶联,并且转换延长的噁唑啉,以形成 20-碳脂肪酸。

[0014] 在一些实施例中,使 20-碳脂肪酸浓缩或纯化,以产生具有至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 或超过 90% 纯度的 20-碳脂肪酸。

[0015] 在一些实施例中,纯化的 20-碳脂肪酸随后与 15-脂氧合酶接触或暴露于 15-脂氧合酶。在一些实施例中,由与 15-脂氧合酶接触或暴露于 15-脂氧合酶产生的脂肪酸是 15-HETrE 和/或 15-OH-ETA。在一个实施例中,通过与 15-脂氧合酶接触或暴露于 15-脂氧合酶产生的 15-HETrE 与 15-OH-ETA 的比为约 10:1 至约 1:10 或 5:1 至约 1:5。

[0016] 在一些实施例中,包含 18-碳脂肪酸和/或 18-碳脂肪酸甘油三酯的油是选自下述的植物种子油:蓝蓟种子油、黑醋栗种子油、琉璃苣种子油、月见草种子油、假鹤虱 (hackelia) 种子油、毛束草种子油、拟紫草 (buglossoides) 种子油及其组合。

[0017] 在一些实施例中,该方法还包括使 20-碳脂肪酸脱臭。在一些实施例中,脱臭包括使 20-碳脂肪酸与二氧化硅和炭的混合物混合,或使 20-碳脂肪酸经过硅藻土过滤器。

[0018] 在一些实施例中,该方法还包括酯化(例如使一种或多种 18-碳脂肪酸或 20-碳脂肪酸与醇和酸接触),以产生脂肪酸酯。在一个实施例中,由所述酯化的脂肪酸浓缩酯化的 20-碳脂肪酸。在其他实施例中,由所述酯化的脂肪酸浓缩 DGLA 酯、ETE 酯、ETA 酯、15-HETrE 酯和/或 15-OH-ETA 酯。

[0019] 在一些实施例中,酯化的脂肪酸(例如 DGLA、ETE、ETA、15-HETrE 和 15-OH-ETA 酯)选自烷基酯、杂烷基酯、芳基酯、杂芳基酯、甲酯、乙酯、丙酯、异丙酯、丁酯、异丁酯、叔丁酯及其组合。

[0020] 在一些实施例中,产生的 20-碳脂肪酸与起始 18-碳脂肪酸的比保持与起始油中所述比基本上相同。在其他实施例中,产生的 20-碳脂肪酸与起始 18-碳脂肪酸的比为约 1:10 至约 10:1、约 1:5 至约 5:1、约 1:2 至约 2:1 或约 1:1。在一个实施例中,DGLA:ETA 的比保持与起始油中 GLA:SDA 的比基本上相同。在一个实施例中,DGLA:ETE:ETA 的比保持与起始油中 GLA:ALA:SDA 的比基本上相同。在另一个实施例中,DGLA 与 ETE 和 ETA 的总和的比保持与起始油中 GLA 与 ALA 和 SDA 的总和的比基本上相同。在另一个实施例中,与起始油中 GLA 与 ALA 和 SDA 的总和的比相比较,DGLA 与 ETE 和 ETA 的总和的比增加。在另一个实施例中,15-HETrE:15-OH-ETA 的比保持与起始油中 GLA:SDA 的比基本上相同。

[0021] 本公开内容还提供了包含通过本文公开的方法中的任一种产生的脂肪酸的组合物。在一些实施例中,该组合物包含至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、或超过 90% DGLA。在一些实施例中,该组合物包含至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、或超过 90% ETA。在一些实施例中,该组合物包含至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、或超过 90% ETE。在一些实施例中,该组合物包含至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、或超过 90% 15-HETrE。在一些实施例中,该组合物包含至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、或超过 90% 15-OH-ETA。

[0022] 在一个实施例中,本公开内容提供了通过下述用于产生包含 DGLA 和 ETA 的组合物的方法:提供包含脂肪酸的植物种子油,其中该脂肪酸包括 SDA 和 GLA;从植物种子油中提取 SDA 和 GLA;使 SDA 和 GLA 延长(在相同反应容器中同时、基本上同步或同步)两个碳原子,其中 DGLA 和 ETA 由 SDA 和 GLA 产生;并且使 DGLA 和 / 或 ETA 纯化和 / 或浓缩。

[0023] 在另一个实施例中,本公开内容提供了通过下述用于产生包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物的方法:提供包含脂肪酸的植物种子油,其中该脂肪酸包括 ALA、SDA 和 GLA;从植物种子油中提取 ALA、SDA 和 GLA;使 ALA、SDA 和 GLA 延长(在相同反应容器中同时、基本上同步或同步)两个碳原子,以分别产生 ETE、ETA 和 DGLA;并且使 DGLA、ETA 和 / 或 ETA 纯化和 / 或浓缩。

[0024] 在另一个实施例中,本公开内容提供了通过下述用于产生包含 15-HETrE 和 15-OH-ETA 的组合物的方法:提供包含脂肪酸的植物种子油,其中该脂肪酸包括 SDA 和 GLA;从植物种子油中提取 SDA 和 GLA;使 SDA 和 GLA 延长(在相同反应容器中同时、基本上同步或同步)两个碳原子,其中 DGLA 和 ETA 由 SDA 和 GLA 产生;使 DGLA 和 ETA 与 15-脂氧合酶接触或暴露于 15-脂氧合酶,以形成 15-HETrE 和 / 或 15-OH-ETA,并且使 15-HETrE 和 / 或 15-OH-ETA 纯化 / 浓缩。

[0025] 本公开内容还提供了通过所述方法产生的化合物、组合物和药物组合物。在一些实施例中,该组合物包含至少 50 重量%的 DGLA、ETE、ETA 或其组合。在一些实施例中,该组合物包含约 1:8 至约 8:1、例如约 1:1 的 DGLA 与 ETA 的比。在一些实施例中,该组合物包含约 1:8 至约 8:1、例如约 1:1 的 DGLA 与 ETE 和 ETA 的总和的比。在一些实施例中,该组合物包含至少 50 重量%的 15-HETrE、15-OH-ETA 或其组合。在一些实施例中,该组合物包含约 1:8 至约 8:1、例如约 1:1 的 15-HETrE 与 15-OH-ETA 的比。

附图说明

[0026] 图 1 描述了用于由包含 18-碳脂肪酸和 / 或 18-碳脂肪酸甘油三酯的油产生 20-碳脂肪酸的方法的一个实施例的流程图。

具体实施方式

[0027] 虽然本公开内容能够以多种形式体现,但在下述理解的情况下而作出几个实施例的下文描述:本公开内容应视为公开内容的例证,并且不预期使公开内容限制于举例说明的具体实施例。标题仅为了方便起见而提供,并且不应解释为以任何方式限制公开内容。在

任何标题下举例说明的实施例可与在任何其他标题下举例说明的实施例组合。

[0028] 除非另有明确说明,否则在本专利申请中指定的多个定量值的数值的使用陈述为近似值,如同在所述范围内的最小值和最大值两者前面有单词“约”一样。另外,范围的公开内容预期作为连续范围,包括在所述的最小值和最大值之间的每一个值以及可由此类值形成的任何范围。本文还公开的是可通过公开的数值除以任何其他公开的数值形成的任何和所有比(和任何此类比的范围)。相应地,技术人员应当理解许多此类比、范围和比的范围可明确源自本文呈现的数值,并且在所有情况下,此类比、范围和比的范围代表本公开内容的多个实施例。

[0029] 二高- γ -亚麻酸也称为顺式-8, 11, 14-二十碳三烯酸或 C20:3 ω 6 (“DGLA”) 是 γ 亚麻酸 (gamma-linolenic acid) 也称为 γ 亚麻酸 (gamoleic acid) 或 C18:3 ω 6 (“GLA”) 的延长产物。GLA 是来自多种植物例如蓝蓟、黑醋栗、琉璃苣、月见草、假鹤虱、毛束草和拟紫草(仅举几例)的天然油的组分。如本文使用的,术语“GLA”指 GLA 甘油三酯、游离酸(例如顺式-6, 9, 12-十八碳三烯酸)和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,GLA 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯或乙酯形式。如本文使用的,术语“DGLA”指 DGLA 游离酸(例如顺式-8, 11, 14-二十碳三烯酸)和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,DGLA 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯或乙酯形式。

[0030] 十八碳四烯酸也称为全顺式-6, 9, 12, 15-十八碳四烯酸或 C18:4 ω 3 (“SDA”)。如本文使用的,术语“SDA”指 SDA 甘油三酯、游离酸和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,SDA 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯或乙酯形式。

[0031] 15-羟基二十碳-8(Z), 11(Z), 13(E)-三烯酸 (“15-HETrE”) 是 DGLA 的衍生物。如本文使用的,术语“15-HETrE”指以其游离酸形式的 15-HETrE(例如 15-羟基二十碳-8(Z), 11(Z), 13(E)-三烯酸)和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。

[0032] 二十碳四烯酸 (“ETA”) 也称为全顺式-8, 11, 14, 17-二十碳四烯酸或 20:4 ω 3, 是十八碳四烯酸的延长产物。如本文使用的,术语“ETA”指 ETA 游离酸和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,ETA 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯或乙酯形式。

[0033] 15-羟基二十碳四烯酸 (15-羟基-5, 8, 11, 13-二十碳四烯酸在本文中称为 “15-OH-ETA”) 是 ETA 的衍生物。如本文使用的,术语“15-OH-ETA”指 15-OH-ETA 游离酸和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,15-OH-ETA 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯或乙酯形式。

[0034] α 亚麻酸也称为全顺式-9, 12, 15-十八碳三烯酸或 18:3 ω 3 (“ALA”)。如本文使用的,术语“ALA”指 ALA 甘油三酯、游离酸和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,ALA 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯或乙酯形式。

[0035] 二十碳三烯酸 (“ETE”) 也称为全顺式-11, 14, 17-二十碳三烯酸或 20:3 ω 3, 是 ALA 的延长产物。如本文使用的,术语“ETE”指 ETE 游离酸和/或其药学可接受的酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。在一些实施例中,ETE 以 C₁₋₄ 烷基酯的形式例如甲酯

或乙酯形式。

[0036] 如本文使用的,术语“DGLA 衍生物”和“DGLA 的衍生物”指由 DGLA 的化学转换形成的化合物,包括但不限于 15-HETrE 及其酯、衍生物、缀合物或盐,或前述任何的混合物。本领域技术人员根据化学结构及其他性质将容易识别给定化合物是否是 DGLA 衍生物。

[0037] 本文公开的任何组合物的脂肪酸含量均可通过本领域已知的任何合适方法进行测定。例如且非限制性地,本文公开的组合物的脂肪酸含量可通过气相色谱法进行测定。在一个实施例中,用于测定组合物的脂肪酸含量的方法包括将组合物的样品(例如 1 μ L 丸剂)注射到气相色谱系统内,所述气相色谱系统配备置于室/烘箱内具有 0.5mm 膜厚度的 DB-FFAP30mx250 μ m 柱,设为 300°C 的 FID 检测器,具有约 1.0mL/分钟流速的惰性载气(例如氦)。柱的温度可维持在环境温度下,或可随着时间过去从例如约 180°C 的初始温度增加到(例如“倾斜上升(ramped)”)例如约 250°C 的最终更高温度,经过几分钟的过程(例如经过 7 分钟 70°C 的倾斜上升,或约 10°C/分钟)。然而,本领域技术人员将认识到其他 GC 柱和条件可容易取代本文公开的示例性条件。

[0038] 在一个实施例中,DGLA、ETE、ETA、15-OH-ETA 和/或 15-HETrE 在用于如本文公开的方法或组合物前进行脱臭。在一个实施例中,使含有(1)DGLA 和 ETA 的油或含有(2)15-HETrE 和 15-OH-ETA 的油或含有(3)DGLA、ETE 和 ETA 的油与二氧化硅和炭混合。在一个实施例中,二氧化硅和炭以约 1:1 至约 50:1 的比,例如约 1:1、约 2:1、约 3:1、约 4:1、约 5:1、约 6:1、约 7:1、约 8:1、约 9:1、约 10:1、约 12:1、约 14:1、约 15:1、约 16:1、约 18:1、约 20:1、约 25:1、约 30:1、约 35:1、约 40:1、约 45:1、或约 50:1。在一个实施例中,DGLA(或 15-OH-ETA 或 15-HETrE)与二氧化硅/炭的比为约 1:1 至约 50:1,例如约 1:1、约 2:1、约 3:1、约 4:1、约 5:1、约 6:1、约 7:1、约 8:1、约 9:1、约 10:1、约 12:1、约 14:1、约 15:1、约 16:1、约 18:1、约 20:1、约 25:1、约 30:1、约 35:1、约 40:1、约 45:1、或约 50:1。在一个实施例中,粗制 DGLA、15-OH-ETA 和/或 15-HETrE 已通过硅藻土过滤器上过滤进行脱臭。在另一个实施例中,卵磷脂用于脂肪酸的脱臭中。

[0039] 18-碳脂肪酸的延长

[0040] 在一些实施例中,至少一部分 18-碳脂肪酸通过使 18-碳脂肪酸与酶例如延长酶接触而延长两个碳原子。

[0041] 在一些实施例中,至少一部分 18-碳脂肪酸通过例如下述化学延长两个碳原子:使 18-碳脂肪酸与还原剂接触,以形成伯醇,使所得的伯醇溴化,使溴化物与 C_2 延长块例如任选取代的噁唑啉偶联,并且转换延长的噁唑啉,以形成 20-碳脂肪酸。

[0042] 在一个此类实施例中,18-碳脂肪酸首先用氢化铝锂处理,以形成相应的 18-碳伯醇。18-碳伯醇随后用二溴三苯基膦(Ph_3PBr_2)处理。所得的溴化物随后通过用 2,4,4-三甲基-2-噁唑啉和正丁基锂的混合物处理进行延长,以形成受二甲基噁唑啉保护的 20-碳脂肪酸。用盐酸处理获得 20-碳脂肪酸甲酯。相应的 20-碳脂肪酸可通过常规水解方法例如通过用 KOH 处理随后为酸性反应(work-up)而形成。

[0043] 在一些实施例中,至少一部分 18-碳脂肪酸通过例如下述化学延长两个碳原子:使 18-碳脂肪酸转换为其相应的 18-碳脂肪酸酯,使 18-碳脂肪酸酯与还原剂接触,以形成伯醇,使所得的伯醇甲磺酰化,以形成甲磺酸酯,使甲磺酸酯与 C_2 延长块例如丙二酸二烷基酯偶联,以形成 20-碳 α 取代的脂肪酸衍生物,使 20-碳 α 取代的脂肪酸衍生物水解,以形

成 20- 碳 α 羧化脂肪酸衍生物, 并且使 20- 碳 α 取代的脂肪酸衍生物脱羧, 以形成 20- 碳脂肪酸。

[0044] 在一个此类实施例中, 使 18- 碳游离脂肪酸酯化, 以形成 18- 碳脂肪酸酯例如甲酯。该酯用氢化铝锂处理, 以形成 18- 碳伯醇, 其随后用甲磺酰氯 (甲磺酰氯) 处理, 以形成 18- 碳伯甲磺酸酯。18- 碳伯甲磺酸酯随后用含有去质子化丙二酸二甲酯的溶液处理, 以形成 20- 碳二酯。使 20- 碳二酯水解且随后脱羧, 以形成 20- 碳游离脂肪酸。

[0045] 18- 碳脂肪酸的富集

[0046] 在一些实施例中, 使包含 18- 碳脂肪酸的油 (例如植物种子油) 这样富集, 使得富集的油含有比执行富集方法前相对更多的 18- 碳脂肪酸。随后延长富集的油中的 18- 碳脂肪酸, 以形成 20- 碳脂肪酸。在一个此类实施例中, 用于富集油的方法包括从油中分离具有多于或少于 18 碳的至少一部分脂肪酸 (例如棕榈酸)。在一个实施例中, 与富集前在油中的 GLA 和 / 或 SDA 量相比较, 富集增加油中 GLA 和 / 或 SDA 的相对量 (与油中存在的所有脂肪酸相比较)。

[0047] 在一个实施例中, 包含 18- 碳脂肪酸的油通过这样的方法进行富集, 所述方法包括选择性结晶除 GLA 和 SDA 外的至少一部分脂肪酸, 并且从油中分离结晶的脂肪酸, 以形成第一富集的油。在一些实施例中, 该方法包括使油与溶剂系统接触, 所述溶剂系统包含丙酮和任选的水。在一些实施例中, 溶剂系统包含以下述体积比的丙酮和水 : 约 99.9:0.1 至约 90:10, 例如约 99.9:0.1、约 99.8:0.2、约 99.7:0.3、约 99.6:0.4、约 99.5:0.5、约 99.4:0.6、约 99.3:0.7、约 99.2:0.8、约 99.1:0.9、约 99:1、约 98.5:1.5、约 98:2、约 97.5:2.5、约 97:3、约 96.5:3.5、约 96:4、约 95.5:4.5、约 95:5、约 94.5:5.5、约 94:6、约 93.5:6.5、约 93:7、约 92.5:7.5、约 92:8、约 91.5:8.5、约 91:9、约 90.5:9.5、或约 90:10。在一些实施例中, 溶剂系统包含以下述体积比的丙酮、水和非极性非质子溶剂例如庚烷 : 约 92:4:4 至约 99:0.5:0.5, 例如约 92:4:4、约 94:3:3、约 96:2:2、约 98:1:1、约 98.5:1:0.5、或约 99:0.5:0.5。

[0048] 在一个实施例中, 使油与溶剂系统以下述油 : 溶剂系统体积比接触 : 约 1:99 至约 50:50, 例如约 1:99、约 2:98、约 3:97、约 4:96、约 5:95、约 6:94、约 7:93、约 8:92、约 9:91、约 10:90、约 15:85、约 20:80、约 25:75、约 30:70、约 35:65、约 40:60、约 45:55 或约 50:50。

[0049] 在油与第一溶剂系统接触后, 允许混合物静置足够时间以允许结晶发生。任选地, 使混合物冷却至 -78°C 至约 10°C 的温度, 例如约 -78°C 、约 -65°C 、约 -60°C 、约 -55°C 、约 -50°C 、约 -45°C 、约 -40°C 、约 -35°C 、约 -30°C 、约 -25°C 、约 -20°C 、约 -15°C 、约 -10°C 、约 -5°C 、约 0°C 、约 4°C 、约 5 或约 10°C 。晶体通过本领域技术人员已知的任何合适方法 (例如过滤、冷过滤等) 与富集的油分离。

[0050] 在一些实施例中, 该方法包括用第二溶剂系统处理油或第一富集的油, 以产生第二富集的油。在一些实施例中, 第二溶剂系统包含非极性非质子溶剂例如庚烷。在一些实施例中, 使油或第一富集的油与溶剂系统以下述油 : 溶剂系统体积比接触 : 约 1:99 至约 50:50, 例如约 1:99、约 2:98、约 3:97、约 4:96、约 5:95、约 6:94、约 7:93、约 8:92、约 9:91、约 10:90、约 15:85、约 20:80、约 25:75、约 30:70、约 35:65、约 40:60、约 45:55 或约 50:50。

[0051] 在油或第一富集的油与第二溶剂系统接触后, 允许混合物静置足够时间以允许结晶发生。任选地, 使混合物冷却至 -78°C 至约 10°C 的温度, 例如约 -78°C 、约 -65°C 、

约 -60℃、约 -55℃、约 -50℃、约 -45℃、约 -40℃、约 -35℃、约 -30℃、约 -25℃、约 -20℃、约 -15℃、约 -10℃、约 -5℃、约 0℃、约 4℃、约 5 或约 10℃。晶体通过本领域技术人员已知的任何合适方法（例如过滤、冷过滤等）与第二富集的油分离。

[0052] 在一个实施例中，油通过包括下述的方法富集 18- 碳脂肪酸化合物：

[0053] (i) 使油与包含丙酮、水和庚烷的第一溶剂系统以约 98.5:1:0.5 的体积比接触，其中油与溶剂系统的体积比为约 10:90；

[0054] (ii) 使所得的混合物冷却至约 -60℃ 的温度；

[0055] (iii) 使所得的冷却的混合物冷过滤，以产生第一富集的油，所述第一富集的油具有比油相对更多的 GLA 和 SDA；

[0056] (iv) 使第一富集的油与包含非极性非质子溶剂例如庚烷的第二溶剂系统接触，其中第一富集的油：溶剂系统的体积比为约 10:90；

[0057] (v) 使所得的混合物冷却至约 -60℃ 的温度；和

[0058] (vi) 使所得的冷却的混合物冷过滤，以产生第二富集的油，其中该第二富集的油中存在的 GLA 和 SDA 的量（相对于组合物中的所有脂肪酸）大于相应的第一富集的油和油中。

[0059] 在一些实施例中，GLA 的相对量增加约 3% 至约 500%，例如约 3%、约 4%、约 5%、约 6%、约 7%、约 8%、约 9%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 100%、约 105%、约 110%、约 115%、约 120%、约 125%、约 150%、约 175%、约 200%、约 225%、约 250%、约 275%、约 300%、约 325%、约 350%、约 375%、约 400%、约 425%、约 450%、约 475% 或约 500%。

[0060] 在一些实施例中，与富集的油中存在的所有脂肪酸相比较，富集的油包含至少约 15% GLA，例如富集的油中存在的所有脂肪酸的至少约 15%、至少约 16%、至少约 17%、至少约 18%、至少约 19%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、或超过约 95%。

[0061] 在一些实施例中，SDA 的相对量增加约 3% 至约 500%，例如约 3%、约 4%、约 5%、约 6%、约 7%、约 8%、约 9%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 100%、约 105%、约 110%、约 115%、约 120%、约 125%、约 150%、约 175%、约 200%、约 225%、约 250%、约 275%、约 300%、约 325%、约 350%、约 375%、约 400%、约 425%、约 450%、约 475% 或约 500%。

[0062] 在一些实施例中，与富集的油中存在的所有脂肪酸相比较，富集的油包含至少约 2% SDA，例如富集的油中存在的所有脂肪酸的至少约 2%、至少约 3%、至少约 4%、至少约 5%、至少约 6%、至少约 7%、至少约 8%、至少约 9%、至少约 10%、至少约 11%、至少约 12%、至少约 13%、至少约 14%、至少约 15%、至少约 16%、至少约 17%、至少约 18%、至少约 19%、至少约 20%、至少约 21%、至少约 22%、至少约 23%、至少约 24%、至少约 25%、或超过约 25%。

[0063] 在一些实施例中，富集的油中 GLA 与 SDA 的比 (GLA:SDA) 小于、约等于或大于执行

富集前油中 GLA 与 SDA 的比。在一些实施例中,富集的油具有下述 GLA:SDA 比:约 1:1 至约 20:1,例如约 1:1、约 2:1、约 3:1、约 4:1、约 5:1、约 6:1、约 7:1、约 8:1、约 9:1、约 10:1、约 11:1、约 12:1、约 13:1、约 14:1、约 15:1、约 16:1、约 17:1、约 18:1、约 19:1 或约 20:1。

[0064] 20- 碳脂肪酸的富集

[0065] 在一些实施例中,对包含 18- 碳脂肪酸的油(例如植物种子油)实施延长方法,并且随后使所得的包含 20- 碳脂肪酸的组合物这样富集,使得富集的组合物含有比执行富集方法前相对更多的 20- 碳脂肪酸。无论包含 18- 碳脂肪酸和 / 或 18- 碳脂肪酸甘油三酯的油是否如先前描述的富集,20- 碳脂肪酸组合物的富集均可发生。

[0066] 在一个实施例中,通过从油中分离具有多于或少于 20 碳的至少一部分脂肪酸(例如 GLA 和 / 或 SDA),来富集包含 20- 碳脂肪酸的组合物。在一个实施例中,与富集前在组合物中的 DGLA 和 / 或 ETA 量相比较,富集增加油中 DGLA 和 / 或 ETA 的相对量(与组合物中存在的所有脂肪酸相比较)。

[0067] 在一个实施例中,根据包括下述的方法富集包含 20- 碳脂肪酸的组合物:使组合物与包含非极性非质子溶剂例如庚烷的溶剂系统接触,使所得的混合物冷却至约 -78℃ 至约 10℃ 的温度共允许晶体形成的足够时间,并且通过任何合适方法包括例如冷过滤,从包含 20- 碳脂肪酸的富集的组合物中分离晶体。

[0068] 在一些实施例中,对富集的 20- 碳脂肪酸组合物实施进一步的纯化。在一个实施例中,进一步纯化包括色谱分离(例如正相色谱法,其使用硅胶和以 98:2:1 环己烷:乙醚:乙酸开始的溶剂系统,并且缓慢增加溶剂系统中的醚量,直至一种或多种 20- 碳脂肪酸洗脱时)。在另一个实施例中,进一步纯化包括使富集的 20- 碳脂肪酸组合物与包含非极性非质子溶剂例如庚烷的第二溶剂系统接触,使所得的混合物冷却至约 -78℃ 至约 10℃ 的温度,并且通过任何合适方法包括例如冷过滤,从包含 20- 碳脂肪酸的富集的组合物中分离晶体。

[0069] 在一个实施例中,富集的 20- 碳脂肪酸组合物具有的 20- 碳 Ω -6 脂肪酸与 20- 碳 Ω -3 脂肪酸的比大于起始油中 18- 碳 Ω -6 脂肪酸与 18- 碳 Ω -3 脂肪酸的比。在一个实施例中,包含 20- 碳脂肪酸的组合物具有下述 Ω -6 脂肪酸与 Ω -3 脂肪酸的比:约 1:1 至约 10:1,例如约 1:1、约 1.5:1、约 2:1、约 2.5:1、约 3:1、约 3.5:1、约 4:1、约 4.5:1、约 5:1、约 5.5:1、约 6:1、约 6.5:1、约 7:1、约 7.5:1、约 8:1、约 8.5:1、约 9:1、约 9.5:1 或约 10:1。在一个实施例中,组合物中的 Ω -6 脂肪酸与 Ω -3 脂肪酸的比为约 5:1。

[0070] 相应地,在由图 1 示意性表示的一个实施例中,含有 GLA 和 SDA(例如按重量计 18.1%)的油通过下述冬化方法进行富集:使油与约 9 质量当量的溶剂系统接触,所述溶剂系统由丙酮与 1% 的添加水和 0.5% 的添加庚烷组成,并且使混合物冷却至 -60℃。所得的富集油还通过下述在冬化步骤中富集:使富集的油与庚烷接触,冷却至 -60℃,并且收集两次富集的油。在图 1 的右手途径中所示的一个实施例中,两次富集的油通过制备型 HPLC 进行纯化,以提供包含 GLA 和 SDA 的纯化组合物。随后使该材料酯化以形成甲酯,还原以形成伯醇,甲磺酰化以形成伯甲磺酸酯,通过添加丙二酸二酯延长,水解以形成相应二酸,并且脱羧以形成包含 DGLA 和 ETA 的组合物(约 70% 脂肪酸)。

[0071] 在图 1 的左手途径中所示的可替代实施例中,使两次富集的油酯化、还原、甲磺酰化、延长、水解且脱羧,以产生包含 DGLA 和 ETA 的组合物(约 70% 脂肪酸)。该组合物随后

通过制备型 HPLC 进行纯化,以产生包含 DGLA 和 SDA 的纯化组合物。

[0072] 药物组合物

[0073] 在多个实施例中,本发明提供了包含 DGLA、ETE、ETA、15-OH-ETA、15-HETrE 或其混合物的药物组合物,例如可经口递送的组合物。在一个实施例中,该组合物包含治疗有效量的 DGLA、ETE、ETA、15-OH-ETA、15-HETrE 或其组合。在一个实施例中,药物组合物包含按重量计约 0.1% 至约 99%、约 1% 至约 95%、约 5% 至约 90% 的 DGLA、ETE、ETA、15-OH-ETA、15-HETrE 或其组合。

[0074] 在一个实施例中,药物组合物包含按重量计约至少约 70%、至少约 80% 或至少约 90% 的 DGLA、ETE、ETA、15-OH-ETA、15-HETrE 或其组合。在一个实施例中,药物组合物包含按重量计至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80% 或至少约 90% 的 DGLA 和 ETA。在另一个实施例中,药物组合物包含按重量计至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80% 或至少约 90% 的 DGLA、ETE 和 ETA。在一个实施例中,药物组合物包含按重量计至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80% 或至少约 90% 的 15-OH-ETA 和 15-HETrE。

[0075] 在一个实施例中,药物组合物还包含另外的活性剂。在一个实施例中,药物组合物包含的另外活性剂的量小于一般公认的该试剂的治疗有效量。在一个实施例中,药物组合物包含的另外活性剂的量等于或大于一般公认的该试剂的治疗有效量。

[0076] 依照公开内容使用的组合物可配制为一种或多种剂量单位。术语“剂量单位”和“单元剂量”在本文中指药物组合物的一部分,其含有适合于单次施用以提供疗效的治疗试剂的量。此类单元剂量可每天施用一次到多(即 1 至约 10、1 至 8、1 至 6、1 至 4 或 1 至 2)次,或根据需要的多次,以引发治疗应答。

[0077] 在一些实施例中,本发明的组合物以可经口递送的剂型或单元剂量的形式。合适剂型的非限制性例子包括片剂(例如悬浮片剂、咀嚼悬浮片剂、快速分散片剂、嚼用片等)、囊片、胶囊(例如软或硬明胶胶囊或者 HPMC 胶囊)、锭剂、囊剂、扁囊剂、含片、微丸、悬浮液、酏剂、糖浆剂或合理地适于经口施用的任何其他固体剂型。

[0078] 作为另外一种选择,本发明的组合物还可配制用于直肠、局部或肠胃外(例如皮下、肌内、静脉内和真皮内或输注)递送。

[0079] 在另一个实施例中,本发明的组合物包含一种或多种药学可接受的赋形剂。术语“药学可接受的赋形剂”在本文中意指自身不是治疗试剂的任何物质,其用作载体或媒介物用于将治疗试剂递送至受试者,或者加入药物组合物中以改善其处理或贮存特性,或者允许或促进单位剂量的组合物的形成,并且不产生无法接受的毒性或与组合物中的其他组分的相互作用。仅作为例子,根据本公开内容的药物组合物可包含下述中的一种或多种:抗氧化剂、表面活性剂、防腐剂、调味剂、共溶剂、粘度助剂、悬浮助剂和亲脂相。

[0080] 在一个实施例中,药物组合物包含一种或多种抗氧化剂例如抗坏血酸、棕榈酸、抗坏血酸棕榈酸酯、 α -生育酚、艾地苯醌、泛醌、阿魏酸、辅酶 Q10、番茄红素、绿茶、儿茶素、没食子儿茶素-3-没食子酸酯(EGCG)、绿茶多酚(GTP)、水飞蓟素、咖啡豆、白藜芦醇、葡萄籽、石榴提取物、染料木黄酮(genisten)、碧萝芷、烟酰胺等等。在一个实施例中,药物组合物包含约 0.01 重量%至约 2 重量%的抗氧化剂,例如约 0.01 重量%、约 0.02 重量%、约 0.03 重量%、约 0.04 重量%、约 0.05 重量%、约 0.06 重量%、约 0.07 重量%、约 0.08 重量%、约 0.09 重量%、约 0.1 重量%、约 0.11 重量%、约 0.12 重量%、约 0.13 重量%、约 0.14 重

量%、约 0.15 重量%、约 0.16 重量%、约 0.17 重量%、约 0.18 重量%、约 0.19 重量%、约 0.2 重量%、约 0.21 重量%、约 0.22 重量%、约 0.23 重量%、约 0.24 重量%、约 0.25 重量%、约 0.26 重量%、约 0.27 重量%、约 0.28 重量%、约 0.29 重量%、约 0.3 重量%、约 0.31 重量%、约 0.32 重量%、约 0.33 重量%、约 0.34 重量%、约 0.35 重量%、约 0.36 重量%、约 0.37 重量%、约 0.38 重量%、约 0.39 重量%、约 0.4 重量%、约 0.41 重量%、约 0.42 重量%、约 0.43 重量%、约 0.44 重量%、约 0.45 重量%、约 0.46 重量%、约 0.47 重量%、约 0.48 重量%、约 0.49 重量%、约 0.5 重量%、约 0.51 重量%、约 0.52 重量%、约 0.53 重量%、约 0.54 重量%、约 0.55 重量%、约 0.56 重量%、约 0.57 重量%、约 0.58 重量%、约 0.59 重量%、约 0.6 重量%、约 0.61 重量%、约 0.62 重量%、约 0.63 重量%、约 0.64 重量%、约 0.65 重量%、约 0.66 重量%、约 0.67 重量%、约 0.68 重量%、约 0.69 重量%、约 0.7 重量%、约 0.71 重量%、约 0.72 重量%、约 0.73 重量%、约 0.74 重量%、约 0.75 重量%、约 0.76 重量%、约 0.77 重量%、约 0.78 重量%、约 0.79 重量%、约 0.8 重量%、约 0.81 重量%、约 0.82 重量%、约 0.83 重量%、约 0.84 重量%、约 0.85 重量%、约 0.86 重量%、约 0.87 重量%、约 0.88 重量%、约 0.89 重量%、约 0.9 重量%、约 0.91 重量%、约 0.92 重量%、约 0.93 重量%、约 0.94 重量%、约 0.95 重量%、约 0.96 重量%、约 0.97 重量%、约 0.98 重量%、约 0.99 重量%、约 1 重量%、约 1.1 重量%、约 1.2 重量%、约 1.3 重量%、约 1.4 重量%、约 1.5 重量%、约 1.6 重量%、约 1.7 重量%、约 1.8 重量%、约 1.9 重量%、或约 2 重量%的一种或多种抗氧化剂。

[0081] 本文公开的组合物和制剂可用于治疗疾病和 / 或障碍,包括但不限于炎性疾病、心血管疾病、呼吸性疾病、神经学疾病、癌症、精神病和皮肤疾病。在一个实施例中,该方法包括每天一次、每天两次、每天三次或每天超过三次给受试者施用如本文公开的药物组合物。

[0082] 如本文使用的,“治疗”疾病、障碍或病症包括至少部分:(1) 预防该疾病、障碍或病症,即引起该疾病、障碍或病症的临床症状在哺乳动物中不发展,所述哺乳动物暴露于或倾向于该疾病、障碍或病症,但仍未经历或展示该疾病、障碍或病症的症状;(2) 抑制该疾病、障碍或病症,即阻止或减少该疾病、障碍或病症或其临床症状的发展;或(3) 缓解该疾病、障碍或病症,即引起该疾病、障碍或病症或其临床症状的消退。与给定疾病或障碍相关的术语“预防”意指:如果未发生,则预防疾病发展的开始,预防疾病或障碍在受试者中的发生,所述受试者可能倾向于该障碍或疾病,但仍未诊断为具有该障碍或疾病,和 / 或如果已存在,则预防进一步的疾病 / 障碍发展。

[0083] 如本文使用的,“有效量”指对受试者赋予疗效所需的活性组合物的量。如本文使用的,“治疗有效量”指待施用的试剂或化合物的足够量,其在一定程度上缓解待治疗的疾病、障碍或病症的一种或多种症状。在一些实施例中,结果是疾病的体征、症状或原因的减少和 / 或缓和,或生物系统的任何其他所需改变。例如,在一些实施例中,用于治疗用途的“有效量”是包括如本文公开的化合物的组合物的量,所述量是提供疾病症状中的临床显著降低所需的,而无不适当的不利副作用。在一些实施例中,在任何个别情况下的适当的“有效量”使用技术例如剂量递增研究进行测定。术语“治疗有效量”包括例如预防有效量。在其他实施例中,本文公开的化合物例如式 (A) 或式 (I) 的化合物的“有效量”是有效实现所需药理学效应或治疗改善的量,而无不适当的不利副作用。在其他实施例中,应当理解由于

受试者的新陈代谢、年龄、重量、一般状况中的变化,待治疗的病症,待治疗病症的严重性,和开处方医生的判断,“有效量”或“治疗有效量”从受试者到受试者不等。在本文上下文中的术语“药学可接受的”意指所讨论的物质对受试者不产生无法接受的毒性或与组合物的其他组分的相互作用。

[0084] 无需进一步描述,认为使用先前描述和下述举例说明性实例,本领域普通技术人员可制备且利用本公开内容的试剂,并且实践请求保护的方法。提供下述工作实例以促进本公开内容的实践,并且不应解释为以任何方式限制公开内容的剩余部分。

[0085] 实例

[0086] 实例 1. 富含 18- 碳脂肪酸的组合物的制备

[0087] 通过使油在 68℃ 下在溶于乙醇 / 水 (1:1) 的 3.75M 氢氧化钠中与 5mM 乙二胺四乙酸二钠一起加热三小时,使十克黑醋栗种子油皂化。在冷却后,用 3M 盐酸使溶液酸化至 pH ~ 2。用庚烷提取有机组分,在硫酸镁上干燥,并且浓缩以提供得率 >90% 的游离脂肪酸。当通过气相色谱法分析时,黑醋栗种子油测定为由根据下表 1 的游离脂肪酸组成。起始油中 18- 碳 Ω -6 脂肪酸与 18- 碳 Ω -3 脂肪酸的比为 63.60:14.78 或约 4.3:1。

[0088] 表 1. 黑醋栗种子油的组成。

[0089]

组分	脂质编号	保留时间 (分钟, 相对于棕榈酸)	量*
棕榈酸	16:1 ω -7	1.00	6.93%
硬脂酸	18:0	1.38	1.75%
油酸	18:1 ω -9	1.46	10.89%
未知的-1	—	1.47	0.84%
亚油酸	18:2 ω -6	1.63	49.51%
GLA	18:3 ω -6	1.75	14.09%
ALA	18:3 ω -3	1.83	12.63%
SDA	18:4 ω -3	1.98	2.15%
未知的-2	—	2.10	1.2 %

[0090] * 如通过气相色谱法测定的

[0091] **ND :未检测出

[0092] 随后用 98.5:1:0.5(v/v/v) 丙酮 / 水 / 庚烷的溶剂系统处理黑醋栗种子油脂肪酸组合物,并且快速冷却至 -60℃。油与溶剂系统的体积比为 10:90。在 -60℃ 下 1-2 小时后,使浆快速冷过滤。富集的油具有如下表 2 中所示的组成。18- 碳 Ω -6 脂肪酸与 18- 碳 Ω -3 脂肪酸的比由约 4.2:1 降至 70.51:22.58 或约 3.1:1。

[0093] 表 2. 富集的黑醋栗种子油的组成。

[0094]

组分	脂质编号	初始量 *	富集量 *
棕榈酸	16:1 ω -7	6.93%	ND**
硬脂酸	18:0	1.75%	ND**
油酸	18:1 ω -9	10.89%	4.74%
未知的 -1	—	0.84%	1.11%
亚油酸	18:2 ω -6	49.51%	38.65%
GLA	18:3 ω -6	14.09%	31.86%
ALA	18:3 ω -3	12.63%	18.47%
SDA	18:4 ω -3	2.15%	4.11%
未知的 -2	—	1.2%	0.66%

[0095] * 如通过气相色谱法测定的

[0096] **ND :未检测出

[0097] 回收总共 4g 富集的油 ;其中 1.27g 为 GLA(按重量计 31.75%)。这代表与原始黑醋栗种子油相比较 85% 的 GLA 回收。

[0098] 与原始黑醋栗种子油相比较,结晶固体富含棕榈酸 (10.8%)、硬脂酸 (2.73%)、油酸 (14.96%)、亚油酸 (55.34%) 和未知的 -2 (1.46%),而结晶固体相对贫未知的 -1 (未检测出)、GLA (4.73%)、ALA (9.14%) 和 SDA (0.84%)。相比之下,如下表 3 的 C 列中所示,在仅由丙酮和水 (99:1v/v) 组成的溶剂系统中的富集去除比三元溶剂系统更少的棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和未知的 -2。三元溶剂系统也令人惊讶地在去除棕榈酸、油酸、未知的 -1 和未知的 -2 水平方面比两步过程更有效,在所述两步过程中起因于丙酮 / 水 (99:1v/v) 富集过程的滤液随后处理至使用纯庚烷 (表 3, D 列) 的第二富集过程。

[0099] 表 3. 含和不含庚烷共溶剂的富集的比较。

[0100]

组分	脂质编号	(A)	(B)	(C)	(D)
		初始量 *	富集量* 丙酮/水/ 庚烷 (98.5:1:0.5)	富集量* 丙酮/水 (99:1)	富集量* 丙酮/水 (99:1), 随后 庚烷
棕榈酸	16:1 ω -7	6.93%	ND**	0.63%	0.73%
硬脂酸	18:0	1.75%	ND**	0.1 %	ND**
油酸	18:1 ω -9	10.89%	4.74%	12.13%	6.85%
未知的-1	—	0.84%	1.11%	0.25%	1.35%
亚油酸	18:2 ω -6	49.51%	38.65%	52.71%	23.08%
GLA	18:3 ω -6	14.09%	31.86%	16.85%	51.09%
ALA	18:3 ω -3	12.63%	18.47%	13.77%	8.2 %
SDA	18:4 ω -3	2.15%	4.11%	2.25%	6.76%
未知的-2	—	1.2 %	0.66%	1.31%	1.73%

[0101] * 如通过气相色谱法测定的

[0102] **ND :未检测出

[0103] 随后对通过用丙酮 / 水 / 庚烷 (98.5:1:0.5v/v/v) 溶剂系统结晶而富集的两克组合物实施通过与庚烷混合的第二富集过程。使该混合物快速冷却至 -60°C , 并且保持 1-2 小时。将固体过滤, 并且所得的富集的油具有下表 4 中所示的组成。18- 碳 Ω -6 脂肪酸与 18- 碳 Ω -3 脂肪酸的比为 73.4:19.51 或约 3.75:1。该比小于原始黑醋栗种子油中 Ω -6 与 Ω -3 18- 碳脂肪酸的比 (约 4.3:1), 但大于第一富集步骤后的比 (约 3.1:1)。

[0104] 表 4. 最终富集的油组成。

[0105]

组分	脂质编号	初始量 *	富集量 *
棕榈酸	16:1 ω -7	6.93%	ND**
硬脂酸	18:0	1.75%	ND**
油酸	18:1 ω -9	10.89%	5.95%
未知的-1	—	0.84%	ND**
亚油酸	18:2 ω -6	49.51%	25.3%
GLA	18:3 ω -6	14.09%	48.1%

ALA	18:3 ω -3	12.63%	13.18%
SDA	18:4 ω -3	2.15%	6.33%
未知的-2	—	1.2%	0.88%

[0106] * 如通过气相色谱法测定的

[0107] **ND :未检测出

[0108] 回收总共 1.02g 富集的油。这代表与第一富集的油相比较 77% 的 GLA 回收,和与起始油相比较 65% 的 GLA 回收。与原始黑醋栗种子油中的 GLA:SDA 比(约 6.6:1)相比较,富集的组合物中的 GLA:SDA 比增至约 7.6:1。GLA:SDA+ALA 的比从原始黑醋栗种子油中的约 0.95:1 增至富集的油中的约 2.5:1。

[0109] 结晶固体由油酸(5.63%)、亚油酸(58.25%)、GLA(8.59%)、ALA(26.09%)、SDA(1.12%)和未知的-2(0.31%)组成。

[0110] 实例 2. 富含 20- 碳脂肪酸的组合物的制备。

[0111] 根据实例 1 制备的组合物用庚烷稀释 5 倍。所得的溶液用大量过量(~10 当量)的溶于甲醇的甲基次氯酸盐(新鲜制备的)在 100℃ 下处理 2 小时。所得的 18- 碳脂肪酸甲酯以 92% 得率产生,并且通过 GC 分析是 97% 纯的。

[0112] 将 18- 碳脂肪酸甲酯的混合物逐滴加入 2 当量氢化铝锂在无水 MTBE 中的 0℃ 混合物中,所述混合物之前已允许在室温下搅拌 3 小时。在甲酯混合物添加完成后,允许浆加温至室温,这之后允许它搅拌过夜。在用湿亚硫酸钠(1mL 水 /g 亚硫酸钠)在冰上猝灭和随后工作后,如通过 GC 测定的,所得的 18- 碳脂肪酸伯醇以 84% 得率和 97% 纯度回收。

[0113] 18- 碳脂肪酸伯醇的混合物在二氯甲烷中稀释且冷却至 0℃。逐滴加入 1.5 当量的三乙胺,随后为 1.1 当量的甲磺酰氯。将混合物在 0℃ 下搅拌过夜。其后,加入水,并且如通过 GC 测定的,所得的甲磺酰化 18- 碳脂肪酸伯醇以 93% 得率和 91% 纯度回收。

[0114] 丙二酸二甲酯通过在 0℃ 下逐滴加入 1 当量的氢化钠中去质子化。在加热至 60℃ 3 小时且再冷却至 0℃ 后,加入 1 当量的甲磺酰化 18- 碳脂肪酸伯醇的混合物。在 80℃ 下回流 40 小时后,用水猝灭反应并且用 HCl 酸化至 pH ~ 2。在二氯甲烷中提取有机馏分前蒸发 THF,在硫酸镁上干燥并浓缩,以获得 88% 的如通过 NMR 测定的具有 86% 纯度的 20- 碳脂肪酸二酯的混合物。

[0115] 20- 碳脂肪酸二酯的混合物通过与 1:1 乙醇 :NaOH(2M) 溶液组合且加热至 40℃ 进行水解。在如通过 TLC 测定的反应完全后,在用醚提取前,用柠檬酸使反应混合物酸化至 pH ~ 3-4。发现在酸化前执行有机(醚)洗涤去除所需产物。通过酸化随后醚提取工作得到如通过 GC 测定的,以 80% 得率以 84% 纯度的 20- 碳游离脂肪二酸混合物的回收。

[0116] 通过将二酸的混合物溶解于甲苯中并且在 140℃ 下回流过夜,将 20- 碳游离脂肪二酸转换为所需 20- 碳游离脂肪酸。在冷却至室温后,使混合物通过硅藻土塞过滤且浓缩,而无需进一步工作,以获得通过 GC 测定的,包含以 75% 得率以 70% 纯度的 20- 碳游离脂肪酸的组合物。该组合物中的游离脂肪酸分布显示于下表 5 中。

[0117] 表 5. 延长的油中的脂肪酸。

[0118]

18-碳组分	脂质编号	初始量 *	20-碳组分	脂质编号	最终量 *
棕榈酸	16:1 ω -7	ND**	十八碳烯酸	18:1 ω -7	ND**
硬脂酸	18:0	ND**	花生酸	20:0	ND**
油酸	18:1 ω -9	5.3 %	二十碳烯酸	20:1 ω -9	5.02%
未知的-1	—	1.11%	延长的未知的-1	—	1.34%
亚油酸	18:2 ω -6	32.31%	二十碳二烯酸	20:2 ω -6	30.89%
GLA	18:3 ω -6	43.47%	DGLA	20:3 ω -6	43.08%
ALA	18:3 ω -3	11.78%	ETE	20:3 ω -3	12.96%

[0119]

SDA	18:4 ω -3	5.25%	ETA	20:4 ω -3	5.69%
未知的-2	—	0.8 %	延长的未知的-2	—	1.02%

[0120] * 如通过气相色谱法测定的

[0121] **ND :未检测出

[0122] 约 20% 的最终组合物由 18- 碳脂肪酸伯醇组成, 指示甲磺酸酯衍生物的形成是不完全的, 或甲磺酸酯是不稳定的并且在通过去质子化的丙二酸二甲酯延长之前降解。

[0123] 实例 3. 20- 碳脂肪酸组合物的纯化

[0124] 根据实例 2 的方法制备的三克延长的脂肪酸组合物通过下述进行纯化: 添加庚烷, 冷却至 -60°C , 使混合物在 -60°C 下保持 1-2 小时, 并且随后使晶体冷过滤。如下表 6 中所示, 所得的滤液 (2.18g) 富含 DGLA 和 ETA, 而所有其他游离脂肪酸组分减少。

[0125] 表 5. 延长的油中的脂肪酸。

[0126]

延长的组分	脂质编号	初始量*	富集量*	源脂肪酸
十八碳烯酸	18:1 ω -7	ND**	ND**	棕榈酸
花生酸	20:0	ND**	ND**	硬脂酸
二十碳烯酸	20:1 ω -9	5.17%	4.53%	油酸
延长的未知的-1	—	1.22%	1.37%	未知的-1
二十碳二烯酸	20:2 ω -6	31.6 %	24.69%	亚油酸
DGLA	20:3 ω -6	43.16%	52.16%	GLA
ETE	20:3 ω -3	12.45%	9.02%	ALA
ETA	20:4 ω -3	5.4 %	7.32%	SDA
延长的未知的-2	—	1. %	0.9 %	未知的-2

[0127] * 如通过气相色谱法测定的

[0128] **ND :未检测出

[0129] 过滤的固体 (0.82g) 在其他组分中包括 23% DGLA 和 3% ETA。

[0130] 上文制备的富集的油的进一步纯化通过硅胶色谱法完成。发现没有溶剂系统适合于将游离脂肪酸分离成分开的洗脱物。然而,一些杂质使用渐增的非极性溶剂梯度去除。将上文该实例 3 中所述的两克富集的组合物装载到硅胶塞上。以由 98:2:1 环己烷:醚:乙酸组成的三元溶剂系统开始,缓慢增加醚的相对量直至游离脂肪酸洗脱时。尽管过量的 18- 碳游离脂肪酸伯醇共洗脱,但收集一些纯化的馏分且浓缩,以获得 0.1g90% 纯 (通过 GC) 的 20- 碳游离脂肪酸。如下表 6 中所示,在该材料中存在的脂肪酸中,52.22% 为 DGLA,并且 5.05% 为 ETA。

[0131] 收集含有 20- 碳游离脂肪酸和残留 18- 碳脂肪酸伯醇的另一组馏分且浓缩,以获得 980mg 化合物,其中 80% (通过 GC) 为 20- 碳游离脂肪酸化合物。如下表 6 中所示,在该馏分中存在的脂肪酸中,53.9% 为 DGLA,并且 7.3% 为 ETA。

[0132] 剩余化合物用纯醚从硅胶塞中冲洗,组合且浓缩,以获得 980mg 材料,其中 35% 为 20- 碳游离脂肪酸。如下表 6 中所示,在该材料中存在的脂肪酸中,46.56% 为 DGLA,并且 5.17% 为 ETA。

[0133] 表 6. 色谱馏分的组成。

[0134]

延长的组分	脂质编号	初始量*	第一馏分*	第二馏分*	冲洗馏分*
十八碳烯酸	18:1 ω -7	ND**	ND**	ND**	ND**
花生酸	20:0	ND**	ND**	ND**	ND**
二十碳烯酸	20:1 ω -9	4.53%	5.65%	4.39%	5.87%
延长的未知的-1	—	1.37%	1.42%	1.1 %	1.24%
二十碳二烯酸	20:2 ω -6	24.69%	26.37%	23.52%	30.54%
DGLA	20:3 ω -6	52.16%	52.22%	53.86%	46.56%
ETE	20:3 ω -3	9.02%	8.32%	8.88%	9.72%
ETA	20:4 ω -3	7.32%	5.05%	7.31%	5.17%
延长的未知的-2	—	0.9 %	0.96%	0.94%	0.9%

[0135] * 如通过气相色谱法测定的

[0136] **ND :未检测出

[0137] 上表 6 中所示的第二馏分的进一步纯化通过下述执行 : 与庚烷混合, 冷却至 -60°C , 使混合物在 -60°C 下保持 1-2 小时, 并且随后使固体 (330mg) 冷过滤远离上清液流体 (600mg)。如下表 7 中所示, 滤液富含 DGLA 和 ETA, 而二十碳烯酸、延长的未知的 -1、二十碳二烯酸、ETE 和延长的未知的 -2 的相对量均减少。

[0138] 表 7. 第二馏分通过庚烷的纯化。

[0139]

延长的组分	脂质编号	初始量*	富集量*
十八碳烯酸	18:1 ω -7	ND**	ND**
花生酸	20:0	ND**	ND**
二十碳烯酸	20:1 ω -9	4.39%	3.79%
延长的未知的-1	—	1.1 %	0.99%
二十碳二烯酸	20:2 ω -6	23.52%	18.96%
DGLA	20:3 ω -6	53.86%	59.99%
ETE	20:3 ω -3	8.88%	7.21%
ETA	20:4 ω -3	7.31%	8.44%
延长的未知的-2	—	0.94%	0.61%

[0140] * 如通过气相色谱法测定的

[0141] **ND :未检测出

[0142] 如通过气相色谱法测定的,过滤的固体包括一些游离脂肪酸化合物,其中 38% 为 DGLA,并且其中 4.8% 为 ETA。

[0143] 虽然本公开内容已通过提及多种具体材料、操作和例子在本文中描述且举例说明,但应当理解公开内容并不限于为了该目的选择的特定材料和操作的组合。如本领域技术人员应当理解的,可暗示此类细节的众多变化。预期说明书和实例仅视为示例性的,而公开内容的真正范围和精神由下述权利要求指示。本专利申请提及的所有参考文献、专利和专利申请以引用的方式整体并入本文。

[0144] 本发明还提供的是段落 [0101- 中所示的实施例:

[0145] 用于由植物种子油产生 20- 碳脂肪酸的方法,该方法包括:

[0146] a.) 提供包含脂肪酸的植物种子油,其中该脂肪酸包括 18- 碳脂肪酸;

[0147] b.) 任选通过使脂肪酸与任选自延长酶的酶接触,使至少一部分 18- 碳脂肪酸延长两个碳原子,以产生 20- 碳脂肪酸;和

[0148] c.) 任选使至少一部分 20- 碳脂肪酸酯化。

[0149] 段落的方法,其中植物种子油中的 18- 碳脂肪酸包括多种 18- 碳脂肪酸。

[0150] 段落的方法,其中 18- 碳脂肪酸包括 SDA、GLA 和 ALA 中的一种或多种,并且 20- 碳脂肪酸包括 ETA、ETE 和 DGLA 中的一种或多种。

[0151] 段落的方法,该方法还包括在步骤 b.) 前从植物种子油中提取 18- 碳脂肪酸,任选用有机溶剂提取或 CO₂ 超临界流体提取 (CO₂-SFE)。

[0152] 段落的方法,该方法还包括任选通过尿素分馏、低温结晶、色谱分离、HPLC 或蒸馏来纯化 20- 碳脂肪酸。

[0153] 段落的方法,其中使 20- 碳脂肪酸纯化,以产生具有至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 或超过 90% 纯度的 20- 碳脂肪酸。

[0154] 段落的方法,其中该植物种子油选自:蓝蓟种子油、黑醋栗种子油、琉璃苣种子油、月见草种子油、假鹤虱种子油、毛茛草种子油、拟紫草种子油及其组合。

[0155] 段落的方法,该方法还包括任选通过使 20- 碳脂肪酸与二氧化硅和炭的混合物混合,或使 20- 碳脂肪酸经过硅藻土滤器,使 20- 碳脂肪酸脱臭。

[0156] 段落的方法,该方法还包括任选通过使 DGLA 与醇和酸接触以产生 DGLA 酯,使 DGLA、ETE 和 / 或 ETA 酯化,以产生 DGLA、ETE 和 / 或 ETA 酯,该酯任选自烷基酯、杂烷基酯、芳基酯、杂芳基酯、甲酯、乙酯、丙酯、异丙酯、丁酯、异丁酯、叔丁酯及其组合。

[0157] 段落的方法,其中产生的 20- 碳脂肪酸与起始 18- 碳脂肪酸的比为约 1:1。

[0158] 段落的方法,其中步骤 b.) 中产生的 20- 碳脂肪酸具有的 20- 碳 Ω -6 脂肪酸与 20- 碳 Ω -3 脂肪酸的摩尔比大于与步骤 a.) 的植物种子油相关的 18- 碳脂肪酸的摩尔比,所述 18- 碳脂肪酸摩尔比由 18- 碳 Ω -6 脂肪酸与 18- 碳 Ω -3 脂肪酸的摩尔比限定,和 18- 碳脂肪酸摩尔比。

[0159] 段落的方法,其中该植物种子油中的两种或更多种 18- 碳脂肪酸同步延长。

[0160] 包含通过段落的方法产生的脂肪酸的组合物。

[0161] 段落的组合物,其中该组合物包含至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 或超过 90% 的 DGLA、ETA 和 ETE 中的一种或多种。

[0162] 用于延长植物种子油中的脂肪酸的方法,该方法包括:

- [0163] a.) 提供包含脂肪酸的植物种子油,其中该脂肪酸包括 18- 碳脂肪酸;
- [0164] b.) 任选提取 18- 碳脂肪酸;和
- [0165] c.) 使脂肪酸延长两个碳原子。
- [0166] 段落的方法,其中该植物种子油中的两种或更多种 18- 碳脂肪酸同步延长。
- [0167] 用于产生包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物的方法,该方法包括:
- [0168] a.) 提供包含脂肪酸的植物种子油,其中该脂肪酸包括 SDA、ALA 和 GLA;
- [0169] b.) 富集该植物种子油中的 SDA、ALA 和 GLA;
- [0170] c.) 使 SDA、ALA 和 GLA 同步延长两个碳原子,其中由 SDA、ETE 和 GLA 产生包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物;和
- [0171] d.) 任选富集包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物。
- [0172] 由段落的方法产生的组合物,其中该组合物包含至少 50 重量%的 DGLA、ETE、ETA 或其组合。
- [0173] 由段落的方法产生的组合物,其中该组合物包含约 1:10 至约 10:1 的 DGLA 与 ETE 和 ETA 的比。
- [0174] 段落的方法,其中步骤 b.) 包括 (i) 使植物种子油与由丙酮、水和庚烷组成的溶剂系统接触, (ii) 使所得的混合物冷却至足以诱导晶体形成的温度,和 (iii) 从植物种子油-溶剂系统混合物中分离晶体,以产生富含 SDA、ALA 和 GLA 的植物种子油。
- [0175] 段落的方法,其中步骤 c.) 包括:
- [0176] (i) 使 SDA、ALA 和 GLA 酯化,以形成 SDA、ALA 和 GLA 酯;
- [0177] (ii) 使 SDA、ALA 和 GLA 酯还原,以形成 SDA、ALA 和 GLA 伯醇;
- [0178] (iii) 使 SDA、ALA 和 GLA 伯醇甲磺酰化,以形成 SDA、ALA 和 GLA 甲磺酸酯;
- [0179] (iv) 使 SDA、ALA 和 GLA 甲磺酸酯与 C₂ 延长块接触,其中所述 C₂ 延长块是去质子化的丙二酸二酯,以形成延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酯;
- [0180] (v) 使延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酯水解,以形成延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酸;和
- [0181] (vi) 使延长的 SDA、ALA 和 GLA 二酸脱羧,以形成 DGLA、ETE 和 ETA。
- [0182] 段落的方法,其中步骤 d.) 包括:(i) 使包含 DGLA、ETE 和 ETA 的组合物与包含庚烷的溶剂系统接触, (ii) 使所得的混合物冷却至足以诱导晶体形成的温度,和 (iii) 从组合物-溶剂系统混合物中分离晶体,以产生包含 DGLA、ETE 和 ETA 的富集的组合物。
- [0183] 用于由植物种子油产生 20- 碳脂肪酸的方法,该方法包括:
- [0184] (a) 提供含有 18- 碳脂肪酸甘油三酯的植物种子油,
- [0185] (b) 通过使植物种子油暴露于脂肪酶,消化 18- 碳脂肪酸甘油三酯的甘油主链,以形成包含 18- 碳游离脂肪酸的油,
- [0186] (c) 任选使来自油的一种或多种 18- 碳游离脂肪酸浓缩,
- [0187] (d) 用延长酶处理油或任选浓缩的 18- 碳游离脂肪酸,以产生 20- 碳脂肪酸,
- [0188] (e) 使至少一部分 20- 碳脂肪酸酯化,和
- [0189] (f) 任选使至少一部分酯化的 20- 碳脂肪酸浓缩。
- [0190] 包含 DGLA、ETE 和 ETA 的药物组合物,其中 DGLA 与 ETE 和 ETA 的比为约 1:10 至约 10:1。
- [0191] 段落的药物组合物,其中组合的 DGLA、ETE 和 ETA 占按重量计至少 70%、80% 或

90%的组合物的所有脂肪酸组分。

[0192] 治疗有此需要的受试者中的炎性疾病、心血管疾病、呼吸性疾病、神经学疾病、癌症、精神病或皮肤疾病的方法,所述方法包括给该受试者施用段落的药物组合物。

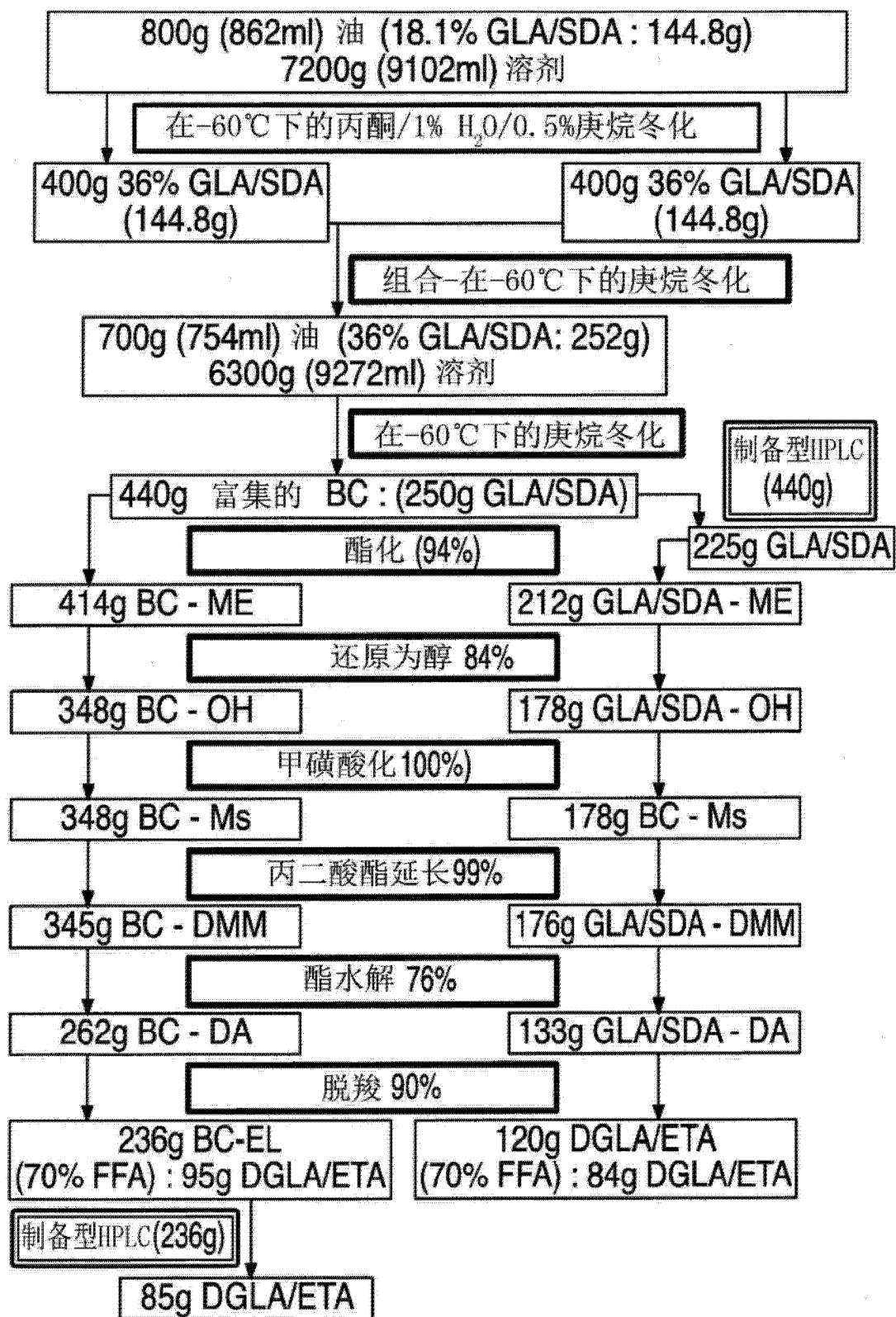


图 1