



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112203529 A

(43) 申请公布日 2021.01.08

(21) 申请号 201980035783.8

(22) 申请日 2019.05.29

(30) 优先权数据

62/679,352 2018.06.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.11.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/034403 2019.05.29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/232054 EN 2019.12.05

(71) 申请人 巴克斯特国际公司

地址 美国伊利诺伊州

申请人 巴克斯特医疗保健股份有限公司

(72) 发明人 劳伦特·詹宁 朱利安·赫克

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

代理人 刘慧 金海霞

(51) Int.Cl.

A23L 33/00 (2006.01)

A23L 33/11 (2006.01)

A23L 33/12 (2006.01)

A61J 1/00 (2006.01)

A61J 1/20 (2006.01)

权利要求书2页 说明书19页 附图6页

(54) 发明名称

包含GPC的胃肠外营养脂质乳液

(57) 摘要

本公开涉及胃肠外营养制剂,包括即用胃肠外营养制剂。更具体地,本公开涉及脂质制剂或乳液以及包含它们的多腔室容器,其中所述脂质乳液含有甘油磷酸胆碱作为胆碱源。本公开进一步涉及向需要胃肠外营养的患者提供胆碱的方法以及避免和/或治疗胆碱缺乏症和肝损伤的方法。

1. 一种用于胃肠外施用的脂质乳液,其包含浓度为0.1-15.0克/升的甘油磷酸胆碱(GPC)。
2. 根据权利要求1所述的用于胃肠外施用的脂质乳液,其中包含的GPC的浓度为2.0-12.0克/升。
3. 根据权利要求1所述的用于胃肠外施用的脂质乳液,其中包含的GPC的浓度为0.5克-5.0克/升。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的脂质乳液,其中所述脂质乳液包含水相和基于脂质乳液总重量的5重量%至约35重量%的油相。
5. 根据权利要求1至4中任一项所述的脂质乳液,其中所述脂质乳液还包含浓度为0.1-5.0克/100克油相的二十二碳六烯酸(DHA)。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的脂质乳液,其中所述脂质乳液还包含浓度为0.1-15克/100克油相的花生四烯酸(ARA)。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的脂质乳液,其中所述脂质乳液基本不含二十碳五烯酸(EPA)。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的脂质乳液,其用于治疗儿科患者和/或成年患者。
9. 一种用于提供胃肠外营养制剂的多腔室容器,其中所述多腔室容器包含含有根据权利要求1至7中任一项所述的脂质乳液的第一腔室,其中GPC以0.1-15.0克/升的浓度存在。
10. 根据权利要求9所述的多腔室容器,其中所述多腔室容器具有含有氨基酸制剂或碳水化合物制剂的第二腔室。
11. 根据权利要求10所述的多腔室容器,其中所述第二腔室含有氨基酸制剂并且其中第三腔室含有碳水化合物制剂。
12. 根据权利要求11所述的用于胃肠外施用的多腔室容器,其中所述多腔室容器具有含有维生素或微量元素的第四腔室。
13. 根据权利要求12所述的用于胃肠外施用的多腔室容器,其中所述第四腔室含有维生素并且第五腔室含有微量元素。
14. 一种用在权利要求9至13中任一项所述的多腔室容器中的脂质乳液,其中GPC以0.1-15.0克/升的浓度存在。
15. 一种胃肠外营养组合物,其是从权利要求9至13中任一项所述的多腔室容器重构的。
16. 根据权利要求15所述的胃肠外营养组合物,其中GPC以0.01-6.0克/升重构溶液的浓度存在。
17. 一种胃肠外营养组合物,其是从包含氨基酸制剂、碳水化合物制剂和/或脂质制剂的多腔室容器重构的,其中所述组合物中存在浓度为0.01-6.0克/升的甘油磷酸胆碱。
18. 根据权利要求15至17中任一项所述的胃肠外营养组合物,其用于治疗儿科患者和/或成年患者。
19. 一种向需要胃肠外营养的患者提供胆碱的方法,所述方法包括胃肠外施用含有浓度为0.01-15.0克/升的甘油磷酸胆碱的组合物。
20. 根据权利要求19所述的方法,其中所述组合物是脂质乳液。
21. 根据权利要求19或权利要求20所述的方法,其中甘油磷酸胆碱以15毫克/千克/天

至300毫克/千克/天的剂量施用。

22. 根据权利要求19或21中任一项所述的方法,其中所述患者是儿科患者并且甘油磷酸胆碱以50毫克/千克/天至150毫克/千克/天的剂量施用。

23. 根据权利要求19至22中任一项所述的方法,其中甘油磷酸胆碱提供在脂质乳液中,所述脂质乳液包含水相和基于脂质乳液总重量的约5重量%至约35重量%的油相。

24. 根据权利要求19至23中任一项所述的方法,其中所述组合物通过外周或中心插入导管提供。

25. 一种使用权利要求1至7中任一项所述的脂质乳液或权利要求15至18中任一项所述的胃肠外营养组合物治疗患者的方法,所述患者当口服营养和肠内营养不可能、不充分或禁忌时需要胃肠外营养。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中所述患者患有胆碱缺乏症。

27. 根据权利要求25或权利要求26所述的方法,其中所述患者是儿科患者或成年患者。

28. 根据权利要求25至27中任一项所述的方法,其中所述患者患有肝脏脂肪变性。

29. 一种制备权利要求1至7和14中任一项所述的脂质乳液的方法,所述方法包括以下步骤:

(a) 分别将所述油相和所述水相在搅拌下加热至约70°C至约80°C的温度;

(b) 向所述水相添加甘油磷酸胆碱;

(c) 通过在搅拌下将所述油相转移至所述水相制备预乳液;

(d) 将所述预乳液在约40°C至60°C的温度和压力下均质化;

(e) 任选添加水以调节所需的体积和浓度;

(f) 任选将pH调节至约7.8至8.8的范围;以及

(g) 任选将所述脂质乳液灭菌。

30. 根据权利要求29所述的方法,其中至少步骤(a)至(d)在惰性气体、优选N₂的存在下进行。

31. 根据权利要求29或权利要求30所述的方法,其中所述脂质乳液通过加热灭菌。

包含GPC的胃肠外营养脂质乳液

技术领域

[0001] 本公开涉及胃肠外营养制剂,包括即用胃肠外营养制剂。更具体地,本公开涉及脂质制剂或乳液以及包含它们的多腔室容器,其中所述脂质乳液含有甘油磷酰胆碱作为胆碱源。本公开进一步涉及向需要胃肠外营养的患者提供胆碱的方法以及避免和/或治疗胆碱缺乏症和肝损伤的方法。

背景技术

[0002] 已知胆碱缺乏症是一个问题,尤其是对于接受胃肠外营养的患者,因为从胃肠外提供的甲硫氨酸内源性生产的胆碱是不足的 (Buchman, *Gastroenterology* 137 (5), 2009, S119-S128)。有证据表明,在胃肠外营养期间作为这样的胆碱缺乏症的结果会发生肝性脂肪变性。另外,记忆和认知缺陷以及骨骼异常已有描述。考虑到胆碱对于胆碱能细胞中最相关的神经递质—乙酰胆碱的合成至关重要,胆碱缺乏症可能与这样的记忆缺陷有关。胆碱缺乏症也可能在细胞凋亡中发挥作用。

[0003] 因此,胆碱被认为是必需营养素,充足摄入量(AI)对成年男性规定为550毫克/天 (~8毫克/千克/天),对女性规定为(425毫克/天)。成年人胆碱摄入量的容许上限(UL)为3.5克/天 (~50毫克/千克/天)。普通成年人的正常血浆游离胆碱浓度为10至15nmol/mL。对于0至6个月大、参考体重为7千克的婴儿,适当的AI为约18毫克/千克/天(0.17毫摩尔/千克/天或125毫克/天的胆碱),明显比成年人更高。对于7-12个月大的婴儿,适当的AI被认为是17毫克/千克/天,相当于150毫克/天的胆碱(硫胺素、核黄素、烟酸、维生素B6、叶酸、维生素B12、泛酸、生物素和胆碱的膳食参考摄入量(Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline); 美国医学研究院膳食参考摄入量科学评估常务委员会(Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes)及其叶酸、其它B族维生素和胆碱专门小组(Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline). Washington (DC): National Academies Press (US); 1998, 第12章)。

[0004] 儿科患者似乎对胆碱缺乏症尤为敏感。胆碱是由乳腺上皮细胞靠浓度梯度跨胎盘运输的,新生儿的血浆游离胆碱浓度明显远高于成年人。这可能反映了胆碱对儿童发育、可能对脑发育的重要性(Zeisel, *The Journal of Pediatrics*, 149 (5), 增刊, 2006, S131-S136)。另外,乳汁中也分泌胆碱。因此,用于需要胃肠外营养的早产儿和新生儿的胃肠外制剂应提供有效的胆碱源,因为在中枢神经系统、肾脏、肝脏、肺和骨骼肌中磷脂的合成可能需要大量胆碱。目前,对早产儿胆碱供应的建议横跨了8-55毫克/千克/天的宽幅范围(Bernhard等人, *Eur J Nutr* (2018). <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1834-7>)。

[0005] 胆碱可以氯化胆碱或酒石酸胆碱的形式和以卵磷脂的形式作为营养补充剂获得。在食物中,胆碱以游离和酯化形式作为磷酸胆碱、甘油磷酸胆碱、磷脂酰胆碱和鞘磷脂存在。磷酸胆碱占人乳中总胆碱的约40%。 α -甘油磷酸胆碱占总人乳胆碱的约另40%。口服摄

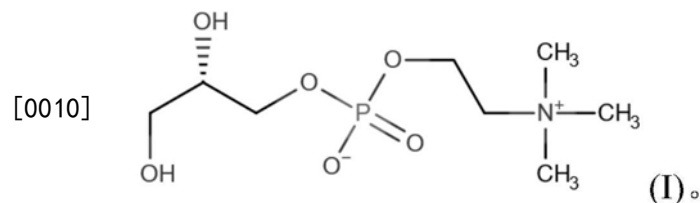
入的营养素通常易于通过肠吸收并直接提供给肝脏。在血浆中,胆碱是主要的水溶性化合物,而磷酸胆碱和 α -甘油磷酸胆碱的浓度很低。 α -甘油磷酸胆碱的平均血浆浓度仅为约0.42 $\mu\text{mol/L}$ (Bernhard等人,2018),因此过去对该化合物的关注不多。

[0006] 同时,尽管PN溶液中提供了胆碱前体甲硫氨酸,并且即使通常发现PN患者中血浆甲硫氨酸浓度为高到正常,但仍发现PN患者中的血浆游离胆碱浓度明显低于正常(Compher等人,Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 26(1),2002,57)。用于胃肠外营养的脂质乳液中所含的磷脂酰胆碱也不会以任何显著的程度转化为胆碱。

[0007] 截止今日,总胃肠外营养中不包含游离胆碱。取而代之的是,由于游离胆碱是血浆中的主要水溶性成分,而氯是主要阴离子,因此,目前认为氯化胆碱值得推荐用于胃肠外营养,对患者的剂量为约25毫克/千克/天(Bernhard等人,2018)。另一种胆碱源是例如CDP胆碱(钠盐)。

[0008] 然而,在本发明人进行的研究期间发现,氯化胆碱可能不如目前人们认为的那样理想,部分是由于难以将氯化胆碱稳定地引入用于胃肠外营养的脂质乳液中。另外,有证据表明氯化胆碱的存在可能导致维生素的降解,尤其是维生素B1和B12(Coelho,2002:预混料和饲料中的维生素稳定:反刍动物膳食中的实用方法(Vitamin stability in premixes and feeds.A practical approach in ruminant diets).第十三届佛罗里达反刍动物营养研讨会论文集(Proceedings of the 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium),Gainesville FL,1月10-11日,127-145;Frye,1994:多组分预混料中维生素的性能(The performance of vitamins in multicomponent premixes).Proc.Roche Technical Symposium,Jefferson,Georgia)。

[0009] 现已发现,式(I)的胆碱衍生物甘油磷酸胆碱(GPC),(2-[[(2S)-2,3-二羟丙基磷酰基]氧基]乙基)三甲基氮鎓,也称为甘油磷酰胆碱、 α -甘油磷酸胆碱、L- α -甘油基磷酰胆碱、甘磷酸胆碱或 α -甘油磷酸胆碱,是一种胆碱衍生物,其可以有利地用于胃肠外制剂中作为接受胃肠外营养的患者的有效胆碱源。GPC是一种水溶性分子,在各种食物例如红肉中含有少量,但含量通常相当低。



[0011] 大部分GPC是从天然磷脂、例如蛋黄或大豆中存在的磷脂通过合成制造的。例如,GPC从纯化的天然磷脂酰胆碱(PC)水解除去脂肪酸获得。然后将GPC进一步再酰基化和/或用特定的酶处理以合成特定的化学分子(van Hoogevest和Wendel,Eur.J.Lipid Sci.Technol.2014,116,1088-1107)。

[0012] 迄今为止,GPC尚未被认为是用于胃肠外营养的脂质乳液中的组分和胆碱源。

[0013] US 8865641 B2公开了一种治疗对象的脂肪肝病的方法,包括向所述对象施用有效量的胆碱能通道刺激剂,其中烟碱样受体激动剂可以是胆碱。然而,没有提及GPC和/或用于胃肠外营养的脂质乳液。

[0014] US 8337835 B2描述了一种在哺乳动物中治疗过氧化物酶体增植物激活受体 α

(PPAR α) 相关的肝脏病症、降低甘油三酸酯水平和/或升高高密度脂蛋白水平的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的1-棕榈酰-2-油酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(16:0/18:1-GPC)。

[0015] US 20110015154 A1公开了含有胆碱化合物和肉碱化合物的组合物和试剂盒以及使用所述组合物和试剂盒的方法,其中胆碱化合物可以是 α -GPC。然而,US 20110015154 A1没有描述包含GPC的用于胃肠外营养的脂质乳液,并且没有公开GPC在用于胃肠外营养的此类脂质乳液中的相关浓度。

[0016] US 20150132280 A1描述了一种用于改善情绪、精力、注意力等的膳食补充剂,包含四甲尿酸(theacrine)和任选的调节四甲尿酸效果的其它化合物,其在为数众多的任选附加化合物中包括 α -GPC。然而,也没有提及包含GPC的用于胃肠外营养的脂质乳液。

发明内容

[0017] 根据本文的公开内容,并且不以任何方式限制本发明的范围,在本公开的第一方面(除非另有说明,该方面可以与本文所列的任何其他方面组合),一种用于向需要胆碱补充的患者胃肠外施用的脂质制剂包含浓度为0.1克至15.0克/升脂质乳液的甘油磷酸胆碱(GPC)。所述脂质制剂具有水相和油相,包含基于脂质制剂总重量的约5重量%至约35重量%的油相,并以水包油乳液的形式存在。

[0018] 根据一个方面,所述脂质乳液包含浓度为2.0至12.0克/升脂质乳液的GPC。根据另一个方面,所述脂质乳液包含浓度为4.0至11.0克/升脂质乳液的GPC。具有如前所述的较高浓度GPC的脂质乳液对治疗儿科患者特别有用。

[0019] 根据另一个方面,所述脂质乳液包含浓度为0.5至6.0克/升脂质乳液的GPC。根据另一个方面,所述脂质乳液包含浓度为0.5至5.0克/升脂质乳液的GPC。根据又一个方面,所述脂质乳液包含浓度为0.5至3.0克/升脂质乳液的GPC。具有如前所述的较低浓度GPC的脂质乳液对治疗成年患者特别有用。

[0020] 根据本发明的另一个方面,所述脂质乳液还含有浓度为0.1克至15.0克/100克油相的二十二碳六烯酸(DHA)。根据一个方面,所述脂质乳液含有浓度为0.25克至3.0克/100克油相的DHA。根据另一个方面,所述脂质乳液含有浓度为1.5克至2.5克/100克油相的DHA。根据又一个方面,DHA以甘油三酯形式或乙酯形式、优选以甘油三酯形式存在。

[0021] 根据本发明的另一个方面,所述脂质乳液还含有浓度为0.1克至15.0克/100克油相的花生四烯酸(ARA)。根据一个方面,ARA存在的浓度为1.5克至7.5克/100克油相。

[0022] 根据本发明的又一个方面,所述脂质乳液基本不含二十碳五烯酸(EPA)。

[0023] 根据一个方面,所述脂质乳液包含EPA,其中DHA和EPA之间的比率为10:1至1000:1(w/w)、10:1至200:1(w/w)、10:1至100:1(w/w)或1:1至10:1(w/w)。

[0024] 根据本发明的一个方面,所述脂质乳液在单腔室容器中提供以向有需要的患者施用。单腔室容器可以是软质或硬质容器以及玻璃小瓶。

[0025] 根据本发明的一个方面,本发明的脂质乳液直接施用于患者,而无需将所述脂质乳液与其它胃肠外营养制剂例如氨基酸制剂或碳水化合物制剂混合。

[0026] 根据又一个方面,每升包含0.5克至5.0克GPC的脂质乳液用于治疗需要补充胆碱的成年患者。具体地,所述脂质乳液用于患有肝脏脂肪变性的患者。

[0027] 根据另一个方面,所述用于直接施用的脂质乳液每升包含2.0克至12.0克GPC。根据又一个方面,每升包含0.2克至0.9克GPC的脂质乳液用于治疗需要补充胆碱的成年患者。具体地,所述脂质乳液用于患有肝脏脂肪变性的患者。

[0028] 根据另一个方面,所述用于直接施用的脂质乳液在施用前或施用时将一种或多种化合物例如微量元素和/或维生素添加到所述乳液中之后再提供给患者,其中所施用的脂质乳液中甘油磷酸胆碱的浓度基本不变。

[0029] 根据本发明的另一个方面,将所述脂质乳液提供为多腔室袋(MCB)中的几种组分之一,所述多腔室袋被设计用于在混合各个腔室中所含的制剂后胃肠外施用其重构的内容物。这样的MCB可以有2、3、4、5、6或更多个腔室。所述MCB的腔室可以具有相同的尺寸或可以具有不同的尺寸以容纳各种组合物和体积。所述腔室可以被设计成包含例如下列体积:1至5ml,5至10ml,10至50ml,50至100ml,100至250ml,250ml至500ml,500至1000ml,1000至1500ml。所述MCB可以被设计成具有位于彼此相邻的腔室。所述腔室可以具有各种形状。所述腔室可以彼此水平和/或竖直定向。某些小腔室可以设计成位于另一个较大的腔室内,其中,例如,所述位于另一个较大的腔室内的小腔室可以通过将所述小腔室的至少一个边缘焊接在周围较大腔室的焊缝之间,从而被容纳并固定在所述较大的腔室中。

[0030] 根据一个方面,用于胃肠外施用其重构内容物的多室容器包含在第一腔室中的本发明的脂质乳液和在第二腔室中的碳水化合物制剂或氨基酸制剂。

[0031] 根据另一个方面,用于胃肠外施用其重构内容物的多室容器包含在第一腔室中的本发明的脂质乳液、在第二腔室中的氨基酸制剂、和在第三腔室中的碳水化合物制剂。任选地,所述多室容器还包括包含维生素和/或微量元素的第四腔室。

[0032] 根据又一个方面,除了所述第一、第二和第三腔室之外,所述多腔室容器还包括在第四腔室中的维生素制剂和在第五腔室中的微量元素制剂。

[0033] 根据另一个方面,所述多腔室容器包括腔室之间的易碎屏障,所述屏障可以在使用前打开以混合所有或选定腔室的组分。

[0034] 根据另一个方面,提供在多腔室袋中的脂质乳液包含浓度为0.1克至15.0克/升的GPC。

[0035] 根据又一个方面,提供在多腔室袋中的脂质乳液包含浓度为2.0克至12.0克/升的GPC。

[0036] 根据又一个方面,提供在多腔室袋中的脂质乳液包含浓度为4.0克至11.0克/升的GPC。这样的多腔室袋优选用于治疗需要胃肠外营养的儿科患者。

[0037] 根据本发明的又一个方面,提供在多腔室袋中的脂质乳液包含浓度为0.5克至6.0克/升的GPC。根据本发明的又一个方面,提供在多腔室袋中的脂质乳液包含浓度为0.5克至5.0克/升的GPC。

[0038] 根据本发明的又一个方面,提供在多腔室袋中的脂质乳液包含浓度为0.5克至3.0克/升的GPC。这样的多腔室袋优选用于治疗需要胃肠外营养的成年患者。

[0039] 根据本发明的又一个方面,甘油磷酸胆碱提供在溶液中,所述溶液从多腔室袋重构并且其中GPC存在的浓度为0.01克至6.0克/升重构溶液。根据一个方面,所述重构溶液包含浓度为0.01克至2.0克/升的甘油磷酸胆碱。根据又一个方面,所述重构溶液包含浓度为0.5克至5.0克/升的甘油磷酸胆碱。

[0040] 根据本发明的另一个方面,甘油磷酸胆碱提供在胃肠外营养组合物中,所述组合物从包含至少两个、至少三个、至少四个或至少五个腔室的多腔室容器重构,其中所述腔室中的至少一个充有氨基酸制剂、碳水化合物制剂或脂质制剂,并且其中甘油磷酸胆碱在所述组合物中存在的浓度为0.01克至6.0克/升。根据一个实施方式,甘油磷酸胆碱提供在包含至少一种氨基酸制剂和/或至少一种碳水化合物制剂和/或至少一种脂质制剂的双腔室袋或三腔室袋中。

[0041] 根据本发明的另一个方面,提供了一种向患者提供胆碱的方法,其中所述患者需要胃肠外营养并且需要接受胆碱,所述方法包括施用胃肠外施用的组合物,所述组合物特征在于其包含浓度为0.01克至15.0克/升组合物的甘油磷酸胆碱。

[0042] 根据本发明的又一个方面,提供了一种用于治疗儿科和/或成年患者的胆碱缺乏症的胃肠外营养液,其中所述溶液包含浓度为0.01克至15.0克/升溶液的甘油磷酸胆碱。根据一个方面,所述胃肠外营养液是脂质乳液。根据另一个方面,所述脂质乳液是直接施用于患者的即用液。根据又一个方面,所述脂质乳液是提供给多腔室袋的独立腔室的至少两种、三种、四种或五种组合物之一。

[0043] 根据本发明的另一个方面,接受甘油磷酸胆碱的患者因为口服营养和肠内营养不可能、不充分或禁忌而需要胃肠外营养。根据一个方面,所述患者患有胆碱缺乏症或有发生胆碱缺乏症的风险。根据一个进一步的方面,所述患者患有肝性脂肪变性或有发生肝性脂肪变性的风险。根据又一个方面,所述患者患有胃肠外营养相关的肝脏疾病,特别是肝性脂肪变性。

[0044] 根据本发明的又一个方面,所述向患者提供胆碱的方法包括以15毫克/千克/天至300毫克/千克/天的剂量施用甘油磷酸胆碱。根据一个方面,以24毫克/千克/天至210毫克/千克/天、50毫克/千克/天至150毫克/千克/天和70毫克/千克/天至100毫克/千克/天的剂量给儿科患者施用甘油磷酸胆碱。

[0045] 根据本发明的又一个方面,所述向患者提供胆碱的方法包括以约5毫克/千克/天至50毫克/千克/天、10毫克/千克/天至30毫克/千克/天和20毫克/千克/天至30毫克/千克/天的剂量给成年患者施用甘油磷酸胆碱。

[0046] 根据本发明的另一个方面,包含甘油磷酸胆碱的脂质乳液或重构溶液通过外周或中心导管施用。

附图说明

[0047] 应当理解,附图仅描绘本发明的实施方式,而不应被认为限制本公开的范围,通过使用附图,以追加的具体性和细节对本公开进行描述和解释。

[0048] 图1描绘了实施例1所述的动物研究中丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 功能的发展。对照组仅接受盐水溶液 (NaCl) 或脂质乳液 LE 10%, 而其它组则接受相同的 LE 10% 脂质乳液, 然而在所述脂质乳液中含有三种不同的胆碱源: 氯化胆碱、CDP-胆碱和 GPC。表述“高”表示在 LE10% 脂质乳液中胆碱衍生物的浓度为 31mmol/L。该图显示, 当脂质乳液中存在 GPC 时, 证明肝脏状况改善的 ALT 活性下降从第 5 天到第 17 天最为明显。

[0049] 图2显示了在如实施例1所述的动物研究中, 丙氨酸氨基转移酶活性以血浆正常值的百分比计的发展 (步骤#3)。被测动物仅接受盐水溶液或 LE 10% 脂质乳液 (“LE 10%”),

其中所述脂质乳液含有正常量的植物甾醇(“Phyto”),但不含GPC。另一种脂质乳液,也含有LE 10%和相当的植物甾醇量,还含有浓度为40mmol/L的GPC(“LE10%+GPC步骤#2”)。第三种组合物再次由脂质乳液(LE 13%)组成,具有以40mmol/L的浓度添加的GPC和降低的植物甾醇含量(植物甾醇剂量在图2中给出)。

[0050] 图3A和图3B呈现了如实施例1所述的动物研究的结果,以及用盐水溶液、LE 10%脂质乳液以及分别补充有氯化胆碱、CDP-胆碱和GPC的LE 10%脂质乳液进行胃肠外营养的动物的肝脏的组织病理学评价(图3A)。图3A显示,与所有被测的胆碱衍生物相比,施用包含GPC的脂质乳液对空泡形成的发展具有最显著的影响。图3B提供了同样施用单独的盐水溶液、补充有DHA和ARA的脂质乳液(LE13%) (三角形)以及补充有DHA、ARA和GPC的脂质乳液(LE 13%) (正方形)的结果。图3B显示DHA和ARA的存在已经对肝脏空泡形成具有显著的积极效果。表述“低”是指相应的胆碱衍生物的浓度为15mmol/L。表述“高”是指胆碱衍生物浓度为31mmol/L。等级的定义如实施例3.3中所提供的。

[0051] 图4呈现了如实施例1所述的动物研究的结果,其中基于肝重和体重的百分比比率来确定胃肠外施用各种脂质乳液的影响。用盐水溶液、没有任何胆碱衍生物的LE 10%脂质乳液(“脂质乳液10%”)以及还含有31mmol/L的所示胆碱衍生物的LE 10%脂质乳液来处理研究动物。表述“高”是指脂质乳液中胆碱衍生物浓度为31mmol/L。

[0052] 图5显示了在研究动物的肝脏的组织病理学分析中确定的1至5级空泡形成的示例性照片(参见实施例1和3)。所显示的组织学薄片用苏木精-曙红染色。根据以下方案归属等级:图5A:1级=轻微/很少/很小的空泡,散在。图5B:2级=轻度/少数/小的空泡,小叶中心到中带。图5C:3级=中度/中等数量/中等大小的空泡,小叶中心到中带。图5D:4级=明显/很多/大的空泡,小叶中心到门脉周。图5E:5级=重度/很多/大的空泡,弥漫,侵袭所有肝区。

[0053] 发明详述

[0054] 本文所述的某些实施方式总体上涉及胃肠外营养领域。更特别地,本文所述的一些实施方式涉及用于胃肠外施用的脂质乳液,其中所述脂质乳液包含水相和油相,并以水包油乳液的形式存在。本文所述的其它实施方式涉及用于胃肠外施用的多腔室容器,其中所述容器在第一腔室中包含所述脂质乳液,在第二腔室中包含碳水化合物制剂或氨基酸制剂,任选当第二腔室含有碳水化合物制剂时,氨基酸在第三腔室中,任选在第四腔室中包含维生素制剂或微量元素制剂,并且任选当第四腔室含有维生素制剂时,微量元素在第五腔室中。

[0055] 如本文所用的术语“儿科的”可以指最多一个月大的新生儿,包括提前分娩(早产)、足月和逾期分娩的新生儿;一个月和一岁之间的婴儿;一岁和最多12岁之间的儿童,以及13和最多21岁之间的青少年。如本文所用的术语“成人”是指22岁以上的人。

[0056] 如本文所用的术语“基本不含”可以指组合物含有不超过5%的指定组分,例如,不超过3%、不超过2%、不超过1%、不超过0.5%、不超过0.1%、不超过0.05%、不超过0.02%、不超过0.01%、不超过0.005%、不超过0.002%、和/或不超过0.001%的指定组分。例如,“基本不含EPA”的脂质乳液或组合物可以指含有不超过5%EPA的组合物,例如不超过3%、不超过2%、不超过1%、不超过0.5%、不超过0.1%、不超过0.05%、不超过0.02%、不超过0.01%、不超过0.005%、不超过0.002%、和/或不超过0.001%EPA。

[0057] 表述“肝病”、“肝损伤”和“肝损害”在本文中可互换使用。该表述是指由丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 活性增加、组织学确定的空泡形成以及肝重对体重的比率增加来定义的肝脏状况。具体地,该表述是指可以借助于上述标志诊断的肝性脂肪变性。更具体地,它们是指NAFLD。更加具体地,它们是指由胆碱缺乏症、尤其是长期全胃肠外营养引起的胆碱缺乏症所导致的NAFLD。

[0058] 本公开提供了用于胃肠外施用的脂质制剂,所述脂质制剂包含甘油磷酸胆碱 (GPC) 作为有此需要的患者的胆碱源。旨在直接施用于需要胃肠外营养的患者的本发明脂质制剂含有浓度为0.1克至15.0克/升脂质乳剂的GPC。

[0059] 儿科患者通常需要比成年人更高的胆碱量。因此直接施用于儿科患者的脂质乳液可含有在2.0克至12.0克/升脂质乳液或4.0克至11.0克/升脂质乳液的范围内的GPC。例如,直接施用于儿科患者的脂质乳液含有在5.0克至12.0克/升脂质乳液的范围、或在4.0克至10.0克/升脂质乳液的范围内的GPC。

[0060] 平均而言,成年人需要的胆碱较少。因此,直接施用于成年患者的脂质乳液可含有在0.1克至6.0克/升脂质乳液的范围内的GPC。例如,直接施用于成年患者的脂质乳液含有在0.5克至5.0克/升脂质乳液的范围、在0.5克至4.0克/升脂质乳液的范围、或在0.5克至3.0克/升脂质乳液的范围内的GPC。

[0061] 在本发明中,公开了脂质乳液、包含所述脂质乳液的多腔室容器以及从这样的多腔室容器重构的组合物,其特征在于如上所述的脂质乳液或重构的组合物中存在GPC。所述脂质乳液的组成在其它方面可就特定组分及其来源而在宽范围内变化,只要它们可以安全地用于需要胃肠外营养的患者的静脉内施用即可。

[0062] 如上所公开的包含GPC的脂质乳液用于治疗需要胃肠外营养的患者。可从本发明的脂质乳液中受益的患者可以是成年患者和儿科患者,其中可以如前公开的那样调节GPC浓度以解决儿科患者较高的胆碱需求。

[0063] 可以从本发明的脂质乳液中受益的患者,包括所述儿科患者和成年患者,是显示出胆碱缺乏症的迹象(包括肝性脂肪变性的迹象)或处于变得胆碱缺乏的危险中的所有患者。本发明的胆碱缺乏症可以由例如用不能提供维持足够摄入量(AI)所必需的胆碱量(当量)的胃肠外营养产品进行全胃肠外营养所导致,所述足够摄入量(AI)对成年男性为约550毫克/天(~8毫克/千克/天),对成年女性为约425毫克/天(~6毫克/千克/天),对小儿每天约40毫克/天(~90至100毫克/千克/天)。

[0064] 本发明的脂质乳液也适用于避免或治疗新生儿、包括早产儿和极早产儿的胆碱缺乏症。如前所述,胆碱在所述儿科患者的发育中起着核心作用,因为它是细胞膜、神经递质乙酰胆碱和磷脂合成的必不可少的结构组分,在其中它有助于合成从肝脏输出的正式甘油三酸酯所必需的极低密度脂蛋白。考虑到胆碱对于胆碱能细胞中最相关的神经递质—乙酰胆碱的合成至关重要,胆碱的缺乏可能与这样的记忆缺陷有关。胆碱与脑发育有关,尤其是在婴儿中。胆碱缺乏症进一步激活细胞凋亡,这可能造成细胞修复机制不足。重要的是,胆碱缺乏症导致肝性脂肪变性,这在需要胃肠外营养的婴儿、包括早产儿中尤为令人担忧。

[0065] 因此,本发明提供了一种用于预防和/或治疗患者、具体是全胃肠外营养的患者的肝性脂肪变性的脂质乳液,其中所述脂质乳液根据本发明包含甘油磷酸胆碱。然而,本发明的脂质乳液或包含该脂质乳液的重构组合物可用于未患有肝性脂肪变性的患者的胃肠外

营养中,因为GPC的存在可以避免这样的肝损伤发生。

[0066] 如前所述,氯化胆碱和CDP-胆碱已被用作胆碱衍生物,用于给患者补充胆碱。然而,这些化合物未被提供为用于胃肠外营养的即用脂质乳剂的组分,即用脂质乳液在通过医疗端口或以单独的静脉内应用溶液进行施用,不需要向该制剂添加氯化胆碱或CDP-胆碱,从而避免了带来错误剂量或污染的风险的附加步骤。实际上已经发现,难以在胃肠外营养溶液、包括脂质乳液中稳定所述胆碱衍生物(参见实施例5)。

[0067] 相反,在完成本发明的工作期间发现,GPC不仅以可有效代谢的形式更有效地将胆碱递送给所述患者,而且可以在脂质乳液中进一步稳定并在从一个腔室中包含这样的脂质乳液的多腔室袋重构的制剂中进一步保持稳定。因此,本发明提供了一种通过胃肠外营养向患者提供胆碱的方法,将胆碱作为即用脂质乳液或包含该脂质乳液的重构制剂的组分,其中所述脂质乳液根据本发明包含甘油磷酸胆碱。

[0068] 脂质制剂、例如本文公开的脂质制剂是油相、水相和使这两相可混溶的乳化剂的乳液。在要用作胃肠外营养注射乳液的脂质乳液的情况下,所述乳液必须是水包油(o/w)乳液。这意味着油必须存在于内(或分散)相中,而水是外(或连续)相,因为乳液必须与血液可混溶。因此,如本文公开的脂质乳液也必须基本不含任何悬浮固体。当然,所述脂质乳液可以含有其它组分,包括但不限于抗氧化剂、pH调节剂、等渗剂、维生素、微量元素及其各种组合。例如,在Driscoll, *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2017, 41, 125-134中,提供了对脂质乳液、其组成和用途的综述。例如,在Calder等人, *Intensive Care Medicine*, 2010, 36 (5), 735-749中,提供了有关在重症监护患者的胃肠外营养中使用脂质乳液的进一步信息。

[0069] 所述脂质乳液的油相通常包含多不饱和脂肪酸,例如长链多不饱和脂肪酸,其可以作为游离酸、作为游离酸的离子化或盐形式和/或以酯形式存在。所述多不饱和脂肪酸/长链多不饱和脂肪酸的合适的酯包括但不限于烷基酯(例如,甲酯、乙酯、丙酯或其组合)和甘油三酯。在一些情况下,所述长链多不饱和脂肪酸具有结构 $R(C=O)OR'$,其中R是具有至少17个碳原子、至少19个碳原子、至少21个碳原子或至少23个碳原子的烯基基团,并且R'是不存在、H、抗衡离子、烷基基团(例如甲基、乙基或丙基)或甘油基基团(例如,R(C=O)OR'是甘油一酯、甘油二酯或甘油三酯)。用于本文公开的脂质制剂中的多不饱和脂肪酸包括但不限于亚油酸(LA)、花生四烯酸(ARA)、 α -亚麻酸(ALA)、二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)、十八碳四烯酸(SDA)、 γ -亚麻酸(GLA)、二高- γ -亚麻酸(DPA)和二十二碳五烯酸(DPA),特别是DHA、ARA和EPA,其各自都可以游离酸形式、离子化或盐形式、烷基酯形式和/或甘油三酯形式存在。在一些情况下,所述多不饱和脂肪酸和/或长链脂肪酸以甘油三酯形式存在。

[0070] 通常,所述脂质制剂包含基于脂质制剂总重量的约5重量%至约35重量%的油相。例如,基于脂质制剂的总重量,所述脂质制剂的油相的存在量为8至12重量%、约10至约20重量%、约10至约15重量%、约15至约20重量%、约12至约17重量%、约18至22重量%和/或约20重量%。油相通常且优选以取决于油的来源的各种量含有 ω -3脂肪酸。参与人体代谢的三种类型 ω -3脂肪酸是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),这两种通常在海鱼油中发现,以及在植物油中普遍发现的 α -亚麻酸(ALA)。

[0071] 油相及其组分可以源自于单一来源或不同来源(参见,例如,Feil等人, *Advances*

in Nutrition, 2015, 6 (5), 600–610)。在植物油中, 当前使用的来源包括但不限于大豆油和橄榄油以及椰子油或棕榈仁油(中链甘油三酯(MCT))。另一个来源是藻类, 包括微藻, 例如寇氏隐甲藻(*Cryptothecodinium cohnii*)和裂殖壶菌(*Schizochytrium* sp.), 其在有些情况下充当长链多不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸(DHA)的单一来源。胃肠外脂质乳液中使用的大海产油是从主要存在于冷水中的富含油脂的鱼加工而成的, 富含油脂的鱼包括但不限于鲑鱼、西鲱和沙丁鱼。然而, 其它海洋生物也可以用作油源, 例如磷虾, 如南极大磷虾(*Euphausia superba* Dana)。例如, 磷虾油同时提供EPA和DHA, 其量高达35%w/w的所述脂肪酸。由于DHA和EPA的存在, 磷虾油作为脂质乳液的组分被认为具有抗炎性质, 并猜测结合内毒素(Bonaterre等人: 水包磷虾油乳液在体外抵抗脂多糖诱导的巨噬细胞促炎激活(Krill oil-in-water emulsions protects against lipopolysaccharides-induced proinflammatory activation of macrophages in vitro). *Marine Drugs* (2017), 15: 74)。

[0072] 许多微生物, 包括真菌、酵母菌和一些细菌, 都具有合成大量LC-PUFA、主要是ARA的能力(Sanaa等人, *Journal of Advanced Research* 11:3–13 (2018))。相关的ARA生产者例如非致病性真菌被孢霉属(*Mortierella* spp), 其中的高山被孢霉(*M. alpina*) 1S-4和ATCC 32,222产生的ARA高达脂质的70%。[00104] 在一些情况下, 所述油相包含源自于裂殖壶菌微藻和高山被孢霉真菌的油的掺合物。这样的掺合物中的油包括但不限于肉豆蔻酸(C14:0)、棕榈酸(C16:0)、棕榈油酸(C16:1)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2n-6)、 γ -亚麻酸(C18:3, n-6)、 α -亚麻酸(C18:3, n-3)、花生酸(C20:0)、ARA(C20:4, n-6)、EPA(C20:5, n-3)、山萘酸(C22:0)、DPA(C22:5, n-3)、DHA(C22:6, n-3)、和木蜡酸(C24:0)。在一些情况下, 所述掺合物包含ARA、DHA和EPA。在例如Fell等人, 2015中总结了不同来源的油中各种脂肪酸例如DHA、EPA、ARA、亚油酸(LA)或 α -亚油酸(ALA)的含量。

[0073] 在本发明的一些实施方式中, 所述脂质乳液的油相基本不含EPA和ARA, 并将EPA或ARA单独或组合添加到所述脂质乳液的油相中。然而, 在一些情况下, 当油相中已经含有EPA和/或ARA时, 将所述脂肪酸中的任一种单独添加或彼此组合添加, 以增加脂质乳液中EPA和/或ARA的量。

[0074] 在本发明的一些实施方式中, 所述脂质乳液的油相因此包含ARA。在一个实施方式中, ARA获自真菌, 优选获自高山被孢霉(*Mortierella alpina*)。然而, ARA根据本发明可以从各种来源获得, 并且不限于源自于真菌的ARA。在一些情况下, ARA存在的浓度为0.1克至15克/100克油相, 例如1.5克至7.5克/100克油相。

[0075] 在本发明的一些实施方式中, 油相包含各种比率的DHA和EPA。在一些情况下, 油相含有的DHA多于EPA, 在一些情况下存在DHA, 但油相基本不含EPA。当DHA和EPA二者都存在时, 所述脂质乳液中DHA与EPA的比率通常为至少10:1 (w/w), 例如约10:1至约1000:1 (w/w)、约20:1至约1000:1 (w/w)、约50:1至约1000:1 (w/w)、约100:1至约1000:1 (w/w)、约10:1至约200:1 (w/w)、约20:1至约150:1 (w/w)、至少约50:1 (w/w)、至少约100:1 (w/w)、至少约500:1 (w/w)、和/或至少约1000:1 (w/w)。

[0076] 在一些情况下, DHA存在的浓度为0.25克至3.0克/100克油相。在一些情况下, DHA在所述脂质乳液的油相中存在的浓度为1.5克至2.5克/100克油相。在一些情况下, 所述DHA以甘油三酯形式或以乙酯形式、优选以甘油三酯形式存在。

[0077] 本公开的示例性脂质乳液包含浓度为0.1克至2.0克/升脂质乳液的甘油磷酸胆碱(GPC)。这样的脂质乳液可以用于直接胃肠外施用。在某些实施方式中,所述脂质乳液含有浓度为0.1克至2.0克/升油脂乳液的甘油磷酸胆碱(GPC)并且还含有浓度为0.1克至5.0克/100克油相的二十二碳六烯酸(DHA)。这样的脂质乳液可基本不含EPA或可含有少量的EPA,其中DHA和EPA之间的比率为10:1至1000:1(w/w)或10:1至200:1。

[0078] 在某些实施方式中,所述脂质乳液含有浓度为0.1克至2.0克/升脂质乳液的甘油磷酸胆碱(GPC)、浓度为0.1克至5.0克/100克油相的二十二碳六烯酸(DHA)、和/或浓度为0.1克至15克/100克油相的花生四烯酸(ARA)。在某些实施方式中,所述脂质乳液包含DHA和ARA,DHA与ARA在脂质乳液中的比率为10:1至1:5(w/w)。这样的脂质乳液同样可基本不含EPA或含有少量EPA,其中DHA和EPA之间的比率为10:1至1000:1(w/w)或10:1至200:1。

[0079] 本文公开的脂质乳液在一些情况下包含降低的植物甾醇水平。在这样的情况下,用于所述脂质乳液中的油已经贫化了植物甾醇,通常贫化了所述油中最初存在的植物甾醇总量的至少25%的量,例如,贫化了至少40%、至少50%、至少60%和/或至少75%。在一些情况下,所述脂质乳液包含70毫克或更少的植物甾醇/100克油相,例如,约15毫克至约35毫克植物甾醇/100克油相、和/或约25毫克或更少的植物甾醇/100克油相。植物甾醇的去除或贫化可以通过例如已知的方法例如短程蒸馏、活性炭处理继以过滤、超临界CO₂色谱法或色谱纯化来进行。

[0080] 本文公开的脂质乳液可进一步包含另外的组分,例如表面活性剂(也称为乳化剂)、助表面活性剂、等渗剂、pH调节剂和抗氧化剂。一般而言,添加表面活性剂以通过降低油相和水相之间的界面张力来稳定乳液。表面活性剂通常包括疏水性部分和亲水性部分,并且所述制剂中包含的表面活性剂/乳化剂的量是基于达到期望的乳液稳定水平所需的量来确定的。通常,所述脂质制剂中表面活性剂的量为基于脂质制剂总重量的约0.01至约3重量%,例如,约0.01至约2.5重量%、约0.01至约2.3重量%、约0.02至约2.2重量%、约0.02至约2.1重量%、约0.02至约2重量%、约0.05至约1.8重量%、约0.1至约1.6重量%、约0.5至约1.5重量%、约0.8至约1.4重量%、约0.9至约1.3重量%、约1至约1.2重量%、和/或约1.2重量%。合适的表面活性剂和助表面活性剂包括经批准用于胃肠外使用的表面活性剂,并包括但不限于磷脂(例如蛋磷脂和大豆卵磷脂)、油酸盐及其组合。磷虾油也可以用作所述脂质乳液中的乳化剂,其中所述脂质乳液包含基于乳液总重量为约0.5至2.2wt%的磷虾油,并且其中所述乳液不含蛋黄卵磷脂(US 2018/0000732 A1)。另一种示例性的表面活性剂是卵磷脂,包括天然和合成卵磷脂,例如源自于蛋、玉米或大豆或其混合物的卵磷脂。在一些情况下,包含的卵磷脂的量为基于脂质制剂总重量的约1.2%。

[0081] 在一些情况下,所述脂质乳液制剂包含助表面活性剂。通常,所述脂质制剂中助表面活性剂的量少于表面活性剂的量,并且通常所述制剂中助表面活性剂的量为基于脂质制剂总重量的约0.001至约0.6重量%,例如,约0.001%至约0.55%、约0.001%至约0.525%、约0.001%至约0.5%、约0.005%至约0.5%、约0.01%至约0.4%、约0.02%至约0.3%、约0.03%至约0.2%、约0.04%至约0.1%、和/或约0.05%至约0.08%。示例性的助表面活性剂是油酸盐,例如油酸钠。在一些情况下,所述脂质制剂包含卵磷脂和油酸盐作为表面活性剂和助表面活性剂,例如,以1.2%卵磷脂和0.03%油酸盐的量。在一些情况下,包含的油酸钠的量为基于脂质制剂总重量的约0.03重量%。

[0082] 等渗剂可以添加到所述脂质乳液中,以将所述脂质乳液的渗透克分子浓度调节至期望的水平,例如生理可接受的水平。合适的等渗剂包括但不限于甘油。通常,所述脂质乳液制剂的渗透克分子浓度为约180至约300毫渗克分子/升,例如约190至约280毫渗克分子/升、和/或约200至约250毫渗克分子/升。在一些情况下,所述脂质乳液包含的等渗剂的量为基于脂质制剂总重量的约1至约10重量%,例如约1%至约5%、约1%至约4%、和/或约2%至约3%。在一些情况下,所述脂质乳液制剂包含约2至约3%重量%的甘油。

[0083] PH调节剂可以添加到所述脂质乳液中,以将pH调节到期望的水平,例如用于胃肠外使用的生理可接受的pH。合适的pH调节剂包括但不限于氢氧化钠和盐酸。通常,所述脂质乳液制剂的pH为约6至约9,例如约6.1至约8.9、约6.2至约8.8、约6.3至约8.7、约6.4至约8.6、约6.5至约8.5、约6.6至约8.4、约6.7至约8.3、约6.8至约8.2、约6.9至约8.1、约7至约8、约7.1至约7.9、约7.2至约7.8、约7.3至约7.7、约7.4至约7.6、约7、约7.5、和/或约8。

[0084] 所述脂质制剂可进一步包含抗氧化剂。合适的抗氧化剂可以是可药用的抗氧化剂,并包括但不限于生育酚(例如, γ -生育酚, δ -生育酚, α -生育酚)、抗坏血酸棕榈酸酯或其组合。在一些情况下,所述脂质乳液制剂包含的抗氧化剂的量为约0至约200mg/L,例如,约10至约200mg/L、约40至约150mg/L、约50至约120mg/L、约75至约100mg/L的抗氧化剂,例如维生素E。

[0085] 所有静脉内脂质乳液的水性相(或水相)必须符合使其适合注射的药典要求,即,水必须是无菌注射用水。

[0086] 本公开还包括如下所述的脂质乳液,其中在向患者施用之前,例如通过医用端口向即用脂质乳液或重构溶液添加GPC。GPC可以按合适的溶液形式提供,例如在小瓶或合适的软质或硬质容器中的,或者可以按冻干形式提供,例如在玻璃小瓶中的,其中将冻干的GPC溶解在合适的溶剂中,然后将其添加到脂质乳液或重构溶液中。GPC可以在这类用于添加至脂质乳液或重构溶液中的溶液或冻干物中作为单一活性组分存在,或可以与至少一种其它活性成分例如维生素、微量元素、DHA、EPA和/或ARA组合存在。因此,根据本发明的另一个实施方式,提供了一种向患者提供GPC的方法,其中在施用前将GPC添加到来自MCB的即用脂质乳液或重构溶液中,提供胃肠外营养制剂。

[0087] 如前所述,所述脂质乳液也可以存在于多腔室袋的腔室之一中。因此本公开还提供了一种用于胃肠外施用营养制剂的多腔室容器。例如,所述容器可以是具有多个隔室或腔室的袋子的形式。所述容器,例如袋子,包含至少两个腔室,但也可以含有三个、四个或五个腔室,在一个优选的实施方式中,两个或三个腔室。合适的容器,包括软袋,通常是无菌、无热原、一次性使用和/或即用的。所述多腔室容器对于容纳儿科和/或新生儿胃肠外营养产品特别有用,并且通常在所述容器的第一腔室中提供如本文公开的碳水化合物制剂、在第二腔室中提供如本文公开的氨基酸制剂、和在第三腔室中提供如本文公开的脂质制剂。

[0088] 所述多腔室容器,例如三腔室袋,可包含竖式腔室。合适的多腔室容器在美国专利公布No.2007/0092579中公开。例如,所述多腔室容器可以被构造为包含两个或三个相邻的腔室或隔室的袋子。如果需要,使用易碎的屏障或可打开的密封(例如,剥离密封或易碎密封)来分隔所述多腔室容器的腔室。多室容器还可以包含三个腔室用于容纳脂质乳液、碳水化合物制剂和氨基酸制剂,并且还包含至少一个、在某些实施方式中两个或三个较小的腔室,其含有例如维生素制剂和/或微量元素制剂。在一个具体的实施方式中,本发明的多腔

室容器具有含有本发明脂质乳液的第一腔室、含有氨基酸制剂的第二腔室、含有碳水化合物制剂的第三腔室、含有维生素制剂的第四腔室和含有微量元素制剂的第五腔室。

[0089] 所述多腔室容器的可打开密封容许制剂分开储存并在即将施用之前混合/重构,从而允许将不应作为混合物储存的制剂长时间储存在单个容器中。所述密封的打开允许腔室之间连通以及各个腔室的内容物混合。所述多腔室容器的外部密封是坚固的密封,其在提供用于打开腔室之间较弱的剥离密封或易碎密封的流体压力下不会打开。在一些实施方式中,所述多腔室容器的可打开密封可被设计成允许仅对所述多腔室容器的选定腔室进行混合或重构,例如,脂质乳液与维生素腔室和氨基酸腔室混合,如果需要这样的话。

[0090] 所述多腔室容器可以提供说明书来说明打开剥离密封的期望顺序,从而使成分流体按期望的顺序混合。两个或更多个剥离密封的开封强度可以变化,以促进按期望的顺序打开密封。例如,首先要打开的剥离密封的开封强度可以是其次要打开的剥离密封所需的开封强度的1/3至1/2。

[0091] 在将本发明的脂质乳液包含在多腔室袋中的情况下,可以根据需要调整脂质乳液中的GPC浓度,以达到如前公开的GPC剂量。然而,多腔室容器中的脂质乳液也可以包含浓度与前面对脂质乳液公开的浓度相同的GPC。

[0092] 如本文所用的“重构溶液”是指用于胃肠外施用的溶液,其通过在使用前混合多室容器的腔室内容物而产生。

[0093] 在多腔室袋的一个腔室中所含的脂质乳液可含有浓度为每0.1克至15.0克/升的GPC。在一些实施方式中,这样的多腔室容器中的GPC浓度可以是1.0克至12克/升脂质乳液、1.0克至10.0克/升脂质乳液、2克至9.0克/升脂质乳液、1.0克至5.0克/升脂质乳液、或2.0克至4.0克/升脂质乳液。

[0094] 如上所述,用于提供胃肠外营养制剂的多腔室容器的典型组分是氨基酸和/或碳水化合物制剂。所述氨基酸制剂包含一种或多种氨基酸和一种或多种电解质的无菌水溶液。通常,氨基酸制剂包含约2克至约10克/100毫升氨基酸制剂,例如约3克至约9克和/或约5克至约7克/100毫升氨基酸制剂。包含在氨基酸制剂中的典型氨基酸是,例如,异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、色氨酸、精氨酸、组氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸、脯氨酸、丝氨酸、酪氨酸、鸟氨酸和牛磺酸。此外,可以通过添加例如甘氨酸-酪氨酸二肽或乙酰-酪氨酸(Ac-Tyr)来增加酪氨酸的含量。然而,通常,甘氨酸-酪氨酸二肽的药代动力学比Ac-Tyr改善,Ac-Tyr更快地被肾脏消除,导致酪氨酸在血液中的释放减少。

[0095] 所述氨基酸制剂可进一步包含电解质,例如钠、钾、钙、镁/或磷酸根离子。例如,所述氨基酸制剂的每100毫升氨基酸制剂可以包含约0.1mmol至约10mmol的钠(例如,约3.75mmol至约10mmol的钠)、约0.1mmol至约10mmol的钾(例如,约3.75mmol至约6.90mmol的钾)、约0.05mmol至约1.0mmol的镁(例如,约0.05mmol至约0.11mmol和/或约0.38mmol至约0.65mmol的镁)、约0.1mmol至约10mmol的钙(例如,约1.13mmol至约5.10mmol的钙)、约0.1mmol至约10mmol的磷酸根(例如,约0.94mmol至约5.10mmol的磷酸根)和不超过10mmol的氯离子(例如,不超过5.6mmol的氯离子)。当钙和磷一起存在于同一热灭菌溶液中时,会发生不溶性磷酸钙沉淀。使用磷的有机盐例如五水甘油磷酸钠或甘油磷酸钙,可以增加钙和磷酸根的含量而不会有溶解性问题并且不会提供过量的钠或氯离子。在所述氨基酸制剂

中,可以按氯化钠的形式提供钠,可以按二水氯化钙或葡萄糖酸钙的形式提供钙,可以按四水乙酸镁或氯化镁的形式提供镁,并可以按乙酸钾的形式提供钾。

[0096] 所述碳水化合物制剂通常以葡萄糖的形式提供卡路里的供应。特别地,所述碳水化合物制剂提供的碳水化合物量足以避免在接受胃肠外营养的患者中观察到的不良作用,例如高血糖症。通常,所述碳水化合物制剂包含约20至50克葡萄糖/100毫升碳水化合物制剂。

[0097] 本发明的脂质乳液可以根据通常已知的方法制备(参见,例如,Hippalgaonkar等人,AAPS PharmSciTech 2010,11(4),1526-1540)。一般而言,将水溶性和油溶性成分分别溶解在水相和油相中。相应地,将GPC溶解在水相中。乳化剂,例如磷脂,可以分散在油相或水相中。将这两相充分加热并搅拌以分散或溶解所述成分。然后通常将脂质相在受控温度和搅拌(使用高剪切混合器)下添加到水相中,以形成均匀分散的粗乳液或预乳液。液滴尺寸小于20 μm 的预乳液通常产生单峰且物理稳定的细乳液。然后在优化的压力、温度和循环次数下将所述预乳液均质化(使用微射流器或高压均质器),以进一步减小液滴尺寸并形成细乳液。诸如油相和表面活性剂的类型和浓度、操作温度、压力、循环次数等的因素在高压均质化和微射流期间可影响平均液滴尺寸。在乳液的整个保存期内,可注射的细乳液的平均液滴尺寸和PFAT5($\geq 5\mu\text{m}$ 的脂肪球的体积加权百分比)应分别为 $\leq 500\text{nm}$ 和 $\leq 0.05\%$ 。然后将由此产生的细乳液的pH调节至期望值,并通过1-5 μm 过滤器过滤所述乳液。然后将所述细乳液转移到合适的容器中。通常应避免氧气可透过和/或含有油溶性增塑剂的塑料容器。只要有可能,整个过程(过滤/粗乳液和细乳液制备)通常在氮气气氛下进行,尤其是在脂质乳液的赋形剂和特定组分对氧化敏感的情况下。所述脂质制剂的灭菌可通过终端加热灭菌或通过无菌过滤来实现。终端灭菌通常为最终产品的无菌性提供了更大的保证。然而,如果乳液的组分是不耐热的,则可以使用无菌过滤。过滤灭菌要求乳液液滴尺寸低于200nm。或者,可以采用无菌加工。然而,该过程相对设备和劳动密集,并且在监管性提交期间需要附加的过程验证数据和证明。

[0098] 因此,本发明的脂质乳液可以通过以下步骤制备,所述步骤包括:

[0099] (a) 分别将油相和水相在搅拌下加热至约70 $^{\circ}\text{C}$ 至约80 $^{\circ}\text{C}$ 的温度;

[0100] (b) 向水相添加甘油磷酸胆碱;

[0101] (c) 通过在搅拌下将油相转移至水相来制备预乳液;

[0102] (d) 将所述预乳液在约40 $^{\circ}\text{C}$ 至60 $^{\circ}\text{C}$ 的温度和压力下均质化;

[0103] (e) 任选添加水以调节所需的体积和浓度;

[0104] (f) 任选将pH调节至约7.8至8.8的范围;以及

[0105] (g) 任选将所述脂质乳液灭菌。

[0106] 灭菌可以通过本领域已知的方法、例如通过加热进行。通常,步骤(a)至(d)将在惰性气体例如 N_2 的存在下进行,以避免任何氧化反应。用于预乳液均质化的压力可以在宽范围内变化。一般而言,它将在100至1300巴、200至1000巴、300至800巴、或400至1100巴的范围内。

[0107] 如前面所讨论的,本发明涉及用于避免和/或治疗肝性脂肪变性的脂质乳液和包含它的组合物。肝性脂肪变性定义为肝内脂肪占肝重的至少5%。三酰基甘油在肝中的单纯蓄积会保护肝脏;然而,长时间的肝脂质储存可能导致肝脏代谢功能障碍、炎症和晚期形态

的非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)。NAFLD包括从单纯性脂肪变性到非酒精性脂肪肝 (NASH) 的一系列疾病,其可进展为肝硬化和肝细胞癌。从组织学上,NASH的定义是存在大泡性脂肪变性、小叶炎症和肝细胞气球样变 (Kneeman,非酒精性脂肪肝病的继发原因 (Secondary Causes of nonalcoholic fatty liver disease),Therap Adv Gastroenterol 2012,5: 199-207)。长期全胃肠外营养 (TPN) 可能是NAFLD的众多原因之一。TPN可导致肉碱的耗竭,肉碱是将游离脂肪酸从肝细胞质传递到线粒体以进行 β 氧化所必需的化合物。如前所述,胆碱的细胞溶质浓度也降低,促进脂质在肝细胞中的储存。这样的脂质储存与主要的组织学发现是脂肪变性、肝内胆汁淤积和胆管重复畸形 (ductular reduplication) 的事实有关。因此,在TPN中胆碱补充的效果也可以通过验证肝脏的组织学特征来确定。这样的组织学分析允许通过分析空泡形成的程度来评估脂肪变性的程度。实施例3提供了在动物研究中进行的这样的组织病理学研究的成果。在那里表明,在PN溶液中存在甘油磷酸胆碱可以有效地解决由于甲硫氨酸和胆碱缺乏的膳食继以胃肠外营养引起的肝损伤。它还提供证据表明GPC提供了比其它胆碱衍生物、特别是氯化胆碱和CDP-胆碱明显更好的效果。DHA和ARA的附加存在似乎具有附加的协同效益。

[0108] 血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 测定是检测肝病最常见的实验室检验。因为人群中的酶浓度形成连续分布,所以无法清楚界定健康和患病肝脏之间的临界浓度。然而,血清丙氨酸氨基转移酶的正常上限平均设在40IU/l,范围为30-50IU/l (Kim等人.BMJ 2004,328: 983)。在本发明的情形下,所述上限用作正常血清丙氨酸氨基转移酶 (本文也称为“氨基转移酶”或“ALT”) 浓度。Kim等人还描述了氨基转移酶浓度与因肝病死亡之间的关联是显著的。因此,在本发明的情形下,血清氨基转移酶浓度用于确定与不含任何胆碱的脂质乳液相比,而且与其它胆碱源包括氯化胆碱和CDP-胆碱相比,甘油磷酸胆碱在治疗可由例如胃肠外营养引起的肝损伤中的功效。图1和2证明了GPC在降低ALT浓度上明显更好的效果。

[0109] ALT活性由国际临床化学联合会 (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) 推荐的修改方法确定,也参见实施例2。ALT催化 α -酮戊二酸与L-丙氨酸反应形成L-谷氨酸和丙酮酸。在LDH的作用下,丙酮酸转化为乳酸,并且NADH转化为NAD。在340nm (次波长为700nm) 处测得的NADH吸光度下降与ALT的血清活性成正比。这是一个动力学反应。一般使用血清进行分析。血清在收集的2小时内与细胞分离,并保存在-70°C下直至测定。在动物模型中随时间监测ALT活性是本文中用作确定GPC在治疗肝病、特别是胆碱缺乏的膳食引起的肝损伤中的功效的一种直接而确凿的方式 (实施例1和2,图1和2)。

[0110] 血浆游离胆碱浓度可以通过高压液相色谱法 (HPLC) 和气相色谱-质谱法根据本领域已知的方案来确定 (Pomfret等人:使用高压液相色谱法和气相色谱-质谱法测量胆碱和胆碱代谢物的浓度 (Measurement of choline and choline metabolite concentrations using high pressure liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry). Anal Biochem.1989,180:85-90)。

[0111] 从油中、特别是从植物源的油例如橄榄油或大豆油中贫化植物甾醇的方法是已知的。例如,可以如Ostlund等人., Am J Clin Nutr 2002,75,1000-1004中所述、或如US 6303803B1中所述除去植物甾醇。

具体实施方式

[0112] 实施例

[0113] 实施例1:动物模型

[0114] 进行动物研究以鉴定和确认用于胃肠外营养液、特别是脂质乳液中的最有效的胆碱衍生物,以避免和/或治疗和改善肝损伤,特别是肝性脂肪变性。该研究还用于鉴定被发现是最有效的胆碱衍生物与多不饱和脂肪酸(特别是DHA和ARA)之间任何潜在的代谢相互作用。

[0115] 在患病动物模型中研究了GPC的效果以及DHA、ARA和GPC的组合的效果,其中将患有由胆碱和甲硫氨酸缺乏(MCD)食料(SSNIFF MCD胆碱/甲硫氨酸缺乏的颗粒食料(SSNIFF Spezialdiäten GmbH, Soest, 德国, 产品编号E15653-94))诱发的脂肪变性的雄性Sprague-Dawley大鼠保持胃肠外营养。通过组织病理学确认各组中的脂肪变性(实施例3)。

[0116] 在MCD食料下14天后开始胃肠外营养。胃肠外营养5天后进行第一次测量,接着在9和17天后进行测量。每天的脂质摄入量为2.31g/kg/d。将大鼠如下表I所示分成几个组。

[0117] 两个组作为对照组,其中第一组用盐水溶液(注射用水中0.90%w/v的NaCl)处理。第二组接受在注射用水中含有精制橄榄油(80.0g/L)和精制大豆油(20.0g/L)的脂质乳液(“LE 10%”), pH 6-8; LE 10%还含有卵磷脂(6.0g/L)、甘油(11.25g/L)和油酸钠(0.15g/L)。LE 10%含有100g/L的脂质。在某些实验中,使用不同浓度的脂质乳液“LE”,例如“LE 13%”或“LE 20%”,这表明上述浓度相应地更高。

[0118] 将选自氯化胆碱、甘油磷酸胆碱(GPC)和胞苷二磷酸-胆碱(CDP-胆碱)的各种胆碱衍生物分别以两种浓度(低/高)添加到LE 10%中,参见表I(步骤#2)。“低”是指浓度为15毫摩尔/升脂质乳液,“高”是指浓度为31毫摩尔/升脂质乳液。氯化胆碱((2-羟乙基)三甲基氯化铵),药物二级标准品,购自Sigma-Aldrich (Merck KGaA, 德国)。CDP-胆碱(通过发酵制备)来自TCI Europe N.V. (Antwerp, 比利时)。从蛋磷脂通过皂化制备的甘油磷酸胆碱由德国Lipoid GmbH供应。DHA(来自藻类,裂殖壶菌)和ARA(来自真菌,高山被孢霉)购自德国BASF AG。维生素E购自ADM (IL, U.S.A.)。

[0119] 如下制备补充胆碱衍生物的“LE”脂质乳液。第一步,将生相加热。在油相的情况下,将大豆油和橄榄油、蛋磷脂、以及DHA和ARA油和维生素E在步骤#3实验的情况下在不锈钢烧杯中使用Ultra Turrax连续搅拌的同时,在N₂保护下加热至75°C。通过混合甘油、油酸钠和Milli-Q水制备水相,并在N₂保护下在不锈钢烧杯中恒定加热至约75°C。在需要时,在恒定搅拌下添加所述胆碱衍生物。第二步,如下制备预乳液:使用蠕动泵在连续搅拌下将所述油相添加到所述水相中,然后转移到高剪切在线分散器(例如Dispax Reactor®DR)中,。将接收容器关闭并用氮气冲洗。第三步,将所述预乳液在N₂气氛下、在600巴和约50°C的温度下几次通过高压均质器进行均质化。

[0120] 然后用Milli-Q水将所述乳液调节至所需的体积(2L),并冷却至大约18至28°C、优选20°C至25°C的温度。用0.1N NaOH将pH调节到7.8至8.8的范围,优选调节到约8.3至8.8。将所述乳液用4.5µm过滤器过滤,并转移到100mL的袋子中,然后将其装入外袋(overpouched),利用氧吸收剂/指示剂,供以后使用。然后将所述脂质乳液在121°C高压灭菌,以达到至少15分钟的F0。

[0121] 表I:研究组和实验设置:实验使用标准“LE”脂质乳液,其中将一定量的胆碱源添

加到所述脂质乳液。该测试设置着重于GPC自身的效果,另称为“步骤#2”)

组	脂质乳液/溶液	胆碱当量[mmol/L]	剂量 [mmol/kg/day]
对照 1	盐水溶液	-	-
对照 2	LE 10%	-	-
[0122] 功效	LE 10%	氯化胆碱[15]	0,38*
		氯化胆碱[31]	0,77*
功效	LE 10%	甘油磷酸胆碱[15]	0,38*
		甘油磷酸胆碱[31]	0,77*
功效	LE 10%	CDP-胆碱 [15]	0,38*
		CDP-胆碱 [31]	0,77*

[0123] 在进一步的测试中,使用上述一种LE脂质乳液。然而,如各实验所示,植物甾醇的含量降低。将所述植物固醇贫化的LE脂质乳液补充浓度为40微克/毫升脂质乳液的维生素E用于测试,参见表II。另外,所述脂质乳液中含有终浓度为约2至3g/L的DHA。所述脂质乳液中含有终浓度为约5至6g/L的ARA。与步骤#2 (40mmol/L) 相比,此处的GPC浓度略高,但剂量保持在如表I所示的0.77mmol/k/d。该测试设置,其还考虑了DHA和ARA与GPC一起在制剂中的协同效应,在本文中标记为“步骤#3”。

[0124] 表II:研究组和实验设置:实验使用如上所述的植物甾醇贫化的“LE”脂质乳液,其中按指示添加了GPC以及DHA和ARA。该测试设置另称为“步骤#3”)。

组	脂质乳液/溶液	胆碱源 [mmol/L]
对照	盐水溶液	-
[0125] 对照	LE 13%, 植物甾醇贫化的, + DHA 和 ARA + 维生素 E 补充 (40 µg/mL LE)	无
功效	LE 13%, 植物甾醇贫化的, +维生素 E 补充 (40 µg/mL LE)	甘油磷酸胆碱[40 mmol/L]
功效	LE 13%, 植物甾醇贫化的+ DHA 和 ARA + 维生素 E 补充 (40 µg/mL LE)	甘油磷酸胆碱[40 mmol/L]

[0126] 实施例2:氨基移换酶 (ALT) 发展

[0127] 为了评估GPC对如实施例1所述测试的动物的肝脏状况的效果,在步骤#2和步骤#3设置中,均测试了胃肠外营养5天和17天后被测动物血浆中的氨基转移酶 (ALT) 活性。如前所述,可以通过氨基转移酶水平增加来确定肝损伤 (胆汁淤积)。ALT活性用ADVIA 1800血液生化分析仪/IFCC修正版 (Siemens) 根据例如如前所述的标准方案确定。

[0128] 为了总结实验结果,图1显示了被测大鼠中ALT活性的发展。从那里可以看出,用LE

10%经过17天胃肠外营养后,ALT活性有预期的增加。相比之下,在脂质乳液中存在胆碱源的研究组中,ALT活性没有增加。然而,该效果在GPC的存在下最为明显,其中可以确定ALT活性明确下降。相比之下,氯化胆碱和CDP-胆碱则提供了一种稳定的状况,其中ALT活性既不显著增加也不降低。值得注意的是,LE脂质乳液中所含的磷脂酰胆碱似乎没有任何效果,证实了身体不能利用脂质乳液中以磷脂酰胆碱形式提供的胆碱。

[0129] 在鉴定GPC为降低ALT活性并从而降低肝损伤的惊人有效的胆碱衍生物后,另一项实验着重于GPC与PUFA DHA和ARA之间的协同作用。如表III中进一步所示,使用如实施例1中所述的脂质乳液。

[0130] 图2根据相对于正常值活性的变化总结了ALT活性的结果。该测试包括一个用组合物做的实验,所述组合物中根据步骤#3设置如图2所示降低了脂质乳液中的植物甾醇含量。结果还表明,盐水溶液以及没有胆碱源且具有正常植物甾醇含量的脂质乳液(“LE”)都导致ALT活性增加,证明了肝脏的进行性恶化。相反,两种具有GPC(40mmol/L)的脂质乳液,无论植物甾醇含量如何,均导致ALT活性显著降低。图2中显示了植物甾醇剂量。LE 13%脂质乳液中所含的植物甾醇的浓度为40 μ g/mL至120 μ g/L。值得注意的是,在此使用的脂质乳液中所含的磷脂酰胆碱似乎没有任何效果,证实了身体不能利用脂质乳液中以磷脂酰胆碱形式提供的胆碱。

[0131] 实施例3:组织病理学等级的确定

[0132] 实施例3.1:组织学薄片的制备

[0133] 将肝脏的一部分保存在缓冲的福尔马林中,并根据适用的RITA指南(Ruehl-Fehlert等人,Exp Toxic Pathol 2003,55,91-106)修剪输注部位和取样的宏观病变,包埋在石蜡中,切成约4微米的厚度,并用苏木精-曙红染色。将冷冻的肝脏样品冷冻切片为约5微米的薄片,并用油红O染色。在Citoxlab France进行组织处理。

[0134] 实施例3.2:显微镜检查

[0135] 对该研究的所有动物的肝脏、输注部位和宏观病变的两种薄片(苏木精曙红和油红O)均进行了显微镜检查。对来自高剂量组的至少30%的动物和来自被鉴定的目标器官的足够数量的薄片进行同行评审,以确认由研究病理学者记录的发现结果是一致且准确的。病理学同行评审完成后,所有组织薄片均返回Citoxlab France进行存档。在显微镜检查期间,由病理学者斟酌决定制作代表性照片。

[0136] 实施例3.3:平均组织学空泡形成

[0137] 如上所述检查分别在8天和15天后采集的肝脏样品,并将其归属成肝细胞空泡形成的五个等级。对于5级,空泡形成通常是弥漫的并侵袭所有区域。对于较低等级,门脉周区域受侵袭较少并且空泡尺寸较小。根据以下定义归属等级:

[0138] 1级=轻微/很少/很小的空泡,散在。

[0139] 2级=轻度/少数/小的空泡,小叶中心到中带。

[0140] 3级=中度/中等数量/中等大小的空泡,小叶中心到中带。

[0141] 4级=明显/很多/大的空泡,小叶中心到门脉周。

[0142] 5级=重度/很多/大的空泡,弥漫,侵袭所有肝区。

[0143] 图5显示了每个等级的示例性照片。所显示的组织学薄片用苏木精-曙红(HE)染色。

[0144] 8天后,根据5级的空泡形成,施用盐水溶液导致4只动物中的4只显示出肝损伤迹象(参见表IV)。用LE 13%在DHA和ARA存在的情况下进行胃肠外营养已经对肝脏组织病理学产生了积极的效果。在五只动物中,有两只仍显示5级空泡形成。然而,这五只动物中三只的肝脏可以归属到4级。在DHA和ARA之外还存在GPC的情况下,肝脏的空泡形成更加改善。五只动物中只有一只显示出5级肝损伤迹象,而另两只大鼠显示出4级症状和两只显示3级症状。最后,如果向脂质乳液仅添加GPC,则五只大鼠均未显示出5级肝损伤。三个显示4级,一个显示3级,一个甚至显示2级空泡形成。

[0145] 表IV:8天后肝脏的显微镜变化

第8天时肝脏中的相关显微镜变化				
组	1	2	3	4
处理	盐水溶液	LE 13% + DHA + ARA	LE 13% + DHA + ARA + GPC	LE 13% + GPC
动物数	4	5	5	5
肝细胞空泡形成:				
2级	-	-	-	1
3级	-	-	2	1
4级	-	3	2	3
5级	4	2	1	-

[0147] 经过15天的胃肠外营养后,上述效果更加明显。尽管接受盐水溶液的那些动物的肝脏状况仍然像可预期的那样严重,但是脂质乳液中GPC的存在以及DHA、ARA和GPC的全部存在导致动物的肝脏状态明确而显著的改善。在15天后,还明显可见除了GPC外还存在一定浓度范围内的DHA和ARA甚至导致协同改善结果。图3B根据以上定义的等级,总结了DHA、ARA和GPC对肝脏空泡形成的效果。该图显示了在所有DHA、ARA和GPC的存在下肝脏状况的显著好转,其中在脂质乳液中已经有益地存在DHA和ARA的情况下,GPC似乎具有额外的令人惊讶的影响。

[0148] 进行相同的组织病理学测试以比较胆碱衍生物单独的效果,即在没有DHA和ARA的情况下。图3A总结了动物研究组的肝脏的组织病理学检查结果。在高(31mmol/L)和低(15mmol/L)GPC浓度下,GPC的效果都明显更好。CDP-胆碱(低浓度,15mmol/L)也有效果。高浓度(31mmol/L)的CDP-胆碱组无法归属等级。接受氯化胆碱作为脂质乳液的一部分的组(高浓度和低浓度)的情况好于仅用盐水或没有任何胆碱衍生物的脂质乳液的组。然而,用所述补充氯化胆碱的脂质乳液不能在任何相关程度上解决所述肝损伤。

[0149] 表V:15天后肝脏的显微镜变化

第 15 天时肝脏中的相关显微镜变化				
组	1	2	3	4
处理	盐水溶液	LE 13% + DHA + ARA	LE 13% + DHA + ARA + GPC	LE 13% + GPC
动物数	5	5	5	5
肝细胞空泡形成:				
2级	-	1	1	2
3级	-	-	4	2
4级	-	2	-	1
5级	5	2	-	-

[0150]

[0151] 实施例4:肝脏比体重的发展

[0152] 进一步评价如实施例1所述的研究组关于肝重对体重的发展。如前所述,肝重增加与体重增加不成比例对肝损伤、特别是脂肪变性的发展而言是典型的。图4同样对接受仅盐水溶液、LE 10%、以及添加了前述浓度(“高”:31mmol/L)的胆碱衍生物的相同脂质乳液的那些动物组显示了肝脏与体重的百分比比率结果。可以看出,单独施用脂质乳液导致所述比率增加,表明由于肝损伤(脂肪变性)导致肝重增加。添加氯化胆碱或CDP-胆碱均导致该比率降低,从而改善肝脏状态。然而,用GPC再次实现了该比率的最明显降低。同样,脂质乳液中所含的磷脂酰胆碱似乎没有任何效果。

[0153] 实施例5:脂质乳液在胆碱衍生物存在下的稳定性

[0154] 除了研究胆碱衍生物在解决肝损伤中的功效外,进一步评估了如实施例1所述制备的脂质乳液在灭菌后它们各自的稳定性(参见表VI)。发现与氯化胆碱或CDP-胆碱相比,在GPC存在下脂质乳液的稳定性得到改善。实际上,发现氯化胆碱和CDP-胆碱在灭菌(加热)期间使脂质乳液不稳定。含有氯化胆碱或CDP-胆碱的脂质乳液在灭菌期间导致脂质乳液的相分离。在GPC存在下,脂质乳液保持稳定。

[0155] 表VI:在不同胆碱衍生物存在下脂质乳液在灭菌时的稳定性

胆碱衍生物	浓度 (mmol/L)	被测脂质乳液: LE (%)	评注
氯化胆碱	15	10, 13, 20	灭菌期间相分离
甘油磷酸胆碱	30	10, 20	稳定的乳液
CDP-胆碱	30	10	灭菌期间相分离

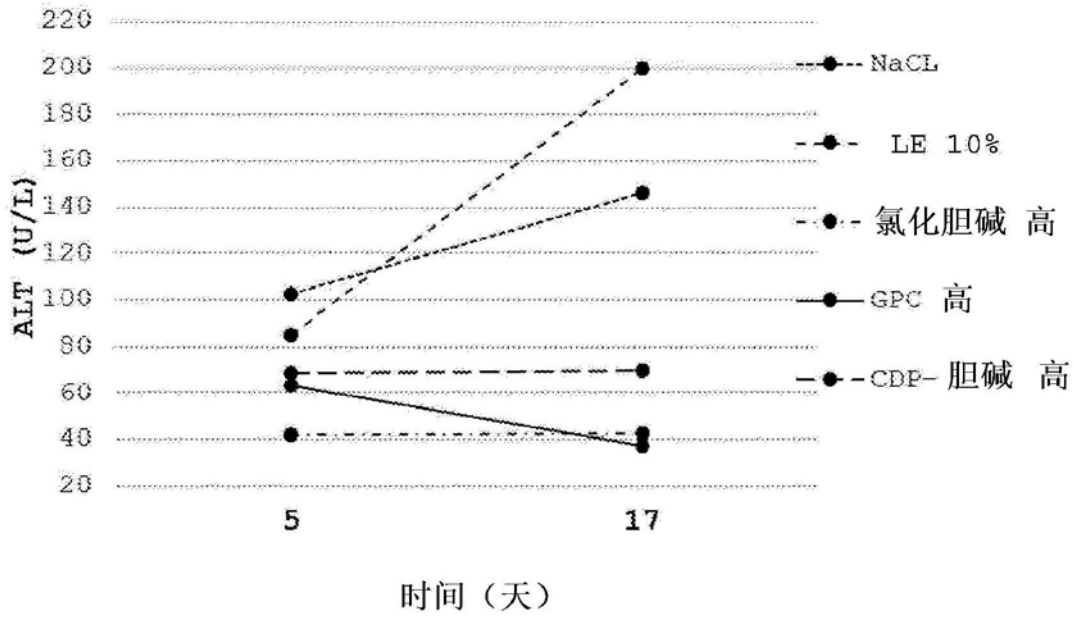


图1

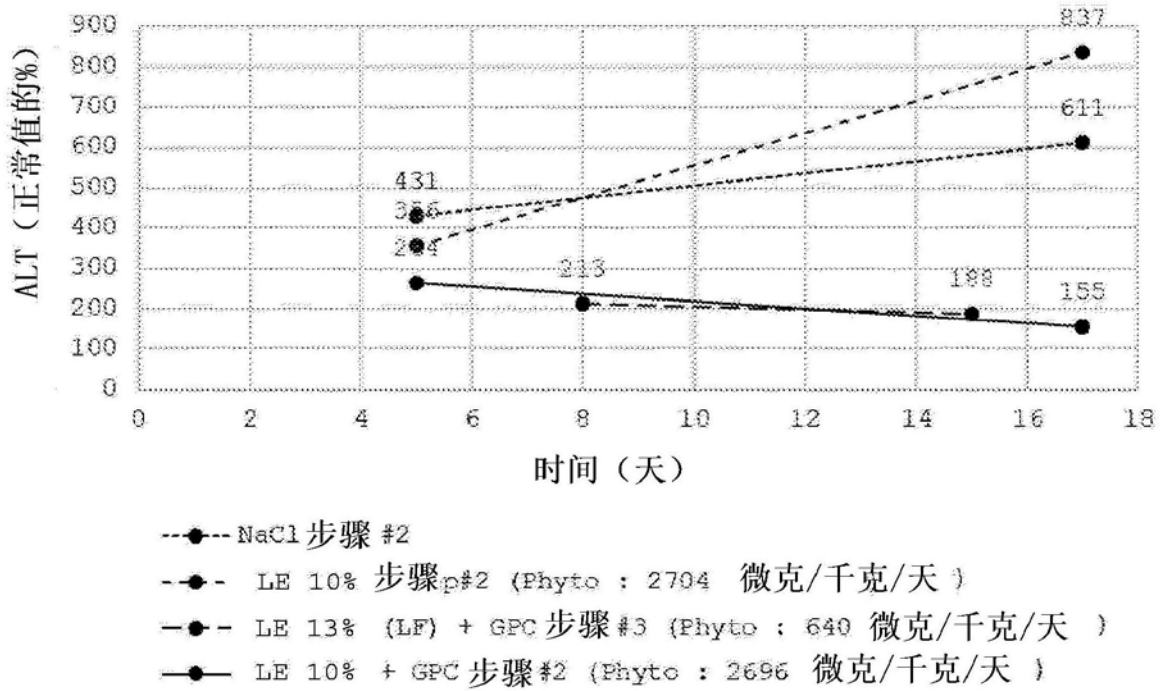


图2

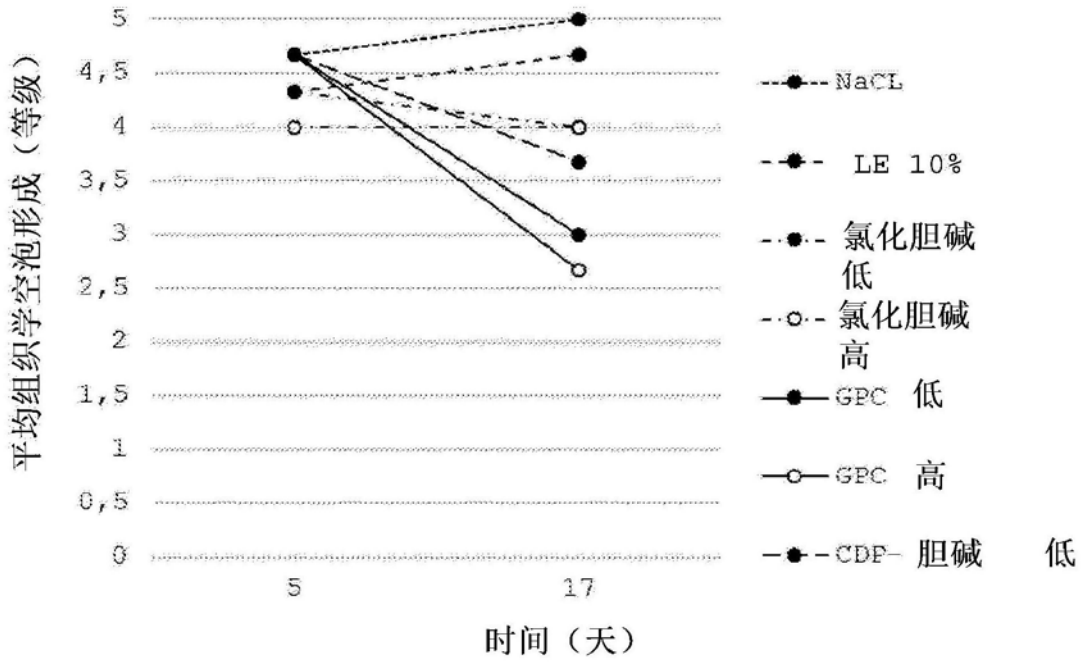


图3A

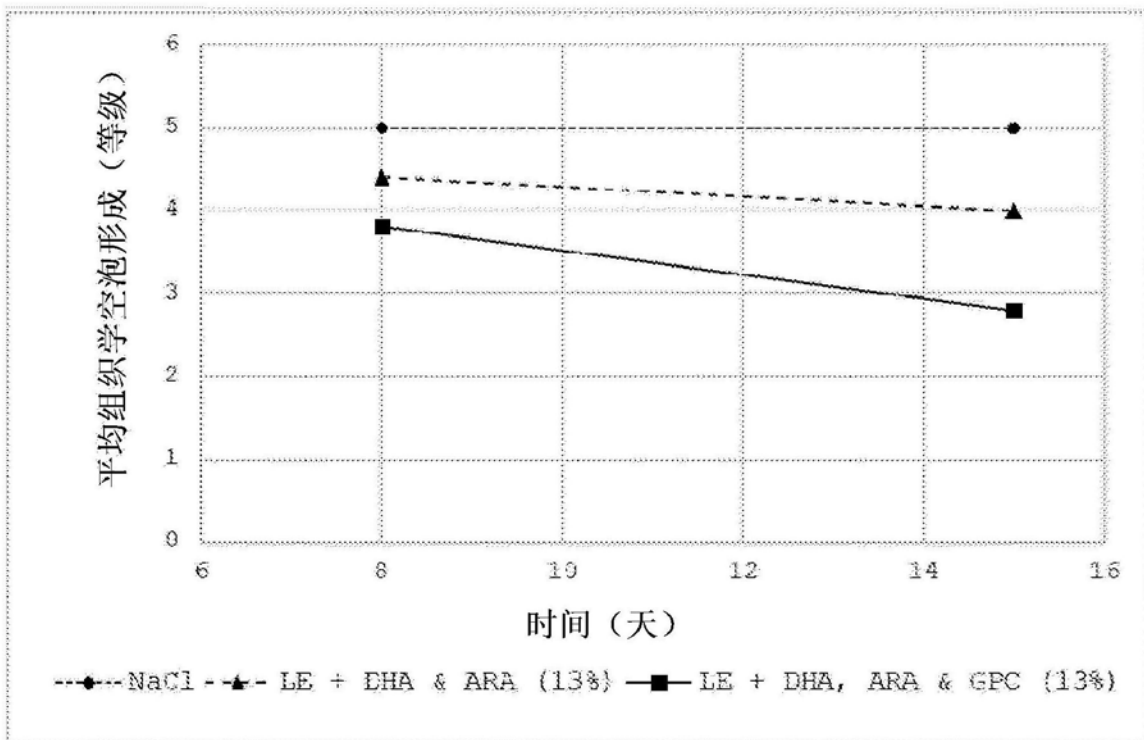


图3B

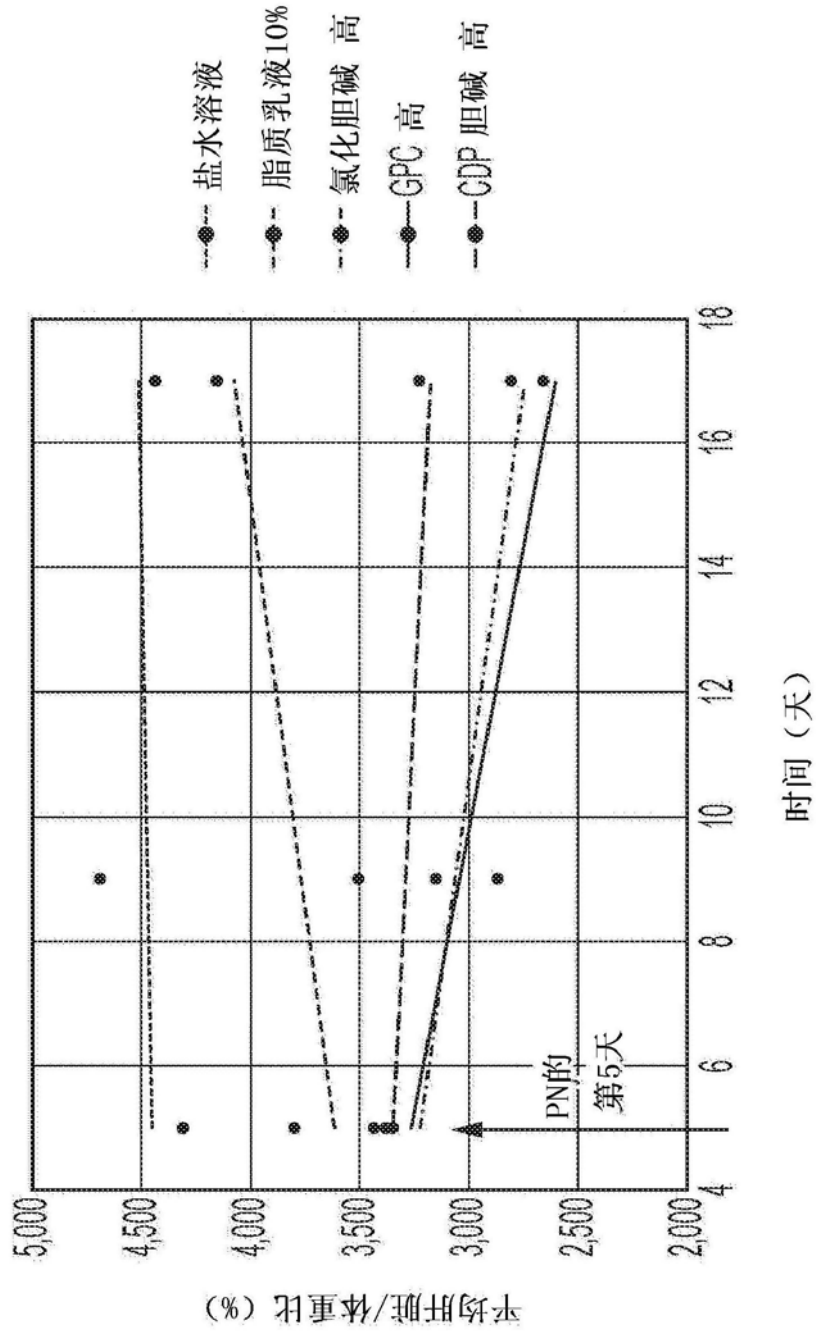


图4

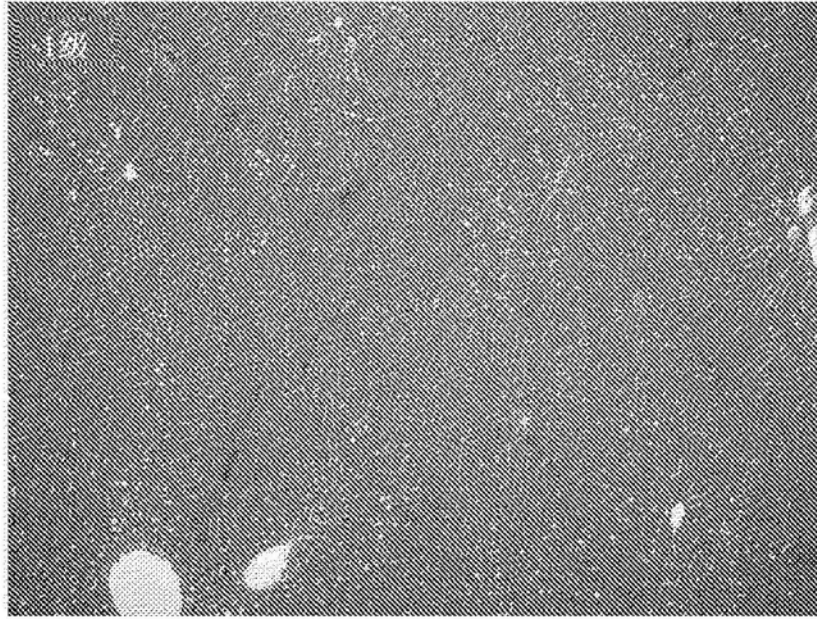


图5A

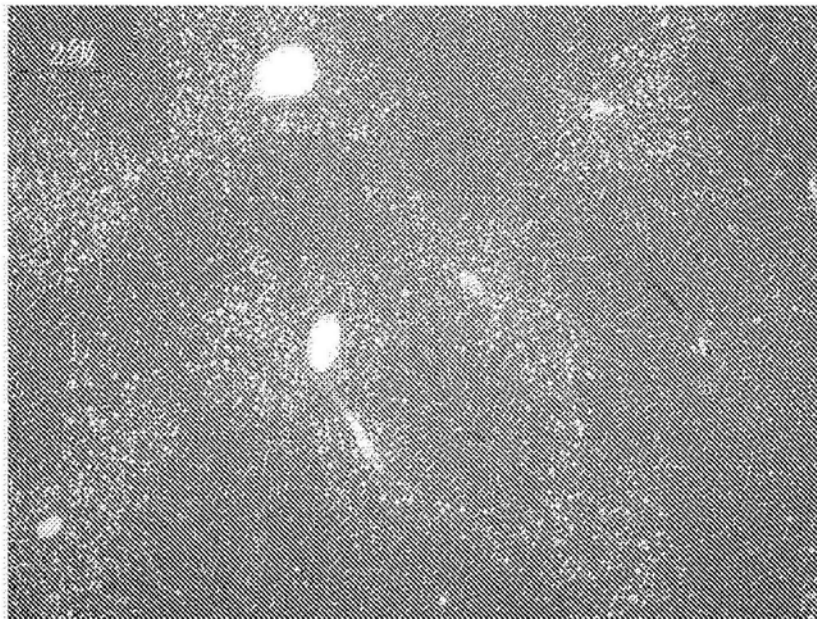


图5B

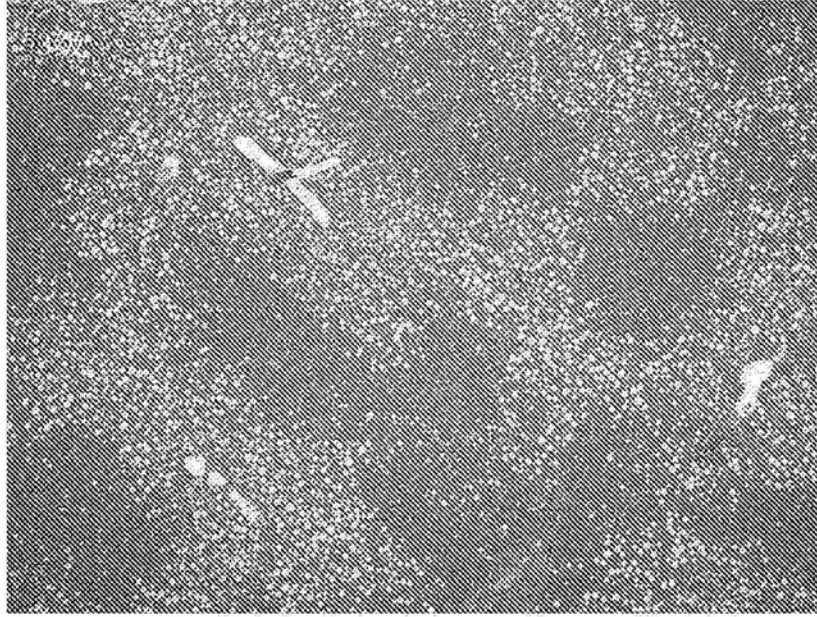


图5C

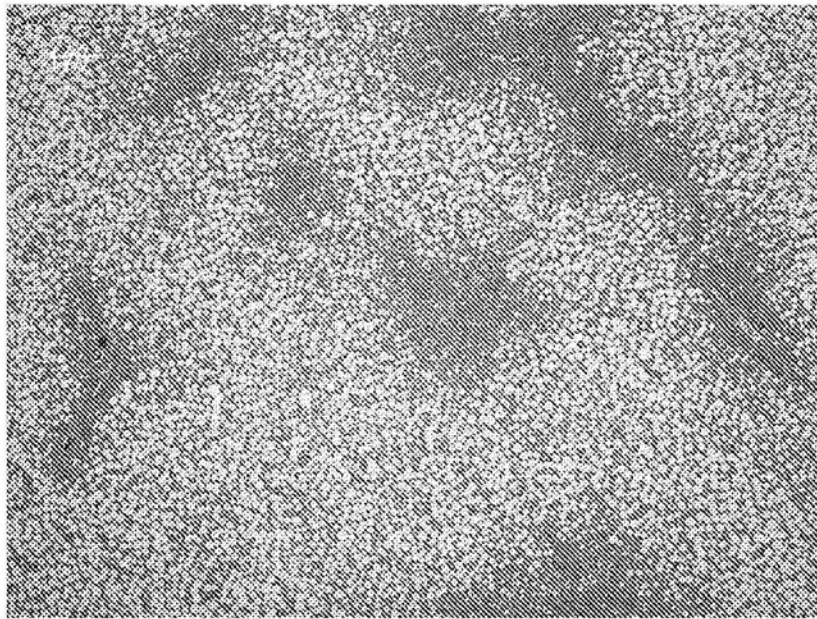


图5D

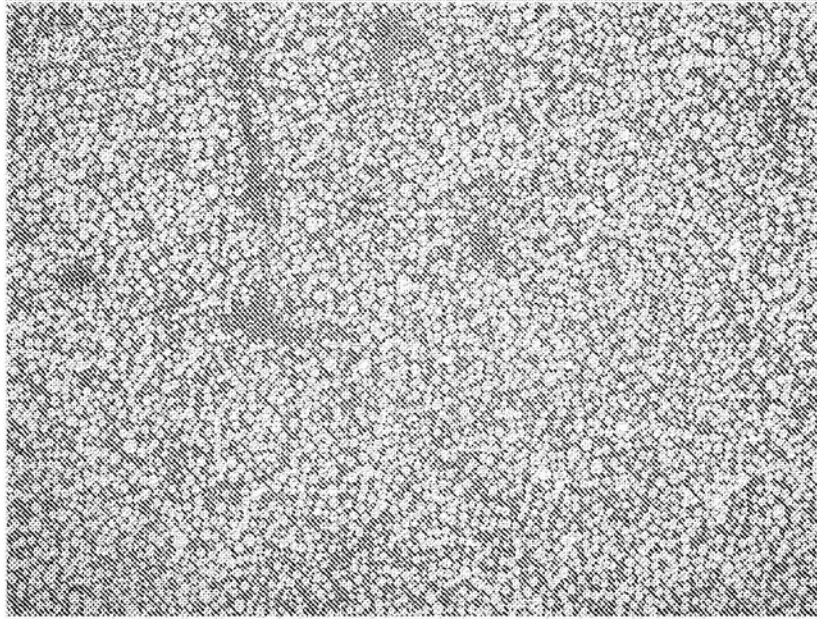


图5E