

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 33/42 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200480039040.1

[43] 公开日 2007年12月26日

[11] 公开号 CN 101094681A

[22] 申请日 2004.10.27

[21] 申请号 200480039040.1

[30] 优先权

[32] 2003.10.28 [33] US [31] 60/515,174

[86] 国际申请 PCT/US2004/035541 2004.10.27

[87] 国际公布 WO2005/044189 英 2005.5.19

[85] 进入国家阶段日期 2006.6.26

[71] 申请人 爱默雷大学

地址 美国佐治亚洲

[72] 发明人 W·查尔斯·欧内尔

科巴·洛马士威尔

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 陶贻丰 郑霞

权利要求书4页 说明书25页 附图5页

[54] 发明名称

透析液及其相关方法和系统

[57] 摘要

本发明公开了治疗例如血管钙化病症的组合物、系统和方法。代表性的方法包括向需要治疗的个体施用有效量的至少一种效应剂。另一方法包括通过向需要治疗的个体进行至少一种效应剂的有效量的给药以预防性的治疗血管钙化或血管钙化相关疾病。其他方法包括通过向需要血液透析治疗的个体进行至少一种效应剂的有效量的给药以治疗血管钙化。

1. 一种向需要治疗的个体提供血管钙化治疗的方法，其包含对个体施用有效量的焦磷酸盐型化合物的步骤。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是焦磷酸碱金属盐。

3. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物选自焦磷酸四碱金属盐、焦磷酸二酸二碱金属盐、焦磷酸单酸三碱金属盐及其混合物。

4. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物选自焦磷酸四钠、焦磷酸四钾、焦磷酸二钙、磷酸、酸式焦磷酸钠、焦磷酸二氢钠及其混合物。

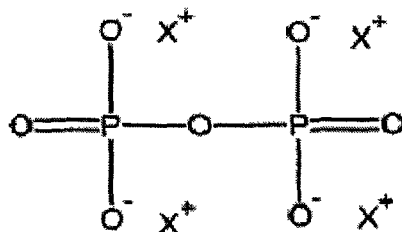
5. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述血管钙化是由肾脏疾病或肾衰竭引起的。

6. 根据权利要求 1 所述的方法，其进一步包含使用透析液治疗个体。

7. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析液流体中向所述个体施用。

8. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析期间向所述个体施用。

9. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物具有下列结构通式：



其中 X 选自氢和阳离子中至少之一。

10. 根据权利要求9所述的方法，其中每个X独立地选自氢、钠、钾和钙中至少之一。

11. 根据权利要求1所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析液流体中以焦磷酸盐型化合物浓度至少约 $1\mu\text{M}$ 向所述个体施用。

12. 根据权利要求1所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析液流体中以焦磷酸盐型化合物浓度约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ 向所述个体施用。

13. 根据权利要求1所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析液中以焦磷酸盐型化合物浓度从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ 向所述个体施用。

14. 一种预防性治疗血管钙化的方法，其包含向需要治疗的个体施用有效量的至少一种焦磷酸盐型化合物。

15. 根据权利要求14所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是焦磷酸碱金属盐。

16. 根据权利要求14所述的方法，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析液中向所述个体施用。

17. 一种药用组合物，其包含与药学上可接受的载体组合的至少一种焦磷酸盐型化合物，其中所述至少一种焦磷酸盐型化合物以有效治疗血管钙化的剂量水平存在。

18. 根据权利要求17所述的药用组合物，其中所述至少一种焦磷酸盐型化合物是焦磷酸碱金属盐。

19. 根据权利要求17所述的药用组合物，其中所述至少一种焦磷酸盐型化合物包括所述焦磷酸盐型化合物在药学上可接受的盐类。

20. 根据权利要求17所述的药用组合物，其中所述至少一种焦磷酸盐型化合物包括所述焦磷酸盐型化合物在药学上可接受的前药。

21. 根据权利要求17所述的药用组合物，其中所述药学上可接受的载体为透析液。

22. 一种向需要血液透析的个体进行血液透析的方法，其包含下列步

骤:

在血液透析系统中跨膜扩散包含至少一种焦磷酸盐型化合物的透析液; 并且

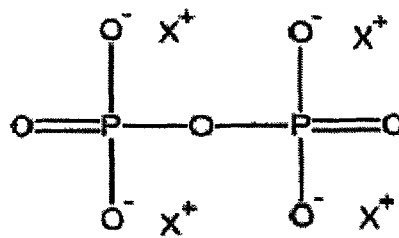
将所述个体暴露于有效量的所述焦磷酸盐型化合物。

23. 根据权利要求 22 所述的方法, 其中所述焦磷酸盐型化合物是一种焦磷酸碱金属盐。

24. 根据权利要求 22 所述的方法, 其进一步包含通过将所述个体暴露于有效量的所述焦磷酸盐型化合物来治疗所述个体的血管钙化。

25. 一种透析浓缩液, 其包含至少一种焦磷酸盐型化合物。

26. 根据权利要求 25 所述的透析浓缩液, 其中所述至少一种焦磷酸盐型化合物具有下列结构通式:

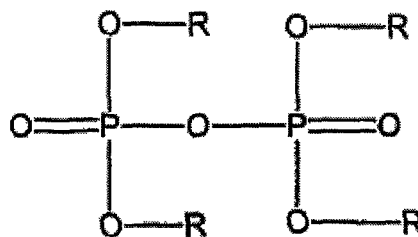


其中 X 选自氢和阳离子中至少之一。

27. 根据权利要求 26 所述的透析浓缩液, 其中每个 X 独立地选自氢、钠、钾和钙中至少之一。

28. 根据权利要求 25 所述的透析浓缩液, 其中所述焦磷酸盐型化合物在所述透析浓缩液中以约 50 μM 至约 1mM 的浓度存在。

29. 根据权利要求 25 所述的透析浓缩液, 其中所述至少一种焦磷酸盐型化合物具有下列结构通式:



其中 R 独立地选择为：氢、烷基类、芳基类、卤素基团类（F、Cl、Br 与 I）、羟基类、烷氧基类、烷氨基类、二烷氨基类、酰基类、羧基类、羰氨基类（carboamido groups）、磺酰胺基类（sulfonamide）、氨酰基类、酰胺基类、胺基类、硝基类、有机硒化合物类、烃类、环状烃类、氢、氮、氧、硫、NR 及 CR 中的至少一种官能团。

30. 一血液透析系统，其包含：

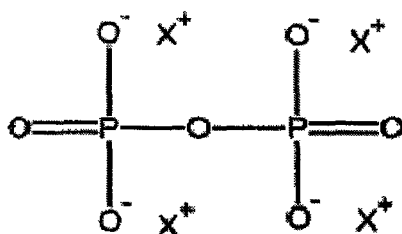
一血液腔；

一膜，其与所述血液腔有流体交流；以及

一透析腔，所述透析腔包含透析液，所述透析液包含焦磷酸盐型化合物。

31. 根据权利要求 30 所述的血液透析系统，其中所述焦磷酸盐型化合物为一种焦磷酸碱金属盐。

32. 根据权利要求 30 所述的血液透析系统，其中所述焦磷酸盐型化合物具有下列结构通式：



其中 X 选自氢和阳离子中至少之一。

33. 根据权利要求 32 所述的血液透析系统，其中每个 X 独立地选择为氢、钠、钾和钙中至少之一。

34. 根据权利要求 30 所述的血液透析系统，其中所述焦磷酸盐型化合物是在透析液中以焦磷酸盐型化合物浓度至少约 $1 \mu\text{M}$ 向个体给药。

透析液及其相关方法和系统

相关申请的相互参照

本申请要求享有共同未决的(copending)于2003年10月28日提交,序列号为No.60/515174,题为“焦磷酸盐透析液浓缩物”(“Pyrophosphate Dialysate Concentrate”)的美国临时申请的优先权,其全部内容在此引入作为参考。

发明领域

本发明的公开内容通常涉及向个体给药的组合物、系统、试剂和方法,更具体地说,涉及专门治疗血管钙化的组合物和试剂。

背景技术

血液透析是一种通过使用透析器之类的过滤膜从血液中去掉微溶(microscopic soluble)毒素的过程。透析治疗取代了通常作为人体天然的过滤系统的肾。通过使用血液过滤器和已知的化学溶液作为透析液,此种疗法能去除血流中废物和过量的液体,同时维持血液正常的化学平衡。然而,其最普遍的应用是对于暂时性或永久性肾衰竭的患者。对于患有晚期肾病(ESRD)的患者,他们的肾不再能够从他们的身体充分地去除液体和废物或维持血液中某些肾调节的化学物质的适当水平,除了肾移植,透析是唯一有效的治疗选择。

在美国,血液透析是透析治疗中最经常的处方类型。该疗法通过体外循环(ECC)或透析循环,涉及病人在身体外循环的血液。两个针头插入病人静脉或发病点(access site),并与ECC相接,ECC中包括塑料血管、已知为透析器(人工肾)的过滤器和透析机器,其监测和维持血流并引入透析液。小的、不需要的化合物,如毒素,从血液扩散至透析液,而较大

的化合物如蛋白质保留在血液中。透析液是化学浴液 (chemical bath)，其用于从血液中去掉废物。由于属于血液正常成分的小分子也经膜扩散，将它们加入透析液以阻止它们的流失。一般，透析液包含离子 (如: Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+})、缓冲液 (HCO_3^-) 和葡萄糖，以预防如果在血液透析过程中这些重要化合物的血液水平受到消耗将导致的严重副作用。

自从 20 世纪 80 年代，在美国，血液透析治疗主要是使用空心纤维透析器。空心纤维透析器由上千条管状空心纤维束组成，这些纤维束被裹在一个透明的直径为几英寸的塑料圆桶中。在透析器中有两个腔 (血液腔和透析腔)。分割这两个腔的膜是半透性的。这意味着它允许特定大小的分子通过，但阻止其他较大的分子通过。当血液单向通过血液腔，吸力或真空压则推着透析液以逆流或反向通过透析腔。反向压力做功使血流中排出过多液体，并进入透析液中，这一过程叫作超滤。

被称作扩散的第二个过程将血液中的废物跨膜转运至透析腔，在那里它们被带出体外。同时，透析溶液中的电解质和其他化学物质跨膜进入血液腔。经纯化、化学平衡后的血液接着被返回体内。

许多与透析相关的风险和副作用是该治疗与 ESRD 患者羸弱的身体状况相结合的结果。目前透析治疗具有有限的有效性，以及许多严重的意想不到的副作用。从 W. J. Kolff 和 H. Berk 在 1943 年研发了第一部实用人血液透析机，这些疗法只有逐步地发展。

血液透析和/或 ESRD 的一个长期的副作用是钙在血管中的沉积，以血管钙化为人们所知。这种钙化发生于大小动脉的中层，其处于平滑肌细胞间的基质，也以门克伯格式动脉硬化 (Monckeberg's arteriosclerosis) 知名。据认为高磷酸盐血症成为晚期肾衰竭患者血管中层钙化 (medial vascular calcification) 的原因，但在没有高磷酸盐血症的其他情况下也会发生钙化，这显示其他因素也在发生作用。高磷酸盐血症的一个副作用是在血液和软组织中形成磷酸钙结晶。

在 ESRD 中预防血管中层钙化的临床实践是基于设想只证明 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 血浆浓度大于 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的溶度积。然而，大量数据显示这不是全

部的解释。中层钙化通常见于老年人，并且在一些遗传缺陷中发生，都是在正常的血浆钙和磷酸盐浓度存在下。这些观察表明钙化可在正常血浆钙和磷酸盐浓度下发生，并且在个体中抑制这些的机理通常是正常的。因而，血管钙化可视为这些抑制机制的故障。

在现有技术中，并不知道进行血液透析的方法在某种意义上可降低钙沉积。

发明概述

简要地说，本公开内容中的实施方案包含透析液与涉及透析液的方法及系统。具体而言，本公开内容的一个典型方法包含对需要治疗的个体提供血管钙化治疗，其中治疗方法包括向个体施用有效量的焦磷酸盐型化合物。本公开内容的另一个典型方法包括对需要的个体进行血液透析，其中血液透析包括在血液透析系统中，将包含至少一种焦磷酸盐型化合物的透析液跨膜扩散，并使个体暴露于有效量的焦磷酸盐型化合物。

本公开内容所包含的透析液和组合物涉及焦磷酸盐型化合物。例如，本公开内容包含药用组合物，该组合物包含与药用可接受载体组合的至少一种焦磷酸盐型化合物，其中至少一种焦磷酸盐型化合物以有效治疗血管钙化的剂量水平存在。本公开内容中另外的典型组合物是包含至少一种焦磷酸盐的透析液浓缩剂和透析液。

本公开内容也包含用于血液透析患者的系统。一个典型的系统包括血液腔、与血液腔流体交流（communication）的膜和透析液腔，其中透析液腔包括具有焦磷酸盐型化合物的透析液。

结合下列附图和详细说明，本说明书的其他系统、方法、特征和优点对于本领域中的技术人员来说是明显的。所有这些系统、方法、特征和优点都将包括在本发明中，在本发明的范围内，并由所附的权利要求受到保护。

附图简述

参照下列附图,可更好地理解本发明的许多方面。附图中组分未标示,而重点在于清楚地说明本发明的原理。

图 1 是说明常规受治疗者中($n = 36$)和透析前血液透析患者中($n = 38$)血浆焦磷酸盐的浓度的典型图示。线条表示平均数。SUBJECT

图 2 是说明体外磷酸盐透析结果的典型曲线图。与无钙标准临床浴液(clinical bath)对比,4L 的无钙焦磷酸生理盐水溶液以 400ml/mm 循环通过 2.1m² 的醋酸纤维素透析膜。按照显示的各时间测量焦磷酸盐的浓度。连线代表单指数拟合。

图 3 是说明血液透析后血浆焦磷酸盐浓度变化的典型曲线图。透析前和透析后均立即从预透析器管中提取出样品。向左和向右的线段分别表示透析前后的平均值。

图 4 是说明血液透析后红细胞中焦磷酸盐浓度变化的典型曲线图。透析前和透析后均立即从预透析器管中提取出血浆样品,并将洗过的红细胞用 HClO₄ 提取。向左和向右的线段分别表示透析前后的平均值。

图 5 是说明焦磷酸盐抑制血管钙化的典型条形图。具体而言,图 5 说明了在 DMEM 中培养 9 天的主动脉中掺入钙,此 DMEM 培养基包含 3.8mMPO₄⁻³, 含或不含 12-20 单位/ml 的无机焦磷酸酶。结果显示了至少 10 个主动脉环的平均值,其中相对于对照 $p < 0.001$ 。

图 6 是说明用无机焦磷酸酶培养 9 天,用苏木精和曙红在腔表面左侧染色,并放大 400 倍的主动脉组织学玻片的典型显微照片。

图 7 是说明用无机焦磷酸酶培养 9 天,用 von Kossa 染色于腔表面左侧,并放大 400 倍的主动脉组织学玻片的典型显微照片。

图 8 是说明用焦磷酸盐抑制受伤的主动脉钙化的典型曲线图。受伤的主动脉在含有 3.8mM PO₄⁻³ 和不同浓度的焦磷酸盐的 DMEM 中培养 6 天。结果为至少 4 个主动脉环的平均值。

图 9 是典型血液透析系统的方块图,该系统包含所公开的一些组合

物，并用于完成所公开的方法。

发明详述

参照下列详细描述和包含于此的实施例，可更容易地理解本发明。

在本化合物、组合物及方法被公开和描述之前，应当理解成该公开内容并非限于具体的药用载体，或特定的药用制剂或给药方案，因为这些当然可以变化。也可以理解的是并非受限于此处所用的术语，这些术语仅用于描述具体的实施例。

定义

术语“个体”或“患者”是指具有至少一个细胞的任何活的实体。一个活的生物体可以如单个真核细胞那样简单，也可如哺乳动物，包括人类等那样复杂。

术语“焦磷酸盐”和“焦磷酸盐型化合物”在全文中互换使用，并涉及包含化学式 $(P_2O_7)^{4-}$ 的任何化合物或制剂，其包含酸酐制剂，以及任何焦磷酸的盐或酯。术语“酯”包含具有通式 $RCOOR$ 的官能团，其中R代表相同或不同的脂肪族基团类（例如烷基类、链烯基类、炔基类、环烷基类、环烯基类（cycloalkenyl groups）等）、芳基类（例如杂环基类、芳基类等）和/或氢离子类。Kirk & Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology（化学工艺百科全书），Second Edition, Volume 15, Interscience Publishers (1968)更详细地描述了焦磷酸盐的实例。尽管这些焦磷酸盐作为实例，但本公开内容并不仅限于Kirk & Othmer列举的具体的焦磷酸盐。

术语“衍生物”是指对公开的化合物的修饰物，其包含，但不限于：公开的化合物的水解、还原或氧化产物。水解、还原和氧化反应在本领域是公知的。

此处所用术语“治疗有效量”涉及被给药的化合物的量，其将在一定程度缓解被治疗病症的一种或多种症状。关于血管钙化或涉及血管钙化的

病症，治疗有效量是指具有下列作用的量：（1）减少血管钙化的量；（2）抑制（即：一定程度的延缓，及优选的是阻止）血管钙化；（3）预防和/或减少血管钙化；（4）一定程度缓解（或优选的是消除）一种或多种症状，该症状相伴于和血管钙化相关或部分由血管钙化造成的病状；和/或（6）预防导致病理症状的最初缺血病症的事件链下游。至于“治疗有效量”的一种或多种效应剂（effector agent），它是指用足量的一种或多种效应剂来治疗血管钙化和血管钙化相关的病症，其以合理的利益/风险比应用于任何内科治疗。例如，一种或多种效应剂的“治疗有效量”是指与不进行一种或多种效应剂的给药相比，足以减轻、改善、稳定、逆转、延缓和/或延迟病情的进程或发病的用量。

然而，可以理解的是，在正确的医学判断范围内，本公开内容的效应剂的全部的每日用法将由主治医生来决定。针对任何特定个体的具体治疗有效剂量水平将取决于多种因素，包括例如：在治疗的病症及病症的严重程度；使用的具体效应剂的活性；患者使用的具体效应剂、患者的年龄、体重、一般健康情况、性别和饮食；给药时间；给药途径；所用的特定效应剂的排泄率；治疗持续时间；与使用的具体组合物联合或同时用药；以及医学领域公知的类似因素。例如，效应剂的开始剂量水平低于要求达到的期望治疗水平，并逐步增加剂量至达到期望效果，这对于本领域技术人员是可以的。

效应剂优选地以易于给药和均匀剂量的单位剂量形式来配制。此处所用的“剂量单位形式”是指适合于待治疗个体的效应剂的物理分散单位。每个剂量单位应含有经计算可产生期望治疗作用的或与所选择的药用载体介质相关的效应剂的量。优选单位剂量制剂是含有进行给药的效应剂的剂量或单位、每日分次剂量(daily sub-dose)，或含有在一次透析治疗期间正常给药的适当成分。在这一方面，进行了研究以评估焦磷酸盐（PPi）化合物的给药方案。

本公开内容的效应剂和组合物（下文的“效应剂”）可用于治疗病症，例如，但不限于：血管钙化及血管钙化相关疾病。此外，本公开效应剂可用于预防以抑制和/或延缓血管钙化及血管钙化相关病症和/或血管钙化晚

期阶段及血管钙化相关病症晚期阶段的发展。本公开效应剂可与一种或多种药学上可接受的载体介质和/或赋形剂结合用作有效成分。

“药学上可接受的盐”是指那些保持游离碱的生物作用和性质的盐类，以及通过与无机酸或有机酸反应得到的盐类，这些酸例如，但不限于：盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸、苹果酸、马来酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸及类似的酸。用“药学上可接受的盐”是指那些在正确医学判断范围内，适合用于与个体组织接触而没有异常的毒性、刺激、过敏反应等，并且与合理的利益/风险比相称及使其预期用途有效的盐类。所述盐类可在一种或多种效应剂的最后分离及纯化期间现制，或通过合适的有机酸与游离碱分别反应。

此处所用的术语“药学上可接受的酯类”是指那些在正确医学判断范围内，适合用于与个体组织接触而没有异常的毒性、刺激、过敏反应等，并与合理的利益/风险比相称及使其预期用途有效的一种或多种效应剂的酯类。

此处所用的术语“药学上可接受的一些前药”是指那些在正确医学判断范围内，适合用于与个体组织接触而没有异常的毒性、刺激、过敏反应等，并且与合理的效益/风险比相称及使其预期用途有效的一种或多种效应剂的前药。如果可能的话，药学上可接受的前药也包括组合物中一种或多种化合物的两性离子形式。术语“前药”是指在体内快速转化以产生母体化合物的化合物，例如通过在血液中水解。

“药用组合物”是指一种混合物，其包含此处描述的一种或多种化合物，或其药学上可接受的盐类，及其他化学成分，例如生理上可接受的载体或赋形剂。药用组合物的一个目的是便于将化合物向生物体给药。

如此处所用，“药学上可接受的载体”是指一种载体或稀释剂，其对于生物体不会引起明显的刺激，并且不会取消给药的化合物的生物活性及特性。

如此处所用，被作为适于所期望的具体剂型的“药学上可接受的载体介质”包含任意及所有的载体类、溶剂类、稀释剂类，或其他液体媒介物

类、分散或悬浮助剂类、表面活化剂类、等渗剂类、增稠剂类或乳化剂类、防腐剂类 (preservatives)、固体粘合剂类、润滑剂类、辅剂类、赋形物类、分散系统类、崩解剂类、吸收剂类、保存剂类 (preservatives)、表面活性剂类、色素类、食用香料类、或甜味剂等。优选地, 药学上可接受的载体介质是透析液。

“赋形剂”是指添加于药用组合物以进一步便于化合物给药的惰性物质。赋形剂的实例包括, 但不限于: 碳酸钙、磷酸钙、各种糖类和各种类型的淀粉、纤维素衍生物类、明胶、植物油类和聚乙二醇类。

疾病的“治疗”或“疗法”包括阻止可能易患该疾病, 但并没有经历或显示该疾病症状 (预防性治疗) 的动物上发生该疾病、抑制疾病 (延缓或阻止其进展)、提供对疾病症状或副作用的缓解 (包括姑息治疗) 和缓解疾病 (引起疾病的消退)。关于血管钙化, 这些术语只是表示受累于血管钙化的个体的预期寿命将提高, 或者该疾病的一种或多种症状将减少。

术语“前药”是指一种在体内转化为生物有效形式的药物。在一些情况下, 前药比母体化合物更容易给药, 因而它们通常是有用的。例如, 它们通过口服给药可以有生物药效性 (bioavailable) 而母体化合物却没有。前药也可能具有在药用组合物中超过母体药物的改善的溶解性。一种前药可通过多种机制转化为母体药物, 包括酶处理和代谢水解。Harper, N. J. (1962) Drug Latentiation (药物潜伏化) 见于 Jucker 版。 *Progress in Drug Research* (药物研究进展), 4: 221-294; Morozowich 等人(1977)。 *Application of Physical Organic Principles to Prodrug Design* (对前药设计的物理有机原则的应用), E. B. Roche 编辑。 *Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs* (通过前药与类似物设计生物药剂学性质), APhA; Acad. Pharm. Sci.; E. B. Roche 编辑(1977)。 *Bioreversible Carriers in Drug in Drug Design, Theory and Application* (药物与药物设计中的生物可逆性载体, 理论与应用), APhA; H. Bundgaard 版(1985)。 *Design of Prodrugs* (前药设计), Elsevier; Wang 等人(1999)。 *Prodrug approaches to the improved delivery of peptide drug* (通过前药途径改善肽类药物的传递), *Curr. Pharm. Design* 5(4): 265-287; Pauletti 等人(1997)。 *Improvement in*

peptide bioavailability: Peptidomimetics and Prodrug Strategies (改善肽的生物利用度: 肽模拟物与前药战略), *Adv. Drug Delivery Rev.* 27: 235-256; Mizen 等人 (1998)。 The Use of Esters as Prodrugs for Oral Delivery of β -Lactam antibiotics (酯类作为前药用于 β -内酰胺类抗生素的口服递药), *Pharm. Biotech.* 11, : 345-365; Gagnault 等人(1996)。 Designing Prodrugs and Bioprecursors I. Carrier Prodrugs(前药设计与生物前体 I: 载体前药), *Pract. Med. Chem.* 671-696; M. Asgharnejad (2000)。 Improving Oral Drug Transport Via Prodrugs (通过前药改善口服药物转运), 在 G. L. Amidon, P. Lee 及 E. M. Topp, Eds., *Transport Processes in Pharmaceutical Systems* (药物系统的转运过程), Marcell Dekker, 185-218; Balant 等人(1990)。 Prodrugs for the improvement of drug absorption via different routes of administration (前药经不同路径给药对药物吸收的改善), *Eur. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 15(2): 143-53; Balimane 和 Sinko (1999)。 Involvement of multiple transporters in the oral absorption of nucleoside analogues (核苷类似物在口服吸收中包含的多重转运蛋白), *Adv. Drug Delivery Rev.*, 39(1-3): 183-209; Browne(1997)。 Fosphenytoin (Cerebyx) (磷苯妥英(磷苯妥英制剂)), *Clin. Neuropharmacol.* 20(1): 1-12; Bundgaard (1979)。 Bioreversible of drugs--principle and applicability to improve the therapeutic effects of drugs (药物的生物可逆——提高药物疗效的原则及应用), *Arch. Pharm. Chemi.* 86(1): 1- 39; H. Bundgaard 编辑(1985)。 *Design of Prodrugs*(前药设计), New York: Elsevier; Fleisher 等人(1996)。 Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs (改善口服给药: 通过使用前药克服溶解性的限制), *Adv. Drug Delivery Rev.* 19(2): 115-130; Fleisher 等人 (1985)。 Design of prodrugs for improved gastrointestinal absorption by intestinal enzyme targeting (通过肠酶靶向作用改善胃肠吸收的前药设计), *Methods Enzymol.* 112: 360-81; Farquhar D 等人(1983)。 Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups (生物可逆的磷酸盐保护基团), *J. Pharm. Sci.*, 72(3): 324-325; Han, H. K.等人(2000)。 Targeted prodrug design to optimize drug delivery(优化给药的靶向前药), *AAPS PharmSci.*, 2(1): E6; Sadzuka Y.(2000)。 Effective prodrug liposome and conversion to active

metabolite(有效前药脂质体及其活性代谢物转化), *Curr. Drug Metab.*, 1(1): 31-48; D. M. Lambert (2000). Rationale and applications of lipids as prodrug carriers(脂质作为前药载体的理论及应用), *Eur. J. Pharm. Sci.*, 11 Suppl 2: S15-27; Wang, W.等人(1999). Prodrug approaches to the improved delivery of peptide drugs(通过前药途径改善肽类药物的传递). *Curr. Pharm. Des.*, 5 (4): 265-87.

术语“烷(alk)”或“烷基”是指具有1至12个碳原子的直链或支链的烃基,优选的为1至8个碳原子,例如:甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基等。通常最优选的是低级烷基,即:1至6个碳原子的烷基。术语“取代烷基”是指被一个或多个基团取代的烷基,取代基团优选地选自芳基、取代芳基、杂环(基)、取代杂环(基)、碳环(基)、取代碳环(基)、卤素、羟基、烷氧基(可选被取代)、芳氧基(可选被取代)、烷基酯(基)(可选被取代)、芳基酯(基)(可选被取代)、烷酰基(可选被取代)、芳酰基(aryol)(可选被取代)、氰基、硝基、氨基、取代氨基、酰氨基、内酰胺(基)、脲(基)、氨基甲酸乙酯(基)、磺酰基等。

术语“烷氧基”是指与氧连接的烷基,如:R-O-。在该官能团(function)中,R代表烷基。一个实例为甲氧基CH₃O-。

术语“链烯基”是指具有2至12个碳原子的直链或支链的烃基,优选的为2至4个碳原子,并至少具有一个碳碳双键(顺式或反式),例如:乙烯基。术语“取代烯基”是指被一个或多个基团取代的烯基,取代基团优选地选自芳基、取代芳基、杂环(基)、取代杂环(基)、碳环(基)、取代碳环(基)、卤素、羟基、烷氧基(可选被取代)、芳氧基(可选被取代)、烷基酯(基)(可选被取代)、芳基酯(基)(可选被取代)、烷酰基(可选被取代)、芳酰基(aryol)(可选被取代)、氰基、硝基、氨基、取代氨基、酰氨基、内酰胺(基)、脲(基)、氨基甲酸乙酯(基)、磺酰基等。

术语“炔基”是指具有2至12个碳原子的直链或支链的烃基,优选的为2至4个碳原子,并至少具有一个碳碳三键,例如:乙炔基。术语“取代烯基”是指被一个或多个基团取代的炔基,取代基团优选地选自芳基、

取代芳基、杂环(基)、取代杂环(基)、碳环(基)、取代碳环(基)、卤素、羟基、烷氧基(可选被取代)、芳氧基(可选被取代)、烷基酯(基)(可选被取代)、芳基酯(基)(可选被取代)、烷酰基(可选被取代)、芳酰基(aryol)(可选被取代)、氰基、硝基、氨基、取代氨基、酰氨基、内酰胺(基)、脲(基)、氨基甲酸乙酯(基)、磺酰基等。

术语“芳基(ar)”或“芳香基”是指芳族碳环(如: 烃)的单、双或三环基团, 该环优选地具有6至12元, 例如: 苯基、萘基和联苯基。优选的芳基是苯基。术语“取代芳基”是指由一个或多个基团取代的芳基, 取代基团优选自烷基、取代烷基、链烯基(可选被取代)、芳基(可选被取代)、杂环(基)(可选被取代)、卤素、羟基、烷氧基(可选被取代)、芳氧基(可选被取代)、烷酰基(可选被取代)、芳酰基(可选被取代)、烷基酯(基)(可选被取代)、芳基酯(基)(可选被取代)、氰基、硝基、氨基、取代氨基、酰氨基、内酰胺(基)、脲(基)、氨基甲酸乙酯(基)、磺酰基等, 其中可选被的一对或多对取代基与芳基的原子成键形成3至7元环。

术语“环烷基”和“环烯基”是指3至15个碳原子的单、双或三环(homocyclic ring)基团, 其分别为完全饱和的或部分不饱和的。术语“环烯基”包括作为整体不具有芳香性, 但含有芳香部分的两环或三环(例如: 茛、四氢萘(tetrahydronaphthalene)、二氢茛及类似化合物)。多环环烷基的环可以是稠合的、桥接的和/或通过一个或多个螺接(spiro union)的。术语“取代环烷基”或“取代环烯基”分别是指由一个或多个基团取代的环烷基或环烯基, 取代基团优选地选自芳基、取代芳基、杂环(基)、取代杂环(基)、碳环(基)、取代碳环(基)、卤素、羟基、烷氧基(可选被取代)、芳氧基(可选被取代)、烷基酯(基)(可选被取代)、芳基酯(基)(可选被取代)、烷酰基(可选被取代)、芳酰基(aryol)(可选被取代)、氰基、硝基、氨基、取代氨基、酰氨基、内酰胺(基)、脲(基)、氨基甲酸乙酯(基)、磺酰基等。

术语“碳环(carbocyclo)”、“碳环的(carbocyclic)”或“碳环基团(carbocyclic group)”是指环烷基和环烯基。术语“取代碳环”、“取代碳环的”或“取代碳环基团”是指在定义环烷基和环烯基时所描述的被

一个或多个基团取代的碳环(carbocyclo)基团或碳环的(carbocyclic)基团。

术语“卤素(halogen)”和“卤(halo)”是指氟、氯、溴和碘。

术语“杂环(heterocycle)”、“杂环的(heterocyclic)”、“杂环基团(heterocyclic group)”或“杂环(heterocyclo)”是指完全饱和的或部分不饱和的或完全不饱和的,包括芳香环状基团(“杂芳基(heteroaryl)”)或非芳香环状基团(例如:3至13元的单环体系、7至17元的双环体系,或10至20元的三环体系,优选地含有总共3至10个环原子),这些基团在包含至少一个碳原子的环中具有至少一个杂原子。含有杂原子的杂环基团的每个环可有1、2、3或4个杂原子,其选自氮原子、氧原子和/或硫原子,氮和硫杂原子可选择被氧化,并且氮杂原子可被季铵化。杂环基团可与环或环系的任意杂原子或碳原子连接。多环杂环基的环可以是稠合的、桥接的和/或通过一个或多个螺接的。

单环杂环基团的实例包括氮杂环丁烷基、吡咯烷基、吡咯基、吡唑基、氧杂环丁烷基(oxetanyl),吡唑啉基、咪唑基、咪唑啉基、咪唑烷基、噁唑基、噁唑烷基、异噁唑啉基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基(thiadiazolyl)、噻唑烷基、异噻唑基、异噻唑烷基、呋喃基、四氢呋喃基、噻吩基、噁二唑基、哌啶基、哌嗪基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、2-氧代氮杂基(2-oxoazepinyl)、氮杂基(azepinyl)、4-哌啶酮基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、四氢吡喃基、四唑基、三唑基、吗啉基、硫代吗啉基(thiamorpholinyl)、硫代吗啉亚砷(基)(thiamorpholinyl sulfoxide)、硫代吗啉砷(基)(thiamorpholinyl sulfone)、1,3-二氧戊烷(基)和四氢-1,1-二氧噻吩基,及类似化合物。

双环杂环基团的实例包括吲哚基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并噻吩基、奎宁环基、喹啉基、四氢异喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并吡喃基、中氮茛基(indoliziny)、苯并呋喃基(benzofuryl)、苯并呋喃的(benzofuranly)、二氢苯并呋喃基、色酮基、香豆素基(coumarinyl)、苯并二氧代基(benzodioxolyl)、二氢苯并二氧代基(dihydrobenzodioxolyl)、苯并二噁烯基(benzodioxinyl)、噌啉基、喹喔啉基、吲唑基、吡咯并吡啶基、呋

喃并吡啶基(fuopyridinyl)(如: 呋喃并[2,3-c]吡啶基、呋喃并[3,2-b]吡啶基或呋喃并[2,3-b]吡啶基)、二氢异吲哚基、二氢喹唑啉基(如: 3,4-二氢-4-氧代喹唑啉基)、四氢喹啉基、氮杂双环烷基类(如: 6-杂氮双环[3.2.1]辛烷)、氮杂螺烷基类(如: 1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸烷)、咪唑并吡啶基(如: 咪唑并[1,5-a]吡啶-3-基)、三唑并吡啶基(如: 1,2,4-三唑并[4,3-a]吡啶-3-基)和六氢咪唑并吡啶基(如: 1,5,6,7,8,8a-六氢咪唑并[1,5-a]吡啶-3-基), 及类似化合物。

三环杂环基团的实例包括呋唑基、1-苯基-3-(2,3-二羟丙基)吲唑基(benzidolyl)、菲咯啉基、吡啶基、菲啶基、咕吨基及类似化合物。

术语“取代杂环(substituted heterocycle)”、“取代杂环的(substituted heterocyclic)”、“取代杂环基团(substituted heterocyclic group)”或“取代杂环(substituted heterocycle)”是指被一个或多个基团取代的杂环(heterocycle)、杂环的(heterocyclic)、杂环基团(heterocyclic group), 取代基团优选自烷基、取代烷基、链烯基、氧代、芳基、取代芳基、杂环(基)、取代杂环(基)、碳环(基)(可选被取代)、卤素、羟基、烷氧基(可选被取代)、芳氧基(可选被取代)、烷酰基(可选被取代)、芳酰基(可选被取代)、烷基酯(基)(可选被取代)、芳基酯(基)(可选被取代)、氰基、硝基、酰氨基、氨基、取代氨基、内酰胺(基)、脲(基)、氨基甲酸乙酯(基)、磺酰基等, 其中任意一对或多对取代基与芳基的原子成键形成3至7元环。

术语“烷酰基”是指烷基(如上所述可选被取代)与一个羰基连接(即: -C(O)-烷基)。类似地, 术语“芳酰基”是指芳基(如上所述可被任意取代)与一个羰基连接(即-C(O)-芳基)。

在整个说明书中, 可选择基团和取代基以提供稳定的部分及化合物。

所公开的化合物形成的盐类也在本公开的范围之内。对此处任何分子式的化合物的引用, 应被理解成包含对其盐类的引用, 另有说明的除外。术语“盐(类)”, 如此处所使用的, 表示用无机酸和/或有机酸与碱形成的酸式和/或碱式盐类。此外, 当通式 I 或通式 II (下面给出) 的化合物包含

一个碱性部分和一个酸性部分，则可形成两性离子（“内盐”），并且包含于此处所用的术语“盐(类)”中。药学上可接受的（例如：无毒、生理上可接受的）盐类是优选的，尽管其他盐类也是有用的（如：在制备中可被用于分离或纯化步骤）。通式 I 或通式 II 的化合物都可形成盐类，例如，通过用一定量（如：等当量(an equivalent amount)）的酸或碱在介质中（如盐在其中沉淀的介质或冻干后的水性介质）与化合物反应制得。

所公开的包含一个碱性部分的化合物可以与多种无机和有机酸形成盐类。典型地酸加成的盐类包括乙酸盐类（例如那些与乙酸或三卤乙酸，如三氟乙酸，形成的）、己二酸盐类、藻酸盐类、抗坏血酸盐类、天冬氨酸盐类、苯甲酸盐类、苯磺酸盐类、硫酸氢盐类、硼酸盐类、丁酸盐类、柠檬酸盐类、樟脑酸盐类、樟脑磺酸盐类、环戊丙酸盐类、葡萄糖酸盐类、十二烷基硫酸盐类、乙磺酸盐类、富马酸盐类、葡庚糖酸盐类(glucoheptanoates)、甘油磷酸盐类、半硫酸盐类、庚酸盐类、己酸盐类、盐酸化物类（与盐酸形成的）、氢溴化物类（与溴化氢形成的）、氢碘化物类、2-羟基乙磺酸盐类、乳酸盐类、马来酸盐类（与马来酸形成的）、甲磺酸盐类（与甲磺酸形成的）、2-萘磺酸盐类、烟酸盐类、硝酸盐类、草酸盐类、果胶酸盐类(pectinates)、过硫酸盐类、3-苯基丙酸盐类、磷酸盐类、苦味酸盐类、特戊酸盐类(pivalates)、丙酸盐类、水杨酸盐类、琥珀酸盐类、硫酸盐类（例如那些与硫磺酸形成的）、磺酸盐类（如那些此处提及的）、酒石酸盐类、硫氰酸盐类、甲苯磺酸盐类(toluenesulfonates)例如甲苯磺酸盐类(tosylates)、十一酸盐类，及类似化合物。

所公开的包含一个酸性部分的化合物可与多种有机和无机碱形成盐类。典型的碱式盐类包括铵盐类、碱金属盐类如钠、锂和钾盐类、碱土金属盐类如钙和镁盐类、与有机碱（如：有机胺）形成的盐类，如 N,N'-双苄基乙撑二胺类(苄星类, benzathines)、二环己基胺类、哈胺类(hydrabamines)（与 N,N-二(脱氢枞基)乙二胺形成的）、N-甲基-D-葡萄糖胺类、N-甲基-D-葡萄糖酰胺类、叔丁胺类、及与氨基酸如精氨酸、赖氨酸等形成的盐类，及类似化合物。

碱性含氮基团可用试剂季铵化，试剂如低级卤代烷类（如：甲基、乙

基、丙基和丁基的氯化物类、溴化物类及碘化物类)、二烷基硫酸酯类(如:二甲基、二乙基、二丁基和二戊基的硫酸酯类)、长链卤化物类(如:癸基、十二烷基、十四烷基和十八烷基的氯化物类、溴化物类及碘化物类)、芳烷基卤化物类(如:苜基和苜乙基的溴化物类),及其他化合物。

在此也考虑到本公开内容中化合物的溶剂化物。化合物的溶剂化物优选水合物类。

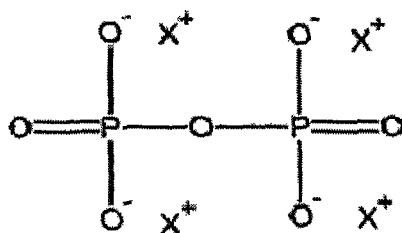
至于所公开的化合物及其盐类可以以它们的互变异构体形式存在,所有这些互变异构体形式在此也视作本公开内容的一部分。

本发明化合物的所有立体异构体,例如那些由于在多个取代基上的不对称碳原子引起的,包括对映异构形式(其甚至在不对称碳原子时仍可能存在)和非对映异构形式,都视作在本公开内容的范围之内。例如,本公开内容化合物的各个立体异构体可能基本游离于其他异构体,也可能是混合物,如:作为外消旋体或与所有其他的或选定的其他立体异构体混合。本公开内容化合物的手性中心可如 IUPAC1974 建议(the IUPAC 1974 Recommendations)所确定的具有 R 或 S 构型。

术语“包含”“如(such as)”“例如(for example)”及类似说法指的是典型的实施方案,并非限制本公开内容的范围。

本公开内容提供了可用于治疗患有血管钙化和血管钙化相关病症的个体的组合物和药物。此外,本公开内容提供了治疗易患血管钙化和血管钙化相关病症的个体的组合物和方法。这些组合物包含至少一种焦磷酸盐型化合物。

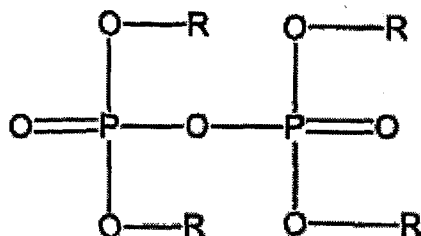
焦磷酸盐型化合物可包含,但不限于,下面通式 I 所表示的结构:



通式 I

更具体而言，焦磷酸盐型化合物包含任意数的阳离子 X^+ 或取代基，其与氧阴离子 (O^-) 进行离子键合或自由缔合 (free association)。阳离子 X 的实例包括，但不限于：Li、Na、K、Ca、Mg、Cr、Mn、Fe 和/或 Zn。每个阳离子 X 可与其他阳离子 X 相同或不同。例如，焦磷酸盐型化合物可以是焦磷酸四碱金属盐、焦磷酸二酸二碱金属盐、焦磷酸单酸三碱金属盐或它们的混合物。具体而言，焦磷酸盐型化合物可以是，例如：焦磷酸四钠、焦磷酸四钾、焦磷酸二钙、磷酸、酸式焦磷酸钠、焦磷酸二氢钠、或它们的混合物。

焦磷酸盐型化合物也可包含下列通式 II 的结构：



通式 II

其中焦磷酸盐型化合物的典型官能团以 R 来表示。每个官能团 R 分别可以包含，但不限于：氢、烷基类、芳基类、卤素基团类 (F、Cl、Br 和 I)、羟基类、烷氧基类、烷氨基类、二烷氨基类、酰基类、羧基类、羰氨基类 (carboamido groups)、磺酰胺基类 (sulfonamide)、氨酰基类、酰胺基类、胺基类、硝基类、有机硒化合物类、烃类、环状烃类、氢、氮、氧、硫、NR 和 CR。每个官能团 R 可与其他官能团 R 相同或不同。焦磷酸盐型化合物可以包含，但不限于：对治疗个体血管钙化和血管钙化相关病症起作用的和/或预防性功能的焦磷酸盐衍生物，如果存在这样的形式的话。此外，焦磷酸盐型化合物包含以上描述或提及的焦磷酸盐型化合物的药学上可接受的盐类、酯类和前药，如果存在这些形式的话。

本公开内容包含的透析液含有至少一种上述焦磷酸盐型化合物。一典型的透析液包含浓度至少约 $1\mu\text{M}$ 的一种焦磷酸盐。具体而言，该焦磷酸盐浓度可以为约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ ，或从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ 。

本公开内容包含的透析浓缩液包含至少一种上述焦磷酸盐型化合物。一典型的透析浓缩液包含一种焦磷酸盐的浓度从约 $50\mu\text{M}$ 至约 1mM 。

本公开内容包含给需要治疗的个体提供血管钙化的治疗方法。这样的一个典型方法包括向个体进行治疗有效量的一种焦磷酸盐型化合物的给药。当用于上述和其他治疗时，治疗有效量的一种或多种效应剂可以以原形(pure form)或以药学上可接受的盐、酯和前药形式被使用，如果这些形式存在的话。此外，治疗有效量(的化合物)可以以剂量单位形式来给药，剂量单位形式可以是恒定的或根据患者个体需要而变化的。优选地，治疗有效量的焦磷酸盐型化合物在药学上可接受的载体或介质中被给药。另加的赋形剂可与焦磷酸型化合物一同被给药。

在一个实施方案中，焦磷酸盐型化合物被在透析液流体中或在透析期间向个体给药。焦磷酸盐型化合物可在透析液流体中以焦磷酸盐型化合物至少约 $1\mu\text{M}$ 的浓度向个体给药。该焦磷酸盐浓度可从约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ ，或从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ 。

血液透析系统是包含于本公开内容的。一典型的血液透析系统描述于图 9。在图 9 中显示的血液透析系统 10 包含一个血液腔 12、一个透析液腔 14，血液腔 12 和透析液腔 14 被膜 16 隔开。膜 16 在血液腔 12 和透析液腔 14 之间形成了半透性流体交换通道。此处描述的透析液在透析腔 14 中受到处理，并从那里扩散到血液腔 12 中，该腔对于个体是在循环的，从而向个体进行焦磷酸盐型化合物的给药。应当指明的是图 9 所描述的血液透析系统 10 是极其简单的方块图模型，该模型仅试图说明所公开的组合物及方法的原理。

血液透析患者的焦磷酸盐水平

焦磷酸盐 (PPi) 是一种已知的羟基磷灰石形成的抑制剂，并在维生素 D 中毒大鼠中显示出抑制中层血管钙化。已证明内源性生成的 PPi 可阻止在高浓度 Ca 和 PO_4 中培养的大鼠主动脉的钙化。为测定在血液透析患者中 PPi 代谢是否发生变化，在稳定的血液透析患者中测量了 PPi 的血浆浓度和透析清除率。透析前血浆样本从在门诊透析部门的 15 名患者和 23

名住院患者中获得。住院病人在临床上稳定，并容许进行移植评估或相关透析。相比于36个正常受试者的 $3.26 \pm 0.17 \mu\text{M}$ ($p < 0.01$)，(患者的)血浆[PPi]是 $2.26 \pm 0.19 \mu\text{M}$ 。约30%与蛋白质结合，这在透析患者中并没有变化。仅与年龄成微弱的负相关，并且在透析期第2和3天的水平没有变化。17名患者在标准透析后，血浆[PPi]减少了 $32 \pm 5\%$ 。与类似的体内清除率一致， 2.1m^2 的醋酸纤维素膜透析器对体外PPi的清除率是36%，并且在5名患者中平均PPi除去量为 $43 \pm 5 \mu\text{mol}$ 。清除的PPi比混合血浆(plasma pool)的多，但比估计的细胞外流体池(extracellular fluid pool)的少。红细胞PPi含量降低了 $24 \pm 4\%$ ，显示也除去了细胞内的PPi。作为结果，得出的结论是在血液透析患者中血浆[PPi]下降了，并且通过透析清除了PPi。在一些患者中血浆水平低于我们以前在培养物中显示阻止血管钙化的水平，提示改变PPi代谢可能促成在血液透析患者中的血管钙化。

当在非常高浓度的钙和磷酸盐中培养时，大鼠主动脉没有钙化，这是由于血管产生的焦磷酸盐的抑制作用。当人血浆中PPi浓度正常时，会发生这种抑制。PPi是被完全确定的作为软骨钙化和肾中草酸钙结晶的抑制剂，并且抑制维生素D中毒大鼠的血管钙化。在体外它是羟基磷灰石形成的直接和有利的抑制剂，甚至在血浆中的低浓度(2-4M)就足以完全阻止钙和磷酸盐的饱和溶液结晶。具有低水平PPi的人由于缺少一种PPi生成酶，可发展为严重致命的动脉钙化，这种钙化可通过用双膦酸盐类(bisphosphonates) (也以二膦酸盐(diphosphonates)知名) 治疗来预防，双膦酸盐类是PPi不可水解的(nonhydrolyzable)类似物。这些发现提示在正常浓度焦磷酸盐存在下不会发生血管钙化，并且在ESRD中的中层血管钙化必然与焦磷酸盐代谢变化有关。

下面的表1显示了正常受试者和血液透析患者(透析前(predialysis))的血浆[PPi]比较。在血液透析患者中平均浓度要低31%。因为透析患者明显年长，而上了年纪的分组人口并没有在正常组中表示出，所以也对年龄低于60的数据进行了分析。而尽管年龄相似(在正常组中，47对41， $p = \text{NS}$)，在血液透析患者中血浆PPi仍较低。

表 1. 正常受试者和透析前的血液透析患者的血浆焦磷酸盐水平

	正常受试者			血液透析患者			
	n	平均数	标准误	n	平均数	标准误	p (对正常受试者)
全部	36	3.26	0.17	38	2.26	0.19	<0.001
年龄<60	34	3.24	0.18	19	1.98	0.27	<0.001

如图 1 所示，平均血浆[PPi]的减少是由于一部分患者的(血浆焦磷酸盐水平)水平非常低。正常个体和血液透析患者的最高水平是相似的，15 名患者的水平低于正常受试者的最低水平。下面的表 2 显示了其他参数对血液透析患者在血浆[PPi]上的作用。

表 2 血液透析患者在透析前的血浆焦磷酸盐水平

	n	平均值	标准误	中值
全部	38	2.26	0.19	2.01
住院病人	23	2.45	0.26	2.13
门诊病人	15	1.95	0.27	1.92
透析第 2 天	25	2.24	0.25	1.91
透析第 3 天	12	2.22	0.31	2.09

已进行了一些研究来测定经透析去除 PPi 的程度。相对于流速 800ml/min 的无钙（为了防止 PPi 沉淀）标准临床透析液，使用 2.1m² 的醋酸纤维素膜，透析流速 400ml/min 的 4L 的 PPi 生理盐水溶液来测量体外的 PPi 清除率。如图 2 所示，PPi 的清除符合单指数函数，并显示了透析器的清除率为 36%。在 17 个患者中，他们中的一些被包含在透析前的

数据中，在透析前后测量了血浆 PPI 的浓度（图 3）。除了平均降低 $32 \pm 2.7\%$ 的一个患者，所有患者的水平均降低，但范围较大（4%到 59%，不包括一个有增长的病人）。13 个患者中的 12 个被透析降低了红细胞 PPI 的含量，而其他患者的水平没有变化（图 4）。平均值降低了 $24 \pm 7\%$ 。

为了测量 PPI 去除总量，在 4 个不同患者的 4 次治疗期间收集了透析液。这些治疗的清除总量为 42、42、32 和 57 (μmol)。平均值为 $43 \pm 5\mu\text{mol}$ 。尽管事实是肾正常地清除 PPI，但在血液透析患者中的血浆水平下降了。通过透析其自身的清除率使得进一步混合降低的血浆 [PPI]，导致其进一步下降 32%。因而，在透析末期，其水平约为正常水平的一半。

在血液透析患者中降低的焦磷酸盐水平及其在透析中的进一步降低，具有重要意义，因为 PPI 是羟基磷灰石结晶的一种有效抑制剂。正常血浆中的 [PPI] 浓度阻止了钙和磷酸盐的过饱和溶液结晶。我们先前已说明该浓度也可阻止培养的大鼠主动脉钙化。参见 Lomashvili KA, Cobbs S, Hennigar RA, Hardcastle KJ, O'Neill WC: Phosphate-induced vascular calcification: role of pyrophosphate and osteopontin (磷酸盐介导的血管钙化: 焦磷酸盐与骨桥蛋白的作用), *J Am Soc Nephrol* 15: 1392-1401, 2004。因而，在血液透析患者中降低的水平可促进羟基磷灰石形成的发生。向维生素 D 中毒大鼠进行 PPI 给药抑制血管钙化(参见 Schibler D, Russell GG, Fleisch H: Inhibition by pyrophosphate and polyphosphate of aortic calcification induced by vitamin D₃ in rats (焦磷酸盐与聚磷酸盐对维生素 D₃ 介导的大鼠主动脉钙化的抑制), *Clin Sci* 35: 363-372, 1968), 显示了 PPI 或双磷酸盐类似物类可用作治疗。

作为血管钙化抑制剂的焦磷酸盐

通过研究大鼠主动脉环，焦磷酸盐也作为钙化的一种可能的抑制剂被研究。不是在 DMEM 培养基 (Mediatech, Herndon, Virginia, USA) 中，而是培养主动脉环三天后，焦磷酸盐的浓度为 $0.44 \pm 0.03\mu\text{M}$ (一个主动脉环在 500 μL 培养基中)，显示它由主动脉生成。这些测量在常规 DMEM 中进行，以避免磷酸钙沉淀中的焦磷酸盐分离 (sequestration)。通过加入

无机焦磷酸酶来消除焦磷酸盐（从 $[^{32}\text{P}]$ 焦磷酸盐的消失来判断，没有显示），来诱导正常主动脉的钙化（图5）。病灶中层钙化被苏木精和曙红染料明显染色（图6），并且冯·科萨染料（von Kossa stain）染色显示了一些弹性蛋白纤维的钙化（图7）。

加入焦磷酸盐阻止了受伤主动脉的钙化（图8），这证实焦磷酸盐抑制中层钙化。用 $2.5\mu\text{M}$ 焦磷酸盐未显示抑制，但用 $10\mu\text{M}$ 焦磷酸盐几乎完全抑制。基于主动脉培养物中 $[^{32}\text{P}]$ 焦磷酸盐的水解率（没有显示），加入 5 、 10 和 $30\mu\text{M}$ 焦磷酸盐3天后，各自的估计浓度为 $18\mu\text{M}$ 、 $3.1\mu\text{M}$ 和 $7.9\mu\text{M}$ 。因而，利用焦磷酸盐抑制钙化事实上比图8所示的更有效。在培养基中受伤主动脉的焦磷酸盐出现率显著下降（ $36 + 4\mu\text{mol}/\text{mg}/\text{d}$ ， $n = 12$ 比 $145 + 8\mu\text{mol}/\text{mg}/\text{d}$ 正常主动脉， $n = 22$ ），并且在受伤主动脉中碱性磷酸酶的活性显著增加（ $1.16 + 0.17$ 单位/ mg ， $n = 15$ 比 $0.43 + 0.04$ 单位/ mg ， $n = 12$ ，未受伤主动脉）。

本研究证明用碱性磷酸酶或无机焦磷酸酶在未受损大鼠主动脉培养物中可诱导中层钙化。钙化是以羟基磷灰石形式，要求高 PO_4^{-3} 浓度，并在组织学上与尿毒症患者和慢性肾衰竭大鼠血管观察到的钙化相似。在没有这些酶和没有受伤下培养的大鼠主动脉在高 PO_4^{-3} 培养基中没有显示钙化，甚至培养了达21天。在正常情况下小量、最初掺入的 ^{45}Ca 可能代表细胞内钙与通常和细胞外基质结合的钙的平衡，因为它并没有随时间增加。与人血清相比， Ca^{2+} 和 PO_4^{-3} 在高 PO_4^{-3} 培养基中的浓度均升高，并且基于游离浓度，这将与 $180\text{mg}^2/\text{dl}^2$ 的人血清中总的钙磷乘积（calcium-phosphorus product）相等，其适当的高于普遍接受的临床阈值。因而在体外升高的钙磷乘积并不足以产生中层钙化。在体内，血管钙化是个慢性过程，并且我们不能排除在体外观察正常血管钙化需要更长时间培养的可能性。然而，超过3周 ^{45}Ca 沉积并没有任何增加是对此的反驳。

没有钙化是由于正常主动脉中的活性被抑制，这种抑制可用平滑肌中释放焦磷酸盐来解释。碱性磷酸酶和无机焦磷酸酶诱导正常主动脉的钙化，并且焦磷酸盐抑制受伤主动脉的钙化。焦磷酸盐在体外抑制羟基磷灰石形成，并在大剂量给予维生素 D_3 的大鼠中，外源性焦磷酸盐抑制主动

脉钙化。双磷酸盐是焦磷酸盐的类似物，显示了同样的性质。这可能是通过在培养的大鼠主动脉中证明内源性焦磷酸盐的抑制也可在体内发生，因为在受伤主动脉中最大抑制钙化的浓度（约 $3\mu\text{M}$ ）与所报道的对于正常人血浆的相近。此外缺乏 PC-1、一种产生焦磷酸盐的胞外 ATP 酶，导致了在人体中血浆焦磷酸盐水平下降和广泛的动脉钙化，这可以通过双磷酸盐治疗来预防。当缺少 ANK，一种公认的焦磷酸盐转运蛋白，小鼠显示出尽管不在血管中的焦磷酸盐生成下降和广泛的异位钙化。

在血液透析治疗中向透析液加入焦磷酸盐

焦磷酸盐，存在于正常血液中的小的、可透析的分子，是体外血管钙化有效的抑制剂。也存在有力但间接的证明：焦磷酸盐在体内抑制血管钙化，包括在人体内。我们的体外研究表明在人体血浆中以正常浓度（ $3\text{-}5\mu\text{M}$ ）发生这种抑制。我们最近的研究显示在血液透析患者中血浆焦磷酸盐水平下降，并且甚至在血液透析期间进一步下降。向透析液中加入焦磷酸盐将预防患者在透析时血液中焦磷酸盐的净损失，并可减少或预防血液透析患者的血管钙化。

因此，本公开内容包括含有焦磷酸盐的透析浓缩液的某些组合物，焦磷酸盐的浓度大于约 $50\mu\text{M}$ 并小于约 1mM 。在标准 45X 透析系统中，碳酸氢盐浓缩液用水和酸浓缩液稀释约 25X 以得到最终的透析液。（本公开内容）还包含透析液的最终组合物，该透析液含有至少约 $1\mu\text{M}$ 的焦磷酸盐浓缩液。焦磷酸盐的透析液浓度从约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ ，或从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ ，其中最终的组合物是用于血液透析患者的透析组合物。

（本公开内容）也包括减少或预防血管钙化的某些方法，所述方法向患者施用透析液，其中最终的透析液包含浓度至少约 $1\mu\text{M}$ 的焦磷酸盐。焦磷酸盐浓度从约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ ，或从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ ，其中最终的组合物是用于血液透析患者的透析组合物。

不同的透析系统以不同的方式起作用。本公开内容试图保护某些方法和某些组合物，其中最终的透析液包含浓度至少约 $1\mu\text{M}$ 的焦磷酸盐。焦磷酸盐浓度可从约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ ，或从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ 。在不同的透

析系统中利用一些不同方式可达到最终的焦磷酸盐浓度，例如：（1）通过稀释含有焦磷酸盐的碱性浓缩液。一般，碱性透析浓缩液稀释约 25 倍，尽管通常范围是 20-30 倍。相应的，在碱性浓缩液中的焦磷酸盐的浓度将通常在约 $60\mu\text{M}$ 至约 $150\mu\text{M}$ 的范围中；（2）通过稀释含有焦磷酸盐的浓缩粉末。通过溶解和稀释含有焦磷酸盐的固体（例如：粉末、颗粒和晶体）组合物可获得酸性溶液(acidic bath)或碱性溶液(basic bath)或两者兼得；及（3）通过稀释含有焦磷酸盐的酸性溶液浓缩物。一般，酸性溶液浓缩物倍稀释 30 倍至 45 倍。因此，在酸性浓缩液中的焦磷酸盐浓度一般从约 $90\mu\text{M}$ 至约 $225\mu\text{M}$ 。

本公开内容还保护的是减少或预防血管钙化的一些方法，其包括向患者施用透析液，其中透析液含有浓度至少约 $1\mu\text{M}$ 的焦磷酸盐。焦磷酸盐浓度可从约 $1\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ ，或从约 $3\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ ，并且碳酸氢盐浓度从约 10mM 至约 100mM ，其中最终的组合物是用于血液透析患者的透析组合物。

本发明是将焦磷酸钠掺入透析液。焦磷酸钠液可与其他焦磷酸盐组合。例如，焦磷酸钠可与焦磷酸铁组合，其具有给身体提供可溶性铁的益处。（本发明）通过预防血液透析患者中的焦磷酸盐耗竭，并因此阻止、减少或潜在的逆转血管钙化，所公开的组合物和方法明显优于现有技术。

实施例 1

制备焦磷酸盐-碳酸氢盐透析浓缩液，其包含焦磷酸钠（ $125\mu\text{M}$ ）和碳酸氢钠（ 967mM ）。通过用适量的水混合两种浓缩液（酸性浓缩液和碱性浓缩液），在血液透析期间常规配制透析液。将焦磷酸盐加至碳酸氢盐浓缩液中。在碳酸氢盐溶液中，发现焦磷酸盐在 $125\mu\text{M}$ 浓度时是稳定可溶。在稀释碳酸氢盐浓缩液并与酸性透析液组合以产生最终的透析液后，焦磷酸盐保持可溶。

实施例 2

制备焦磷酸盐-碳酸氢盐透析浓缩液，其包含焦磷酸钠（ $125\mu\text{M}$ ）和

碳酸氢钠 (967mM)。在碳酸氢盐溶液中,发现焦磷酸盐在 125 μ M 浓度时变得稳定可溶。在稀释碳酸氢盐浓缩液并与酸性透析液组合以产生最终的透析溶液后,焦磷酸盐保持可溶。

所得的最终透析液用于患有肾脏疾病的人进行血液透析。相对于经历过用缺少焦磷酸酸盐的常规血液透析液治疗的患者,现在的患者体验了减少地钙沉积。

实施例 3

制备焦磷酸盐-碳酸氢盐透析浓缩液,其包含焦磷酸钠 (100 μ M) 和碳酸氢钠 (967mM)。该碱性透析液用水稀释,然后与酸性透析液混合以得到最终的透析液。得到的最终透析液用于患有肾脏疾病的人进行血液透析。

实施例 4

制备焦磷酸盐-碳酸氢盐透析浓缩液,其包含焦磷酸钠 (75 μ M) 和碳酸氢钠 (967mM)。用水将碱性透析液稀释 25 倍,然后与酸性透析液混合以得到最终的透析液。得到的最终透析液用于患有肾脏疾病的人进行血液透析。

实施例 5

制备焦磷酸盐-碳酸氢盐透析液,其包含焦磷酸钠 (90 μ M)、焦磷酸铁 (10 μ M) 和碳酸氢钠 (967mM)。用水将碱性透析液稀释 25 倍,然后与酸性透析液混合以得到最终的透析液。得到的最终透析液用于患有肾脏疾病的人进行血液透析。

实施例 6

除焦磷酸钠 (136 μ M) 外用标准成分来制备酸性透析浓缩液。用水将酸性透析浓缩液稀释 34 倍,然后与碱性透析液混合以得到最终的透析液。

得到的最终透析液用于患有肾脏疾病的人进行血液透析。

应当强调的是上面描述的本公开内容的实施方案仅是可能实现的实施例，并且仅是阐明对公开内容的原则的清楚理解。在实质上不偏离本公开内容精神和原则的基础上，可对本公开内容的上述实施方案进行许多变化和修饰。所有这些变化和修饰应包含于本公开内容的范围内，并通过下列权利要求书受到保护。

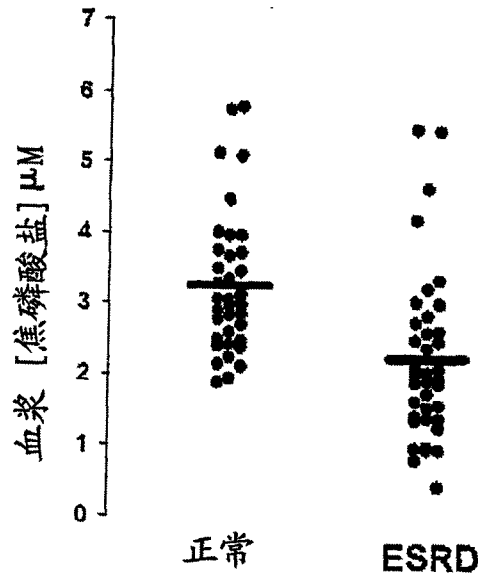


图 1

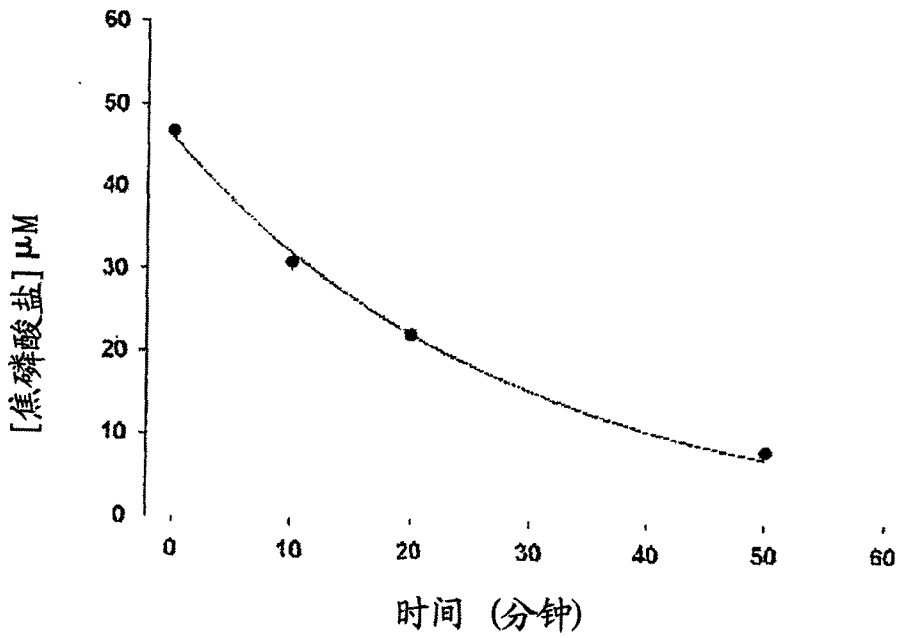


图 2

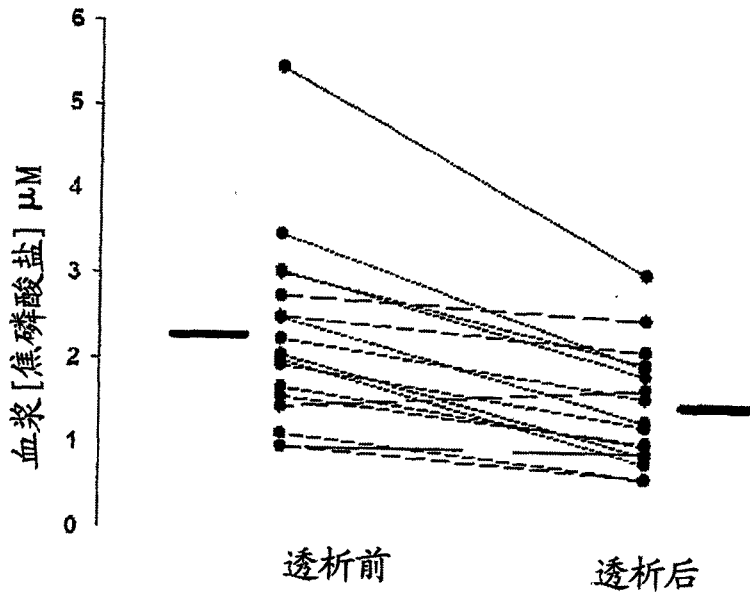


图 3

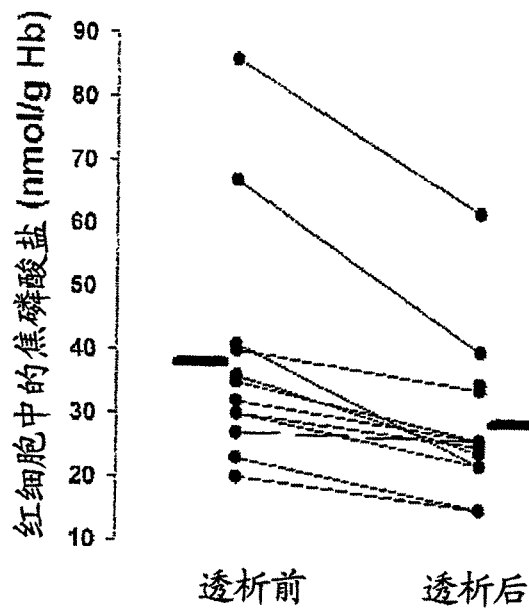


图 4

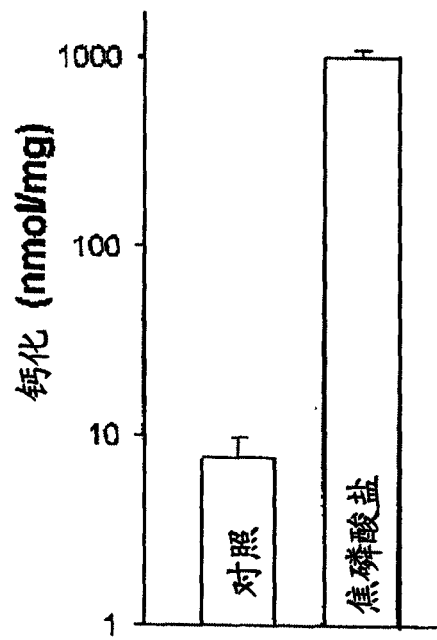


图 5

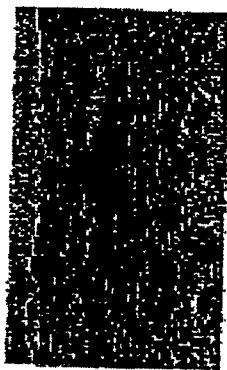


图 6

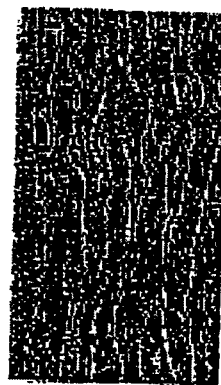


图 7

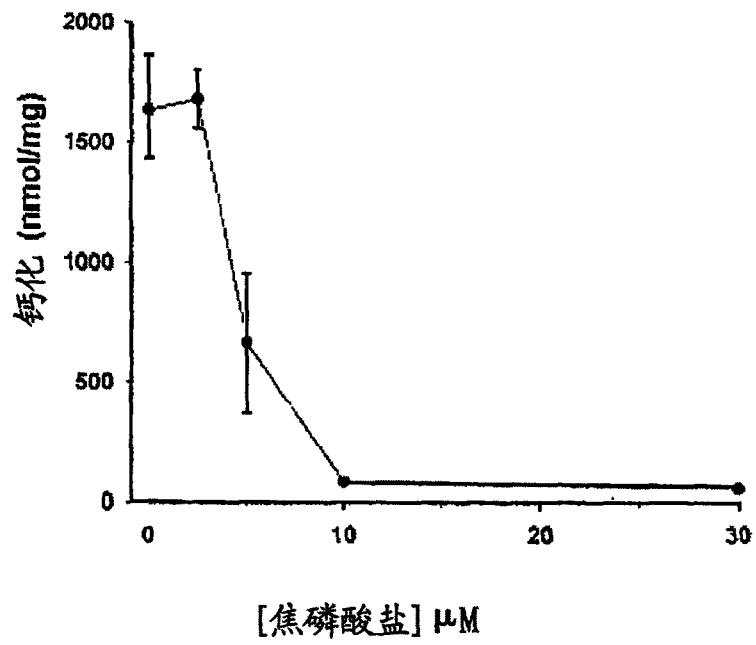


图 8

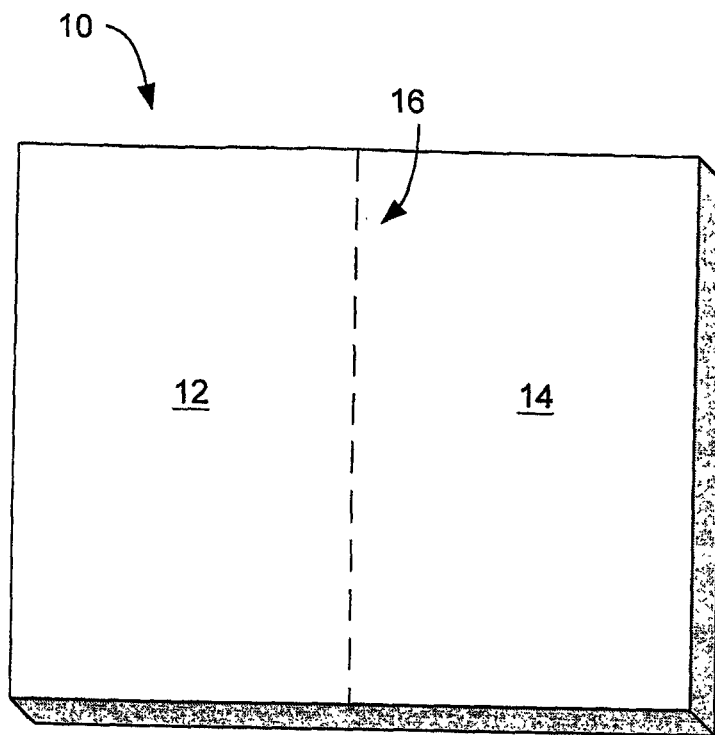


图 9