



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103463081 B

(45) 授权公告日 2015. 10. 21

(21) 申请号 201310452564. 4

期), 1070-1073.

(22) 申请日 2013. 09. 27

审查员 焦士勇

(73) 专利权人 华仁药业股份有限公司

地址 266101 山东省青岛市崂山区高科园株  
洲路 187 号

(72) 发明人 李继仁 沈圣民

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理  
有限公司 44224

代理人 万志香 郭元杰

(51) Int. Cl.

A61K 31/4418(2006. 01)

A61P 7/08(2006. 01)

A61K 31/7004(2006. 01)

A61K 33/14(2006. 01)

A61K 33/06(2006. 01)

A61K 33/00(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 0126649 A1, 2001. 04. 19,

薛克营等. 新型抗纤维化药物吡非尼

酮. 《中国新药杂志》. 2005, 第 14 卷 (第 8

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

腹膜透析液

(57) 摘要

本发明公开了一种腹膜透析液, 包括浓度为 0. 01-5%w/v 的吡非尼酮。所述腹膜透析液, 经大量的实验研究与分析, 得出于常规腹膜透析液中添加浓度为 0. 01-5%w/v 的吡非尼酮, 可显著阻断及延缓现有腹膜透析液中高浓度葡萄糖造成的腹膜纤维化的进程。

1. 一种腹膜透析液,其特征在于,包括浓度为 0.1-2% w/v 的吡非尼酮。
2. 根据权利要求 1 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,所述腹膜透析液的 pH 为 6.5-8.0。
3. 根据权利要求 1 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,包括吡非尼酮及腹膜透析液中可接受的缓冲碱、渗透剂、电解质和注射用水。
4. 根据权利要求 3 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,所述缓冲碱为乳酸盐、碳酸氢盐、柠檬酸盐、异柠檬酸盐、丙酮酸盐、琥珀酸盐、延胡索盐酸、苹果酸盐或草酰乙酸盐。
5. 根据权利要求 4 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,所述缓冲碱为乳酸盐或碳酸氢盐。
6. 根据权利要求 3 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,所述渗透剂为葡萄糖、氨基酸、木糖醇、山梨糖醇、果糖、多聚糖或甘油。
7. 根据权利要求 3 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,所述电解质为氯化钠、氯化钙或氯化镁中的一种或两种以上。
8. 根据权利要求 1 所述的一种腹膜透析液,其特征在于,包括:
  - 钠离子 80-150mEq/L,
  - 氯离子 80-110mEq/L,
  - 钙离子 0-4.0mEq/L,
  - 镁离子 0-4.0mEq/L,
  - 碳酸氢钠 0-45mEq/L,
  - 葡萄糖 0-5% w/v,
  - 吡非尼酮 0.1-2% w/v。
9. 根据权利要求 1-8 任一项所述的一种腹膜透析液,其特征在于,还包括血管扩张剂、利尿剂、激素、维生素或抗氧化剂。

## 腹膜透析液

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种腹膜透析液,特别是涉及一种含吡非尼酮的腹膜透析液。

### 背景技术

[0002] 腹膜透析作为一种治疗终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD)患者的方法,由于其具有治疗,操作简便,减少血源性疾病传播,保护残存肾功能等特殊优点,近年来已得到广泛的应用。其原理是以腹膜为半透膜,以不断更换新鲜透析液来达到清除体内过多的水分及毒素的目的。相比于血液透析的透析膜而言,腹膜的孔径较大,因而可清除大、中、小分子的毒素。但是,超滤衰竭,腹膜损伤等不断挑战着腹膜透析技术的进一步发展。

[0003] 目前国内市售的腹透液仅有葡萄糖作为渗透剂,是应用最早而且目前仍被广泛使用的腹膜透析液渗透剂,能被腹膜很快吸收,进入血液后也容易被代谢。因此,为了保证足够的超滤量,就需要应用高浓度以维持渗透梯度。体外研究表明:高浓度葡萄糖作为渗透剂可上调腹膜间皮细胞纤维连接蛋白(FN)、转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )mRNA 的表达和合成,可合成许多细胞外基质包括层连蛋白、纤维连接蛋白及 I、III型胶原,其中 TGF- $\beta_1$ 是一种强效的致纤维化因子, FN 合成增加是纤维化进程的典型表现,它们可参与腹膜硬化的形成,导致透析效能下降。且在高浓度葡萄糖引起腹膜纤维化的机制中,转化生长因子- $\beta_1$ 的生成增加是重要的因素之一。还有研究发现,高糖腹膜透析液可导致腹膜间皮细胞肥大,肥大的间皮细胞是细胞早期衰老的表现,可能与腹膜的损伤有关,最终使腹膜对感染和纤维化的防御功能受损,导致纤维化和功能进行性丧失。

[0004] 目前,随着腹膜透析插管技术的改进,感染率的下降,腹膜纤维化导致的超滤功能丧失已是 CAPD 患者退出腹膜透析治疗的主要原因之一,因此,探索有效防治措施,研究新型的腹膜透析液,对延长腹膜寿命和患者透龄,提高腹膜透析水平意义重大。

[0005] 吡非尼酮(Pirfenidone,简称 PFD)是一种有效的细胞因子抑制剂,能够通过参与调节某些因子,抑制成纤维细胞的生物学活性,导致细胞增殖受抑,基质胶原合成减少,具有广谱的抗肺、肝、肾和心纤维化的作用,其作用机制包括:抑制脂质过氧化,减少转化生长因子  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )、血小板源性的生长因子 (PDGF) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的生成,从而减轻炎症反应。

### 发明内容

[0006] 基于此,本发明提供一种含吡非尼酮的腹膜透析液。

[0007] 解决上述技术问题的具体技术方案如下:

[0008] 一种腹膜透析液,包括浓度为 0.01-5%w/v 的吡非尼酮。

[0009] 在其中一些实施例中,所述吡非尼酮的浓度为 0.1-2%w/v。

[0010] 在其中一些实施例中,所述腹膜透析液的 pH 为 6.5-8.0。

[0011] 在其中一些实施例中,包括上述吡非尼酮及腹膜透析液中可接受的缓冲碱、渗透

剂、电解质和注射用水。

[0012] 在其中一些实施例中,所述缓冲碱为乳酸盐、碳酸氢盐、柠檬酸盐、异柠檬酸盐、丙酮酸盐、琥珀酸盐、延胡索盐酸、苹果酸盐或草酰乙酸盐。

[0013] 在其中一些实施例中,所述缓冲碱为乳酸盐或碳酸氢盐。

[0014] 在其中一些实施例中,所述渗透剂为葡萄糖、氨基酸、木糖醇、山梨糖醇、果糖、多聚糖或甘油。

[0015] 在其中一些实施例中,所述电解质为氯化钠、氯化钙或氯化镁中的一种或两种以上。

[0016] 在其中一些实施例中,所述腹膜透析液包括:

[0017] 钠离子 80-150mEq/L,

[0018] 氯离子 80-110mEq/L,

[0019] 钙离子 0-4.0mEq/L,

[0020] 镁离子 0-4.0mEq/L,

[0021] 碳酸氢钠 0-45mEq/L,

[0022] 葡萄糖 0-5%w/v,

[0023] 吡非尼酮 0.1-2%w/v。

[0024] 在其中一些实施例中,还包括血管扩张剂、利尿剂、激素、维生素或抗氧化剂。

[0025] 本发明所述一种腹膜透析液具有以下优点或有益效果:

[0026] 本发明所制得的腹膜透析液,经大量的实验研究与分析,得出于常规腹膜透析液中添加 0.01-5%w/v 的吡非尼酮,可显著阻断及延缓现有腹膜透析液中高浓度葡萄糖造成的腹膜纤维化的进程。

## 具体实施方式

[0027] 以下将结合具体实施例对本发明做进一步说明。

[0028] 下述 w/v 是指质量体积比,即每 100ml 水溶液中溶质含有的克数。

[0029] 脂多糖购自美国 sigma。

[0030] 本发明所述一种腹膜透析液的具体实施例参见下表 1:

[0031] 表 1 对比例和实施例 1-6 的腹膜透析液配方表

[0032]

	对比例	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
Na <sup>+</sup> mmol/L	132	132	132	150	80	132	132
Ca <sup>2+</sup> mmol/L	1.25	1.25	1.25	2	0	1.25	1.25
Mg <sup>2+</sup> mmol/L	0.25	0.25	0.25	2	0	0.25	0.25
Cl <sup>-</sup> mmol/L	95	95	95	110	80	95	95
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/L	40	40	40	45	0	40	40
葡萄糖 %w/v	4.25	4.25	4.25	5	1.2	4.25	4.25
吡非尼酮 %w/v	/	0.1	2	5	0.01	6	0.005

[0033] 实施例 7 抗腹膜纤维化评价

[0034] 一、实验目的

[0035] 通过对比分析指标：大鼠腹膜厚度和大鼠腹水和血液中 TGF- $\beta_1$  浓度，以评价本发明实施例 1-4 中腹膜透析液的抗腹膜纤维化效果。

[0036] 二、实验方法

[0037] (1) 大鼠腹膜厚度的测定

[0038] 将对比例和实施例 1-6 所述的腹膜透析液装入三层共挤输液用膜制袋中，湿热灭菌，灭菌温度 115℃，灭菌时间 30min。

[0039] 将雄性 SD 大鼠 80 只按随机数字表分为 8 组，即 A 组 -H 组，每组 10 只，其中，A 组作为正常对照组，腹腔注射 20ml 生理盐水；其余均采用 4.25% 含葡萄糖透析液 + 脂多糖致腹膜纤维化模型，B 组为模型对照组，腹腔注射 20ml 常规 4.25% 腹膜透析液（即对比例所述透析液），C 组 -H 组，分别腹腔注射 20ml 实施例 1-6 所制得的腹膜透析液，上述各组腹膜注射均为 1 次/d，观察 4 周。

[0040] 上述含葡萄糖透析液 + 脂多糖致腹膜纤维化模型的造模方法为：每日大鼠腹腔内直接注射 4.25% 含糖透析液 20ml，并在第 8、10、12 天加入脂多糖 75  $\mu$ g。

[0041] 4 周后取大鼠壁层腹膜组织，采用 Van Gieson 氏法染色（VG 法染色）：切片脱蜡至水，用 Weigert 氏苏木精染 20min，流水冲洗 10min，染 Van Gieson 氏液 1min，用体积分数 95% 乙醇快速分化，无水乙醇脱水，二甲苯透明，封固。光学显微镜观察，镜下测量腹膜胶原厚度。

[0042] (2) 血液中 TGF- $\beta_1$  浓度的测定：

[0043] 在无菌条件下用一次性无菌注射器抽取腹水，同时经下腔静脉采血。

[0044] 采用双抗体夹心 ELISA 法对转化生长因子 TGF- $\beta_1$  浓度进行测定，具体方法为：将标准品、待测样品加入到预先包被 TGF- $\beta_1$  单克隆抗体透明酶标包被板中，37℃ 反应 90 分钟，洗涤除去未结合的成分，再用抗体稀释液稀释的生物素抗大鼠 TGF- $\beta_1$  抗体每孔加入 0.1ml (1:100)，37℃ 反应 60 分钟后，0.01M PBS 洗涤除去未结合的成分，然后加入稀释液稀释的亲合素过氧化物酶复合物每孔 0.1ml (1:100)，37℃ 反应 30 分钟，亲和素和生物素特异性结合，0.01M PBS 洗去未结合的酶结合物，TMB 显色液 0.1ml 加入每孔，反应 15 分钟，底物 (TMB) 在辣根过氧化物酶 (HRP) 催化下转化为蓝色产物，加入终止液变黄，颜色的深浅与样

品中的 TGF- $\beta_1$  浓度呈正相关,用酶标仪在 450nm 测定 OD 值,根据标准品的浓度和样品的 OD 值计算待测转化生长因子  $\beta_1$  的浓度。

[0045] 结果判定:将酶标板在酶标仪上,于 450nm 读数,以标准品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,生成标准曲线和直线回归方程式,根据公式计算未知样品的浓度,并记录。

[0046] 三、实验结果

[0047] (1) 大鼠腹膜厚度的试验结果如表 2:

[0048] 表 2 各组大鼠腹膜厚度比较表( $\bar{X} \pm S, \mu m$ )

组别	n	腹膜厚度
A组-正常对照组	10	11.73±2.11
B组-模型对照组	9	54.36±5.76
C组-实施例1	10	26.21±4.28*
[0049] D组-实施例2	9	18.68±3.12*
E组-实施例3	10	16.27±4.14*
F组-实施例4	10	34.68±6.57*
G组-实施例5	5	15.24±5.45*
H组-实施例6	8	49.71±7.91

[0050] 注:\* $P < 0.05$ ,与模型对照组 B 组比较。

[0051] 从表 2 可知:与 B 组-模型对照组相比,C 组-H 组的腹膜厚度均有所减少,其中,与模型对照组 B 组相比:C 组-F 组的腹膜增厚降低,且差异显著,实验期间 SD 大鼠的死亡率低;H 组的腹膜增厚无显著性差异,其原因为吡非尼酮浓度过低,仅为 0.005%w/v;G 组的腹膜增厚降低,且差异显著,说明浓度为 6%w/v 的吡非尼酮,有效延缓腹膜增厚的效果,但因 G 组浓度过高,实验结束后,致死率高达 50%。另外,D 组、E 组、G 组同为吡非尼酮较高浓度组,E 组和 G 组与 D 组相比,无显著性差异( $P > 0.05$ ),可以看出当吡非尼酮浓度大于 2% 时,对腹膜厚度影响较小。

[0052] (2) 大鼠血液中 TGF- $\beta_1$  浓度的试验结果如表 3:

[0053] 表 3 各组大鼠血液中 TGF- $\beta_1$  浓度表

组别	TGF- $\beta_1$ 的浓度 (pg/ml)	
	血清	腹水
A组-正常对照组	108.24±14.33	56.31±9.12
[0054] B组-模型对照组	248.63±41.08	112.36±16.24
C组-实施例1	172.45±26.11 <sup>▲</sup>	68.92±8.64 <sup>▲</sup>
D组-实施例2	152.84±14.62 <sup>▲</sup>	42.22±12.67 <sup>▲</sup>
E组-实施例3	139.67±20.39 <sup>▲</sup>	38.86±9.26 <sup>▲</sup>
F组-实施例4	210.11±24.13 <sup>▲</sup>	97.45±15.52 <sup>▲</sup>
[0055] G组-实施例5	124.61±22.81 <sup>▲</sup>	31.44±8.48 <sup>▲</sup>
H组-实施例6	236.41±25.84	102.13±19.49

[0056] 注：▲表示  $P < 0.05$ ，与模型对照组 B 组比较。

[0057] 从表 3 可知：与 B 组 - 模型对照组相比：C 组 -H 组中腹水和血清中的 TGF- $\beta_1$  值均有所降低，其中，与模型对照组 B 组相比：C 组 -F 组的 TGF- $\beta_1$  值差异显著，且  $P < 0.05$ ，具有统计学意义；G 组虽 TGF- $\beta_1$  值显著降低，但其致死率较高；H 组因其吡非尼酮的浓度较低，与模型对照组相比无显著性差异。另外，D 组与 E 组比较，无显著性差异 ( $P > 0.05$ )，虽然 G 组中 TGF- $\beta_1$  的浓度较低，但致死率高。故优选浓度为 0.1% ~ 2%。

[0058] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。