



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I639435 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：106129937

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 09 月 01 日

(51)Int. Cl. : A61K33/06 (2006.01)

A61K33/26 (2006.01)

A61P3/12 (2006.01)

(71)申請人：彰化基督教醫療財團法人彰化基督教醫院(中華民國) CHANGHUA CHRISTIAN MEDICAL FOUNDATION CHANGHUA CHRISTIAN HOSPITAL (TW)

彰化縣彰化市南校街一三五號

國立中興大學(中華民國) NATIONAL CHUNG HSING UNIVERSITY (TW)

臺中市南區興大路一四五號

(72)發明人：汪俊延 UAN, JUN-YEN (TW) ; 吳鴻明 WU, HUNG-MING (TW)

(74)代理人：吳豐任；李俊陞；戴俊彥

(56)參考文獻：

US 2015/0037466A1

Christopher W. McIntyre, "Iron-Magnesium Hydroxycarbonate (Fermagate): A Novel Non-Calcium-Containing Phosphate Binder for the Treatment of Hyperphosphatemia in Chronic Hemodialysis Patients", Clin J Am Soc Nephrol., 4(2), February 2009, page 401-409.

審查人員：劉祥音

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：12 共 31 頁

(54)名稱

陽離子結合劑及包含其之醫藥組合物

CATIONIC BINDER AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING THE SAME

(57)摘要

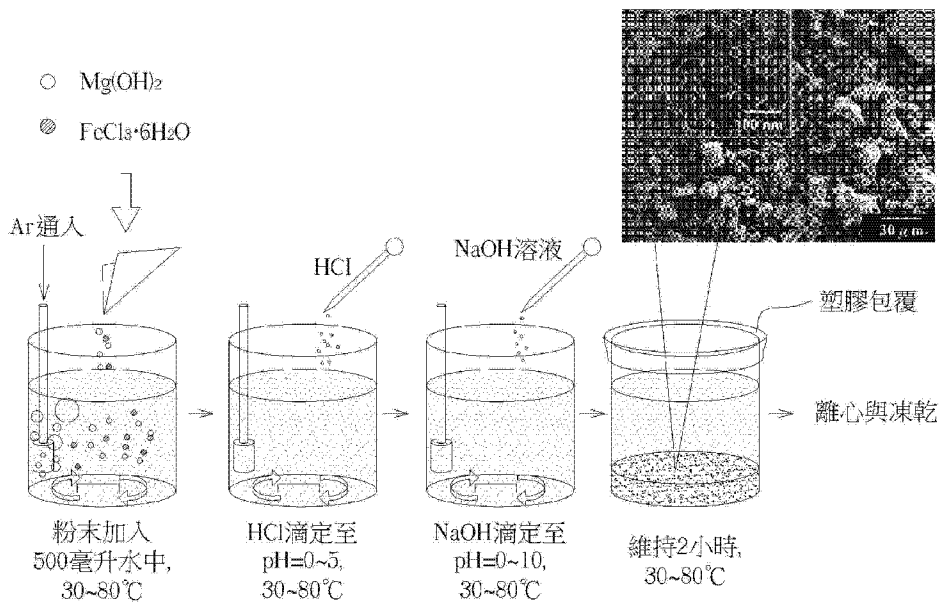
本發明提供一種用於治療患有或易患高磷血症病人的醫藥組合物，其含有 Mg-Fe-Cl HTIn。在一實施例中，Mg-Fe-Cl HTIn 如式 (I) 所示。此醫藥組合物的磷吸納力大於

$$\frac{\text{ppm}}{\text{g/L}}$$

。本發明還提供經由使用此醫藥組合物來治療患有或易患高磷血症的病人的方法。本發明還提供製造此醫藥組合物的方法。

The present invention provides a pharmaceutical composition for treating a patient suffering from or predisposed to hyperphosphatemia, which contains Mg-Fe-Cl HTIn. In one embodiment, the Mg-Fe-Cl HTIn is shown in formula (I). The phosphorus uptaking capacity of the pharmaceutical composition is greater than 100 ppm/(g/L). The present invention further provides a method for treating a patient suffering from or predisposed to hyperphosphatemia by using said pharmaceutical composition. The present invention further provides a method of manufacturing the pharmaceutical composition.

指定代表圖：



第1圖



【中文發明名稱】 陽離子結合劑及包含其之醫藥組合物

【英文發明名稱】 CATIONIC BINDER AND PHARMACEUTICAL

COMPOSITION COMPRISING THE SAME

【中文】

本發明提供一種用於治療患有或易患高磷血症病人的醫藥組合物，其含有 Mg-Fe-Cl HTIn。在一實施例中，Mg-Fe-Cl HTIn 如式 (I) 所示。此醫藥組合物的磷吸納力大於  $100 \frac{\text{ppm}}{\frac{\text{克}}{\text{升}}}$ 。本發明還提供經由使用此醫藥組合物來治療患有或易患高磷血症的病人的方法。本發明還提供製造此醫藥組合物的方法。

【英文】

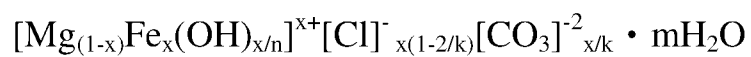
The present invention provides a pharmaceutical composition for treating a patient suffering from or predisposed to hyperphosphatemia, which contains Mg-Fe-Cl HTIn. In one embodiment, the Mg-Fe-Cl HTIn is shown in formula (I). The phosphorus uptake capacity of the pharmaceutical composition is greater than 100 ppm/(g/L). The present invention further provides a method for treating a patient suffering from or predisposed to hyperphosphatemia by using said pharmaceutical composition. The present invention further provides a method of manufacturing the pharmaceutical composition.

【指定代表圖】第（ 1 ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



，  $x=0.23\sim 0.38$     $n=1.16\sim 1.34$     $k=2.37\sim 3.28$

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】陽離子結合劑及包含其之醫藥組合物

【英文發明名稱】CATIONIC BINDER AND PHARMACEUTICAL  
COMPOSITION COMPRISING THE SAME

### 【技術領域】

【0001】 本發明大致上關於一種陽離子結合劑 (cationic binder)，和一種用於治療患有或易患高磷血症的病人的醫藥組合物，及其使用方法。具體而言，本發明則針對包含鎂、鐵和氯化物的一種陽離子結合劑，包含其之醫藥組合物及其使用方法。

### 【先前技術】

【0002】 眾所周知，在大多數情況下患有慢性腎疾 (chronic kidney deficiency) 的病人，也患有鈣和磷的自我調節障礙。因此，最常見的是，必須要提到腎病併發腎性骨質病。

【0003】 在腎性骨質病 (renal osteopathy) 中，腸中的鈣吸收減少，跟著鈣減少進入骨骼中，導致所謂的低鈣血症 (acalcinosis)，其表現為礦化缺乏 (mineralisation deficiencies) 和骨質疏鬆症 (osteoporosis)。另外，在腎性骨質病中，可以注意到磷的排泄不足，而導致高磷酸血症 (hyperphosphataemia) 的血液中磷水平升高。兩種現象的交互作用，表現為繼發性副甲狀腺功能亢進症 (secondary hyperparathyroidism)，又導致骨骼破壞。

【0004】 因此，在諸如特別是慢性腎臟疾病的腎疾中，為了要預防繼發性副甲狀腺功能亢進症和轉移性鈣化 (metastatic calcification)，必須謹慎控制腸和血

液或血清中的磷積累。

### 【發明內容】

【0005】 因此，本發明提供了一種陽離子結合劑，可以用來結合如磷酸根的陰離子。此等陽離子結合劑可以用作為治療患有高磷酸鹽血症的病人的醫藥組合物，或是用作為預防性治療易患有高磷酸鹽血症病人的醫藥組合物。適合本醫藥組合物的病人包括人和動物。

【0006】 根據一個實施例，提供一種陽離子結合劑。其包含鎂、鐵（III）和氯化物，並且在用於合成陽離子結合劑的原料中， $Mg^{+2}$ 和 $Fe^{+3}$ 的原子比為介於2:1至60:1之間，此陽離子結合劑的陰離子吸納力（anion uptaking capacity）大於 $100 \frac{\text{ppm}}{\frac{\text{克}}{\text{升}}}$ 。

【0007】 根據一個實施例，提供了一種用於治療患有或易患高磷血症的病人的醫藥組合物。此醫藥組合物包括一種陽離子結合劑和一種藥理學上可接受的載體，其中之陽離子結合劑包括鎂、鐵（III）和氯化物，並且在用於合成陽離子結合劑的原料中， $Mg^{+2}$ 和 $Fe^{+3}$ 的原子比為介於2:1至60:1之間，此陽離子結合劑的陰離子吸納力大於 $100 \frac{\text{ppm}}{\frac{\text{克}}{\text{升}}}$ 。

【0008】 根據另一個實施例，提供了一種治療或預防性治療患有或易患高磷血症病人的方法。此方法包括對病人施用一種醫藥組合物，其中之陽離子結合劑包括鎂、鐵（III）和氯化物，並且在用於合成此陽離子結合劑的原料中， $Mg^{+2}$ 和 $Fe^{+3}$ 的原子比為介於2:1至60:1之間，此陽離子結合劑的陰離子吸納力大於

100  $\frac{\text{ppm}}{\text{克/升}}$ 。

### 【圖式簡單說明】

#### 【0009】

圖1繪示形成Mg-Fe-Cl類水滑石(hydrotalcite-like)的奈米微片(nanoplatelet)(HTln)的示意圖。

圖2A繪示Mg-Fe-Cl HTln粉末的X射線繞射圖，其具有不同的Mg<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>莫耳比以合成此化合物。圖2B表示所合成的Mg-Fe-Cl HTln粉末的X射線粉末繞射圖。

圖3繪示加入HTln粉末後的PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>吸著(sorption)。

圖4繪示與7毫升(ml)的乳汁混合90分鐘之前和之後的Renagel(圖4a)和Mg-Fe-Cl HTln(圖4b)的圖像。

圖5表示在pH6時乳汁中Mg-Fe-Cl HTln的膳食磷結合表現。

圖6表示在乳汁90分鐘的磷結合實驗前後，Mg-Fe-Cl HTln的X射線繞射圖。

圖7A表示用於合成化合物而具有不同的Mg<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>莫耳比的Mg-Fe-Cl HTln粉末的FT-IR光譜。圖7B表示1克的Mg-Fe-Cl HTln的FT-IR光譜，和在pH6的25毫升乳汁中的磷酸鹽吸納後的HTln光譜。

圖8表示在25毫升乳汁中，0.5克的Mg-Fe-Cl HTln和0.5克的Renagel的pH變化為時間的函數。

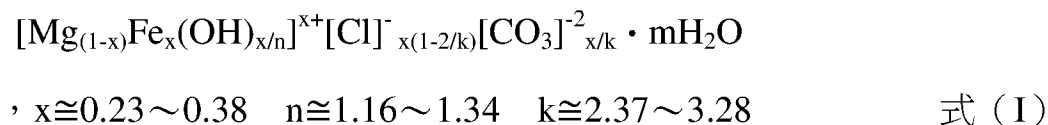
圖9表示以Mg-Fe-Cl HTln培養基培養L919細胞後的形態和活力。

圖10、圖11、圖12繪示施用Mg-Fe-Cl HTln後，血清的血液尿素氮、肌酸酐和磷水平的柱狀圖。

### 【實施方式】

【0010】 將詳細地描述較佳實施例，以便更佳理解本發明。本發明的較佳實施例會繪示在具有編號元件的附圖中。

【0011】 腎臟病末期的病人（ESRD）需要服用口服磷酸鹽結合劑。傳統的磷酸鹽結合劑可能會留下鋁中毒或心臟鈣化的缺點。於此，Mg-Fe-Cl類水滑石的奈米微片（HTIn）首次凸顯出其關於在牛奶中的磷吸納力和細胞的細胞毒性，而為潛在的口服磷酸鹽結合劑。開發出一種新型的方法，用於從原料，Mg(OH)<sub>2</sub>和FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O，來合成Mg<sup>+2</sup>:Fe<sup>+3</sup>比例不同的Mg-Fe-Cl HTIn粉末，其中從Mg(OH)<sub>2</sub>和FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O中的Mg<sup>+2</sup>和Fe<sup>+3</sup>的原子比為，介於2:1至60:1之間。在陽離子結合劑中Mg<sup>+2</sup>:Fe<sup>+3</sup>的比例為6.0:1至1.5:1，較佳為4.0:1和2.0:1，最佳為2.8:1。在一個實施例中，Mg-Fe-Cl HTIn如式（I）所表示者：



【0012】 證實在牛奶中加入0.5克的Mg-Fe-Cl HTIn可以在30分鐘內將其磷含量降低40%，表現出150  $\frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$ 的磷酸鹽吸納力，並在90分鐘內減少65%，表現出325  $\frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$ 的磷酸鹽吸納力。在低pH環境下，Mg-Fe-Cl HTIn可以表現出相對高的磷吸納性質。HTIn在乳汁中反應90分鐘的過程中，不會發生磷回復（phosphorus restoration）。Mg-Fe-Cl HTIn的體外細胞毒性測定中，顯示沒有潛在的細胞毒性。在含有HTIn萃取物的培養基中所培養的細胞，比在無萃取培養基（空白對照）中培養的細胞甚至更加有活力。Mg-Fe-Cl HTIn萃取物導致培養基中的數百ppm的Mg離子和數ppm的Fe離子，對良好的細胞活力應該是有積極的影響。此外，通過膳食處理，10毫克/公斤至30毫克/公斤的劑量，可以降低血液尿素氮



(BUM)、肌酸酐和磷的血清水平，顯示其對治療腎臟疾病的優越效果。

【0013】 以下內容將表示本發明所提供的陽離子結合劑 (Mg-Fe-Cl HTIn) 對於磷酸鹽吸納力和治療腎臟疾病的效果的實驗。

【0014】 實驗1 合成和鑑定合成的Mg-Fe-Cl HTInMg(OH)<sub>2</sub>和FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O粉末用於合成Mg-Fe-Cl HTIn。在表1中，A表示Mg(OH)<sub>2</sub>，而B表示FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O。各別含有A和B的三個粉末樣品，標示為2A\_0.1B、2A\_0.4B和2A\_0.6B。將各粉末樣品浸入500毫升50°C的蒸餾水中。經由加入HCl(水溶液)使化學品完全溶解，來將水溶液的pH調整至pH為1。然後經由滴加NaOH(水溶液)(2.5M)，將離子溶液的pH值增加至9.5。當pH值在50°C下穩定在pH為9.5時，溶液中存在著紅棕色的懸浮物。溶液的pH值在50°C下保持在pH為9.5，持續2小時。將上述混合物以磁力劇烈攪拌，並在整個合成過程中強制通入1LPM的Ar氣體進入水溶液中起泡。然後帶有紅褐色懸浮物的溶液使用離心機萃取、用蒸餾水沖洗5次、然後真空乾燥。使用Bruker D2 Phaser繞射儀，經由X射線粉末繞射鑑定合成產物的晶體結構。為此，使用Ni過濾的Cu K $\alpha$  1 (1.5406Å) 輻射。合成產品也在Perkin-Elmer Spectrum RX-I光譜儀上進行傅里葉變換紅外線 (FT-IR) 分析。對於FT-IR分析，將0.002g的HTIn粉末與0.2g烘箱乾燥過的(80°C，1小時)光譜級KBr混合，在8噸壓力與真空下壓製1分鐘，成為直徑為12.91公厘的圓盤。得到波數在400約4000公分<sup>-1</sup>的FT-IR光譜。經由X射線光電子能譜(XPS)進行合成產物的元素化學分析。使用JEOL JSM-7000F場發射掃描式電子顯微鏡觀察合成產品的形貌。

【0015】 表1

A	B	之後所生產化合物的標示
Mg(OH) <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	
2g	0.1g	2A_0.1B
2g	0.4g	2A_0.4B
2g	0.6g	2A_0.6B

【0016】 請參考圖1、圖2A和圖2B，其中之圖1表示形成Mg-Fe-Cl類水滑石的奈米微片（HTln）的示意圖，圖2A表示具有不同的Mg<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>莫耳比以合成此化合物的Mg-Fe-Cl Htln粉末的X射線繞射圖，圖2B表示所合成的Mg-Fe-Cl HTln粉末的X射線粉末繞射圖。在圖1中，SEM影像中的插圖顯示了HTln的奈米微片結構。用於合成Mg-Fe-Cl HTln的製備條件已經示在表1中。圖2A表示具有不同的Mg<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>莫耳比以合成此化合物的Mg-Fe-Cl Htln粉末的X射線繞射圖。Mg(OH)<sub>2</sub>和FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O是合成的原料。在圖2B中，Mg<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>莫耳比表示來自原料中用於合成的Mg<sup>+2</sup>和Fe<sup>+3</sup>的原子比。Mg<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>莫耳比為2、4、8和60的X射線繞射圖，從下向上繪製於圖2B中。大約2θ= 11°和22°處的特徵峰，分別對應於LDH相的典型基底間距（d<sub>003</sub>）和（d<sub>006</sub>）。如圖2B所示，10.90°和21.65°處的反射峰，被鑑定為來自水滑石的基底反射（003）和（006）。此處Mg-Fe-Cl HTln（003）的基底間距，8.11Å，與經由一般方法所獲得的Mg-Fe-Cl HTln的相似。HTln的（003）基底間距（8.11Å）超過Mg-Fe-CO<sub>3</sub> HTln的（7.97Å）。如圖2B所示，Mg-Fe-Cl HTln的每一個X射線強度峰，從Mg-Fe-CO<sub>3</sub> HTln相應的X射線峰向低角度偏移，表明碳酸根離子不是主要的層間陰離子。儘管在製備HTln中防止碳酸根離子的污染是困難的，但是此處所開發的合成方法成功地使碳酸鹽污染最小化。基於圖2B中的X射線反射圖案，由2A\_0.6B所製成的HTln比由2A\_0.1B和2A\_0.4B所製成的

HTIn，顯示出更大的結晶度。表2表示樣品2A\_0.1B、2A\_0.4B和2A\_0.6B由XPS所獲得的Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Cl<sup>-</sup>和Na<sup>+</sup>含量（以原子%計）。每個樣品的化學成分由相應的Mg 2p、Fe 2p<sub>3/2</sub>、Cl 2p和Na 1s的XPS光譜所計算而得。在表2中，A\_0.1B含有0.8%Cl<sup>-</sup>、2A\_0.4B含有1.2%Cl<sup>-</sup>、2A\_0.6B含有2.3%的Cl<sup>-</sup>。重要的是，在各種樣品中沒有檢測到鈉，支持Cl<sup>-</sup>與殘留的NaCl不相關但是插入HTIn層間中的發現。HTIn的通式為[M<sub>1-x</sub><sup>2+</sup>M<sub>x</sub><sup>3+</sup>(OH)<sub>2</sub>]<sup>x+</sup>(A<sub>x/n</sub><sup>n-</sup>)·nH<sub>2</sub>O<sup>1</sup>，其中x等於M<sup>2+</sup>/（M<sup>2+</sup>+M<sup>3+</sup>）。表2列出了2A\_0.1B、2A\_0.4B和2 A\_0.6B的x值。2A\_0.6B的x值為0.26。在本發明中，2A\_0.6B的比例為2.8:1，而接近最佳比例。因此，基於本文探索的合成方法，使用2A\_0.6B所合成Mg-Fe-Cl HTIn，來用於以下磷酸鹽結合的實驗中。

【0017】 表2

	組成/原子%				來自化合物的原子百分比	
	Mg <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	(Mg <sup>2+</sup> :Fe <sup>3+</sup> )	x
2A_0.1B	16.9	3.1	0.8	未測出	5.5:1	0.16
2A_0.4B	14.6	4.0	1.2	未測出	4.1:1	0.22
2A_0.6B	13.4	4.8	2.3	未測出	2.8:1	0.26

【0018】 實驗2 Mg-Fe-Cl HTIn在KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>水溶液中陰離子的吸著和解吸

【0019】 使用包含約1000ppm的PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>的KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>水溶液（100毫升），來評估所合成的Mg-Fe-Cl HTIn粉末從KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>水溶液中吸納PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>的能力。在每次實驗歷程中，將0.2克的Mg-Fe-Cl HTIn粉末浸漬在100毫升的KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>水溶液中。實驗中的每個溶液，都以氫氣清通以減少大氣中的氣態二氧化碳形成碳酸根陰離子。使

用離子層析(IC; ICS-900, DIONEX)來同時測量 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中 $\text{Cl}^-$ 和殘留 $\text{PO}_4^{3-}$ 的濃度。在陰離子吸著和解吸的實驗中，稀硝酸(2體積%)用於將水溶液的pH值保持在 $\text{pH}3.0 \pm 0.2$ 或 $\text{pH}6.0 \pm 0.2$ 。經由加入硝酸水溶液而維持溶液的pH值所產生 $\text{PO}_4^{3-}$ 的濃度誤差小於5%。

【0020】 請參考圖3，其繪示了在添加HTIn粉末後的 $\text{PO}_4^{3-}$ 吸著，其中(a)顯示在100毫升的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液(原始55 ppm的 $\text{PO}_4^{3-}$ )中0.2克的Mg-Fe-Cl HTIn的 $\text{PO}_4^{3-}$ 吸著。(b, c)繪示將0.2克的Mg-Fe-Cl HTIn浸入100毫升 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液(原始1000 ppm的 $\text{PO}_4^{3-}$ )中時， $\text{PO}_4^{3-}$ 的吸著和 $\text{Cl}^-$ 的解吸，其中(b)在pH 3下進行吸著和解吸實驗，(c)在pH6下進行吸著和解吸實驗。經由公式(I)計算Mg-Fe-Cl HTIn的磷酸鹽吸納力。

$$\text{磷吸納力} \frac{\text{ppm}}{\frac{\text{克}}{\text{升}}} = \frac{\left[ \frac{\text{原始水溶液中磷酸鹽的重量(毫克)} * \text{吸附率}\%}{\text{用於測試中的水溶液體積(升)}} \right] (\text{ppm})}{\left[ \frac{\text{HTIn粉末的重量(毫克)}}{\text{用於測試中的水溶液體積}} \right] \left( \frac{\text{克}}{\text{升}} \right)}$$

【0021】 如圖3(a)所示，當在室溫下向100毫升 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液(其最初含有55 ppm的 $\text{PO}_4^{3-}$ )中加入0.2克的HTIn粉末時，HTIn在20分鐘內幾乎吸納了溶液中的所有 $\text{PO}_4^{3-}$ 。為了確定Mg-Fe-Cl HTIn的 $\text{PO}_4^{3-}$ 吸納力，將0.2克的HTIn的粉末加入到 $\text{PO}_4^{3-}$ 初始含量為1000 ppm的100毫升 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中(圖3)。圖3(b)顯示，當將0.2克的Mg-Fe-Cl HTIn加入到保持在pH3的100毫升 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中，其原始 $\text{PO}_4^{3-}$ 濃度為1000 ppm時，10分鐘後溶液殘留的 $\text{PO}_4^{3-}$ 僅為~430 ppm(57%吸納力)，從10分鐘至300分鐘就幾乎不再有 $\text{PO}_4^{3-}$ 被吸納了。

【0022】 在相同的實驗期間，氯化物陰離子從Mg-Fe-Cl HTIn中脫層，提供了陰離子插層（intercalation）和脫層（de-intercalation）的證據。圖3（c）顯示，在pH6時在有1000 ppm的 $\text{PO}_4^{3-}$ 的100毫升 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中，0.2克的Mg-Fe-Cl HTIn吸收了 $\text{PO}_4^{3-}$ ，在100分鐘內將磷酸鹽含量降至約540 ppm，而從100分鐘到300分鐘幾乎不再有 $\text{PO}_4^{3-}$ 被吸納。此處pH6時在 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中Mg-Fe-Cl HTIn的磷酸鹽吸納能力為約46%左右，低於HTIn在pH3的結果。

【0023】 如圖3（b）所示，在pH3的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中Mg-Fe-Cl HTIn粉末顯示出從酸性溶液中吸納磷酸鹽的優異能力，將磷酸鹽的濃度從約1000 ppm降低至約450 ppm。重要的是，在pH值固定為pH3的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液中吸納磷酸鹽的5小時期間，HTIn在整個實驗期間穩定地維持 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 水溶液的磷酸鹽含量在約450 ppm的，表明HTIn的結構在酸性條件下不分解，所以沒有發生磷酸鹽回復。在此期間氯化物的濃度增加，表明陰離子交換的直接證據。表3總結了Mg-Fe-Cl HTIn在pH 3和pH 1下的磷吸納力。在本發明中Mg-Fe-Cl HTIn的磷吸納力為至少 $100 \frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$ ，甚至大於 $200 \frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$ 。

【0024】 表3

	pH 3		pH 1	
	吸著率%	磷酸鹽吸納力 $\frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$	吸著率%	磷酸鹽吸納力 $\frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$
8: 1	53.6	268	53.2	266
4: 1	54.4	272	55.7	278.5

2: 1	48	240	54.9	274.5
------	----	-----	------	-------

【0025】 實驗3 在牛奶中的Mg-Fe-Cl HTIn粉末和司維拉姆鹽酸鹽(Renagel)與後續磷吸納實驗之特徵

【0026】 將Mg-Fe-Cl HTIn粉末在牛奶中的磷酸鹽結合表現與商業磷酸鹽結合劑，司維拉姆鹽酸鹽(sevelamer hydrochloride, Renagel)的結合表現進行比較。向25毫升的牛奶中加入0.5克的Mg-Fe-Cl HTIn或1克的Mg-Fe-Cl HTIn或1克的司維拉姆鹽酸鹽粉末。牛奶的初始pH約為6.7。兩種實驗方法用於研究pH效應對HTIn吸納磷的能力的影響。首先，經由加入HNO<sub>3</sub>水溶液(50體積%)將牛奶的pH調節至pH6.0±0.2，並且在整個磷吸納實驗中始終保持此pH值。其次，在磷吸納實驗過程中，牛奶的pH值並不保持恆定。經由使用US EPA方法3050B的電感耦合電漿原子發射光譜法(ICP-AES)，測量牛奶中殘留磷濃度(毫克/公斤，質量ppm)。上述定量分析由化學實驗室-臺北SGS TAIWAN有限公司所執行。使用X射線粉末繞射將磷吸納前的Mg-Fe-Cl HTIn與磷吸納後的Mg-Fe-Cl進行比較。進行傅里葉變換紅外線(FT-IR)分析，以獲得在牛奶中磷吸納前後的Mg-Fe-Cl HTIn和司維拉姆鹽酸鹽(Renagel)兩者的光譜。為了測量Mg-Fe-Cl HTIn和司維拉姆鹽酸鹽(Renagel)每種結合劑與牛奶混合90分鐘之後的體積變化，使用具有每0.5毫升分數標記的25毫升容量刻度量筒。將0.5克質量的Mg-Fe-Cl HTIn或0.5克的司維拉姆鹽酸鹽(Renagel)與7毫升牛奶在此量筒中混合。在混合後立即讀取初始體積。90分鐘後再次讀取體積。由此獲得體積變化(ΔV%)。

【0027】 請參考圖4，其顯示了與7毫升牛奶混合90分鐘後，Renagel(圖4(a))和Mg-Fe-Cl HTIn(圖4(b))的影像。在至少三次體外溶脹試驗中，當放置在牛奶中時，0.5克的Renagel粉末體積膨脹了約1150%。在相同的試驗中，則發現0.5

第 10 頁，共 16 頁(發明說明書)

克的Mg-Fe-Cl HTIn粉末，在放置在牛奶中時只膨脹了約33體積%。如所示者，0.5克的Renagel漿料的體積大於0.5克的Mg-Fe-Cl HTIn漿料的體積。圖5表示在pH6的牛奶中Mg-Fe-Cl HTIn的膳食磷結合表現，其落在一餐中在腸胃道5至6.7的pH範圍內（這是進食5分鐘內所記錄到的最高pH值）。在消化過程中，胃形成食糜，並將其轉移到十二指腸。小腸對磷酸鹽吸收是至關重要的。因此，在胃中的消化期間使用磷酸鹽結合劑去除大部分磷酸鹽對於ESRD的病人而言是重要的。因為一餐中的大部分是在胃中消化，通常胃在大約90分鐘內排空食物，所以以下實驗進行90分鐘。如圖5所示，將0.5克質量的Mg-Fe-Cl HTIn（在pH6下加入到25毫升的牛奶中），在30分鐘內有效地將磷含量降低約40%，並在90分鐘後將其降低至約65%。此外，1克的Mg-Fe-Cl HTIn（在pH6的25毫升牛乳中）的磷結合力在程度上與0.5克的Mg-Fe-Cl HTIn的結合力相似。相比之下，Renagel在pH7環境中的磷結合表現遠低於pH值3中Renagel的磷結合表現。Mg-Fe-Cl HTIn具有類似的結果，如圖3（b，c）中所示，即在pH6溶液中HTIn展現出相對較低的磷結合表現。因此，如圖5中的數據所繪，0.5克和1克的樣品展現出吸納磷的相似表現，這可能是由於測試牛奶中pH6的負面影響。

**【0028】** 圖6表示了牛奶中90分鐘，磷結合實驗前後的Mg-Fe-Cl HTIn的X射線繞射圖。1克質量的Mg-Fe-Cl HTIn具有吸納牛奶中的磷的能力，在90分鐘內將牛奶中的磷含量從1030ppm降低到359ppm（圖5）。如圖6所示，90分鐘實驗後的Mg-Fe-Cl HTIn的X射線繞射圖，與原始Mg-Fe-Cl HTIn的X射線繞射圖類似，表示來自牛奶的磷的吸收沒有改變HTIn的層結構。使用FT-IR來鑑定在不同狀態的牛奶中實驗後的Mg-Fe-Cl HTIn中的化學鍵。圖7A顯示，用於合成化合物的具有不同Mg<sup>+2</sup>/ Fe<sup>+3</sup>莫耳比的Mg-Fe-Cl HTIn粉末的FT-IR光譜。Mg(OH)<sub>2</sub>和FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O是合成的原料。在圖7B中，Mg<sup>+2</sup>/ Fe<sup>+3</sup>莫耳比表示用於合成來自原料

第 11 頁，共 16 頁(發明說明書)

中的 $Mg^{+2}$ 和 $Fe^{+3}$ 的原子比。從下到上FT-IR光譜的 $Mg^{+2}/Fe^{+3}$ 莫耳比為2,4,8和60，繪製在圖7B中。以 $426\text{公分}^{-1}$ 為中心的帶歸因於O-M-O振動。在 $3470\text{公分}^{-1}$ 處寬的強吸收帶，歸因於類-水鎂石層中OH基團 ( $\nu_{O-H}$ ) 的H鍵伸縮振動。 $1650\text{公分}^{-1}$ 的帶是由於層間中的 $H_2O$ 分子的彎曲振動 ( $\delta_{H_2O}$ )。  $1355\text{公分}^{-1}$ 處的帶，對應於層間碳酸鹽物種的模式 $\nu$ 。圖7B顯示Mg-Fe-Cl HTIn (表示為0分鐘) 的FT-IR光譜和在pH6磷酸鹽吸收後 (表示為30分鐘、60分鐘和90分鐘) 的25毫升牛奶中，1克的HTIn的光譜。還顯示了乾奶粉的FT-IR光譜以進行比較。以 $570\text{公分}^{-1}$ 為中心的帶歸因於M-O-M振動，其類似於在約 $446\text{公分}^{-1}$ 處的M-O-H彎曲，涉及類-水鎂石層中氧陽離子的平移運動。在 $3470\text{公分}^{-1}$ 處寬的強吸收帶，歸因於類-水鎂石層中OH基團 ( $\nu_{O-H}$ ) 的H鍵伸縮振動。在 $1638\text{公分}^{-1}$ 處的帶被歸因於間層中的 $H_2O$ 分子的彎曲振動 ( $\delta_{H_2O}$ )。在 $1360\text{公分}^{-1}$ 處的弱帶，對應於層間碳酸鹽物種的模式 $\nu_3$ ，其來自周圍大氣的污染物。更重要的是， $1095\text{公分}^{-1}$ 處的吸收帶，歸因於 $PO_4$ 的不對稱振動，在磷酸鹽攝取實驗後，清楚地在HTIn樣品的光譜中識別出，表明磷被成功插入到HTIn的層間中，並伴隨著Cl的釋放 (如先前圖3所示)。Mg-Fe-Cl HTIn也吸附了脂肪，如 $2923$ 、 $2850$ 和 $1746$ 的帶所示，其為脂肪的特徵，與C-H和C=O鍵的振動有關。這些帶在乾燥奶的光譜中有觀察到，顯示出脂肪是來自牛奶。圖8分別繪出，在0.5克的Renagel和0.5克的Mg-Fe-Cl HTIn磷吸納期間，25毫升牛奶的pH值進程 (牛奶的pH值沒有維持不變)。Renagel的牛奶的pH曲線在3分鐘內從6.7顯著上升到8.8，隨後平坦，直到實驗結束。然而，Mg-Fe-Cl HTIn的牛奶的pH曲線隨著時間的推移逐漸增加，在90分鐘時達到pH值8.2。此結果歸因於HTIn的pH緩衝作用。Renagel溶液鹼度的增加比Mg-Fe-Cl HTIn者更加激烈。已有報導Renagel在38%的病人中具有胃腸道副作用 (噁心、嘔吐、腹痛、腹脹、腹瀉和便秘)，可能是因為其與液體同時服用時，pH值的迅速增加及其大規模的膨脹 (圖4)。在圖8所示的pH條件下，根據ICP-AES的分析，0.5 克的



Mg-Fe-Cl HTIn可以在30分鐘內從牛奶中吸納約11%的磷，而在90分鐘時吸納約22%的磷。儘管Renagel在30分鐘內從牛奶中除去30%的磷，但是在30分鐘後牛奶中就會觀察到磷的恢復，最後在90分鐘時發現約26%的磷吸納。

【0029】 實驗4 評估Mg-Fe-Cl HTIn的體外細胞毒性

【0030】 根據ISO 10993-5的規範，使用來自小鼠纖維母細胞系的L929細胞來研究Mg-Fe-Cl HTIn粉末的細胞毒性。將Mg-Fe-Cl HTIn粉末在37°C與5%CO<sub>2</sub>下，浸泡在有Dulbecco's改質的Eagle培養基（DMEM）（0.02和0.2克/毫升）的培養箱中，持續不同時間（10分鐘和12小時）。以電感耦合電漿質譜法（ICP-MS）分析萃取出物中Mg和Fe離子的濃度（以ppm計），Mg離子的檢測下限為0.001 ppm，Fe離子為0.044 ppm。然後將萃取出物用於處理細胞單層24小時，然後檢查細胞的形態學變化以分配毒性評分。使用3-（4,5-二甲基噻唑-2-基）-2,5-二苯基四唑溴化物（MTT）測定法評估細胞活力，並使用微孔板光度計（波長570nm）測量光學密度（OD）：較高的OD值表示較高的細胞活力。沒有萃取出物的基礎培養基（DMEM）用作空白對照，使用已用10%二甲亞砷處理過的DMEM作為陽性對照（PC），使用生物醫學等級的氧化鋯片作為陰性對照（NC）。如果細胞活力小於空白組的70%（僅培養基），則萃取出物被認為是有潛在的細胞毒性。

【0031】 圖9顯示了在含有不同劑量0.02和0.2克/毫升的Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取出物的DMEM中培養24小時後的L919細胞的形態和活力。圖9（a，b）表示將Mg-Fe-Cl HTIn粉末分別浸漬在培養基中10分鐘和12小時後所分別獲得的萃取出物。如圖9（a，b）所示，無論萃取出物濃度如何，在含有萃取出物的培養基中所培養的L929細胞，與無萃取培養基（空白）中所培養的細胞沒有形態上的差異，甚至於更加略微有活力。這些結果表明，本研究中的Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取出物

第 13 頁，共 16 頁(發明說明書)

不具有潛在的細胞毒性。在臨床應用中，片劑形式的磷酸鹽結合劑（0.8-1.6g）每天配食物服用三次。假定以50毫升水來服用片劑，那麼磷酸鹽結合劑的濃度為0.016-0.032克/毫升，其接近本文所用的0.02克/毫升Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取物的劑量。還使用較高0.2克/毫升的Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取物的劑量來模擬過量的劑量。在這項調查中，假定在人體內磷酸鹽結合劑停留少於6小時（餐間的間隔）。在浸泡12小時後獲得Mg-Fe-Cl HTIn的粉末萃取物，其為晚餐和第二天早餐之間的間隔期間，而浸泡10分鐘後所獲得的Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取物，其對應於用餐期間磷酸鹽結合劑的快速吸收。如圖9所示，即使Mg-Fe-Cl HTIn粉末的劑量或持續暴露時間超過了臨床應用預期，也沒有獲得顯示Mg-Fe-Cl HTIn的粉末細胞毒性的證據。值得注意的是，實驗組細胞活力超過空白對照組。將Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取物的濃度，從0.2克/毫升降低至0.02克/毫升會增加細胞活力。人體每天需要大約250-500毫克的鎂來維持生理過程和細胞的健康功能，平均70kg人體含有約20g的鎂。鎂離子已經顯示出在體內和體外都對成骨細胞的表現具有明顯的作用。鐵離子對代謝過程也是必不可少的，包括氧氣運輸。研究表明，純鐵萃取物對於人內皮細胞具有可以忽略的細胞毒性作用。如圖9（b）所示，Mg-Fe-Cl HTIn粉末增進細胞活力（比照於空白組）的事實，部分歸因於金屬離子（主要是鎂離子）對細胞反應的正面作用。將Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取物劑量，從0.2克/毫升降低至0.02克/毫升進一步增加細胞活力。根據ICP-MS分析，Mg-Fe-Cl HTIn粉末萃取物中鎂和鐵離子的濃度分別為約1800ppm和8ppm（劑量0.2克/毫升，浸潤時間12h）。以0.02克/毫升的劑量和12h的浸漬時間為Mg-Fe-Cl HTIn的粉末萃取物產生約200ppm的鎂離子濃度，與檢測不到的鐵離子。此結果表明，大約<1800ppm的鎂離子對細胞活力具有正面作用，而較低濃度（約200ppm）的鎂離子，甚至具有更為正面的作用。

【0032】 實驗5 用Mg-Fe-Cl HTIn的膳食治療對血液尿素氮、肌酸酐、磷、鈣、氯、鈉和鉀血清水平的影響

【0033】 經由投藥10毫克/公斤、20毫克/公斤、30毫克/公斤的Mg-Fe-Cl HTIn的大鼠歷時4週，測試了Mg-Fe-Cl HTIn的體內作用。請參見圖10、圖11與圖12，其顯示了投藥0毫克/公斤、10毫克/公斤、20毫克/公斤、30毫克/公斤的Mg-Fe-Cl HTIn的一週、兩週、三週和四週後血清中的血液尿素氮、肌酸酐和磷水平的柱狀圖。如圖10所示，與對照組比較，用10毫克/公斤、20毫克/公斤、30毫克/公斤劑量的Mg-Fe-Cl HTIn治療可顯著（ $P < 0.05$ ）降低血清的血液尿素氮的濃度。類似的情況也可以在圖11與圖12中見到。Mg-Fe-Cl HTIn的治療降低了血清的肌酸酐水平和磷水平。表證出Mg-Fe-Cl HTIn的治療可以經由吸納血清磷來有效降低血液尿素氮水平，表明其在治療或預防性治療患有高磷酸血症的病人中的藥理性功能。在另一個實驗中，則顯示出Mg-Fe-Cl的治療不影響血清鈣、血清氯、血清鈉和血清鉀的濃度（數據未顯示）。

【0034】 總而言之，本發明提供含有Mg-Fe-Cl HTIn的陽離子結合劑，其可用作為治療患有或易患高磷血症的病人的醫藥組合物。在一個實施例中，Mg-Fe-Cl HTIn如式（I）所示。本醫藥組合物的磷吸納力大於 $100 \frac{\text{ppm}}{\text{克}} \frac{\text{升}}{\text{升}}$ 。本發明還提供了一種使用此醫藥組合物來治療患有或易患高磷血症的病人的方法。

以上所述僅為本發明之較佳實施例，凡依本發明申請專利範圍所做之均等變化與修飾，皆應屬本發明之涵蓋範圍。

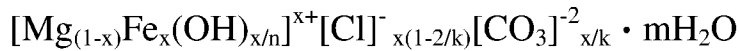
#### 【符號說明】

#### 【0035】

無

## 【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種陽離子結合劑，該陽離子結合劑包含式 (I)：



， $x=0.23\sim 0.38$   $n=1.16\sim 1.34$   $k=2.37\sim 3.28$  式 (I)。

【第2項】 如請求項1的陽離子結合劑，其中合成該陽離子結合劑的原料是Mg(OH)<sub>2</sub>和FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O。

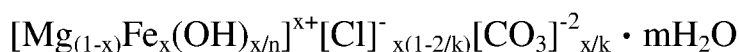
【第3項】 如請求項1的陽離子結合劑，其中在該陽離子結合劑中Mg<sup>+2</sup>：Fe<sup>+3</sup>的比例在6:1和1.5:1之間。

【第4項】 如請求項1的陽離子結合劑，其中該陽離子結合劑之陰離子吸納力意指一種磷酸鹽吸納力。

【第5項】 如請求項1的陽離子結合劑，其中該陽離子結合劑包含碳酸根。

【第6項】 如請求項1的陽離子結合劑，其中用於合成該陽離子結合劑的原料中，Mg<sup>+2</sup>和Fe<sup>+3</sup>的原子比為介於2:1至60:1之間，且該陽離子結合劑的一種陰離子吸納力 (uptaking capacity) 大於100 $\frac{\text{ppm}}{\text{克}} \cdot \text{升}$ 。

【第7項】 一種用於治療患有或易患高磷血症的病體的醫藥組合物，其包含一種陽離子結合劑和一種藥理學上可接受的載體，其中該陽離子結合劑包含式(I)：



， $x=0.23\sim 0.38$   $n=1.16\sim 1.34$   $k=2.37\sim 3.28$  式 (I)。

【第8項】如請求項7的醫藥組合物，其中合成該陽離子結合劑的原料是 $Mg(OH)_2$ 和 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 。

【第9項】如請求項7的醫藥組合物，其中在該陽離子結合劑中 $Mg^{+2} : Fe^{+3}$ 的比例在4:1和2:1之間。

【第10項】如請求項7的醫藥組合物，其中該陽離子結合劑具有類水滑石的奈米微片（HTln）結構。

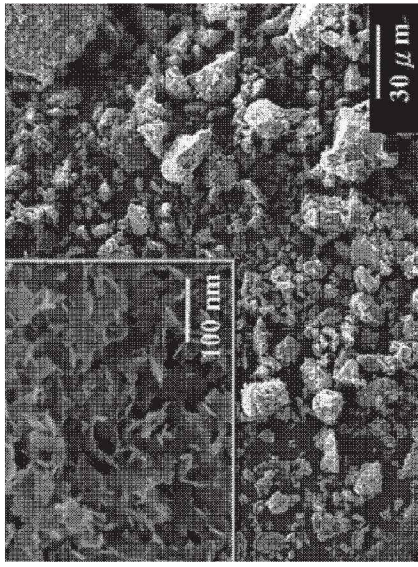
【第11項】如請求項7的醫藥組合物，其中該陽離子結合劑之陰離子吸納力意指一種磷酸鹽吸納力。

【第12項】如請求項7的醫藥組合物，其中該陽離子結合劑包含碳酸根。

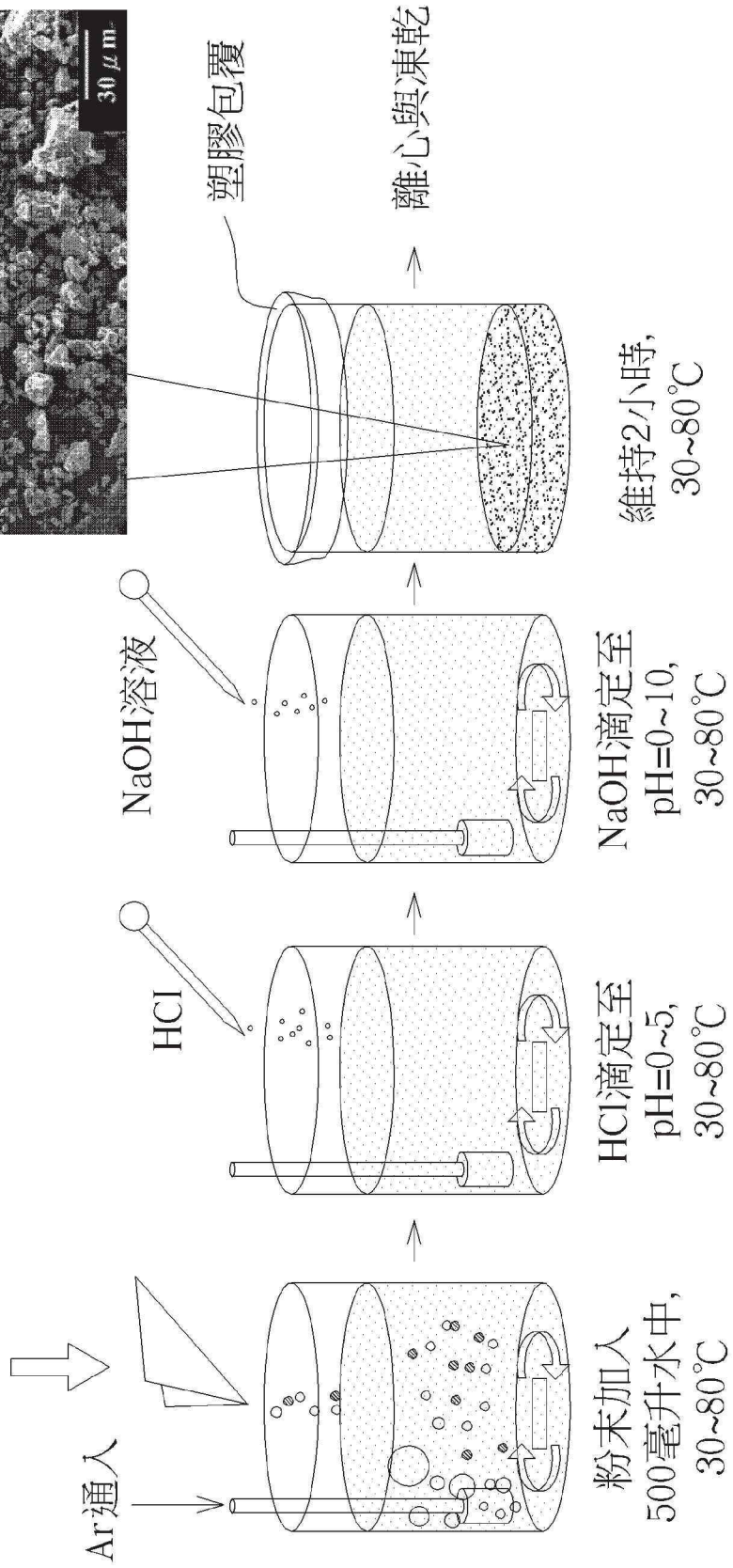
【第13項】如請求項7的醫藥組合物，其中用於合成該陽離子結合劑的原料中， $Mg^{+2}$ 和 $Fe^{+3}$ 的原子比為介於2:1至60:1之間，且該陽離子結合劑的一種陰離子吸納力大於 $100 \frac{\text{ppm}}{\text{克}} / \text{升}$ 。

【第14項】如請求項7的醫藥組合物，其中該病體包括人和動物。

【發明圖式】

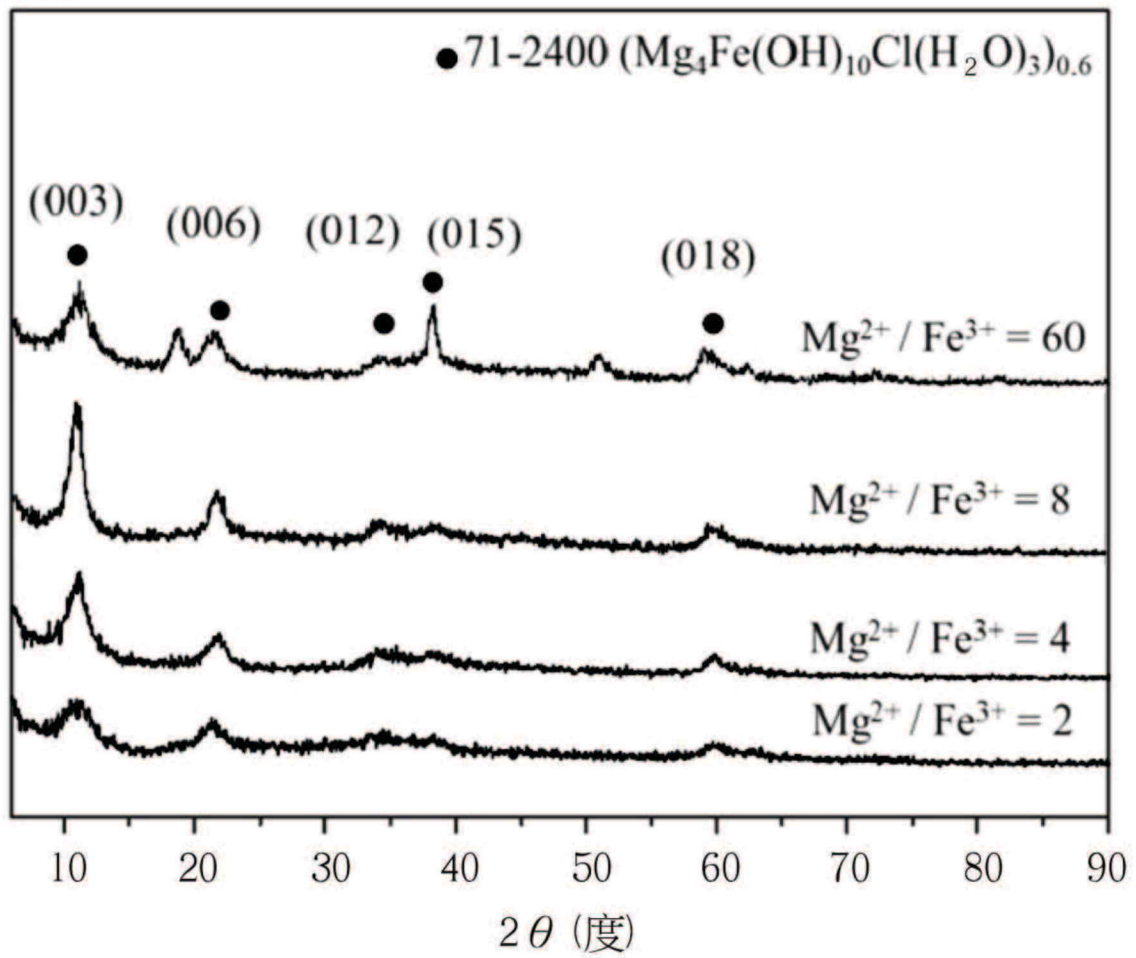


- $Mg(OH)_2$
- $FeCl_3 \cdot 6H_2O$



第1圖

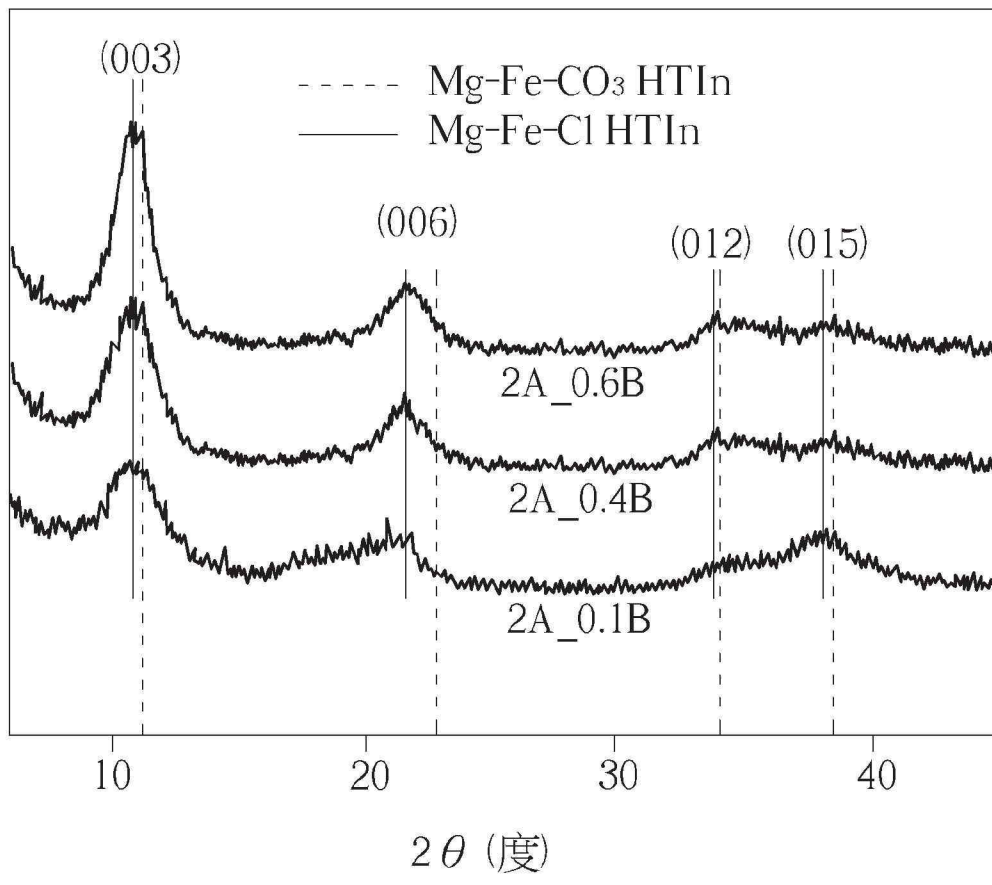
強度 (a.u.)



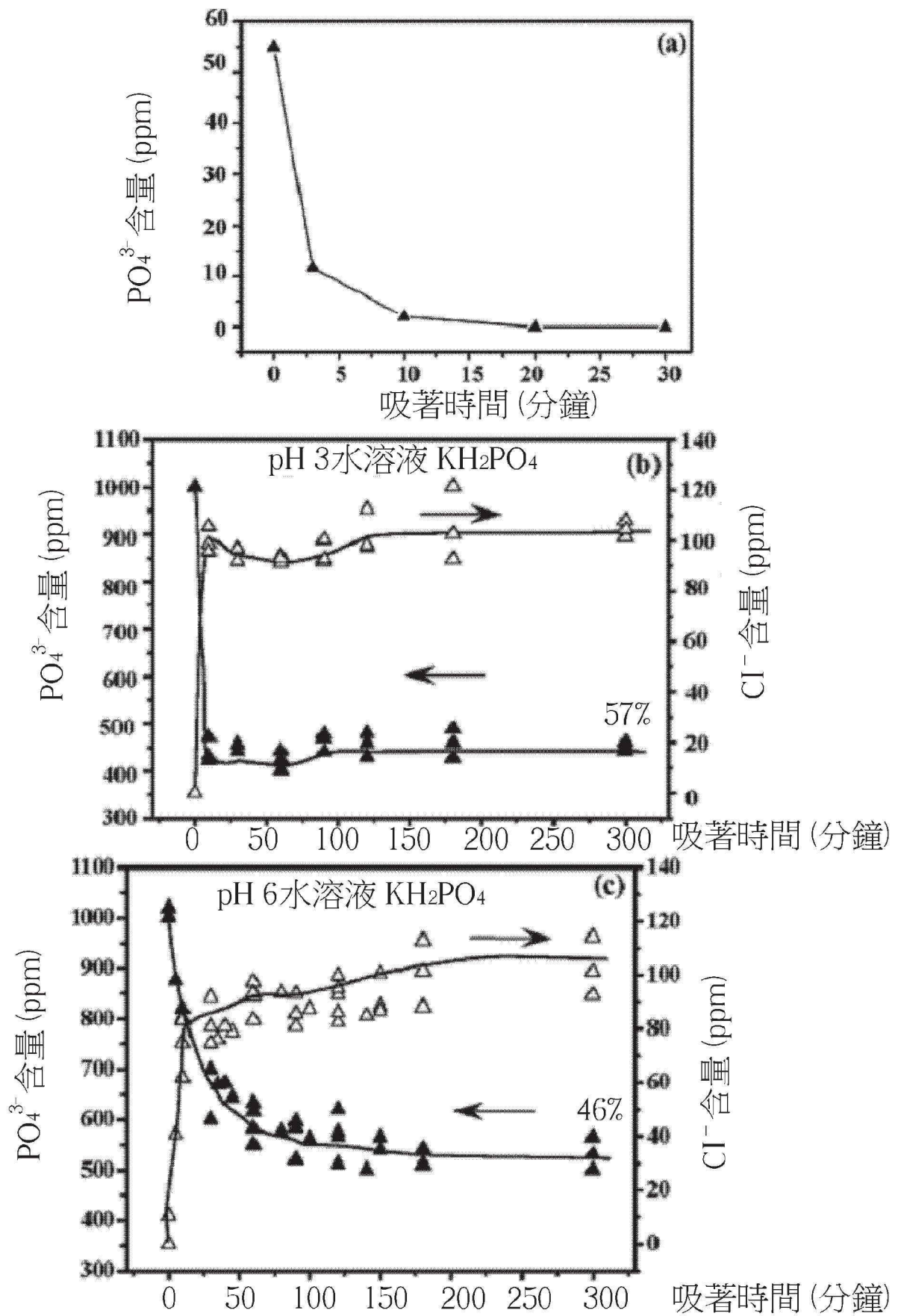
第2A圖



強度 (a.u.)

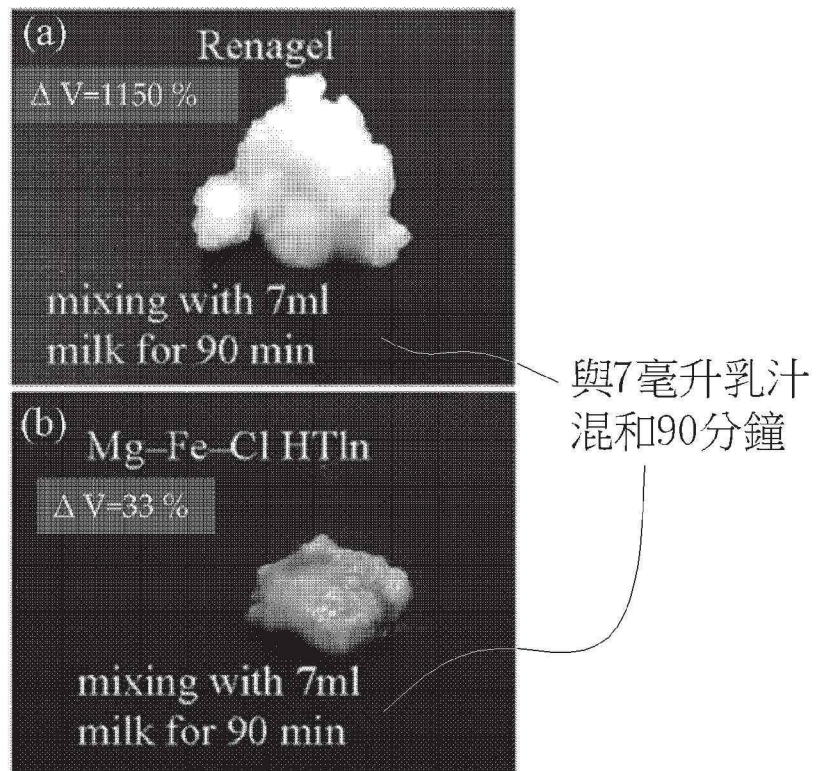


第2B圖

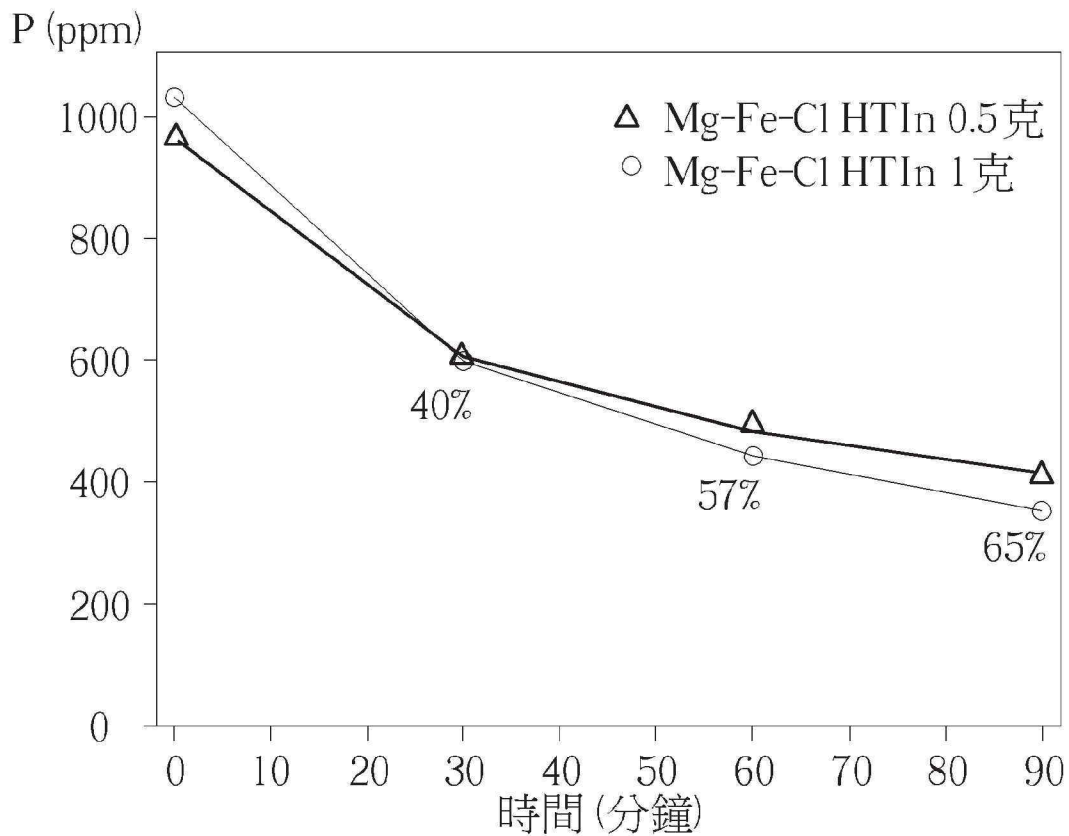


第3圖

第 4 頁，共 11 頁(發明圖式)

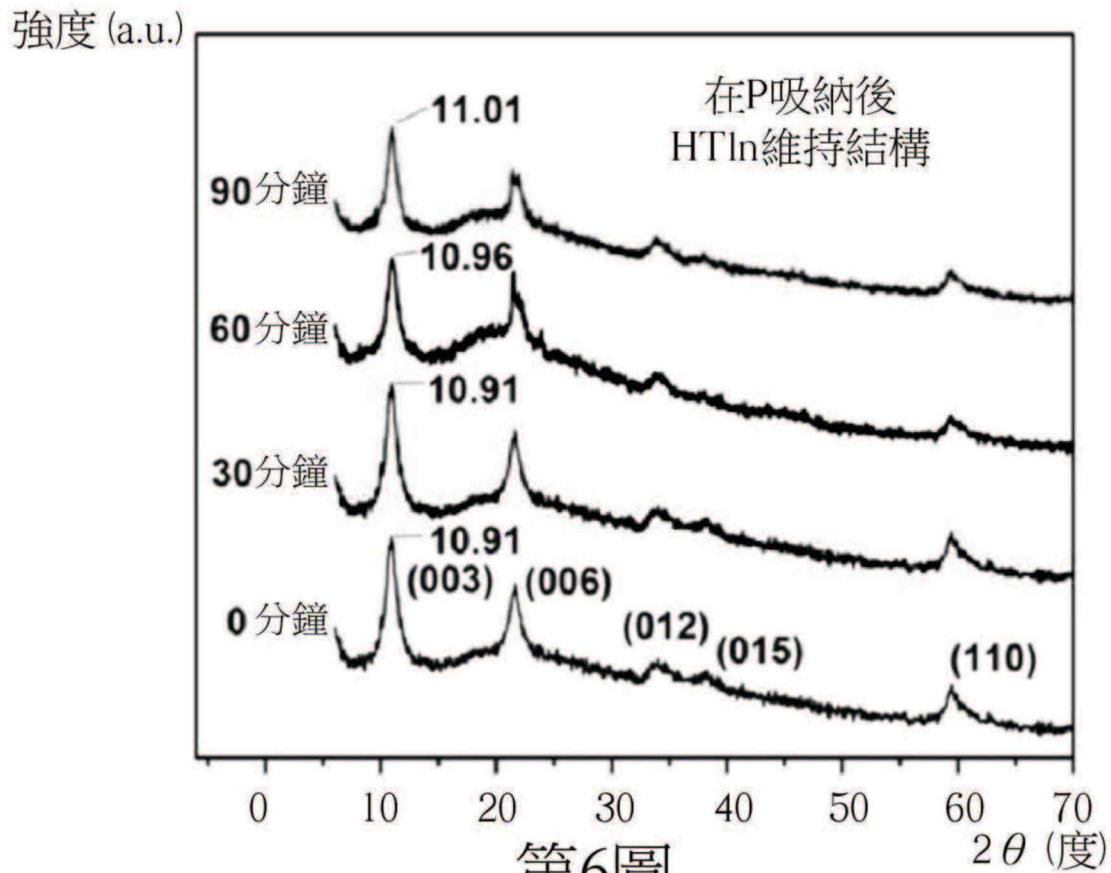


10公厘  
 第4圖

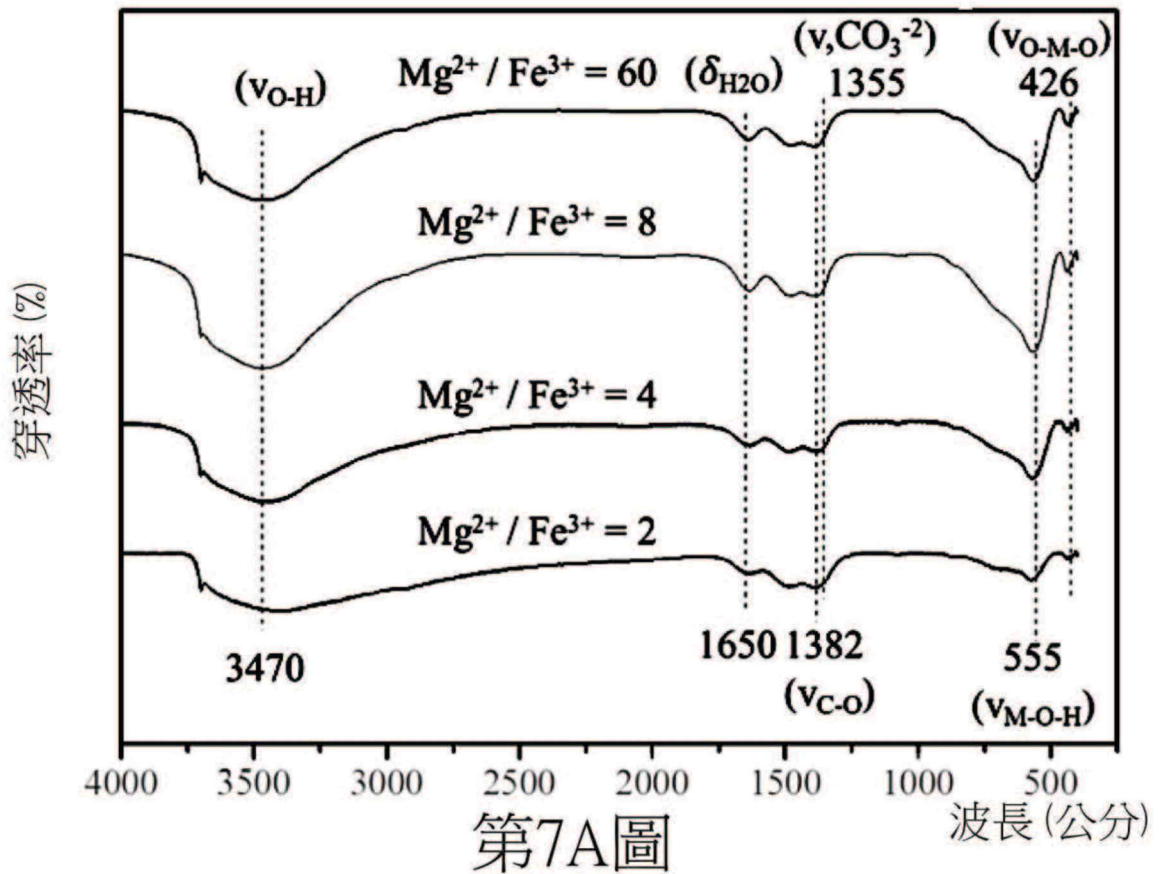


第5圖

第5頁，共11頁(發明圖式)

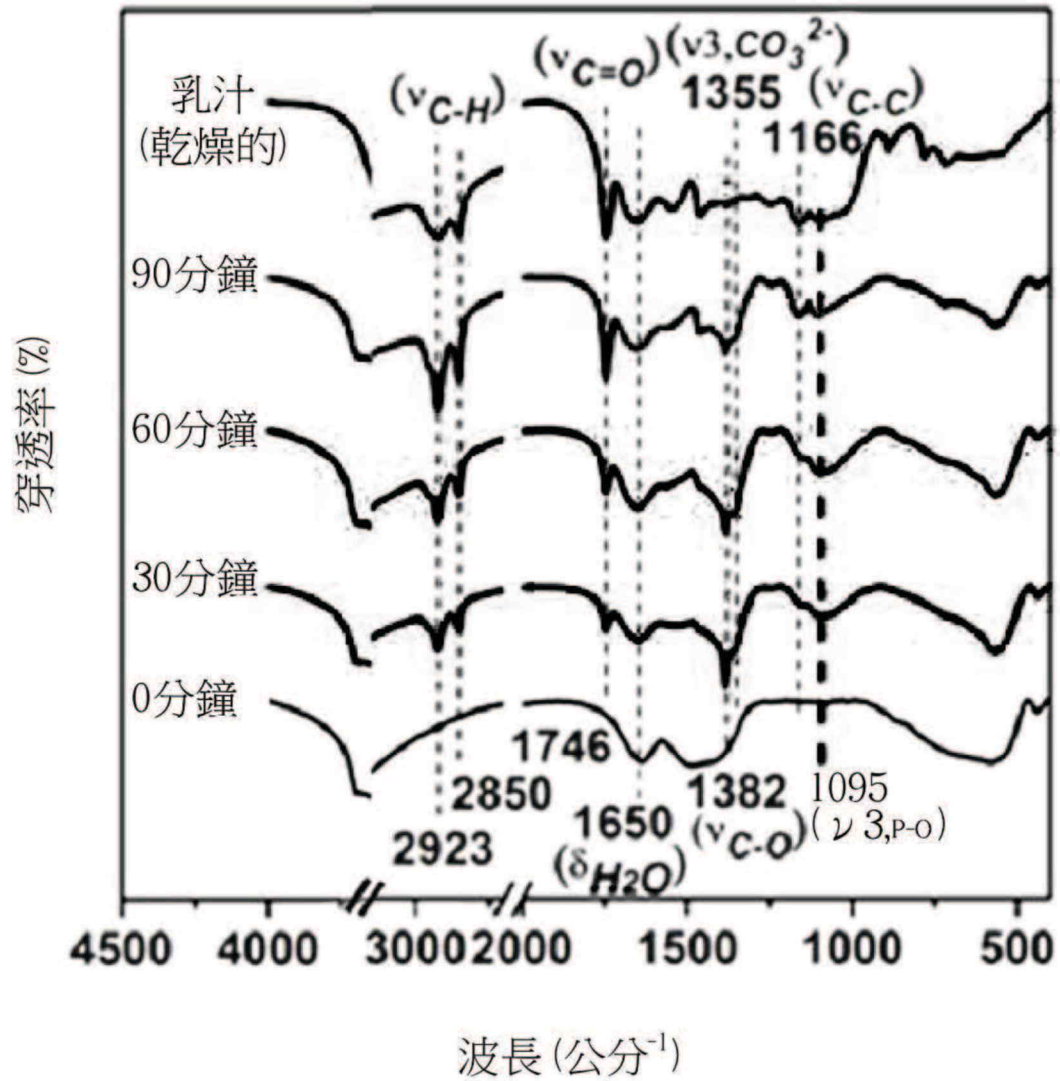


第6圖

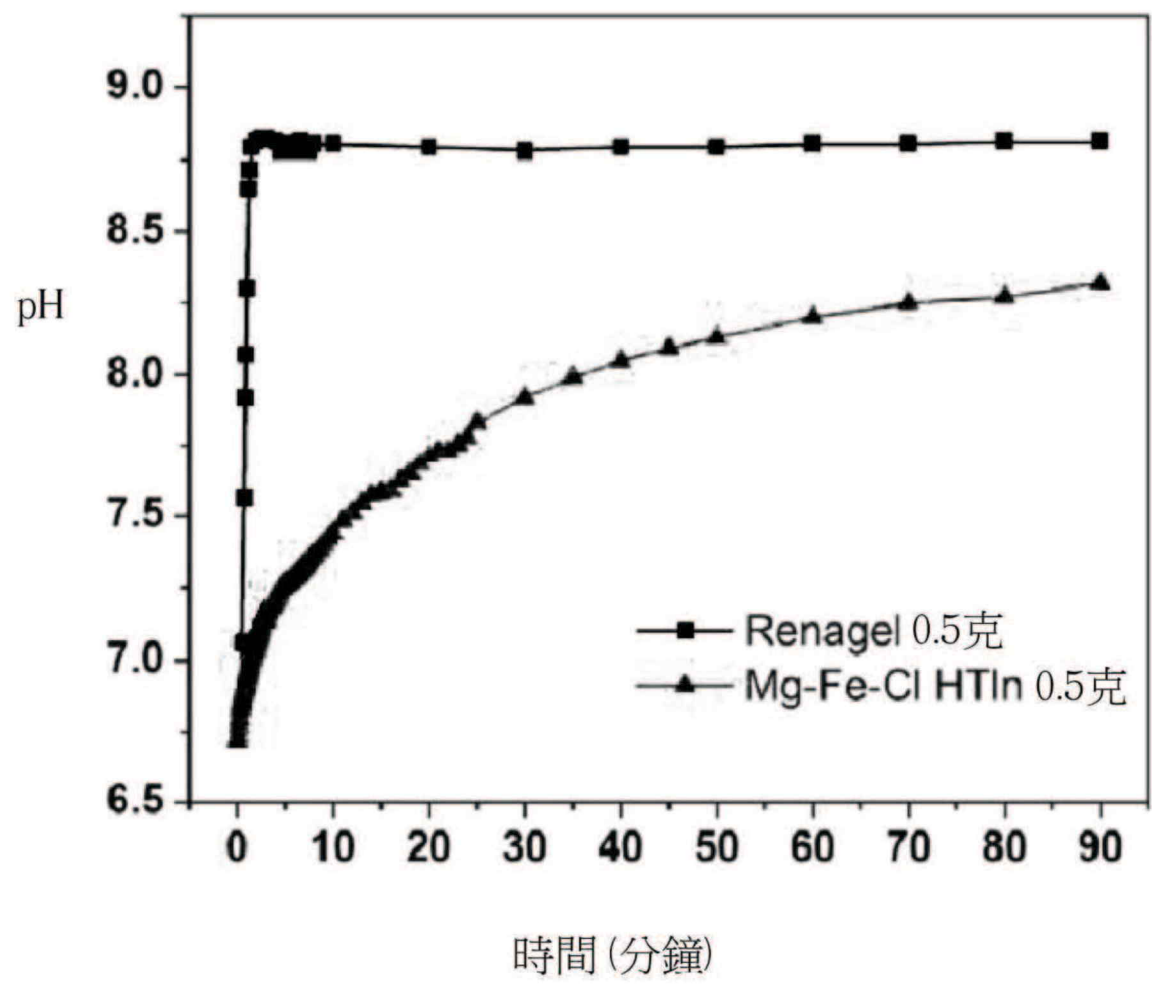


第7A圖



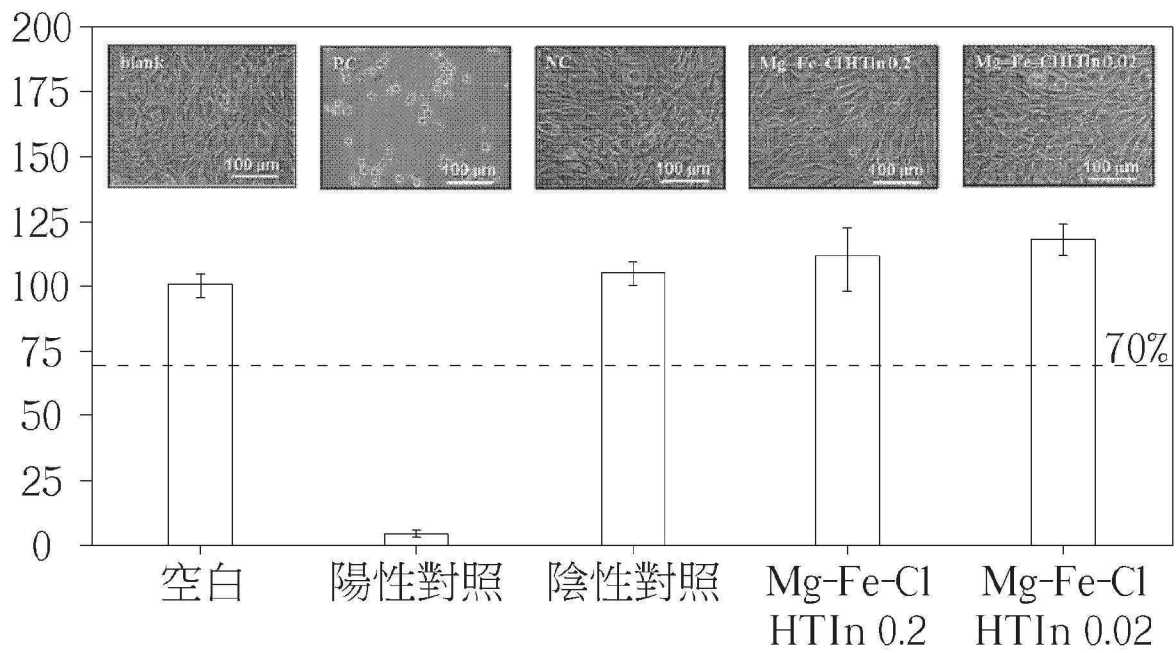


第7B圖



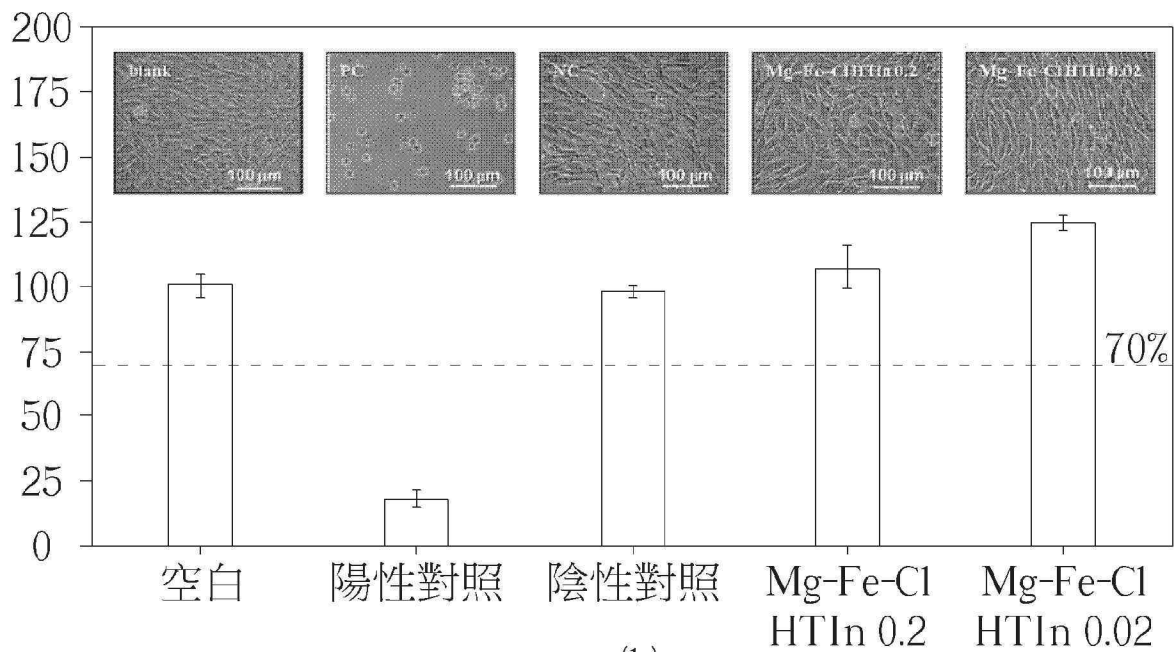
第8圖

細胞活性 (%)



(a)

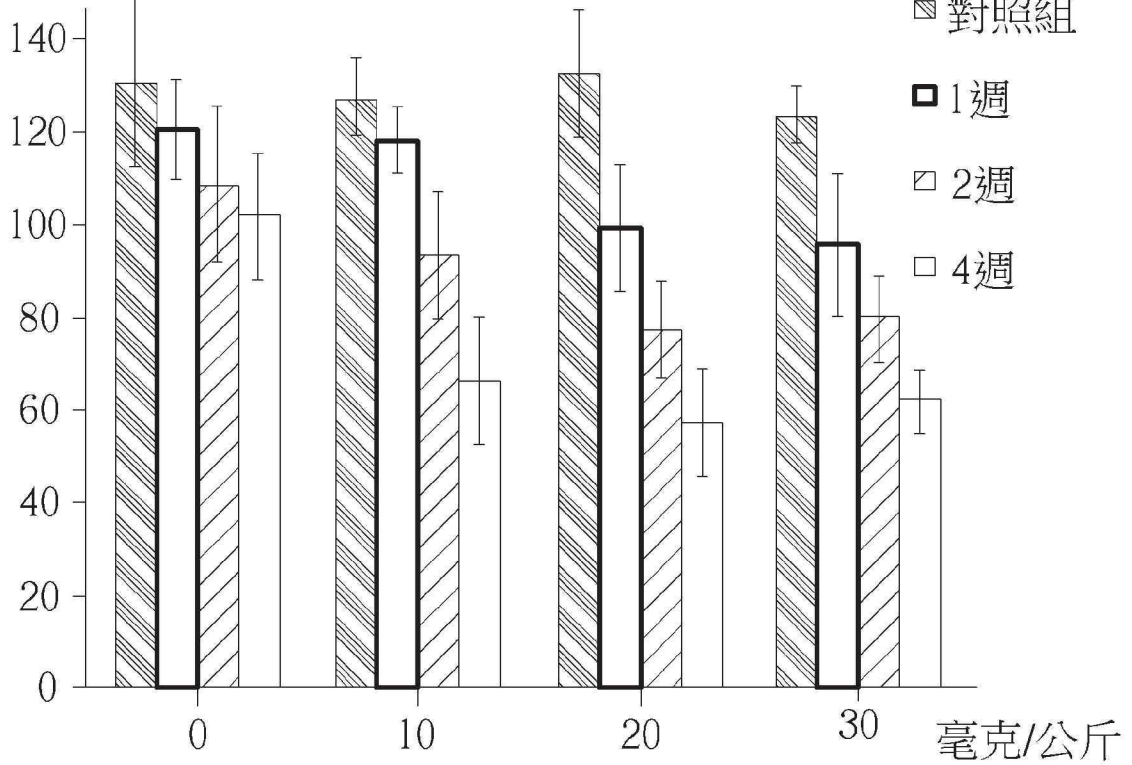
細胞活性 (%)



(b)

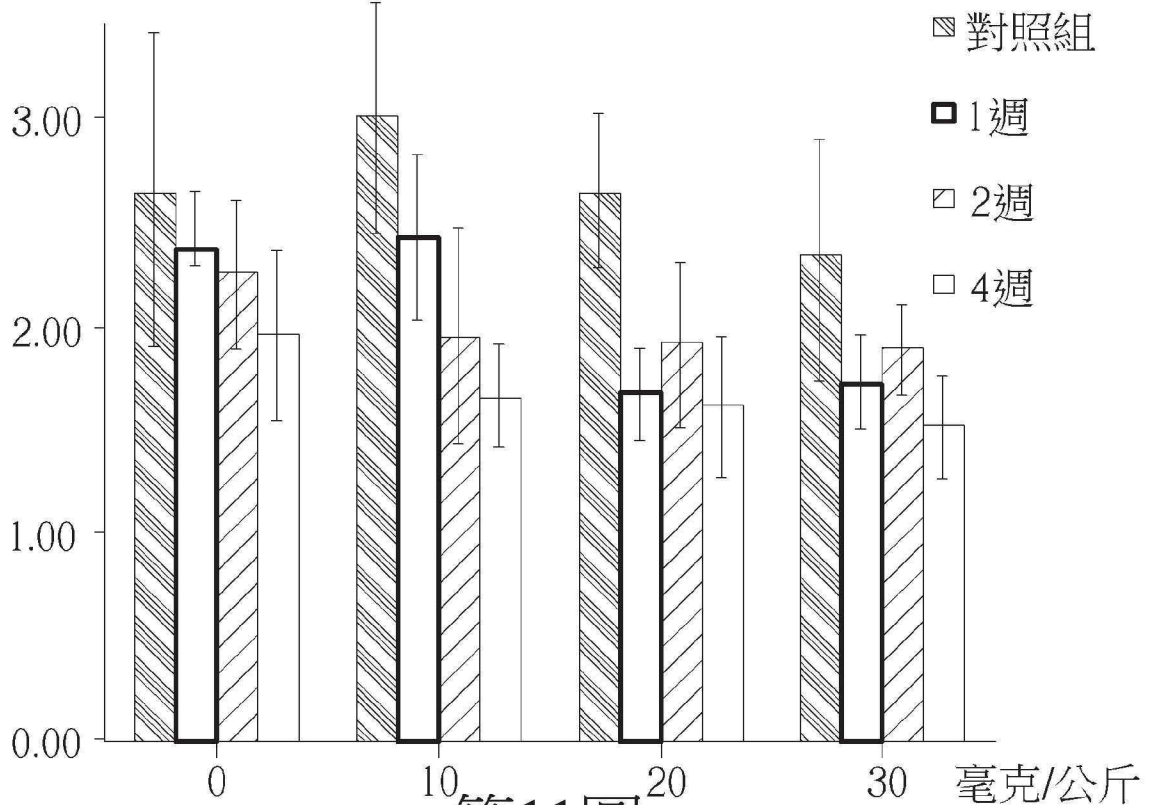
# 第9圖

血液尿素氮(毫克/分升)



第10圖

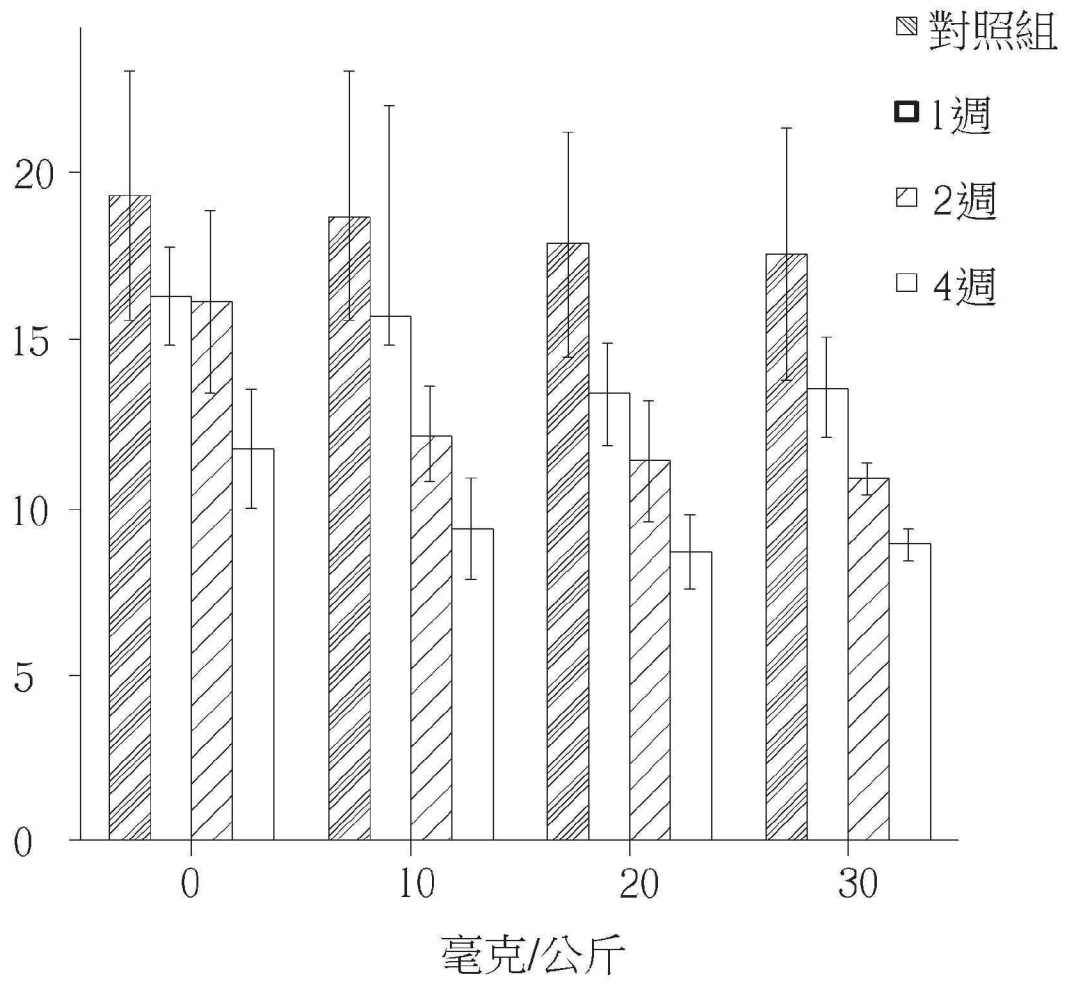
血清肌酸酐(毫克/分升)



第11圖



血清磷 (毫克/分升)



第12圖