



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102596010 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 18

(21) 申请号 201080041892. X

代理人 顾晋伟 彭鲲鹏

(22) 申请日 2010. 08. 10

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61B 5/00 (2006. 01)

61/232, 518 2009. 08. 10 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 03. 20

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2010/061647 2010. 08. 10

(87) PCT申请的公布数据

W02011/018468 EN 2011. 02. 17

(71) 申请人 P2 科学有限公司

地址 丹麦赫勒鲁普

(72) 发明人 贾亚·比吉特·罗森迈尔

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

权利要求书 3 页 说明书 30 页 附图 6 页

(54) 发明名称

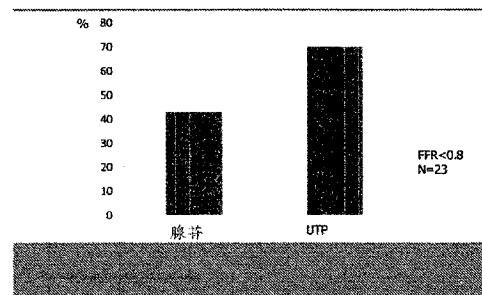
用于诊断狭窄和其他血流受限之病症的 UTP

(57) 摘要

本发明涉及用于确定被怀疑血管中血流受损之个体的血管中血流是否受限制的方法, 所述方法包括下列步骤: 向所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐, 通过获得与所述血管中血流相关的值来对所述血管中血流进行定量地评价, 将所获得的值与参考值进行比较, 以及基于比较的结果确定所述个体是否具有受损的血流。本发明还提供使用 UTP、其衍生物、或其盐诊断动脉粥样硬化和缺血性心脏病的方法, 以及出于诊断目的用于诱导最大充血的方法。本发明还涉及用作诊断剂的 UTP、其衍生物、或其盐。更具体地, 本发明涉及 UTP、其衍生物、或其盐在任意上述诊断方法中的用途。

CN 102596010 A

诊断优点:
相比于腺苷, 使用UTP更多地改变了临床决策



追求诊断优点

1. 一种用于确定在被怀疑血管中血流受损的个体的血管中血流是否受限的方法,所述方法包括:

- (a) 向所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,
- (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,
- (c) 将获得的值与参考值进行比较,和
- (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

2. 权利要求 1 所述的方法,其中所述个体正患有或被怀疑患有选自如下的疾病或病症:肥胖症、高血压、血管炎、增加的血栓风险、高胆固醇血症、动脉粥样硬化、糖尿病并发症、或血管狭窄。

3. 权利要求 1 所述的方法,其中所述个体正患有或被怀疑患有外周动脉病 (PAD)、冠状动脉粥样硬化、动脉粥样硬化、肾动脉狭窄、或缺血性心脏病。

4. 权利要求 1 所述的方法,其中通过测量所述个体的另一相似血管中的血流获得所述参考值。

5. 权利要求 1 所述的方法,其中通过 FFR、CFR、MAP 或 APV 测量来评估血流。

6. 权利要求 1 所述的方法,其中通过原位输注来递送 UTP、其衍生物、或其盐。

7. 权利要求 1 所述的方法,其中所述 UTP、其衍生物、或其盐选自:UTP、UTP γ S、MRS2498、尿苷 5' - 三磷酸 tris 盐、尿苷 5' - 三磷酸盐二水合物、尿苷 5' - 三磷酸盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸盐水合物、尿苷 -¹³C₉, ¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 -¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸三钠盐水合物、尿苷 -¹³C₉, ¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 -¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、2- 二尿苷四磷酸、硫代 UTP 四钠盐、地纽福索四钠以及 UTP γ S 三钠盐。

8. 权利要求 1 所述的方法,其中以每分钟约 50 至约 400 μ g 化合物的输注速率施用所述 UTP、其衍生物、或其盐。

9. 权利要求 1 所述的方法,其中通过持续静脉内输注、冠状动脉内输注、滴注、冠状动脉内推注、导丝或 IC 微导管施用所述 UTP、其衍生物、或其盐。

10. 权利要求 9 所述的方法,其中通过导丝或 IC 微导管施用所述 UTP、其衍生物、或其盐。

11. 权利要求 9 所述的方法,其中以每分钟约 80 至约 360 μ g 化合物的输注速率施用所述 UTP、其衍生物、或其盐。

12. 一种用于确定被怀疑血管中血流受损的个体的血管中血流是否受限的方法,所述方法包括:

- (a) 向所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,
- (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,
- (c) 将获得的值与参考值进行比较,和
- (d) 基于获得的值与参考值之间是否存在指示了血流相对于健康血管减少的差异,来确定所述个体是否有受损血流。

13. 一种用于确定被怀疑血管中血流受损的个体的血管中血流是否受限的方法,所述方法包括:

- (a) 向被怀疑患有动脉粥样硬化或缺血性疾病之个体的所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,

- (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,
 - (c) 将获得的值与参考值进行比较,和
 - (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。
14. 一种用于确定血管中血流的方法,其包括:
- (a) 向被怀疑具有血流受损之血管的个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,
 - (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,
 - (c) 将获得的值与参考值进行比较,和
 - (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。
15. 权利要求 14 所述的方法,其中受损血流是血凝块或狭窄所导致的。
16. 权利要求 14 所述的方法,其中通过导丝或 IC 微导管施用所述 UTP、其衍生物、或其盐。
17. 一种诊断选自如下疾病的方法:外周动脉病 (PAD)、冠状动脉粥样硬化和缺血性心脏病,其包括:
- (a) 向被怀疑患有所述疾病的个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,
 - (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,
 - (c) 将获得的值与参考值进行比较,和
 - (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。
18. 一种用于诱导最大冠状动脉充血的方法,其包括向有此需求的患者递送 UTP、其衍生物、或其盐。
19. 一种用于确定血管中血流的试剂盒,其包含:
- (a) 作为活性诊断成分的 UTP、其衍生物、或其盐,和
 - (b) 在怀疑具有受损血流的个体中使用其的说明。
20. 权利要求 19 所述的试剂盒,其中所述试剂盒还包含导丝或微导管。
21. 权利要求 19 所述的试剂盒,其中所述试剂盒还包含生理可接受的水性载体。
22. 权利要求 21 所述的试剂盒,其中所述生理可接受的水性载体是盐水。
23. 权利要求 21 所述的试剂盒,其中所述生理可接受的水性载体和活性诊断成分在分开的容器中提供。
24. 诊断组合物,其包含处于适合向人患者施用的可药用水性载体中的 UTP、其衍生物、或其盐,其中所述组合物含有约 50 至约 400 μ g/ml 的 UTP、其衍生物、或其盐。
25. 权利要求 24 所述的诊断组合物,其中以约 2ml 至约 10ml 的总体积向有此需求的个体递送所述组合物。
26. 一种用于诊断肾动脉狭窄的方法,其包括:
- (a) 向被怀疑患有所述疾病的个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,
 - (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,
 - (c) 将获得的值与参考值进行比较,和
 - (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。
27. 一种用于筛选有发生动脉粥样硬化或缺血性疾病风险之个体的方法,其包括:
- (a) 向所述个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,
 - (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评估所述血管中的血流,

- (c) 将获得的值与参考值进行比较, 和
- (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。
28. 一种用于测量血流储备分数 (FFR) 的方法, 其包括:
- (a) 以逐步提高的剂量向血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,
- (b) 监测通过血管的压力, 直至远端压力达到最小值, 其中所述最小值对应于最大血流。
29. 权利要求 28 所述的方法, 其中通过冠状动脉内输注来递送 UTP、其衍生物、或其盐。
30. 权利要求 28 所述的方法, 其中 FFR 测量冠状动脉中的血流。
31. 权利要求 28 所述的方法, 其中通过 FFR 热稀释导管、微输注导管或导引导管递送 UTP、其衍生物、或其盐。
32. 权利要求 28 所述的方法, 其中所述逐步提高的剂量是 20、40、80、160、240、360 和 400 μ g/分钟。
33. UTP、其衍生物、或其盐, 其用作诊断剂。
34. UTP、其衍生物、或其盐, 其用于确定被怀疑血管中血流受损的个体之血管中血流是否受限。
35. 权利要求 34 所述的用途, 其中所述个体正患有或被怀疑患有选自如下的疾病或病症: 肥胖症、高血压、血管炎、增加的血栓风险、高胆固醇血症、动脉粥样硬化、糖尿病并发症、或血管狭窄。
36. 权利要求 35 所述的用途, 其中所述个体正患有或被怀疑患有外周动脉病 (PAD)、冠状动脉粥样硬化、动脉粥样硬化、肾动脉狭窄、或缺血性心脏病。
37. 权利要求 33 和 34 所述的用途, 其中所述 UTP、其衍生物、或其盐选自如下: UTP、UTP γ S、MRS2498、尿苷 5' - 三磷酸 tris 盐、尿苷 5' - 三磷酸盐二水合物、尿苷 5' - 三磷酸盐溶液、尿苷 - 三磷酸盐水合物、尿苷 -¹³C₉, ¹⁵N₂5' 三磷酸钠盐溶液、尿苷 -¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸三钠盐水合物、尿苷 -¹³C₉ ¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 -¹⁵N₂5' 三磷酸钠盐溶液、2- 二尿苷四磷酸、硫代 UTP 四钠盐、地纽福索四钠以及 UTP γ S 三钠盐。
38. UTP、其衍生物、或其盐, 其用于根据权利要求 1-18 或 26-32 中任一项的诊断方法。

用于诊断狭窄和其他血流受限之病症的 UTP

[0001] 在先申请的交叉引用

[0002] 本申请主张 2009 年 8 月 10 日提交的美国临时申请 Ser. No. 61/232, 518 的权益。

技术领域

[0003] 本发明涉及使用 UTP、其衍生物、或其盐确定被怀疑血管中血流受损的个体血管中血流是否受限的方法。以及,本发明还涉及用作诊断剂的 UTP、其衍生物、或其盐。

[0004] 发明背景

[0005] 长期以来,嘌呤核苷酸和核苷的强大且广泛的血管作用已得到认可。天然的细胞外嘌呤核苷酸和核苷通过刺激多种 P1 和 P2 受体产生心血管响应 [1、2]。腺嘌呤核苷酸和核苷用于日常临床实践中的多种诊断和治疗目的,比如评价冠状动脉血流 [3-8] 和作为抗心律失常药。腺苷非选择性地激活四种受体亚型 :A1、A2A、A2B 和 A3。心脏 A2A 和 A2B 腺苷受体的激活舒张冠状动脉和外周动脉床、增加心肌血流 (myocardial blood flow, MBF) 并引起交感神经兴奋,还导致肥大细胞脱颗粒和支气管收缩。不过,冠状动脉内和静脉内腺苷在临床中用于评价血流储备分数 (fractional flow reserve, FFR)。

[0006] 尿苷 5-三磷酸 (UTP) 也是循环中的天然化合物,其在急性心肌梗死期间释放。UTP 刺激 P2Y2 和 P2Y4 受体,其中前者在人心血管丛中占主导地位。UTP 对这种受体具有高度选择性。

[0007] 之前作为 UTP 在治疗心血管疾病中用途之根据的假设已被证实在体内是不准确的。在 2004 和 2008 年通过使用局部输注 ATP 和 UTP 已表明 [9、10],这两种物质是能够对抗交感神经血管收缩和随之增加的血流 (剧烈运动时腿中分别为最大 85% 和 60%) 的仅有的已注册代谢物。然而,本发明人,使用在猪中的全身性输注 UTP,发现了 UTP 仅可以最多将平均动脉压降低 30% (实施例 4),远远低于通过 ATP 所达到的,因为 ATP 可以没有限制地使血压降低。因此,尽管之前在外周血管系统中 ATP 和 UTP 显示对于人臂中 P2Y2 受体是等效的,但是对于全身性以及健康腿中的局部来说,ATP 比 UTP 更有效 [11]。

[0008] 在正常的健康腿中,与 UTP 相比,ATP 的更加强效归因于 ATP 降解成 ADP、AMP 和腺苷。这些降解产物,连同 ATP 一起,可有助于将血流提高到高于不具有任何血管活性降解产物的 UTP 所达到的。因此,比较外源核苷酸和核苷的相对血管活性能力揭示了如下排序: ATP(100) = UTP(100) >> 腺苷 (5.8) > ADP (2.7) > AMP (1.7),但仅仅是针对约 3.5L 分钟⁻¹ 的血流 [9]。

[0009] 健康人和糖尿病患者腿中的比较研究显示,就年长患者和患有 2 型糖尿病患者的腿中血管舒张而言,UTP >> ATP [12]。这显然与之前的发现相反,但是具有更大的临床意义,因为大多数心脏病患者是年长的。有意思的是,在血管活性能力上的矛盾不是由于 P2Y2 受体的上调,这表明,当人年龄较大且整体健康较差时,相应地一定有其他 ATP- 相关 (而非 UTP) 血管收缩受体的上调。然而,最近的研究已显示在患有 2 型糖尿病的患者中,运动期间对抗交感神经血管收缩的能力是完好的,表明之前对 P2Y2 受体不可缺少地参与功能性抗交感神经 (functional sympatholysis) 的假设是不准确的 [9]。本发明人在猪中进行的另

一项研究也支持了这一结论,其中在心肌梗死期间输注 ADP 或 UTP。在该研究中,在急性心肌梗死期间 UTP 增加梗死面积,而 ADP 减少梗死面积(未发表结果)。这表明了 ADP 的药理性心脏保护作用,以及 UTP 的有害作用,表明在临床急性疾病中使用 UTP 时必须谨慎。因此,之前在专利申请 WO 2007/065437 中的下述假设是不正确的,所述假设即有关调节嘌呤能受体活性来调节血管张力,尤其对于通过阻碍(overriding)血管收缩活性来治疗血液动力学疾病,对于用 UTP 激动剂或拮抗剂的治疗来说可潜在地具有临床应用。

[0010] 与上述 UTP 相关血管舒张特性相反,UTP 还被描述为冠状循环中的强效血管收缩剂。特别应注意的是,关于人冠状动脉和旁路血管的研究[13-15]。在这些研究中,在心脏移植患者冠状动脉和乳内动脉中 UTP 和 UTP γ S 都诱导收缩,表明 P2Y2 受体是重要的收缩受体。UTP γ S 还在隐静脉中诱导收缩。由于使用 UTP 的长期治疗已显示出体外诱导平滑肌增殖,可以推测在内皮功能障碍的情况下(比如有冠状动脉疾病),来自血液的细胞外核苷酸可到达平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC),导致 P2Y2 受体的 UTP-介导的血管收缩。在人冠状动脉中,已推测 P2Y2-亚型在该推测的收缩中发挥主要作用[14、15]。这也见于动物研究中[16、17]。在猪当中,体内植入支架的冠状动脉 SMC 中 P2Y2 受体上调,以介导核苷酸的促有丝分裂作用[18]。因此,怀疑 P2Y2 受体参与有可能危及生命的血管痉挛的病理生理发生[15]。

[0011] 除了被视为引起受损血管的冠状动脉血管收缩之外,细胞外核苷酸还涉及在炎症血管疾病的发生中发挥重要作用[19、20]。Seye 等人显示对作用于 P2Y2 受体的 UTP 促进带颈圈(collared)兔颈动脉的内膜增生[21]。在动物模型中,发现在放置支架(stented)的冠状动脉中猪 P2Y2 受体过表达,并在那里发挥显著的促有丝分裂作用[18]。因此已公认,细胞外核苷酸促进的血管重塑是心血管和脑血管疾病发生中的关键步骤,可能最终达到危及生命的中风或心脏病发作的状态。因此,之前的临床研究没有尝试过在人中引入体内冠状动脉输注 UTP,因为基于所有上述原因这种化合物被认为是对人有害的。

[0012] 冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)的血管造影评价已经指导心脏病治疗超过 30 年,然而由于血管造影具有显著的观察者-内和观察者-间变异,甚至有经验的血管造影操作者也无法可靠地评价损伤严重程度,并且其不是生理性评价,只不过是视觉上的评价。最近的研究,比如 COURAGE 试验,再次强调所有目前的医学指南推荐:对于低风险患者,甚至是那些经历心绞痛的,最佳医学治疗应当是初步治疗。对于那些疾病进展了的、或胸痛不减轻的、血管再生的患者,应当进行血管成形术和支架或手术。

[0013] 新型诊断工具血流储备分数(FFR)帮助医师决定是否干预狭窄(即血管的异常变窄)。为了使微血管阻力的作用最小化,实现冠状动脉微循环的最大充血是准确评价 FFR 的前提。因此,血流越高,经过狭窄血管的压力下降越大,即 FFR 越低。为了准确的 FFR 测量,实现最大充血对于微血管阻力作用的最小化是必要的。只有在最大充血时,血流和压力才线性相关。如果仅仅次优充血,FFR 指数低估冠状动脉狭窄的功能性严重程度。这可导致损伤性后果[22]。因此,FFR 反应的准确对于临床决策是至关重要的,否则将发生患者的治疗过度或治疗不足,导致更高的死亡率和更昂贵的治疗方案。

[0014] 当今用于诱导冠状充血的优选标准充血剂是腺苷。然而,腺苷的使用,甚至局部输注,都伴随了副作用。例如,腺苷在几乎所有患者中引起呼吸困难和心绞痛,以及在有些患者中引起二度 AV 阻滞。腺苷的使用还伴随以下禁忌症,比如哮喘、COPD、心绞痛、低血压、二

度或三度 AV 阻滞以及窦房结功能障碍；并且为得到准确的充血评估需要戒咖啡因，这是因为咖啡因阻断 P1 受体，所述 P1 受体是腺嘌呤化合物通过其发挥作用的血管舒张受体 [23]。

[0015] 鉴于上述和使用腺嘌呤相关化合物（如腺苷和 ATP）作为充血剂有关的限制，具有更少副作用的更加强效的充血剂将有利于诊断血管中的受损血流。

发明内容

[0016] 基于本发明人的下述发现建立了本发明：UTP 是比其他临床使用的血管舒张药（腺苷、ATP 和 NO，它们在患者患有冠状动脉疾病的情况下都是等效的）更好的血管舒张药。因此，尽管由于下述原因 UTP 可能无法用作治疗剂，其仍可出人意料地用作最佳诊断剂，所述原因即 UTP 迅速使 P2Y2 受体脱敏，可能引起内皮细胞增殖，在长时间暴露期间导致动脉粥样硬化，且终末半衰期（20 秒）太短。这得到下列证据的支持，即在评价潜在冠状动脉粥样硬化的人中（实施例 2 和 3 中所述），显示 UTP 高得多的效力：在血管舒张活性方面 UTP >> ado (= ATP)。在本研究中，其显示 UTP 比腺苷更加有效地降低 FFR，允许获得更准确的最大冠状动脉充血。这是 UTP 首次用于体内冠状动脉循环的环境中。事实上，之前的体外研究证明 UTP 诱导血管收缩，将减少冠状动脉灌注。因此，UTP 在被怀疑有内皮功能障碍的患者中可诱导充血的发现是出人意料的。

[0017] 和 ATP 相反，UTP 有高度受体选择性且在循环中迅速降解（终末半衰期：约 20 秒），产生无活性的降解产物。因此，其没有长期作用。UTP 可以轻易地施加给处于稳定的临床状况或复发心绞痛发作的患者。出人意料地，本发明人还发现在糖尿病患者的外周循环和冠状动脉疾病患者冠状动脉循环中 UTP 是比腺苷和 ATP 更强效的血管舒张药。因此，UTP 相比腺苷和 ATP 诱导更高水平的最大充血。这是一个重要的发现，例如，在 FFR 的准确测量中为了最大限度地减少血管阻力的作用，最大充血是重要的。

[0018] 因此，使用 UTP 作为诊断剂的优点包括其对 P2Y2 受体的特异亲和性，使其比其他诊断剂具有更高的受体选择性，UTP（不像 ATP）没有具有血管活性的降解产物，不需要为准确充血评估而戒除咖啡因。其更快到达稳定期且迅速发挥作用（到达峰值的时间，5s），便于使用，缺少显著的副作用，终末半衰期 20s，没有明显的禁忌症，可用于由于例如心律不齐、COPD 或哮喘禁忌使用腺苷的患者。出于前述原因，UTP 是用于在血管中诊断受损血流的理想充血剂。

[0019] 本发明人发现 UTP、其衍生物、或其盐（如下进一步描述的），通过模拟运动期间观察到的血流增加，可用于确定被怀疑有血管中血流受损的个体血管中血流是否受限。因此，可以甚至在静息个体中高度准确地确定受损血流。因此，本方法用于在任何个体中，甚至在不应当或不希望进行运动测试的个体中，确定受损血流。

[0020] 相信本发明是 UTP、其衍生物或其盐的首次诊断用途。因此，在第一方面，本发明涉及用作诊断剂的 UTP、其衍生物或其盐。

[0021] 通过确定血管（优选被怀疑有受损血流的个体的动脉）中的受损血流，可更有效地治疗受损血流引起的血液动力学疾病，尤其但不专指狭窄。特别地，可在发生任何不利血管事件（比如心肌梗死、中风和 / 或死亡）之前识别出狭窄，为预防性治疗例如肾动脉疾病、冠状动脉粥样硬化、缺血性心脏病、或外周动脉病（peripheral artery disease, PAD）提供了机会。

[0022] 因此,一方面,本发明涉及用于确定在被怀疑血管中血流受损的个体血管中血流是否受限的方法,所述方法包括:

[0023] (a) 向所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0024] (b) 通过获得指示所述血管中血流或者与其相关的值,定量地评估血管中的血流,

[0025] (c) 将获得的值与参考值进行比较,和

[0026] (d) 基于比较结果确定所述个体是否具有受损的血流。

[0027] 因此,在一个相关的方面,本发明涉及用于确定在被怀疑血管中血流受损的个体血管中血流是否受限的 UTP、其衍生物、或其盐。

[0028] 在上述方法和用途的一个实施方案中,所述个体患有或怀疑患有肥胖、高血压、血管炎、增加的血栓风险、高胆固醇血症、动脉粥样硬化、糖尿病并发症、或血管狭窄。在另一个实施方案中,所述个体患有外周动脉病 (PAD)、冠状动脉粥样硬化、动脉粥样硬化、肾动脉狭窄、或缺血性心脏病。

[0029] 在上述方法和用途的另一个实施方案中,UTP、其衍生物、或其盐是 UTP、UTP γ S、MRS2498、尿苷 5' - 三磷酸 tris 盐、尿苷 5' - 三磷酸盐二水合物、尿苷 5' - 三磷酸盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸盐水合物、尿苷 -¹³C₉, ¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 -¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸三钠盐水合物、尿苷 -¹³C₉, ¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 -¹⁵N₂5' - 三磷酸钠盐溶液、2-二尿苷四磷酸、硫代 UTP 四钠盐、地纽福索四钠或 UTP γ S 三钠盐。可以例如以每分钟约 50 至约 400 μ g 化合物输注 UTP、其衍生物、或其盐。

[0030] 在另一个实施方案中,通过测量所述个体的另一相似血管中的血流获得参考值。例如通过 FFR、CFR、MAP 或 APV 测量来测量血流。在又一个实施方案中,通过原位输注进行递送。还可以通过持续静脉内输注、冠状动脉内输注、滴注、冠状动脉内一次性注射 (bolus injection)、导引导管、或 IC 微导管进行递送,优选导引导管或 IC 微导管。

[0031] 另一方面,本发明涉及用于确定在被怀疑血管中血流受损的个体血管中血流是否受限的方法,所述方法包括:

[0032] (a) 向所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0033] (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评价血管中的血流,

[0034] (c) 将获得的值与参考值进行比较,和

[0035] (d) 基于获得的值与参考值之间是否存在指示了血流相对于健康血管减少的差异,确定所述个体是否有受损血流。

[0036] 另一方面,本发明涉及用于确定在被怀疑血管中血流受损的个体血管中血流是否受限的方法,所述方法包括:

[0037] (a) 向被怀疑具有动脉粥样硬化或缺血性疾病的个体的所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0038] (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评价血管中的血流,

[0039] (c) 将获得的值与参考值进行比较,和

[0040] (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

[0041] 另一方面,本发明涉及用于确定血管中血流的方法,其包括:

[0042] (a) 向被怀疑具有血流受损之血管的个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0043] (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值,定量地评价血管中的血流,

[0044] (c) 将获得的值与参考值进行比较, 和

[0045] (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

[0046] 因此, 本发明还涉及用于任何这些方法的 UTP、其衍生物或其盐。

[0047] 另一方面, 本发明涉及诊断选自如下疾病的方法: 外周动脉病 (PAD)、冠状动脉粥样硬化和缺血性心脏病, 其包括:

[0048] (a) 向被怀疑患有所述疾病的个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0049] (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值, 定量地评价血管中的血流,

[0050] (c) 将获得的值与参考值进行比较, 和

[0051] (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

[0052] 因此, 本发明还涉及用于诊断选自如下疾病的 UTP、其衍生物或其盐: 外周动脉病 (PAD)、冠状动脉粥样硬化、和缺血性心脏病。

[0053] 另一方面, 本发明涉及用于诱导最大充血的方法, 其包括向有此需求的患者施用 UTP、其衍生物或其盐。在一个实施方案中, 所述充血是冠状动脉充血。

[0054] 本发明的另一方面涉及用于确定血管中血流的试剂盒, 其包含: (a) 作为活性诊断成分的 UTP、其衍生物或其盐, 以及 (b) 其在被怀疑具有受损血流的个体中使用的说明。在一个实施方案中, 所述试剂盒还包含微导管或导引丝 (guiding wire)。在另一个实施方案中, 所述试剂盒还包含生理可接受的水性载体, 优选盐水。在另一个实施方案中, 以独立的容器提供所述生理可接受的水性载体和活性诊断成分。

[0055] 另一方面, 本发明涉及诊断组合物, 其包含在适合向人患者施用的可药用水性载体中的 UTP、其衍生物、或其盐, 其中所述组合物含有约 50 至约 400 $\mu\text{g/ml}$ 的 UTP。在一个实施方案中, 以约 2ml 至约 10ml 的总体积向有此需求的个体递送所述诊断组合物来诱导最大充血。

[0056] 另一方面, 本发明涉及用于诊断肾动脉狭窄的方法, 其包括:

[0057] (a) 向被怀疑患有所述疾病的个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0058] (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值, 定量地评估血管中的血流,

[0059] (c) 将获得的值与参考值进行比较, 和

[0060] (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

[0061] 因此, 本发明还涉及 UTP、其衍生物或其盐用于诊断肾动脉狭窄。

[0062] 另一方面, 本发明涉及用于筛选有发生动脉粥样硬化或缺血性疾病风险之个体的方法, 其包括:

[0063] (a) 向所述个体递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0064] (b) 通过获得与所述血管中血流相关的值, 定量地评估血管中的血流,

[0065] (c) 将获得的值与参考值进行比较, 和

[0066] (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

[0067] 另一方面, 本发明涉及用于测量血流储备分数 (FFR) 的方法, 其包括:

[0068] (a) 以逐步提高的剂量向血管递送 UTP、其衍生物、或其盐,

[0069] (b) 监测通过所述血管的压力, 直至远端压力达到最小值, 其中所述最小值对应于最大血流。

[0070] 在一个实施方案中, FFR 测量冠状动脉中的血流。在另一个实施方案中, 通过微导

管或导引导管递送 UTP、其衍生物、或其盐。在另一个实施方案中,通过冠状动脉输注递送 UTP、其衍生物、或其盐。在另一个实施方案中,逐步提高的剂量是 20、40、80、160、240、360 和 400 μ g/分钟。

[0071] 附图简述

[0072] 图 1 显示在患有冠状动脉疾病的人中用导引导管冠状动脉内输注 UTP 之后相对于腺苷的平均 FFR。本图显示在降低 FFR 比上,UTP 优于腺苷 ($p = 0.003$)。FFR 以 23 个受试者的平均值表示。

[0073] 图 2 显示在血管造影狭窄的人当中冠状动脉内输注 UTP 之后相对于腺苷的患者个体血流储备分数 (FFR)。

[0074] 图 3 显示冠状动脉内输注 BL ado、腺苷、BL UTP 或 UTP 之后的个体平均心率。

[0075] 图 4 显示冠状动脉内输注基线 (BL)ado、腺苷、BL UTP 或 UTP 之后的患者个体平均动脉压 (mean arterial pressure, MAP) 和心率。

[0076] 图 5 显示微导管输注腺苷和 UTP 期间平均 FFR 和平均峰速 (流) 响应。本图清楚地显示任何给定的等效输注, $UTP >$ 腺苷,腺苷从未达到和 UTP 一样低的 FFR。

[0077] 图 6A 至 6D 显示,与腺苷、ATP 和 ADP 相比,全身性 UTP 输注期间的血液动力学变量 (肺血管阻力、全身血管阻力、腿部血流和腿部血管传导速率)。UTP 比其他化合物增加更多的血流和腿部血管传导速率,这使其适于评价外周动脉病,因为血流增加可模拟运动。

[0078] 图 7A 至 7D 显示,与腺苷、ATP 和 ADP 相比,全身性 UTP 输注期间的血液动力学变量 (平均动脉血压、心输出量、心率 (heart rate) 和心搏出量)。UTP 对血压的降低没有其他化合物多,但是增加心输出量和 HR,更类似于运动,从而使其成为适用于包括心肌灌注显像在内之研究的压力药物 (stress agent)。

[0079] 图 8 显示使用 UTP 相比于腺苷更多地改变临床决策,因为其更准确地确定 FFR。 ($n = 23$)。这将产生诊断上的优势。

[0080] 图 9 是考虑落入本发明范畴内的适应症和方法的图。

[0081] 发明详述

[0082] 定义

[0083] 本文使用的术语“高血压”指高的血压。这通常表示收缩压持续地超过 140 和 / 或舒张压持续地超过 90。高血压是当收缩压和舒张压之一或二者都很高。

[0084] 本文所用的“缺血性心脏病”或心肌缺血指特征在于对心脏肌肉的供血减少的疾病,其通常是由于冠状动脉疾病 (冠状动脉的动脉粥样硬化)。

[0085] 本文所用的“狭窄”定义为血管中或其他管状器官或结构的异常变窄。

[0086] 本文所用的“个体”或“受试者”意在表示任何哺乳动物,包括人、脊椎动物 (比如农场动物、家养动物)、或实验室动物 (比如啮齿类或灵长类)。

[0087] 本文所用的“P2Y2 受体”意在表示和 PI 信号通路有关的 G 蛋白偶联细胞外核苷酸受体,其可被例如细胞外核苷酸所激活。

[0088] 本文所用的“正常血流”意在表示没有被例如狭窄或血凝块所损害的平均血流。正常血流的标准可通过例如在至少 20 个没有所怀疑疾病的健康个体中测量血流并确定平均值来产生。

[0089] 本文所用的“受损血流 (compromised blood flow)”意在表示下述任何异常,其中

由于血管壁收缩或机械阻塞或者缺乏弹性 (inflexibility) (比如狭窄) 而导致的通过血管的血流低于正常血流。受损血流可通过很多参数来评估, 包括但不限于血压下降, 并且可在动脉和静脉以及功能组织中进行测量。

[0090] 本文所用的“充血”意在表示向身体中不同组织的血流增加。

[0091] 本文所用的“最大充血”意在表示血流的最大增加, 其可以通过施用 P2Y2 受体的调节剂来诱导, 根据本发明所述调节剂是如下进一步描述的 UTP、其衍生物、或其盐。这可以通过, 尤其是, 测量被怀疑血流受损的血管近端和远端之间的压力差来进行测量。当使用这种方法时, 当进一步提供 UTP、UTP 衍生物或其盐而远端压力不变时, 则认为达到了最大充血。

[0092] 本文所用的“踝臂指数 (ankle-brachial index)”意在表示腿下部中血压相对臂中血压的比。

[0093] 本文所用的“衍生物”意在表示 UTP 上任何基团的取代或修饰, 不限于此处公开的那些, 其产生将 P2Y2 受体活化至下述程度的化合物, 即与 ATP 相应的比值相比, 刺激人 P2Y2 受体的 EC50 除以刺激人 P2X1 受体的 EC50 的比值更高, 比如至少高 2 倍。这些衍生物的实例包括, 但不限于, UTP γ S、MRS2498、尿苷 5' - 三磷酸 tris 盐、尿苷 5' - 三磷酸盐二水合物、尿苷 5' - 三磷酸盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸盐水合物、尿苷 $^{-13}\text{C}_9$, $^{15}\text{N}_2$ 5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 $^{-15}\text{N}_2$ 5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 5' - 三磷酸三钠盐水合物、尿苷 $^{-13}\text{C}_9$, $^{15}\text{N}_2$ 5' - 三磷酸钠盐溶液、尿苷 $^{-15}\text{N}_2$ 5' - 三磷酸钠盐溶液、2- 二尿苷四磷酸、硫代 UTP 四钠盐、地纽福索四钠或 UTP γ S 三钠盐。

[0094] 此处所用术语“显著差异”表示指示受限血流的测量值 (如, 受试者中确定的血流量) 和参考值的差异。

[0095] 术语“参考值”可根据上下文具有不同的意义。例如, 有些情况下, “参考值”表示血流正常值的范围 (其可通过测量另一个和血流相关的变量直接或间接地评价)。或者, “参考值”可代表和异常情况有关的血流值。例如, 当血流储备分数用于评价血流时, 测量值是最大充血条件下狭窄的血管段的远端之间的压差, 而参考值是相似充血条件下没有狭窄的相同血管者对应的压差。两者之比提供了比较。如果比是 1 (并且血液确实流经所述血管), 则表示没有狭窄。然而, 参考值还有可能是表示异常的值 (通常是阈值), 这种情况下, 比较将显示测量值是否和参考值有特定关系 (如比异常阈值更高或更低)。“参考值”用于特定上下文中的涵义对于本领域普通技术人员是显而易见的。

[0096] 本文所用的“约”意在表示在值的统计学上有意义的范围内。这种范围可以在一个数量级内, 给定值或范围的优选 50% 以内, 更优选 20% 以内, 更优选 10% 以内, 以及甚至更优选 5% 以内。术语“约”涵盖的可允许变异取决于研究中的具体内容, 且本领域普通技术人员可以轻易理解。例如, “约”可体现测量的实验误差或实验变异或患者间差异。作为具体的实例, “约 20 秒”当涉及 UTP 的终末半衰期时, 将包括达 10 至 60 秒的患者间差异, 这取决于给定患者中外核苷酸酶的活性。

[0097] 本文所用的“递送”意在包括导致有效浓度的待施用物质与待评价血管相接触的任何施用。不受限制地包括向血管原位施用, 例如通过使用导引或微输注导管输注、或经由静脉内导管全身性施用至血流。

[0098] 本文所用的“有风险”意在表示对发生血管疾病有遗传易感性的个体、或经历过血

管疾病治疗过程的个体。遗传易感性可以是，例如，正常器官功能所需的基因的突变。经历过疾病治疗过程的个体可具有发生疾病或病症（例如再狭窄）的风险。

[0099] 本文所用的“血流储备分数”或“FFR”意在表示最大充血时绝对远端压力相对于近端压力的比。FFR定义为这样的指数，其被描述为狭窄动脉中充血血流相对于如果没有狭窄存在时相同动脉中充血血流的比值。

[0100] 实施方式

[0101] 本文所述方法可用于在被怀疑有受损血流的个体中确定受损血流。此类方法模拟在运动期间发生的血流增加，因此尤其适用于不能进行运动的患者或不太被期望进行运动的人。

[0102] 本发明涉及用于确定在被怀疑血管中血流受损的个体血管中血流是否受限的方法，所述方法包括步骤：(a) 向所述血管递送 UTP、其衍生物、或其盐，(b) 通过获得指示所述血管中血流或与之相关的值，定量地评估血管中的血流，(c) 将获得的值与参考值进行比较，和 (d) 基于比较结果确定所述个体是否有受损血流。

[0103] 本发明的方法可用于确定身体任何血管中怀疑的受损血流。因此，UTP、其衍生物、或其盐可以递送至身体任何血管中。尽管所述血管优选是动脉，但在静脉中确定受损血流也是可能的。静脉中的受损血流，例如，可由静脉中的狭窄引起的，比如来自搭桥手术的移植物中的狭窄。本发明范围内包括测量流经任何动脉的血流。在一些优选实施方案中，在冠状动脉（比如主干动脉、右冠状动脉、左冠状动脉、或任何其他合适的冠状动脉）中测量血流。在其他一些同等优选实施方案中，在任何髂总动脉（包括但不限于股动脉、髂动脉或腘动脉）中测量血流。

[0104] 通过根据本发明的方法递送 UTP、其衍生物、或其盐，可以更加有效地诊断血流动力学情况，具有减少的或消除的副作用，从而允许医师更加准确地确定异常（如果有的话）的程度，并对所寻求的治疗过程（如果有的话）做出更明智的选择。

[0105] 例如，动脉粥样硬化是这样的疾病，其中脂肪物质比如胆固醇的堆积导致动脉壁变厚。动脉粥样硬化可引起多种症状（如跛行、心绞痛），取决于症状，动脉粥样硬化可称为，例如 PAD（外周动脉病）、冠状动脉粥样硬化或 TCI（短暂冠状动脉缺血（transient coronary ischemia））。

[0106] 使用本文所述方法，可以确定受损血流，其可以是个体正患有动脉粥样硬化疾病的指示。动脉粥样硬化疾病可以是任何动脉粥样硬化疾病，例如，冠状动脉疾病（coronary artery disease, CAD）、外周动脉病（peripheral artery disease, PAD）、肾动脉疾病、血管狭窄、主动脉狭窄、肾动脉狭窄和冠状动脉粥样硬化。在一个具体的实施方案中，所述疾病是 CAD。

[0107] 冠状动脉疾病及其临床表现，比如心肌梗死，是可遗传的性状。尽管方法比如经皮冠状动脉介入（percutaneous coronary intervention, PCI）可以成功地治疗冠状动脉疾病，仍然需要有效的诊断筛选方法。这种诊断筛选方法不仅在那些患有疾病的人中是重要的，而且对于筛选由于例如再狭窄或冠状动脉疾病遗传易感性而具有发生疾病的风险的人来说也是重要的。此类筛选方法可以是，但不限于 FFR、CFR、MAP、APV 测量。因此，本发明的方法可用于筛选有风险的患者。这些筛选方法不需要仅限于有风险的个体，还可以，例如并入常规健康检查，并定期进行。

[0108] 冠状动脉疾病及其临床表现,包括心肌梗死,是可遗传的性状,和遗传的 DNA 序列变异在赋予疾病风险中的作用是一致的。有很多可以改变的心脏病风险因素,比如吸烟或暴露于烟草烟雾环境中、肥胖、久坐的生活方式、糖尿病、高胆固醇或血脂异常和高血压。还有不可改变的风险因素,比如男性、年龄 > 50 岁以及心脏病家族史。很多生物标志物,包括同型半胱氨酸水平提高,和动脉粥样硬化风险增加有关,且已经认识到有些人有常见的遗传缺陷变异(称为亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate,“MTHFR”)),其导致同型半胱氨酸水平提高。此外,某些基因与增加的 CAD 风险有关。一个实例是位于染色体 9p21.3 的常见多态性。此外,很多基因座,包括 9p21,位于基因间隔区,其通过有待进一步阐明的新机制表达出表型。

[0109] 本发明的方法还可用于在正患有或被怀疑患有动脉粥样硬化、肥胖、高血压、血管炎、增加的血栓风险、高胆固醇血症、糖尿病并发症、或血管狭窄的个体中确定受损血流。受损血流还可是个体正患有缺血性心脏病的指示。缺血或缺血性心脏病(IHD)、或心肌缺血是特征在于通常由于冠状动脉疾病(冠状动脉的动脉粥样硬化)所致的心脏肌肉供血减少的疾病。

[0110] 本文所述方法还可用于确定受损血流,其还可以是个体有血凝块的指示。血凝块或血栓是在未受损或轻微受损的血管中凝血过程不适当的激活。大血管中的血栓(附壁血栓)会降低通过所述血管的血流。在小血管中(闭塞性血栓),血流可被完全切断,导致该血管供给的组织死亡。因此,在本发明的一个实施方案中,被怀疑受损的血流是由狭窄尤其是冠状动脉狭窄或髂中的任何狭窄(比如股动脉狭窄)引起的。

[0111] PAD 是尤其在腿中导致动脉变窄的动脉粥样硬化疾病。这种变窄(即狭窄)限制能够通过动脉的血量,导致跛行。PAD 与显著的发病率和死亡率有关。药物治疗,包括改变风险因素和抗血小板药物,在患有 PAD 的患者中降低心血管疾病的发病率和死亡率。这就是为什么获得安全、有效且改进的诊断是关键。

[0112] 不能进行踏车运动的患者目前使用跖屈活力踏车(active pedal plantar flexion)或刚好高于收缩压的大腿袖带膨胀进行测试,试图产生“反应性”充血。遗憾的是,许多患者不忍受与这种程度和持续时间的袖带膨胀有关的不适,所以很少进行这种方法。因此,选择性增加流向静息腿的血流并模拟运动的药理诊断方法,是期望的替代方案。当全身输注时(i.v.)(实施例 3),UTP 将通过增加心率诱导心输出量的增加(从而模拟运动),从而增加流向腿的血流。这使得狭窄损伤易于通过评估血流的方法被检测到。如本文所述,多普勒超声、踝臂指数监测等。因此,在一个实施方案中,UTP、其衍生物、或其盐预期用于确定在正患有或被怀疑患有 PAD 的个体血管中血流是否受限。

[0113] 肾动脉狭窄经常导致抗药性高血压。可以通过使用肾中压力梯度和血管直径,以与冠状动脉狭窄相似的方式,来评估肾动脉狭窄严重程度的测定值[24]。可使用与冠状动脉 FFR 相同的方法,双侧地检查肾动脉,可以获得双侧选择性肾动脉造影照相(renal arteriogram)。通过利用 UTP 的血管活性作用诱导肾充血,可以评估通过肾动脉的压力梯度。腺苷通过使入球小动脉收缩来降低肾小球滤过率并引起剂量依赖性肾血管收缩[25],而 UTP 诱导肾血管舒张[26]。因此,压力和 UTP 输注的组合导管确保局部输注并避免全身溢出。因此,UTP、其衍生物、或其盐,可以与本文所述方法联合来检测肾狭窄的存在。

[0114] UTP、其衍生物、或其盐,通过所谓的双重扫描(Duplex scanning)还可用于肾动脉

狭窄的非侵入性测试,其是对检测狭窄损伤既灵敏又特异的非侵入超声方法。之后,可将其分类,可评价 UTP 血液动力学显著性或肾血流。非侵入性诊断技术仍在发展,随着新方法的确认,肾动脉造影术的需求可能会减少。双重扫描期间的 UTP 输注可能成为这样的诊断测试。

[0115] 狭窄可以有很多原因。本发明范围内的狭窄可具有任何内在原因,包括但不限于,动脉粥样硬化、缺血、感染、赘生物、炎症或吸烟引起的狭窄。因此,在一个具体实施方案中,本文所述方法可用于确定受损血流,其可以是个体具有狭窄的指示。

[0116] 本文所述方法还可用于检测例如,使用支架、导管等引起的机械损伤导致的过度增殖性血管疾病。

[0117] UTP、UTP 衍生物、及 UTP 盐

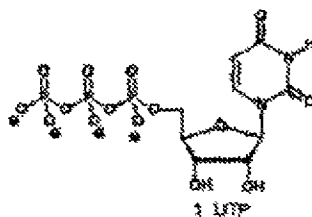
[0118] UTP 可从商业来源获得(如 Sigma Aldrich(St. Louis, Missouri)、Trilink Biotechnologies, Inc. (San Diego, California)、Axxora (Nottingham, England 和 Loerrach, Germany)、Torcis Bioscience (Ellisville, Missouri)、Inspire Pharmaceuticals, Inc. (Durham North Carolina))。核苷磷酸也是可市售的 (Sigma Aldrich) 或可以通过本领域技术人员已知的方法从相应的核苷制备。相似的,在核苷酸无法从商业来源获得时,可以通过对易于获得的核苷进行修饰、或通过本领域技术人员已知的方法从杂环和碳水化合物前体合成来制备它们。

[0119] 用于本发明的 UTP、其衍生物、或其盐能够以下述程度刺激人 P2Y2 受体,即其中与 ATP 的相应比值相比,刺激人 P2Y2 受体的 EC50 除以刺激人 P2X1 受体的 EC50 的比值更高,比如至少高 2 倍。

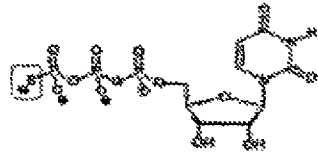
[0120] 不受限于具体理论,认为与 ATP 相比具有这样更高比值的任何 UTP 相关化合物,提供与 ATP 相同的优点,即它们可增加血流并压制肌肉交感神经血管收缩活性的增加,但不具有或具有更小程度的 ATP 缺点(即激活导致血管收缩和高血压风险的嘌呤能 P2X 受体)。

[0121] 提供 UTP 及其一些衍生物的化学式如下。

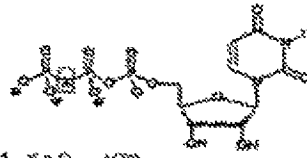
[0122]



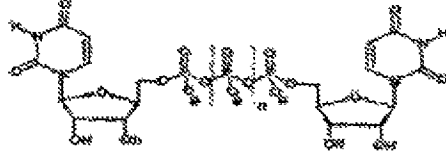
[0123]



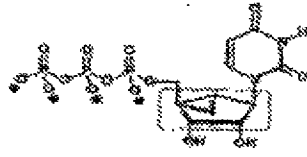
11 UTP-X



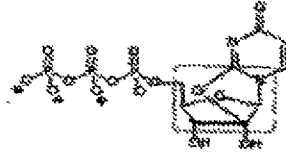
- 1 X = O UTP
- 2 X = NH₂ UTP-NH₂ (β-D-UTP-NH₂)
- 10 X = CH₃ UTP-CH₃ (β-D-UTP-CH₃)
- 11 X = CF₃ UTP-CF₃ (β-D-UTP-CF₃)



- 12 X = H UTP
- 13 X = O UTP
- 14 X = NH₂ UTP
- 15 X = H UTP



16 UTP-X



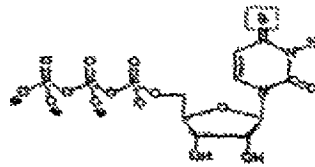
17 UTP-X



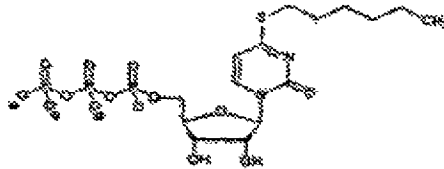
18 UTP-X



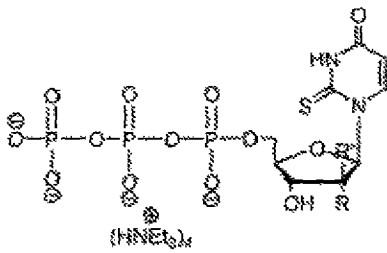
19 UTP-X



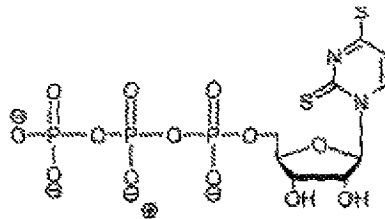
20 UTP-X



21 UTP-X



(HNEt₃)₃



(HNEt₃)₃

- R H
- R' OH
- NH₂ H
- NHCOCF₃ H
- NHCOCH₃ H

[0124] UTP 衍生物具有 UTP 上任何残基的修饰或取代。优选地,UTP 衍生物是包括 UTP 的化合物,其中一个或更多个 -H 替换为其他基团,比如核糖部分的一个或更多个 -H 基团或者嘧啶部分的一个或更多个 -H 基团。优选地,所述 -H 替换为选自如下的其他基团:低级烷基、低级烯基、低级烷氧基、低级醇、-OH、低级胺、-NH₂ 和卤素。在这个意义上低级表示 C₁₋₆,

优选 C₁₋₃, 以及因此通过低级胺的实例, 可以是例如 C₁₋₆- 烷基 -NH₂ 或 C₁₋₆- 烯基 -NH₂。UTP 衍生物的实例包括, 但不限于, 5- 取代的 UTP- 衍生物, 例如, 5, 烷基取代, 以及 C'- 烷基 UTP 衍生物, 例如, 在核糖部分的不同位置含有烷基基团。烷基取代包括, 但不限于, 甲基、乙基、丙基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一基和十二基取代 [27]。

[0125] 另一些取代包括, 但不限于, 任何尿苷残基上的亚甲基、亚丙基、氨基、糖、任何卤素和丙烯基取代。UTP 衍生物可具有一个或多个修饰和 / 或取代。例如, UTP 衍生物可具有一个修饰和 / 或取代, 比如两个修饰和 / 或取代, 例如三个修饰和 / 或取代或四个修饰和 / 或取代。

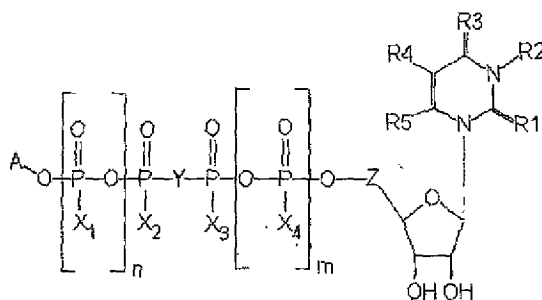
[0126] 另一些核糖修饰包括, 但不限于, 2'- 脱氧、2'- 脱氧-2'- 甲氧基、3'- 脱氧-3'- 甲氧基、2'- 氨基-2'- 脱氧、2'- 叠氮-2'- 脱氧、2'- 脱氧-2'- 氟、阿拉伯糖基以及 2'- 脱氧-阿拉伯糖基-2'- 氟。一些具体的尿苷修饰包括, 但不限于 5- 溴、5- 碘、5- 甲基、2- 硫、4- 硫、6- 氮杂和 3- 甲基。

[0127] 其他具体 UTP 衍生物包括 5-(3- 氨基-1- 丙烯基)-2'- 脱氧尿苷-5'- 三磷酸、5-(3- 氨基-1- 丙烯基)-2'- 脱氧尿苷-5'- 三磷酸四钠盐、5-(3- 氨基-1- 丙烯基)-2'- 脱氧尿苷-5'- 三磷酸四钾盐、5-(3- 氨基-1- 丙烯基)-2'- 尿苷-5'- 三磷酸四铵盐、5-(3- 氨基-1- 丙烯基)-2'- 尿苷-5'- 三磷酸四钠盐、5-(3- 氨基-1- 丙烯基)-2'- 尿苷-5'- 三磷酸四钾盐、UTP γ S、 β , γ - 酰亚胺-UTP、 β , γ - 亚甲基-UTP、 β , γ - 二氟亚甲基-UTP、Up₃U、Up₄U、(N) 亚甲基氨甲-UTP ((N) Methanocarpa-UTP)、2, 2'- 脱水 UTP、5-BrUTP、5- 乙基-UTP、4- 硫代-UTP 和 4- 己基硫代-UTP、(RP)- α - 硫代-UTP、(SP)- α - 硫代-UTP、2'- 脱氧-(RP)- α - 硫代-三磷酸、9, α , β - 亚甲基-UDP、Up4- 苯酯、Up4-[1] 葡萄糖和 (P1-(尿苷 5')-P4-(2'- 脱氧胞苷 5') 四磷酸)。

[0128] 在一些具体实施方案中, 能够刺激 P2Y2 受体的化合物是 UTP γ S、MRS2498、尿苷 5'- 三磷酸 tris 盐、尿苷 5'- 三磷酸盐二水合物、尿苷 5'- 三磷酸盐溶液、尿苷 5'- 三磷酸盐水合物、尿苷-¹³C₉, ¹⁵N₂5'- 三磷酸钠盐溶液、尿苷-¹⁵N₂5'- 三磷酸钠盐溶液、尿苷 5'- 三磷酸三钠盐水合物、尿苷-¹³C₉, ¹⁵N₂5'- 三磷酸钠盐溶液、尿苷-¹⁵N₂5'- 三磷酸钠盐溶液、2- 二尿苷四磷酸、硫代 UTP 四钠盐、地纽福索四钠或 UTP γ S 三钠盐。

[0129] 在另一些具体实施方案中, 用于本发明的化合物是通式 (I) 的化合物:

[0130]



[0131] 其中 R1 是 O、S、羟基、巯基、氨基或氰基, R2 是 H、Br、不存在、酰基、C1-6 烷基或磺酸基 (sulphonate), R3 是 O、S、羟基、巯基或氨基, R4 是 H、羟基、甲基、氰基、硝基、卤素比如 Br, R5 是 H 或 Br

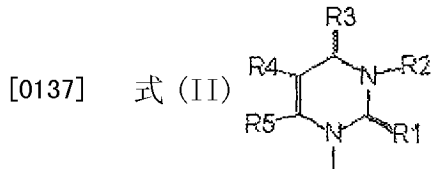
[0132] X₁、X₂、X₃ 和 X₄ 独立地是 O 或 S,

[0133] Y 是 O、酰亚胺基 (imido)、亚甲基或二卤亚甲基, 比如二氟亚甲基, Z 是 CH₂,

[0134] n 和 m 独立地是 0 或 1, 以及 n+m 是 0、1 和 2,

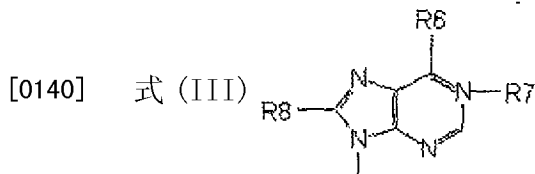
[0135] A 是 H 或在第 5 位与选自尿嘧啶、胞嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤的嘧啶或嘌呤残基或者嘧啶或嘌呤衍生物相连接的核糖, 所述嘧啶或嘌呤残基或者嘧啶或嘌呤衍生物分别通过第 1 或 9 位连接, 或者

[0136] 在第 5 位与具有式 II 的嘧啶残基相连接的核糖



[0138] 其中所示 R 基团是如上所列的, 或者

[0139] 在第 5 位与具有式 (III) 的嘌呤残基相连接的核糖



[0141] 其中 R6 是 NH₂, 而 R7 不存在以及在 N1 和 C6 之间有双键 (腺苷) 或者其中 R6 是 NH₂ 以及 R7 是 O 以及在 N1 和 C6 之间有双键 (腺苷-1-氧化物) 或者其中 R6 和 R7 共同形成从 N6 至 N1 的 -NCH = CH- 的环, 其在 N-6 和 C6 之间有双键 (1, N⁶-亚乙烯基腺苷),

[0142] 在另一个实施方案中, 所用化合物是 p¹-(尿苷 5')-p⁴-(2'-脱氧胞苷 5') 四磷酸或其盐, 比如四钠盐 (INS37217)。

[0143] 在另一些实施方案中, 能够刺激 P2Y₂ 受体的化合物是 US5, 292, 498 (第 2 段, 1 行至 32 行) 和 US 5, 789, 391 (第 2 段, 40 行至第 3 段, 55 行) 中所述的化合物之一。在另一个实施方案中, 所用化合物是 US 5, 837, 861 中所述的 P2Y₂ 激动剂, 比如 P1, P4-二(尿苷 5'-P₂, P₃-亚甲基四磷酸)、P1, P4-二(尿苷 5'-P₂, P₃-二氟亚甲基四磷酸)、P1, P4-二(尿苷 5'-P₂, P₃-酰亚胺四磷酸) (P1, P4-di(uridine 5'-P₂, P₃-imidotetraphosphate))、P1, P4-二(4-硫代尿苷 5'-四磷酸)、P1, P5-二(尿苷 5'-五磷酸) 和 P1, P4-二(3, N⁴-亚乙烯基胞苷 5'-四磷酸)。

[0144] UTP、其衍生物、或其盐可配制成游离碱或盐。可药用盐包括酸加成盐 (和肽化合物的游离氨基形成的) 以及与无机酸 (比如, 如盐酸或磷酸) 或有机酸 (比如乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等) 形成的。和游离羧基形成的盐还可源自无机碱比如, 例如, 钠、钾、铵、钙或铁的氢氧化物, 以及有机碱比如异丙胺、三甲胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等。

[0145] UTP、其衍生物、或其盐的优选盐是碱盐或碱土盐, 比如钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。其他优选盐包括, 但不限于, tris 盐、水合物和二水合物。所述 UTP 盐可包括一种或更多种的在任何 UTP 残基上的上述盐, 比如二盐、三盐和四盐, 例如二钠盐、二钾盐、二钙盐和二镁盐, 以及三钠盐、三钾盐、三钙盐和三镁盐, 以及四钠盐、四钾盐、四钙盐和四镁盐。所述 UTP 盐可在任何 UTP 残基上取代, 优选地, 所述盐是 5' 或 C' 取代的。

[0146] 制剂和施用模式

[0147] 可以本领域已知的任何合适途径递送 UTP、其衍生物、或其盐。优选的递送模式包括肠胃外、静脉内、动脉内、原位输注等。

[0148] UTP、其衍生物或其盐可配制成用于肠胃外施用（如通过注射，例如快速注射或持续输注），以及可以在安瓿、预装注射器、小体积输注或多剂量容器中添加有防腐剂的单位剂量形式呈现。用于肠胃外施用的诊断组合物可包括在油或水载体中的无菌水和非水可注射溶液、分散液、混悬液或乳液，例如聚乙二醇水溶液，以及使用前重新配制成无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末或冻干品。

[0149] UTP、其衍生物、或其盐，可以是粉的形式，其通过无菌固体的无菌分离或通过从溶液冻干而获得，用于使用前用合适的载体如无菌无热原水进行配制。如果有必要，水溶液应经过适当缓冲，先用足量的盐水或葡萄糖使液体稀释剂等渗（即达到摩尔渗透压浓度约300mOsm）。通过加热和降低水溶液 pH 提高 UTP、其衍生物、或其盐的溶解性。获得的水溶液可以通过过滤除菌。水溶液还可以加热至灭菌温度，如在生理 pH 值 99°C 持续 10 分钟，如以便使酶比如外核苷酸酶 (ectonucleotidase) 和外磷酸酶 (ectophosphatase) 失活，而不降解核苷酸。水溶液尤其适于原位输注和静脉内、肌肉内、皮下和腹膜内递送。所用的无菌水基质通过本领域技术人员公知的标准技术均易于获得。试剂和载体，当然，可作为在使用地点重新配制后的即用（预灭菌的）形式提供。

[0150] 化合物或其可药用盐的溶液可以在水或盐水中制备，任选地与无毒表面活性剂混合。用于原位输注、或静脉内或动脉内递送的组合物可包括无菌水溶液，其还可含有缓冲液、脂质体、稀释剂和其他合适添加剂。

[0151] 用于血管内使用的制剂可含有和适于制造的赋形剂混合的活性材料。这种赋形剂是混悬剂，例如，羧甲基纤维素钠、甲基纤维素和海藻酸钠。分散或润湿剂可以是天然磷脂或环氧化物和脂肪酸的缩合产物、或者环氧乙烷和长链脂肪醇的缩合产物、或者环氧乙烷与来自脂肪酸和己糖醇酸酐的偏酯的缩合产物。本领域技术人员了解很多以上概述中包括的具体赋形剂和润湿剂。水制剂还可含有一种或更多种防腐剂，例如，乙基、或正丙基对羟基苯甲酸酯，一种或更多种着色剂。

[0152] 适于通过加水制备含水混悬液的可分散粉和颗粒，提供和分散剂或润湿剂、混悬剂和一种或更多种防腐剂混合的活性成分。合适的分散剂或润湿剂和混悬剂通过上面已提及的那些所示例。

[0153] 本发明的化合物可在无菌基质中经肠胃外施用。化合物，取决于所用的载体和浓度，可以混悬于或溶于载体中。有利地，辅剂（比如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂）可溶于包含 UTP 降解酶阻断剂的载体中。无菌可注射制剂可以是无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或混悬液。可用的可接受的载体和溶剂当中包括无菌水或林格氏 (Ringer's) 溶液。

[0154] 肠胃外组合物可在单位剂量或多剂量密封容器（比如安瓿和瓶）中呈现，可以保存在冻干（冻干的）条件中，仅需要在临用之前添加无菌液体赋形剂，例如水，以用于注射。即用型注射溶液和混悬液可以从之前所述的无菌粉、颗粒和片剂制备。

[0155] 适于注射或输注的剂量形式可包括包含活性成分的无菌水溶液。在所有情况下，最终的剂量形式必须是无菌的、液体的且在制造和保存条件下稳定的。

[0156] 可以通过将化合物或其可药用盐按需要的量同上述列举的各种其他成分并入合适的溶剂中，来制备无菌可注射溶液，如需要，随后过滤除菌。

[0157] 在一些优选实施方案中，将 UTP、其衍生物或其盐配制成液体形式以用于通过持续

静脉内输注、原位输注、冠状动脉内输注、滴注、冠状动脉内快速注射、导丝、IC 微导管或导引导管的递送。在其他一些优选实施方案中,将 UTP、其衍生物、或其盐配制成液体形式用于腿部中静脉内施用来确定腿部中的血流。还可将 UTP、其衍生物、或其盐配制成液体形式以用于向肾或通过冠状动脉内输注向心脏递送用于确定血流。

[0158] 其他合适的实施方案涉及诊断组合物,其包含在适合向人患者施用的可药用水性载体中的 UTP、其衍生物、或其盐,所述组合物含有 10 至 1000 $\mu\text{g/ml}$ 范围的所述化合物,优选 50 至 400 $\mu\text{g/ml}$ 的范围,更优选 100 至 360 $\mu\text{g/ml}$ 的范围。此类组合物的实例包括:

[0159] 组合物 I:UTP、其衍生物、或其盐在组合物中的浓度可以为 10-2000 $\mu\text{g/ml}$,优选地,诊断浓度在 20-500 $\mu\text{g/ml}$ (用于 IC) 和 50-2000 $\mu\text{g/ml}$ 之间 (用于 iv)。

[0160] 组合物 II:可以通过本领域技术人员已知的技术通过向干粉 UTP 三盐或 UTPNa_3 添加无菌水溶液来控制 UTP、其衍生物、或其盐的浓度,从而获得约 100 $\mu\text{g/ml}$ (用于 IC) 和 300 $\mu\text{g/ml}$ (用于 iv) 的浓度,即环境条件下其溶解性的极限。超细颗粒混悬液的浓度也可以递送治疗剂量的 UTP。

[0161] 组合物 3:UTP、其衍生物、或其盐的浓度可以是临床剂量范围 10-1000 $\mu\text{g/ml}$, 优选 25-500 $\mu\text{g/ml}$ 、20-100 $\mu\text{g/ml}$ 、40-150 $\mu\text{g/ml}$ 、60-160 $\mu\text{g/ml}$ 、80-360 $\mu\text{g/ml}$ 、100-240 $\mu\text{g/ml}$ 、120-480 $\mu\text{g/ml}$ 和 150-600 $\mu\text{g/ml}$ 的范围。

[0162] 相关的实施方案涉及诊断组合物,其中 UTP、其衍生物、或其盐在等渗盐水中。

[0163] UTP、其衍生物、或其盐的血管内输注速度为,以更优选的顺序,每分钟约 20 μg 至约 2000 μg 、约 50 μg 至约 600 μg 、约 80 μg 至约 360 μg 、约 100 μg 至约 500 μg 、约 150 μg 至约 400 μg 、约 180 μg 至约 360 μg 、约 240 μg 至约 360 μg 、以及每分钟约 180 μg 至约 240 μg 。

[0164] 可以通过冠状动脉内持续地或通过导引或微输注导管从 20 $\mu\text{g/分钟}$ 开始以逐步上升的剂量快速输注来递送 UTP,用来诱导最大冠状血流,其对应着最小远端冠脉压。当到达稳态充血时,优选持续输注 (即没有发生进一步的 P_d 降低),FFR 可以计算为通过压力导丝测量的平均远端冠状动脉内压力与通过冠脉导管测量的平均动脉压的比值。由此,持续 UTP 输注期间在任何给定的评估的冠状动脉中从 20 $\mu\text{g/分钟}$ 至约 400 $\mu\text{g/分钟}$ 逐步上升的剂量,应当导致可能的最低 P_d ,从而带来最准确的 FFR 值。因此,充血刺激可以给出如下:取决于损伤解剖学在左和右冠状动脉两者中,以 10、20、40、80、160、240、360 和 400 $\mu\text{g/分钟}$ 递增剂量 IC 持续输注 UTP、其衍生物、或其盐。

[0165] 当 UTP、其衍生物、或其盐通过持续冠状动脉内输注时,输注速度按升序优选是约 5 μg 至约 600 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 10 μg 至约 550 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 20 μg 至约 500 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 30 μg 至约 450 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 40 μg 至约 400 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 50 μg 至约 380 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 60 μg 至约 360 $\mu\text{g/分钟}$ 、约 80 μg 至约 360 $\mu\text{g/分钟}$ 以及约 180 μg 至约 360 $\mu\text{g/分钟}$ 。

[0166] 所述药物可在患者需要充血评估的任何时间施用,所述充血评估比如 FFR 或其他相关诊断程序,比如另一种形式的核成像 (包括 MPI)、超声和回声心动图、血流储备分数、MRI/MRA、CT 扫描、PET 扫描和使用平均动脉压的踝臂指数。

[0167] 评估受损血流的方法

[0168] 评估受损血流的方法包括比如 MPI 的核成像、超声和回声心动图、血流储备分数、MRI/MRA、CT 扫描、PET 扫描和使用平均动脉压的踝臂指数。受损血流表示和正常血流相比

血流中的任何改变,例如,狭窄或血凝块引起的变化。相反地,正常血流表示没有被例如狭窄或血凝块所损伤的血流。正常血流的参考可通过例如在至少 20 个没有所怀疑疾病的健康个体中测量血流并确定平均值来表示。相反,一些测量对个体是特异性的,如 FFR 测量。即,FFR 值仅取决于与静息时相比地个体增加血流的能力

[0169] 在另一些情形中,“参考值”可代表与异常情况有关的血流值。例如,当 FFR 用于评估血流时,测量值是最大充血条件下狭窄的血管段的远端之间的压差,而参考值是相似充血条件下没有狭窄的相同血管的对应压差。“参考值”用于特定情形中的涵义对于本领域普通技术人员是显而易见的。

[0170] 为确定血管是否有受损血流,可以通过获得与血管中血流相关的值来定量地评估血流。然后可以将此类所获得的值与参考值(其可以,例如,从个体中相似的血管获得)进行比较。然后基于比较结果可以确定个体是否有受损血流。这种比较允许确定血管中受损血流,且从而可辅助确定狭窄的存在和/或诊断疾病或障碍,例如,外周动脉病(PAD)、冠状动脉粥样硬化、肾动脉疾病、动脉粥样硬化和/或缺血性心脏病。

[0171] 相似血管可以是任何具有相同横截面积 $\pm 20\%$ 的血管。因此,相似血管可以是例如相同个体中的相似血管,比如相同个体中具有相同横截面积 $\pm 20\%$ 且距离心脏相同距离 $\pm 20\%$ 的血管。例如,如果有疑似受损血流的血管在身体左侧,相似血管可以是身体右侧的相应血管。然后,相似血管也可以是另一个健康个体中的相同血管。

[0172] 当测量腿部中血流时,具有正常血流的相似血管可以是个体一条腿中的血管,其中有被怀疑受损血流的血管在另一条腿中。当测量心脏中血流时,有正常血流的相似血管可以是个体中的一条冠状动脉,其中有被怀疑受损的血管是在另一条冠状动脉中。

[0173] 可以通过本领域已知的任何合适方法评估本发明中的血流。例如,可以通过血流储备分数(fractional flow reserve, FFR)测量、冠状动脉血流储备(coronary flow reserve, CFR)测量、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)测量和动脉峰值速度(arterial peak velocity, APV)测量来评估血流。

[0174] FFR 最初用于冠状动脉导管插入术(coronary catheterization)来测量通过冠状动脉狭窄的压差,从而确定所述狭窄阻止氧递送至心脏肌肉的可能性,而且其定义为相对于推定狭窄之前压力的推定狭窄之后的压力(远端)。这产生一个绝对数;0.50 的 FFR 表示给定的狭窄引起通过狭窄面积的血压下降 50%。即,FFR 表示与假设不存在狭窄时的最大血流相比存在狭窄时沿血管的最大血流。冠状动脉导管插入术期间,使用鞘和导丝将导管插入股(腹股沟)或桡动脉(腕)。FFR 使用导丝顶端的小传感器(通常为换能器(transducer))来测量压力、温度和血流,从而确定损伤的确切严重程度。这在最大血流(充血)期间实现。进行压力导丝的回撤,记录通过血管的压力。

[0175] 可以在身体任何血管中进行 FFR 测量,例如腿部、肾或心脏中的血管。认为 FFR 方法的任何变化属于本发明的范围内。在一些具体的实施方案中,FFR 方法使用导丝或 IC 微导管的端部(Progreat 微导管系统, Terumo, 日本)。

[0176] 适合与本发明联合使用的导管公开于美国临时申请序列号 No. 61/357, 857, 其通过参考并入此处。

[0177] 在 FFR 中使用 UTP 相对于腺苷化合物的优势包括:通过 UTP 瞬时获得稳态,使进行准确的测量和撤回操作变得可行,并使 FFR 操作的时间减少;冠状血流评估更准确,由于

UTP 产生接近最大的灌注,从而导致更精确的 FFR;UTP 不伴随副作用;UTP 允许清晰的剂量响应曲线,且 UTP 是短效的,没有长期作用。还需强调的是操作相关的并发症方面,这种新方法允许反复且简便的 FFR 测量,并且在门诊中可以通过桡动脉进行,而静脉内腺苷总是需要中央静脉进入。

[0178] MAP 是身体器官所见的灌注压力。受损血流可以,按照优选的顺序,反映为小于 60mmHg、小于 50mmHg、小于 40mmHg、小于 30mmHg 或小于 20mmHg 的 MAP。

[0179] 平均峰值速度 (average peak velocity, APV) 也可用于本发明来确定被怀疑受损的血流。5 至 30msec⁻¹ 范围内的 APV 指示受损血流。因此,按照优选的顺序,小于 30msec⁻¹、优选小于 20msec⁻¹ 以及更优选小于 10msec⁻¹ 的 APV 认为是受损血流的指示。

[0180] 其他方法包括压力测试 (stress test), 比如运动、应激超声心动图 (如,多巴酚丁胺应激超声心动图)、心肌闪烁术 / 心肌灌注显像 (MPI) 等 [28-31]。

[0181] 多巴酚丁胺的禁忌症包括:胸痛、高血压、头晕、恶心和极度疲劳、咖啡因摄入和用 β 受体阻断剂的治疗。鉴于多巴酚丁胺应激超声心动图程序目前的风险未见于 UTP,可以在应激超声心动图中用 UTP、其衍生物、或其盐取代多巴酚丁胺来评估血管中血流、评估心脏功能和结构比如瓣膜狭窄、确定进入心脏康复程序的患者和 / 或从心脏事件 (比如心脏病发作 (心肌梗死或 MI) 或心脏外科手术) 恢复的人的安全运动限度、评估压力测试期间的血压、评估已知或被怀疑冠状动脉疾病的患者的压力或运动耐受、或评估患有例如主动脉狭窄将要经受外科手术的患者的的心脏状态。

[0182] MPI 是用于检测冠状动脉疾病、风险评估、检测存活心肌和评估各种治疗性侵入作用的最广泛使用的非侵入性方法。腺苷和双嘧达莫是血管舒张压力测试的主要依靠。对于使用腺苷的血管舒张测试有禁忌症的患者,多巴酚丁胺应激 MPI 是保留项目。然而,所有腺苷受体激动剂,包括瑞加德松 (regadenoson), 与支气管收缩、心绞痛、严重低血压以及窦房结和房室阻滞有关,因为腺苷受体激动剂可以抑制 SA 和 AV 结,从而可能导致第一、第二或第三度 AV 阻滞、或窦性心动过缓;因此药物不应当给予具有第二或第三度 AV 阻滞、或窦房结功能障碍的患者。重要的是,UTP 没有任何这些缺点,具有更高的受体选择性且更接近最大冠状血流,由于其通过完全不同的嘌呤能受体系统 (P2Y2) 发挥作用,而没有当前化合物的“腺苷”作用。因此,由于收缩和舒张血压降的限制 + 对 AV 结没有影响,全身性使用更加安全。如此,UTP、其衍生物、或其盐可用于在 MPI 中代替腺苷受体激动剂。检测血流的方法

[0183] 本领域用于此目的的任何装置可用于确定受损血流,比如血压计 (sphygmomanometer)、血压力计 (blood pressure meter) 等。本领域用于此目的的技术也可用于确定受损血流,比如彩色多普勒技术、脉冲多普勒、能量多普勒、多普勒超声、热稀释、回声心动图、体积描记法等。适合用于本发明的其他方法包括心脏磁共振成像 (MRI)、计算机断层 (CT) 扫描、心导管插入术、胸部 CT、心肌灌注扫描、放射性核素血管造影、超速 CT 扫描等。

[0184] 还可以通过使用,例如血流探头从血管的外部位置监测血流。

[0185] 用于检测血流的方法可以与上述用于评估血流的方法相联合。

[0186] 试剂盒

[0187] 根据本发明在被怀疑有受损血流的个体动脉或静脉中确定血流所需的所有材料和试剂可以一并组装于试剂盒中,此类试剂盒包括至少 UTP、其衍生物、或其盐作为活性诊

断成分,以及根据本文所述的任何方法在被怀疑具有受损血流的个体中使用 UTP、其衍生物、或其盐的说明。

[0188] 在上述测试试剂盒中,可通过预装有试剂或对照的保存瓶或一个或更多个测试管来提供试剂。

[0189] 试剂盒的成分,尤其是 UTP、其衍生物、或其盐,可以以干或冻干的形式提供。当试剂或成分以干的形式提供时,通常通过加入合适的溶剂进行重构。设想溶剂也可在其他容器装置中提供。或者,UTP、其衍生物、或其盐可作为在使用地点重构后的即用(预灭菌的)形式提供。UTP、其衍生物、或其盐还可以作为混悬形式(即已经混悬于合适的溶剂中)提供。

[0190] 本发明的试剂盒通常还包括用于容纳所述试剂(比如瓶或管)的密闭装置(比如,如注射或吹塑塑料容器,其中保存有所需的瓶)以用于商业销售。

[0191] 试剂盒还包括如何根据本发明方法确定被怀疑受损血流的一组说明。

[0192] 不同的试剂盒提供适于本文上述优选施用模式的成分、试剂和说明,包括通过持续静脉内输注、原位输注、冠状动脉内输注、滴注、冠状动脉内快速注射、导丝、或 IC 微导管的递送。试剂盒还可提供导丝和 / 或微导管。

[0193] 对于试剂盒使用的合适的可商业获得导管的实例是:**ComboWire®**和**FloWire®**多普勒导丝(Volcano Corporation);PressureWire™ Certus 和 PressureWire™ Aeris Wireless(St. Jude Medical, Inc.)。

实施例

[0194] 实施例 1:全身输注 UTP 用于心肌灌注成像(预防性)

[0195] MPI 是可用于诊断缺血性心脏病的一种功能心脏成像形式。其内在原理是在压力条件下,患病的心肌接受比正常心肌更少的血流。MPI 是多种类型心脏压力测试之一。

[0196] 施用心脏特异性的放射性药物比如 ^{99m}Tc-替曲膦(Myoview, GE healthcare)或 ^{99m}Tc-司他比得(Cardiolite, Bristol-Myers Squibb)。这之后,通过全身性输注 UTP、其衍生物、或其盐来提高心率和冠状血流,从而诱导心肌压力。

[0197] 压力之后进行的 SPECT 成像揭示了放射性药物的分布,从而揭示了心肌不同区域的相对血流。通过比较压力成像和静息时获得的另一套成像(参考值)进行诊断。由于放射性核素再分布缓慢,通常不可能在同一天里进行两套成像,因此需要 1-7 日后进行第二次就医。然而,如果压力成像是正常的,则没必要进行静息成像,因为它也将是正常的一因此通常仅进行压力成像。

[0198] 已经证实 MPI 总准确率为约 83%(灵敏性:85%;特异性:72%),与缺血性心脏病的其他非介入性测试相当(或更好)。

[0199] 实施例 2:在患有冠状动脉疾病的人当中通过冠状动脉内导引导管局部输注 UTP

[0200] 在由于典型性缺血性胸痛反复发作而经受选择性冠状动脉造影术(CAG)的 23 个患者中或非 -ST 段抬高型心肌梗死(进入研究 2 天前)的患者中进行研究。在患有单或多血管冠状动脉疾病的符合条件的患者中,基于血管造影的表现和临床数据,确定这样的损伤,其直径至少狭窄 50%且认为需要进行 PCI。

[0201] 剂量 / 响应方案

[0202] 在实验的第一部分,在导引导管(5F 导管,Cordis Corp.)中按随机顺序持续冠状动脉内输注 UTP(Jena Bioscience GmbH,德国)和腺苷诱导冠状充血之后,测量 FFR 和冠状流(速度,CFR)。测试 240 和 360 μ g/分钟两个 UTP 剂量。通过在 50ml 等渗 NaCl 中溶解 100mg UTP 三盐(UTP trisalt)(Sigma Aldrich)制备 UTP。50ml 的该溶液中,40ml 经过滤除菌并加入至无菌 NaCl 溶液直至终体积 500ml,获得 0.16mg/ml 的浓度。可以制备 8-10 个 50ml 该溶液的注射器(每个 FFR 研究 2 个注射器)。3ml/分钟 = 480 μ g/分钟 = 0.9 μ mol/分钟。从而受试者各接受总共 3 分钟的 1.5ml/分钟 UTP 输注或 2.25ml/分钟 UTP 输注。患者还接受相同等效浓度的腺苷(Sigma Aldrich)。

[0203] 所有测量在至少两个分开的时机进行,来获得可重复的结果,计算平均值。各测量之后,要小心在施用下一剂量之前 APV 回到基线。对于使用两种药物和两种施用途径的所有测量,记录心率、血压和 ECG 的变化。

[0204] 在实验的第二部分,对于逐渐提高的持续 UTP 输注产生全剂量响应曲线,在经皮冠状动脉介入(PCI)之前同时测量 CFR 和 FFR。以持续冠状动脉内 80 μ g/分钟 UTP 和腺苷来诱导充血,比较血流储备值(表 1)。

[0205] 在实验的第三部分,经皮冠状动脉介入(PCI)之后同时测量 CFR 和 FFR。以持续冠状动脉内 240 或 360 μ g/分钟 UTP 和等效腺苷来诱导充血,在一些患者中,将血流储备值与完全近端冠状闭塞 30s 的充血反应进行比较。

[0206] 计算血流储备分数和冠状血流储备

[0207] FFR 定义为狭窄动脉中充血血流与没有狭窄存在时相同动脉中充血血流的比。因此,FFR 表示为狭窄血管中最大充血流比上其正常值的分数。通过如下等式,可以根据最大充血期间获得的冠状动脉内压力测量来计算 FFR: $FFR = P_d - P_v / P_a - P_v \rightarrow P_d / P_a$,其中 P_a 是平均近端冠脉压(平均主动脉压), P_d 是平均远端冠脉压,以及 P_v 是平均中央静脉压。冠状动脉血流(速度)储备是充血冠状动脉流速度最大值与基线值的比,并用作 CFR 的替代。使用 Volcano **combomap**[®],测量整个心脏相位的 APV 并且根据 $APV_{(充血)} / APV_{(基线)}$ 计算 CFR。

[0208] 结果

[0209] 本实验结果显示于图 1-4 和 8 中。

[0210] 6 个患者的剂量反应曲线中,IC 腺苷和 IC UTP 持续腺苷输注的比较:

[0211] 表 1

[0212]

FFR													
患者	BL ado	ADO 80	ADO 160	ADO 240	ADO 320	ADO 400		BL UTP	UTP 80	UTP 160	UTP 240	UTP 320	UTP 400
1,00	0,98			0,87	1,02	1,01		1,01			0,89	0,90	0,90
2,00	0,91		0,96	0,91	0,89	0,89		0,92		0,90	0,89	0,89	0,92
3,00	0,88	0,88	0,75	0,71	0,70			0,88	0,73	0,73	0,73	0,72	
4,00	0,87	0,83	0,80	0,81	0,79			0,85	0,79	0,79	0,79	0,77	
5,00	0,97	0,95	0,95	0,94	0,96			1,01	0,88	0,86	0,87	0,86	
6,00	0,79	0,76	0,60	0,60	0,54	0,56		0,78	0,56	0,56	0,55	0,56	0,56
平均值	0,90	0,86	0,81	0,81	0,82	0,82		0,91	0,74	0,77	0,79	0,78	0,79
2SEM	0,06	0,08	0,13	0,11	0,14	0,27		0,07	0,13	0,12	0,11	0,11	0,23

[0213] 显然,与相同等效水平的腺苷相比,任何给定水平的持续 UTP 输注的 FFR 值更低。使用腺苷的最低 FFR 水平是 0.81 ± 0.11 , 然而,UTP 的最低水平是 0.74 ± 0.13 ($P < 0.05$)。如所述,因为其制剂被制成等效的,所以腺苷和 UTP 的剂量在数值上不同。

[0214] 在所有 IC 持续性 UTP 输注速率下诱导最大充血的时间比 IC 持续性腺苷输注要短。如在所有 23 个患者中所示,与腺苷输注相比,UTP 的 IC 240 $\mu\text{g}/\text{分钟}$ 输注的 FFR 显著降低 ($p = 0.003$) (图 1)。与此一致地,与腺苷输注相比,UTP 输注的 P_d 或平均远端冠脉压也显著降低。

[0215] 之前已经显示 IC 持续腺苷输注比 IV 持续腺苷输注更有效地诱导最大冠状动脉充血 [8]。尤其早期诱导最佳冠状动脉充血在重复测量 FFR 方面具有很大优势。然而,和 UTP 比较,推测由于激活的受体类型、对相应受体的亲和性以及输注量的不同,腺苷在血管舒张方面没有那么强效。因此,尽管对于 FFR 测量 IC 腺苷持续性输注方法是用于诱导最大且稳态冠状动脉充血的可接受的标准方法,然而当和 UTP 施用比较时其不诱导最大充血。

[0216] 在当前的试验中,UTP 处理的患者在 IC 持续性 UTP 输注期间都没有胸痛、呼吸困难、第二或第三度 A-V 阻滞或全身血压和心率的变化,而腺苷输注期间大多患者感到不适的胸痛并且 2 个患者有三度 A-V 阻滞。因此,同 IC 和 IV 腺苷输注方法相比,我们的 IC UTP 输注方法对于诱导冠状动脉充血是安全的,且没有任何全身性并发症。

[0217] 通过我们的导引导管方法用于获得最大冠状动脉充血的最佳 UTP 剂量是 80-400 $\mu\text{g}/\text{分钟}$ 浓度的 UTP。与比标准 IV 腺苷浓度 140 $\mu\text{g}/\text{分钟}$ 更强效等效的 IC 腺苷剂量相比,这些剂量的冠状动脉内 UTP 输注比之前的方法可以诱导更快且更强效的冠状动脉充血。在 $> 360 \mu\text{g}/\text{分钟}$ 的 IC UTP 输注之后,没有观察到 FFR 的进一步降低。

[0218] 我们在大多数这样的患者中进行这项研究,其中在通过 IC 快速腺苷注射评价的 0.76 和 0.80 之间的灰区出现 FFR,但是其中由于更强的狭窄后血管舒张,UTP 的 IC 输注甚至进一步降低 FFR。因此,通过 IC 持续 UTP 输注方法用于诱导最大充血的优选输注速度是 ~ 80 至 400 $\mu\text{g}/\text{分钟}$ 。

[0219] 总地来说,结果说明 UTP 的 IC 持续输注对于诱导最佳冠状动脉充血来说是安全且有用的,而没有任何其他程序;IC UTP 输注是比等效浓度 IC 腺苷输注更强效的血管舒张剂;但之前的研究显示 IC Ado = IC ATP 输注 $>$ IV 腺苷输注,本研究的发现表明 UTP $>$ 腺苷 = ATP;以及和 IC 或 IV 腺苷或 ATP 输注相反,IC UTP 输注没有伴随副作用。

[0220] 实施例 3 :在患有冠状动脉疾病的人中通过冠状动脉内微导管局部输注 UTP

[0221] 如前所述,诱导稳定的最大冠状动脉充血对于血流储备分数 (FFR) 测量是必要的。该第二实验在相似的患者群中评价了经微导管冠状动脉内 (IC) 持续腺苷输注相对于 IC 持续尿苷三磷酸 (UTP) 输注用于诱导稳态最大冠状充血之作用的差异。本研究被设计用来评价 FFR 方法中使用等摩尔浓度 UTP 相对于腺苷输注的安全性和有效性。在 10 名中度冠状动脉损伤的患者中记录不同化合物到达稳态的时间、最大充血的影响 (最低 FFR) 以及副作用。使用微导管通过 IC 持续腺苷或 UTP 输注来连续测量 FFR,以避开近端压力传感器。所用 IC 微导管 (Progreat Microcatheter System, Terumo, 日本) 置于冠状动脉口,然后经由微导管,以从 10 至 400 μ g/ 分钟的等摩尔浓度,增加 IC 持续腺苷或 UTP 输注速度来测量 FFR。

[0222] 股导管插入后,用标准股方法进行冠状血管造影。根据标准程序施用肝素。在微导管研究中,在进行对照血管造影照相之前施用冠状动脉内硝酸甘油 (0.2-0.3mg)。整个程序中连续监测心率和动脉压。在将没有侧孔的导引导管 (5F 导管, Cordis Corp.) 置于冠状口之后,从多个投影获得冠状血管造影照相。使用计算机辅助、自动化计算机化边缘检测算法 (西门子医疗系统),通过独立的分析者 (对 FFR 结果不知情) 进行定量冠状动脉分析。装有造影剂 (contrast) 的导管外径用作校正标准。根据最差视野示踪 (worst-view trace) 测量心舒张末期的参考段的最小腔直径、血管直径以及直径狭窄百分比。冠状血管造影后,0.014-in. 压力导丝 (Combewire, Volcano Corporation, US) 通过 6F 导引导管向远端前进到达狭窄。在微导管研究中,推进压力导丝使其穿过狭窄之前,给予 IC 快速注射硝酸甘油 (0.2-0.3mg) 以避免任何机械-诱导的冠状血管收缩。外部校正压力导丝,然后前进到导管的远端。验证在导管和压力导丝是否记录了相等的压力。推进压力导丝使其穿过冠状导管,引入至冠状动脉,并置于狭窄的远端。

[0223] 在基线和最大充血 (腺苷 vs UTP) 同时测量远端冠脉压 (P_d) 和近端冠脉压 (P_a)。用最大充血期间平均 P_d 除以平均 P_a 计算血流储备分数。计算最佳血管舒张的时间 (施用腺苷或 UTP 之后到达 $> 90\% P_d/P_a$ 最小值所需的时间) 以便评价程序时间是否延长。充血刺激给定如下:取决于损伤的解剖学在左和右冠状动脉两者中,以递增的 10、20、40、80、160、240、360 和 400 μ g/ 分钟的剂量 IC 持续输注腺苷或 UTP。用微导管通过 IC 持续输注逐步提高的剂量,其中不间断地连续记录逐步剂量提高。每步提高之后,自动记录 FFR 和 CFR。当 P_a 、 P_d 和心率回到其基线值时,给予下次充血刺激 UTP vs 腺苷。

[0224] 如上所述,结果显示通过 IC 持续 UTP 输注方法测量的血流储备分数显著低于 IC 持续腺苷输注方法所测量的。并且,通过我们的方法得到的最佳冠状动脉充血诱导时间也比通过 IC 持续腺苷输注方法的短。如上所述,最佳冠状动脉充血的诱导时间在重复测量 FFR 方面有很大优势,当和之前的方法相比,我们的方法使其可能在短时间内反复且简便地测量 FFR。在 UTP 组中没有患者胸痛,但在腺苷组由于刺激 P1 疼痛受体几乎所有患者感到心绞痛。并且有些患者在 IC 腺苷输注期间有短暂二度 A-V 阻滞。在 IC 持续 UTP 或腺苷输注期间在全身血压和心率方面没有差异。因此,IC UTP 输注方法对于诱导冠状充血是安全的,且和 IC 腺苷输注方法相比没有全身并发症。

[0225] 通过 UTP 方法获得最大冠状充血从而获得最低 FFR 的 UTP 最佳剂量是大约 80 μ g/ 分钟 (对于 UTP) 以及 240 μ g/ 分钟 (对于腺苷) (图 5)。然而,冠状动脉内腺苷输注不在

任何给定浓度时产生像 UTP 输注期间获得的那么低的 FFR 水平,这表示腺苷,甚至在其最高浓度时,比 UTP 产生更高的 FFR。80 μ g/分钟以上的 UTP 不进一步降低 FFR,因此必须假定是输注正确的量。然而,考虑到根据患者有效受体的数目和分布有些患者可能或多或少对这种剂量有反应,推荐起始剂量应在 50 μ g/分钟附近然后递增直至到达最低 FFR 水平。以这种方式,为了最佳的诊断可以根据任何给定患者的需要个性化剂量范围。

[0226] 所有患者都耐受 UTP,而没有副作用,但几乎所有患者在腺苷程序期间都经历副作用。通过 UTP 输注的 FFR 测量值显著低于通过 IC 腺苷输注的 ($P < .05$)。冠状动脉内 UTP 输注还能够缩短最佳且恒稳 - 稳定充血的诱导时间,和腺苷输注相比使用 UTP 的时间还持续地更久些 (~ 20 秒)。

[0227] 表 2

[0228]

FFR									
患者	BL ado	ADO 10	ADO 20	ADO 40	ADO 80	ADO 160	ADO 240	ADO 320	ADO 400
1,00	0,98						0,87	1,02	1,01
2,00	0,91					0,96	0,91	0,89	0,89
3,00	0,88				0,88	0,75	0,71	0,70	
4,00	0,87				0,83	0,80	0,81	0,79	
5,00	0,97				0,95	0,95	0,94	0,96	
6,00	0,79				0,76	0,60	0,60	0,54	0,56
7,00	0,89	0,81	0,75	0,73	0,71	0,68		0,70	
8,00	0,90	0,94	0,94	0,94	0,94	0,95		0,95	
9,00	0,86	0,86		0,82	0,82	0,85		0,86	
10,00	0,98	0,99	0,95	0,94					
平均值	0,90	0,90	0,88	0,86	0,84	0,82	0,81	0,82	0,82
2SEM	0,04	0,08	0,13	0,11	0,07	0,10	0,11	0,10	0,27
患者	BL UTP	UTP 10	UTP 20	UTP 40	UTP 80	UTP 160	UTP 240	UTP 320	UTP 400
1,00	1,01						0,89	0,90	0,90
2,00	0,92					0,90	0,89	0,89	0,92
3,00	0,88				0,73	0,73	0,73	0,72	
4,00	0,85				0,79	0,79	0,79	0,77	
5,00	1,01				0,88	0,86	0,87	0,86	
6,00	0,78				0,56	0,56	0,55	0,56	0,56
7,00	0,84	0,72	0,71	0,72	0,71	0,71		0,69	
8,00	0,94	0,95	0,95	0,95	0,97	0,92		0,90	
9,00	0,89	0,84		0,83	0,83	0,83		0,84	
10,00									
平均值	0,90	0,84	0,83	0,83	0,78	0,79	0,79	0,79	0,79
2SEM	0,05	0,14	0,24	0,13	0,10	0,08	0,11	0,08	0,23

[0229] 冠状动脉内腺苷 vs UTP 的剂量响应曲线

[0230] 总的来说,这些结果表明使用 IC 微导管的 IC 持续 UTP 输注对于诱导个体患者最

佳冠状充血是安全且有用的,且没有任何其他程序。由于 UTP 不带来副作用,因此没有明显的禁忌症或要考虑的注意事项;UTP 有更高的受体选择性,具有更快且更长一些的稳态;UTP 产生接近于闭塞后充血的最大充血,因此允许更精确的评估最大冠状血流,使得 FFR 计算更准确。

[0231] 按照 FFR 使用的常规指南,UTP 不仅可以用于所有患者,其还可以扩展到包括那些使用腺苷有禁忌症且出于此原因无法正常进行 FFR 测试的患者。

[0232] 实施例 4:为了在诊断性充血方法中用 UTP 作为冠状动脉、肾或外周舒张剂在猪中全身输注 UTP

[0233] 在本研究中,在肺和全身循环中测试了血液动力学响应,以及中央静脉内输注 ATP、ADP、ADO 和 UTP 对心脏的作用。

[0234] 输注速率旨在发挥在降低动脉血压方面明显的全身反应,但避免整个循环崩溃。方法:对 10 名健康雌猪(丹麦,哥本哈根大学,实验内科与外科系)进行研究,其作为丹麦长白猪(1/3)和约克夏猪(2/3)的组合进行饲养,中位体重为 $41 \pm 2\text{kg}$ 。

[0235] 用置于心脏水平的传感器(压力监测试剂盒,Baxter,Deerfield,IL,USA)从主动脉弓中的导管获得平均动脉血压(mean arterial blood pressure,MAP)。随后暴露左股动脉并附上超声多普勒探针(CM-4000,Cardiomed,挪威)用于测量外周股动脉流。监测 MAP、HR 和外周流,并用 PowerLab 系统(Adinstruments,澳大利亚)连续采集数据。注射 10ml 冷却的盐溶液之后,通过热稀释法一式三份地确定心输出量(cardiac output,CO)。当 MAP 最大程度降低或 $\sim 50\%$ 时,从处于基线和稳态的主动脉和右心房导管中收集血样。计算的变量是:心搏出量($SV = CO/HR$)、肺血管阻力($PVR = (MPAP-PCWP)/CO$)、全身血管阻力($SVR = (MAP-MRAP)/CO$)、腿部血管传导速率($LVC = LBF/(MAP-MRAP)$)和动脉(主动脉)和混合静脉(肺动脉)含氧量($Hb * 1.34 * O_2$ 饱和度)。在 LVC 计算中,MRAP 用作平均股静脉压(mean femoral venous pressure,MFVP)的评估,因为发现 MRAP 在一系列测试中等于 MFVP,如在 10 只仰卧的猪当中所评价的。作为对于心肌需氧的潜在评价,还计算了率压乘积($RPP = MAP * HR$)。

[0236] 药物输注:盲法分组后按随机顺序,各动物通过右心房颈内静脉施用核苷酸 ATP、UTP、ADP(Sigma, St. Louis, Missouri, USA) 和 ADO(Item Development AB, Stocksund, Sweden)。通过溶于盐水中制备核苷酸和 ADO 从而获得 ATP($40 \pm 5 \mu\text{mol/分钟}$)、ADP($43 \pm 8 \mu\text{mol/分钟}$)、UTP(直至 $1,600 \mu\text{mol/分钟}$)和 ADO($73 \pm 7 \mu\text{mol/分钟}$)的靶浓度。以 2 分钟)的间隔以增加的剂量输注核苷酸,目的在于降低最大程度 $\sim 50\%$ 的 MAP。此后,维持 $\sim 3-5\text{min}$ 那种特定的输注速度。每次介入之后,动物静息 $\sim 30\text{min}$,使心血管变量静息以便重新确立。此后,施用新的核苷酸输注循环。在本研究中,我们目的在于让药物降低 $\sim 50\%$ 的 MAP,但不诱导血液动力学和循环崩溃,来模拟全身血管舒张的明显状态,如可在例如休克情况中观察到的。

[0237] 结果

[0238] 输注速度

[0239] 输注 ATP、ADP、ADO 或 UTP 之前在任何基线条件下没有显著差异(图 6 和 7)。在目标 MAP 时,对应着基线 MAP $\sim 50\%$ 的降低,以相似的速率输注 ATP 和 ADP(40.2 ± 5 和 $43.2 \pm 7.7 \mu\text{mol/分钟}$, $p = \text{ns}$),而 ADO 以更高的速率输注($72.7 \pm 6.6 \mu\text{mol/分钟}$, p

< 0.05)。和 UTP 相反,进一步提高 ATP、ADP 和 ADO 的输注速率,可将 MAP 降低至目标~50% MAP 降低之下,其需要在药剂滴定期间小心监测。在 UTP 达到 MAP ~ 50%降低的尝试中,在两个动物中 UTP 输注速率提高高达 1.600 $\mu\text{mol}/\text{分钟}$ 。然而,UTP 输注降低 MAP 不超过~35%。在更低的 UTP 输注速率(86.5 \pm 18.2 $\mu\text{mol}/\text{分钟}$)时也获得这种降低。由于 UTP 剂量上的提高在那些动物中不进一步降低 MAP,在其余实验中当达到 MAP 降低时,UTP 输注速率的提高不超过这一剂量(图 7a)。

[0240] 核苷酸及其对压力、CO、HR 和 SV 的作用(图 7)

[0241] ATP、ADP 和 ADO 输注期间,相对于稳定基线值 MAP 分别降低 47.4 \pm 1.7、48.4 \pm 1.2 和 47.2 \pm 1.5% ($p < 0.05$) (图 7a)。然而,UTP 输注期间,MAP 仅降低 35.0 \pm 3.2% ($p < 0.05$) (图 7a)。此外,ATP、ADO 和 UTP 分别使得 CO 增加 35.1 \pm 6.9、31.4 \pm 9.9 和 72.5 \pm 15.2% ($p < 0.05$) (图 7b)。然而,ADP 输注不改变 CO($p = \text{ns}$)。此外 UTP 输注期间的 CO 增加高于 ATP 和 ADO 输注期间的 CO 增加 ($p < 0.05$)。此外,相对于稳定基线值 ATP、ADP 和 UTP 分别增加 23.0 \pm 5.7、26.6 \pm 4.6 和 51.1 \pm 9.0% HR($p < 0.05$) (图 7c)。但是,ADO 不增加 HR($p = \text{ns}$)。对于 HR 的增加,UTP 也高于其他核苷酸 ($p < 0.05$)。ATP、ADO 和 UTP 输注不显著改变 SV($p = \text{ns}$) (图 7d)。然而,ADP 输注降低 21.1 \pm 5.6% SV($p < 0.05$)。

[0242] 核苷酸及其对血管阻力、电导和血流的作用

[0243] 相对于稳定基线值,ATP 和 ADO 输注分别降低 37.8 \pm 4.9 和 34.3 \pm 2.6% 的 PVR($p < 0.05$) (图 7a)。PVR 变化方面,ATP 和 ADO 输注之间没有显著差异 ($p = \text{ns}$)。UTP 不显著改变 ($p = \text{ns}$) PVR。相反,ADP 显著增加 156.7 \pm 38.3% 的 PVR($p < 0.05$)。此外,在 ADP 滴定过程中甚至低输注速率期间 PVR 很早就上升,并剂量依赖性地持续提高至 7.3 \pm 1.2 Wood 单位 ($p < 0.05$)。

[0244] 相对于稳定基线值,ATP、ADP、ADO 和 UTP 输注都分别降低 61.6 \pm 2.1、49.5 \pm 2.0、59.0 \pm 3.0 和 62.9 \pm 2.6% 的 SVR($p < 0.05$) (图 3b)。在 SVR 变化方面,试验之间没有显著差异 ($p = \text{ns}$)。相对于稳定基线值,ATP、ADP 和 ADO 分别降低 22.7 \pm 4.2、34.9 \pm 10.2 和 19.4 \pm 10.7% 的 LBF ($p < 0.05$) (图 6b)。然而,UTP 增加 53.7 \pm 17.8% 的 LBF ($p < 0.05$)。在 LBF 变化方面,这些试验之间没有显著差异 ($p = \text{ns}$) (图 6c)。对于所有核苷酸,LVC 显示出增加的倾向,但是这种增加仅对于 ATP、ADO 和 UTP 是显著的 ($p < 0.05$);相对于稳定基线值,分别增加 44.7 \pm 8.7、56.4 \pm 12.9 和 150.0 \pm 17.1% ($p < 0.05$)。UTP 比其他核苷酸更加提高 LVC ($p < 0.05$)。

[0245] ADP、ATP、UTP 和腺苷在腿部当中的血管活性作用(图 6)

[0246] 在外周循环中的血管舒张能力显示 ADP > ATP = ADO。因此,相对于稳定基线值,ATP、ADP 和 ADO 分别降低 22.7 \pm 4.2、34.9 \pm 10.2 和 19.4 \pm 10.7% 的 LBF ($p < 0.05$)。然而 UTP 增加 53.7 \pm 17.8% 的 LBF ($p < 0.05$) (图 6c),推测是由于 CO 的高度增加以及更低程度的全身压力降低。对于所有核苷酸,LVC 显示出增加的倾向,但是这种增加仅对于 ATP、ADO 和 UTP 是显著的;相对于稳定基线值,分别增加 44.7 \pm 8.7、56.4 \pm 12.9 和 150.0 \pm 17.1% ($p < 0.05$)。

[0247] 研究确定了核苷酸 ATP、ADP、ADO 和 UTP 在肺、外周和全身循环中的独特的差异的特性。这是首次同步比较核苷酸在右心房中输注时血管舒张能力的研究。之前的研究已显示当在股动脉中输注时 ATP、ADP、ADO 和 UTP 均诱导局部血管舒张,以及静脉内输注可以

介导 MAP 的降低,但是这些研究都没有比较所有这些核苷酸的相对能力。对于降低~50% MAP 所需的核苷酸剂量,ATP 和 ADP 没有观察到效力上的差异,尽管所亲和的嘌呤能受体不同;其中 ADP 主要刺激 P2Y₁、P2Y₁₂ 和 P2Y₁₃ 受体;而 ATP 主要刺激 P2X、P2Y₂、P2Y₄ 和 P2Y₁₁ 受体。ADO 主要刺激 P1 受体,没有 ADP 和 ATP 强效,因此需要更高的输注速率来产生相同的 MAP 降低。这使得 ATP 和 ADP 的作用不可能是由于这些物质的去磷酸化代谢。刺激 P2Y₂ 和 P2Y₄ 受体的 UTP,由于 HR 和 CO 中明显的剂量依赖性提高,不能产生目标的 MAP 的~50%降低。这些结果不同于之前在动脉内核苷酸输注中的发现,其中发现 ATP 和 UTP 是等效的,甚至比 ADO 和 ADP 更强效。这可能由于核苷酸在肺和冠状循环中的通过影响了 MAP 反应,不同于当动脉内输注时。

[0248] 本研究还显示 UTP 不改变 PVR,尽管 MPAP 增加,在不变的 PCWP 时其被 CO 的增加抵消。之前的研究还表明 ATP,而非 UTP,在功能性内皮存在时介导肺动脉中的血管舒张。尽管之前的研究显示 ATP 和 UTP 可能通过 P2X、P2Y₂、P2Y₆ 和 P2Y₁₁ 样受体增加心肌收缩性,本研究在 ATP、ADO 和 UTP 输注期间仅检测到 CO 增加;最大程度的是 UTP。ATP、ADP 和 UTP 均增加 HR,而 ADO 不显著改变 HR。此外,UTP 比 ATP 和 ADP 显著增加 HR。

[0249] 关于诊断用途:这些结果总地表明当在全身循环中静脉内输注 UTP 时,其:由于 HR 的增加,提高~70%的心输出量(CO),从而模拟运动的情况;其具有降低~10%率压乘积的倾向,从而对于缺血患者时安全的;并且重要的是不产生心律不齐(脱漏搏动、VT、SVT 或 AV 结阻滞)。此外,UTP 增加~50%腿部血流,推测是由于 CO 更高的增加(比如运动期间)以及和其他腺苷化合物相比具有更低程度的全身压力降低,使其适用于采用比如心肌灌注成像、回声或 MRI 的方法而用于比如主动脉狭窄、外周动脉病(PAD)或肾狭窄的适应症。此外,因为其增加~150%腿部血管传导速率(腺苷仅~50%),UTP 对于 PAD 诊断是理想的,因为其模拟运动-诱导的血管舒张。

[0250] 实施例 5

[0251] 如下数据说明腺苷和 UTP 之间 FFR 0.05 的差异,标准偏差 0.15-0.17 代表统计学上显著的差异($p = 0.003$)。

[0252] 如果我们计划对配对的研究受试者进行持续性响应变量的研究,之前的数据表明配对的响应差异是正态分布的,具有 0.16 的标准偏差。如果配对的平均响应的真实差异是 0.05,我们将需要研究仅 135 个受试者对,就能够拒绝这种响应差异有 0.95 的概率(推翻假设的机率)是 0 的零假设。和这种零假设的本测试有关第一类错误的概率是 0.05。

[0253]

FFR	BL	腺苷	BL	UTP
平均值	0,89	0,77	0,88	0,72
SD	0,1	0,15	0,12	0,17
2SD	0,2	0,31	0,24	0,34
T 检验				0,0034

[0254] 对于指示需要治疗介入来说,FFR 的截止值通常是 0.8(根据 FAME 研究中 FFR 设

定值)。这表示如果患者 $FFR > 0.8$, 他们可以不接受治疗, 然而如果值 < 0.8 , 根据损伤的解剖学, 他们应当接受插入支架的 PCI 或搭桥手术。

[0255] 对于导引导管研究, FFR 设为 ≤ 0.75 或 ≤ 0.8 将需要改变如下百分比患者的治疗方案:

[0256]

$FFR \leq 0.8$	240 μ g/分钟 (n = 23)
Ado(%患者)	43%
Utp(%患者)	65%
$FFR \leq 0.75$	
Ado(%患者)	39%
Utp(%患者)	47%

[0257] 结果, 无论针对相同浓度设置的截止值是多少, 通过根据本发明使用 UTP, 将可能比已知的使用腺苷诊断更多的人。

[0258] 如微导管研究所见, FFR 设为 ≤ 0.8 将需要在不同浓度时改变如下百分比患者的治疗方案:

[0259]

$FFR \leq 0.8$	80 μ g/分钟 (n = 8)	160 μ g/分钟 (n = 6)	320 μ g/分钟 (n = 9)	400 μ g/分钟 (n = 3)
Ado(%患者)	37	33	44	33
Utp(%患者)	62	50	44	33

[0260] 尽管对于更高浓度看起来好像 $ado = UTP$, 然而 FFR 的估计总是基于最低可能的 FFR , 因为只有在这一点最大充血对应着正确的灌注压。

[0261] 实施例 6 (预防性) UTP、其衍生物、或其盐对诊断肾动脉狭窄的用途

[0262] 当在动脉造影照相上确定肾动脉狭窄时, 可以用传感器和微型压力-梯度导丝系统 (PressureWire ;St. Jude Medical 或 Volcano combo wire) 连续测量全身性动脉内压力。使用横向地且距离远端 3cm 处位置的光纤压力传感器可以记录压力。基本原理是元件通过压力-诱导的弹性位移调节光反射。这种压力导丝从而代替标准的 0.018-英寸导丝。将 4 至 7-F 导引导管从股动脉推进至肾动脉口之后, 将“冠状”0.014-英寸导丝引入至导引导管, 并移动至狭窄的口。当结合 UTP、其衍生物、或其盐输注来诱导肾充血时, 可以评价通过肾狭窄的压力梯度。在这样的环境下, 腺苷的输注将使入球小动脉收缩, 引起剂量-依赖性肾血管收缩, 而 UTP 产生期望的肾血管舒张。在此位置确认导引导管和导丝一致的压力之后, 可以通过松驰端 (floppy-ended) 的导丝随后跟着传感器的方式穿过狭窄。然后通过导引导管插入舒张装置并穿过狭窄, 使导丝入位。介入之后立刻可以使用另一 UTP、其衍生物、或其盐输注来测试结果。用导丝在输注前以及期间按照这样测量压力梯度。

[0263] Pd/Pa 比在 0.90 以上的肾动脉狭窄患者可认为是血液动力学上不显著的,肾血管成形术在这样的患者中将可能不太有用,即使是直径狭窄百分比在 50% 以上。相反,无论血管造影严重程度如何,Pd/Pa 比 < 0.90 的肾动脉狭窄应认为是血液动力学上显著的。此外,压力和 UTP 输注的组合导管可以确保化合物的局部输注避免在患者中溢出。

[0264] 本申请引用的所有专利和非专利参考文献通过参考其全部并入本文。

[0265] 参考文献

[0266] WO 2007/065437

[0267] US 5, 292, 498

[0268] US 5, 789, 391

[0269] US 5, 837, 861

[0270] 1 Erlinge D, Burnstock G :P2 receptors in cardiovascular regulation and disease. Purinergic signalling 2008 ;4 :1-20.

[0271] 2 Burnstock G, Ralevic V :New insights into the local regulation of blood flow by perivascular nerves and endothelium. British journal of plastic surgery 1994 ;47 :527-543.

[0272] 3 Jeremias A, Filardo SD, Whitbourn RJ, Kernoff RS, Yeung AC, Fitzgerald PJ, Yock PG :Effects of intravenous and intracoronary adenosine 5' -triphosphate as compared with adenosine on coronary flow and pressure dynamics. Circulation 2000 ;101 :318-323.

[0273] 4 Jeremias A, Whitbourn RJ, Filardo SD, Fitzgerald PJ, Cohen DJ, Tuzcu EM, Anderson WD, Abizaid AA, Mintz GS, Yeung AC, Kern MJ, Yock PG :Adequacy of intracoronary versus intravenous adenosine-induced maximal coronary hyperemia for fractional flow reserve measurements. American heart journal 2000 ;140 :651-657.

[0274] 5 Kato M, Shiode N, Teragawa H, Hirao H, Yamada T, Yamagata T, Matsuura H, Kajiyama G :Adenosine 5' -triphosphate induced dilation of human coronary microvessels in vivo. Internal medicine (Tokyo, Japan) 1999 ;38 :324-329.

[0275] 6 Sonoda S, Takeuchi M, Nakashima Y, Kuroiwa A :Safety and optimal dose of intracoronary adenosine 5' -triphosphate for the measurement of coronary flow reserve. American heart journal 1998 ;135 :621-627.

[0276] 7 Tobis J, Azarbal B, Slavin L :Assessment of intermediate severity coronary lesions in the catheterization laboratory. Journal of the American College of Cardiology 2007 ;49 :839-848.

[0277] 8 Yoon MH, Tahk SJ, Yang HM, Park JS, Zheng M, Lim HS, Choi BJ, Choi SY, Choi UJ, Hwang JW, Kang SJ, Hwang GS, Shin JH :Comparison of the intracoronary continuous infusion method using a microcatheter and the intravenous continuous adenosine infusion method for inducing maximal hyperemia for fractional flow reserve measurement. American heart journal 2009 ;157 :1050-1056.

[0278] 9 Rosenmeier JB, Yegutkin GG, Gonzalez-Alonso J :Activation of atp/

utp-selective receptors increases blood flow and blunts sympathetic vasoconstriction in human skeletal muscle. *The Journal of physiology* 2008 ;586 : 4993-5002.

[0279] 10 Rosenmeier JB, Hansen J, Gonzalez-Alonso J: Circulating atp-induced vasodilatation overrides sympathetic vasoconstrictor activity in human skeletal muscle. *The Journal of physiology* 2004 ;558 :351-365.

[0280] 11 Hrafnkelsdottir T, Erlinge D, Jern S: Extracellular nucleotides atp and utp induce a marked acute release of tissue-type plasminogen activator in vivo in man. *Thrombosis and haemostasis* 2001 ;85 :875-881.

[0281] 12 Thaning P, Bune LT, Hellsten Y, Pilegaard H, Saltin B, Rosenmeier JB: Attenuated purinergic receptor function in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* ;59 :182-189.

[0282] 13 Borna C, Wang L, Gudbjartsson T, Karlsson L, Jern S, Malmsjo M, Erlinge D: Contractions in human coronary bypass vessels stimulated by extracellular nucleotides. *The Annals of thoracic surgery* 2003 ;76 :50-57.

[0283] 14 Malmsjo M, Adner M, Harden TK, Pendergast W, Edvinsson L, Erlinge D: The stable pyrimidines udpbetas and utpgammas discriminate between the p2 receptors that mediate vascular contraction and relaxation of the rat mesenteric artery. *British journal of pharmacology* 2000 ;131 :51-56.

[0284] 15 Malmsjo M, Hou M, Harden TK, Pendergast W, Pantev E, Edvinsson L, Erlinge D: Characterization of contractile p2 receptors in human coronary arteries by use of the stable pyrimidines uridine 5' -o-thiodiphosphate and uridine 5' -o-3-thiotriphosphate. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2000 ;293 :755-760.

[0285] 16 Matsumoto T, Nakane T, Chiba S: Utp induces vascular responses in the isolated and perfused canine epicardial coronary artery via utp-preferring p2y receptors. *British journal of pharmacology* 1997 ;122 :1625-1632.

[0286] 17 Seye Cl, Kong Q, Erb L, Garrad RC, Krugh B, Wang M, Turner JT, Sturek M, Gonzalez FA, Weisman GA: Functional p2y2 nucleotide receptors mediate uridine 5' -triphosphate-induced intimal hyperplasia in collared rabbit carotid arteries. *Circulation* 2002 ;106 :2720-2726.

[0287] 18 Shen J, Seye Cl, Wang M, Weisman GA, Wilden PA, Sturek M: Cloning, up-regulation, and mitogenic role of porcine p2y2 receptor in coronary artery smooth muscle cells. *Molecular pharmacology* 2004 ;66 :1265-1274.

[0288] 19 Pillois X, Chaulet H, Belloc I, Dupuch F, Desgranges C, Gadeau AP: Nucleotide receptors involved in utp-induced rat arterial smooth muscle cell migration. *Circulation research* 2002 ;90 :678-681.

[0289] 20 Chaulet H, Desgranges C, Renault MA, Dupuch F, Ezan G, Peiretti F, Loirand G, Pacaud P, Gadeau AP: Extracellular nucleotides induce arterial smooth muscle

- cell migration via osteopontin. *Circulation research* 2001 ;89 :772-778.
- [0290] 21 Seye Cl, Yu N, Jain R, Kong Q, Minor T, Newton J, Erb L, Gonzalez FA, Weisman GA :The p2y2 nucleotide receptor mediates utp-induced vascular cell adhesion molecule-1-expression in coronary artery endothelial cells. *The Journal of biological chemistry* 2003 ;278 :24960-24965.
- [0291] 22 Tonino PA, De Bruyne B, Pijls NH, Siebert U, Ikeno F, van ' t Veer M, Klauss V, Manoharan G, Engstrom T, Oldroyd KG, Ver Lee PN, MacCarthy PA, Fearon WF : Fractional flow reserve versus angiography for guiding percutaneous coronary intervention. *The New England journal of medicine* 2009 ;360 :213-224.
- [0292] 23 McGeoch RJ, Oldroyd KG :Pharmacological options for inducing maximal hyperaemia during studies of coronary physiology. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008 ;71 :198-204.
- [0293] 24 De Bruyne B, Manoharan G, Pijls NH, Verhamme K ;Madaric J, Bartunek J, Vanderheyden M, Heyndrickx GR :Assessment of renal artery stenosis severity by pressure gradient measurements. *Journal of the American College of Cardiology* 2006 ;48 :1851-1855.
- [0294] 25 Trochu JN, Zhao G, Post H, Xu X, Belardinelli L, Belloni FL, Hintze TH ;Selective a2adenosine receptor agonist as a coronary vasodilator in conscious dogs ;Potential for use in myocardial perfusion imaging. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2003 ;41 :132-139.
- [0295] 26 Wangenstein R, Fernandez O, Sainz J, Quesada A, Vargas F, Osuna A : Contribution of endothelium-derived relaxing factors to p2y-purinoceptor-induced vasodilation in the isolated rat kidney. *General pharmacology* 2000 ;35 : 129-133.
- [0296] 27 Ko H, Carter RL, Cosyn L, Petrelli R, de Castro S, Besada P, Zhou Y, Cappellacci L, Franchetti P, Grifantini M, Van Calenbergh S, Harden TK, Jacobson KA :Synthesis and potency of novel uracil nucleotides and derivatives as p2y2 and p2y6 receptor agonists. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2008 ;16 :6319-6332.
- [0297] 28 Bokhari S, Ficaro EP, McCallister BD, Jr. :Adenosine stress protocols for myocardial perfusion imaging. *J Nucl Cardiol* 2007 ;14 :415-416.
- [0298] 29 Futamatsu H, Wilke N, Klassen C, Angiolillo DJ, Suzuki N, Kawaguchi R, Shoemaker S, Siuciak A, Bass TA, Costa MA :Usefulness of cardiac magnetic resonance imaging for coronary artery disease detection. *Minerva cardioangiologica* 2007 ; 55 :105-114.
- [0299] 30 Douglas PS, Khandheria B, Stainback RF, Weissman NJ, Peterson ED, Hendel RC, Stainback RF, Blaivas M, Des Prez RD, Gillam LD, Golash T, Hiratzka LF, Kussmaul WG, Labovitz AJ, Lindenfeld J, Masoudi FA, Mayo PH, Porembka D, Spertus JA, Wann LS, Wiegers SE, Brindis RG, Douglas PS, Hendel RC, Patel MR, Peterson ED, Wolk MJ, Allen JM :Accf/ase/acep/aha/asnc/scai/scct/scmr 2008 appropriateness

criteria for stress echocardiography:A report of the american college of cardiology foundation appropriateness criteria task force, american society of echocardiography, american college of emergency physicians, american heart association, american society of nuclear cardiology, society for cardiovascular angiography and interventions, society of cardiovascular computed tomography, and society for cardiovascular magnetic resonance endorsed by the heart rhythm society and the society of critical care medicine. Journal of the American College of Cardiology 2008 ;51 :1127-1147.

[0300] 31 Beanlands RS, Chow BJ, Dick A, Friedrich MG, Gulenchyn KY, Kiess M, Leong-Poi H, Miller RM, Nichol G, Freeman M, Bogaty P, Honos G, Hudon G, Wisenberg G, Van Berkomp J, Williams K, Yoshinaga K, Graham J ;Ccs/car/canm/cncs/canscmr joint position statement on advanced noninvasive cardiac imaging using positron emission tomography, magnetic resonance imaging and multidetector computed tomographic angiography in the diagnosis and evaluation of ischemic heart disease--executive summary. The Canadian journal of cardiology 2007 ;23 : 107-119.

使用导丝进行的冠状动脉内输注 UTP 和腺苷的图

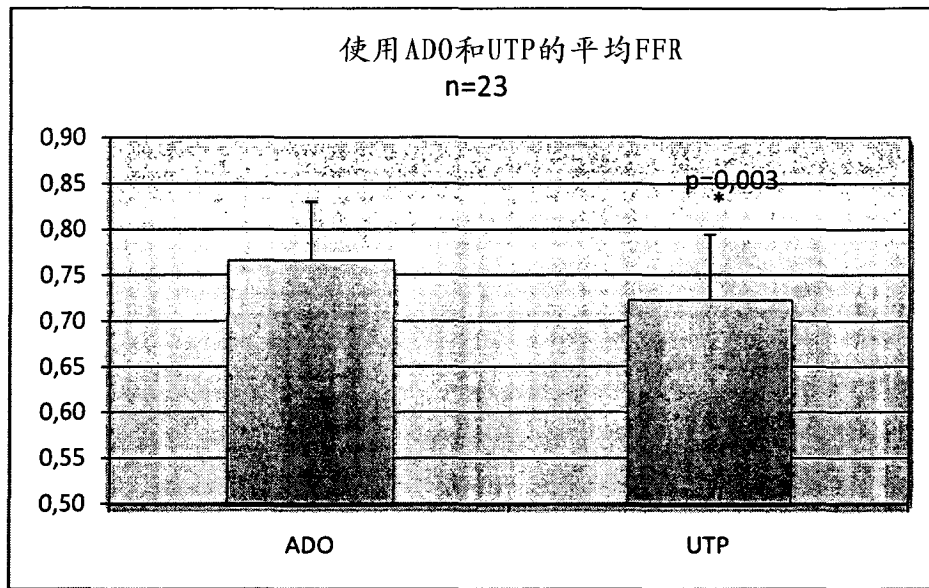


图 1

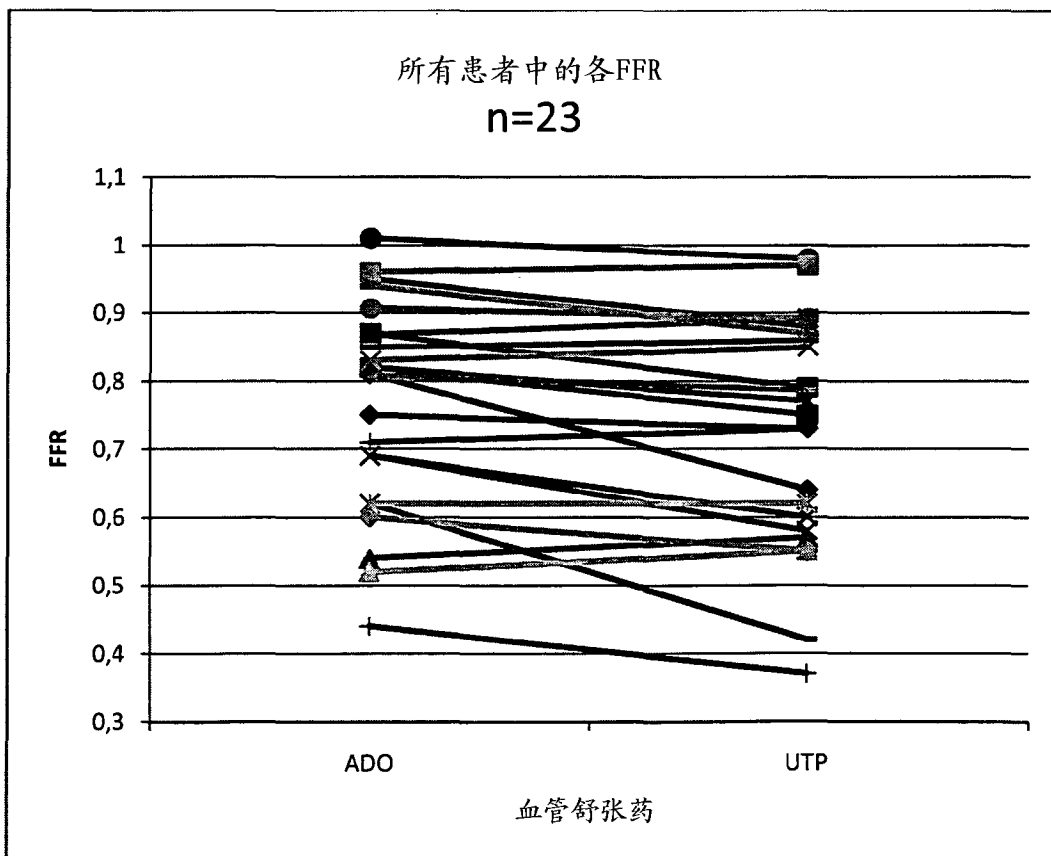


图 2

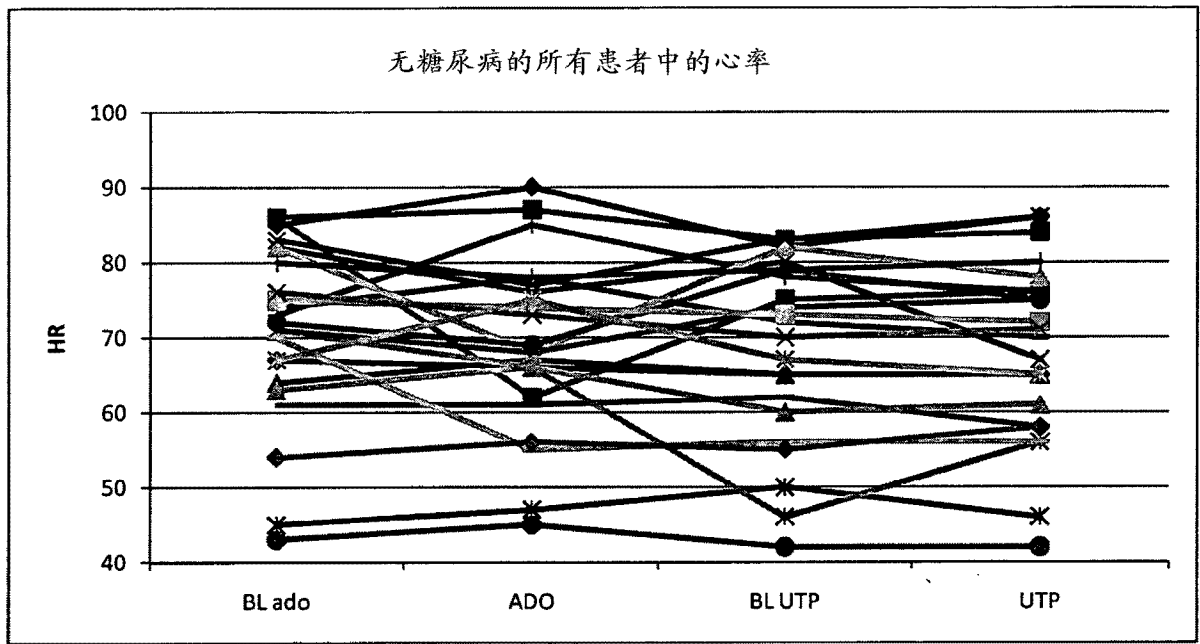


图 3

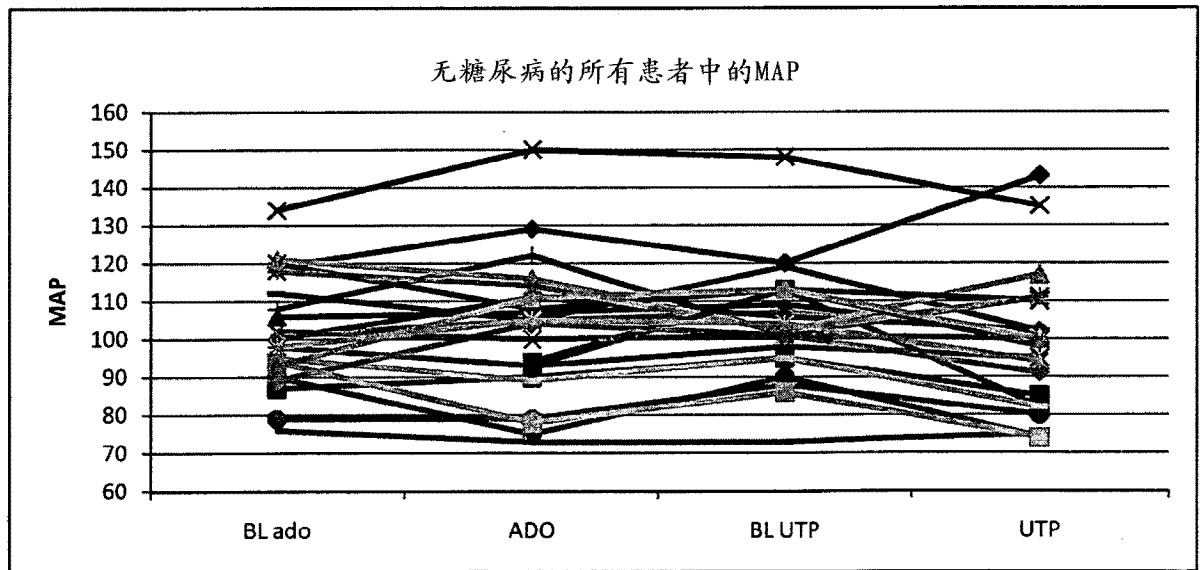


图 4

使用微导管进行的冠状动脉内输注UTP和腺苷的图

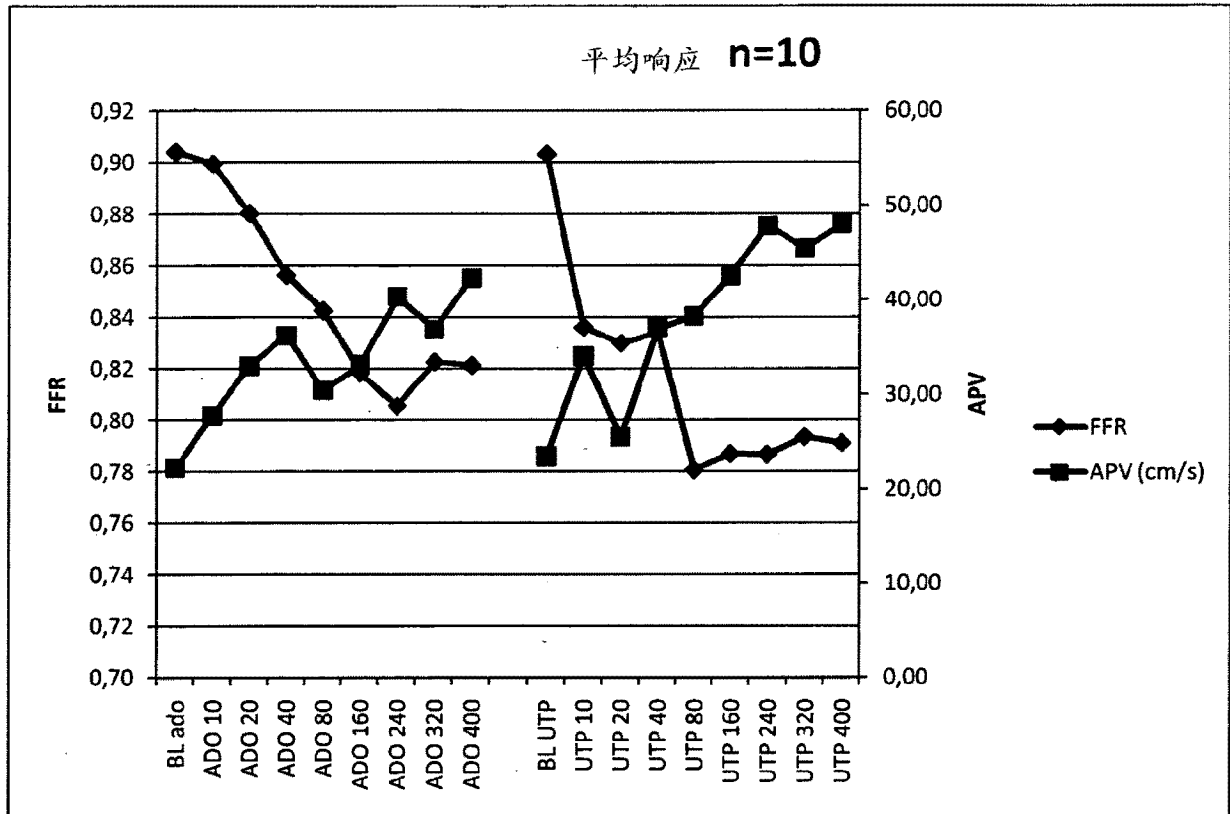


图 5

全身性输注UTP和其他腺嘌呤化合物的图

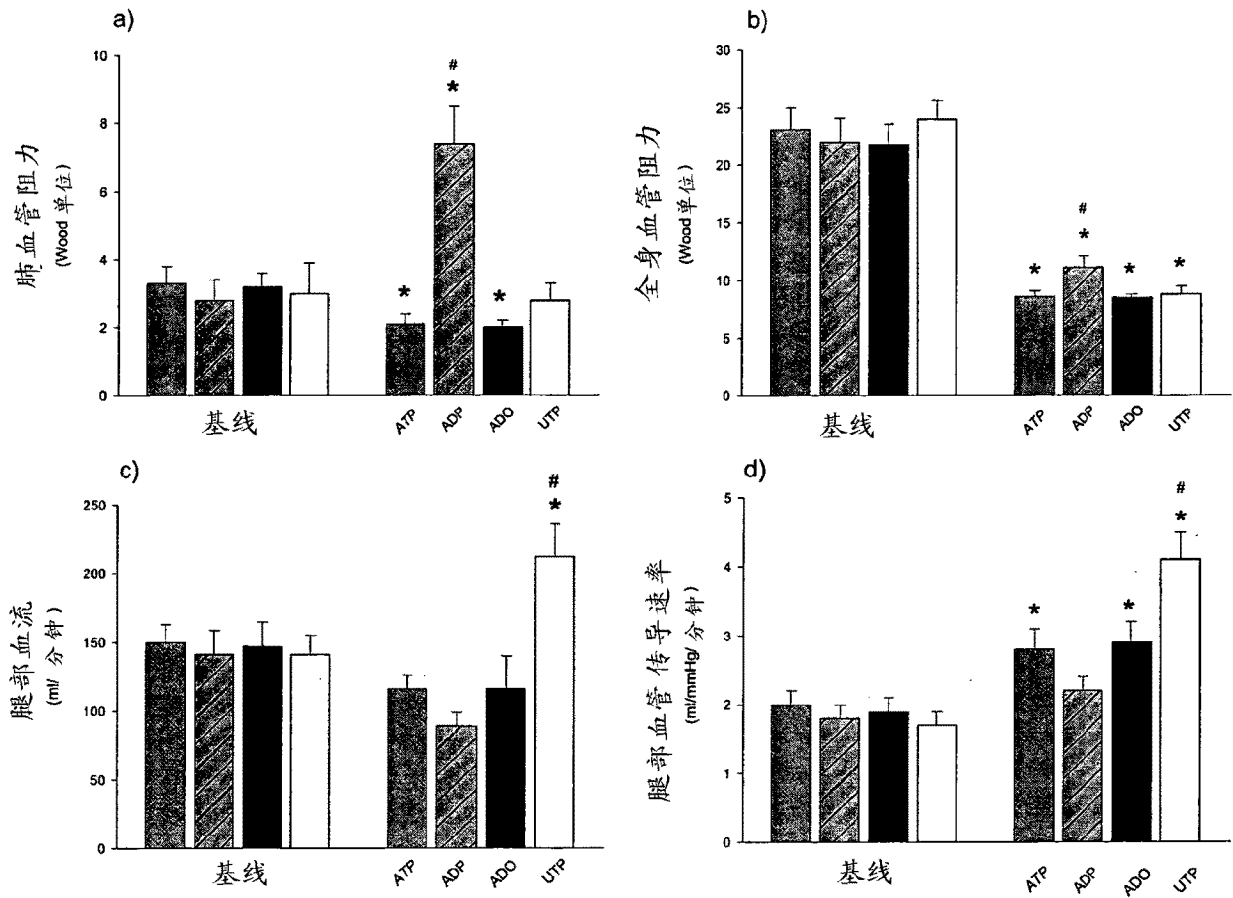


图 6

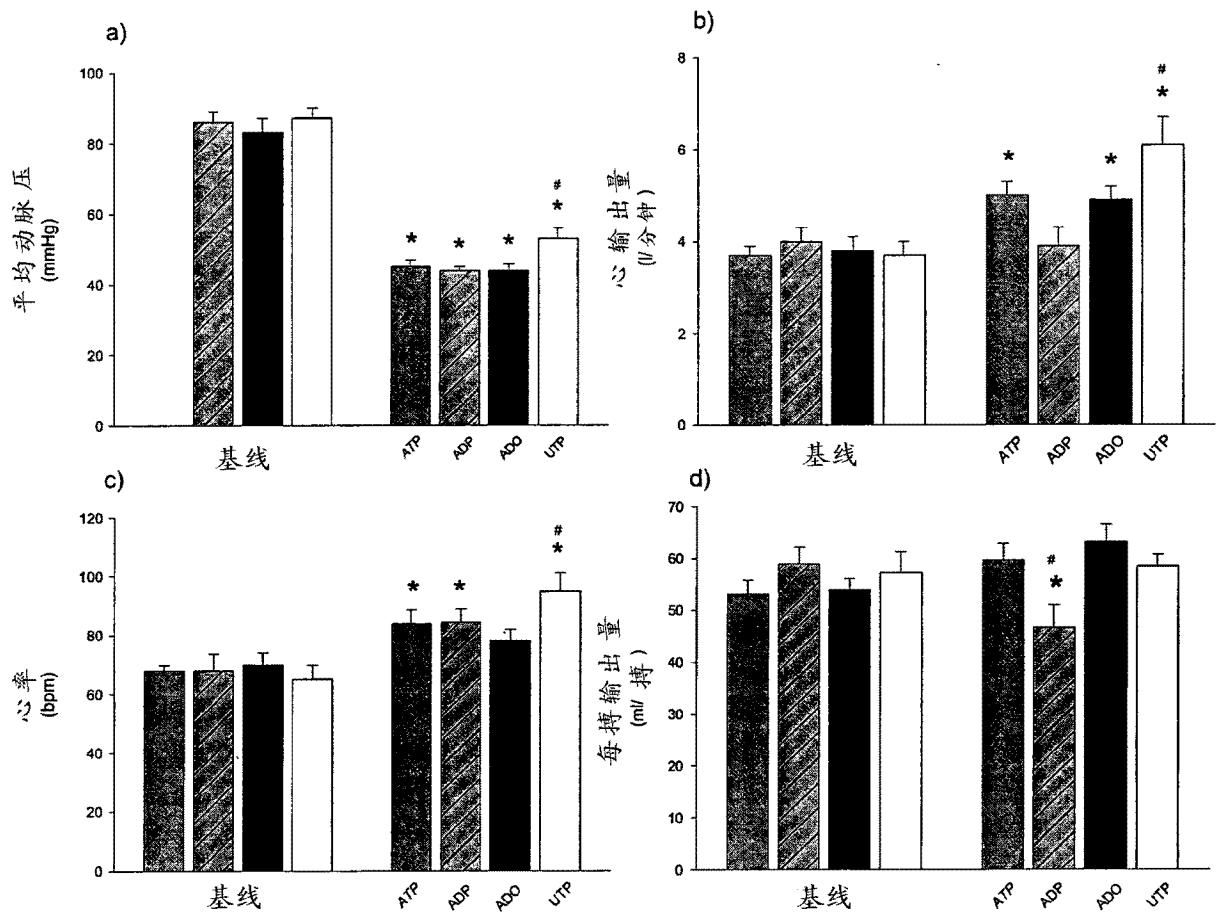


图 7

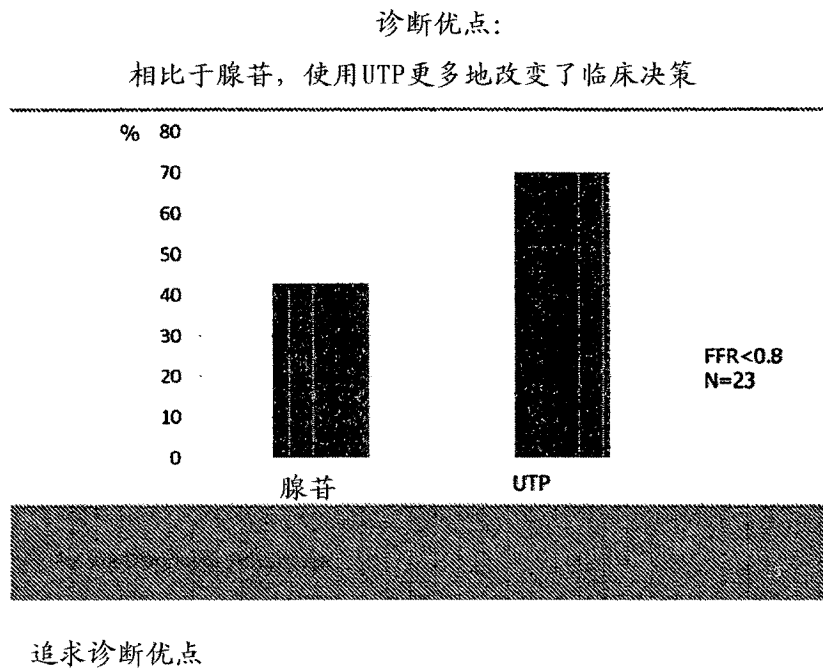


图 8

下图从而显示了本发明相关的多种适应症和方法

	UL/echo	FFR	心肌闪烁扫描术 和MPI	MRI/MRA	CT	PET	ABI
冠状动脉疾病	x	x	x	x	x	x	
外周动脉疾病	x						x
主动脉狭窄	x			x			
颈动脉狭窄	x				x		
肾血管疾病	x	x		x			

图 9

专利名称(译)	用于诊断狭窄和其他血流受限之病症的UTP		
公开(公告)号	CN102596010A	公开(公告)日	2012-07-18
申请号	CN201080041892.X	申请日	2010-08-10
[标]发明人	贾亚比吉特罗森迈尔		
发明人	贾亚·比吉特·罗森迈尔		
IPC分类号	A61B5/00		
CPC分类号	A61B5/026 A61K51/04 A61K51/0478		
优先权	61/232518 2009-08-10 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及用于确定被怀疑血管中血流受损之个体的血管中血流是否受限制的方法，所述方法包括下列步骤：向所述血管递送UTP、其衍生物、或其盐，通过获得与所述血管中血流相关的值来对所述血管中血流进行定量地评价，将所获得的值与参考值进行比较，以及基于比较的结果确定所述个体是否具有受损的血流。本发明还提供使用UTP、其衍生物、或其盐诊断动脉粥样硬化和缺血性心脏病的方法，以及出于诊断目的用于诱导最大充血的方法。本发明还涉及用作诊断剂的UTP、其衍生物、或其盐。更具体地，本发明涉及UTP、其衍生物、或其盐在任意上述诊断方法中的用途。

