



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101138635 B

(45) 授权公告日 2010.12.15

(21) 申请号 200610127140.0

(22) 申请日 2006.09.07

(73) 专利权人 北京大学  
地址 100083 北京市海淀区学院路 38 号

(72) 发明人 齐宪荣 杨碧波

(51) Int. Cl.

A61K 47/42(2006.01)

A61K 45/00(2006.01)

A61K 31/277(2006.01)

A61K 31/417(2006.01)

A61K 31/4422(2006.01)

A61K 31/472(2006.01)

A61K 31/495(2006.01)

A61P 9/10(2006.01)

A61P 41/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1695740 A, 2005.11.16, 摘要, 权利要求 1-5.

US 6054122 A, 2000.04.25, 摘要, 权利要求 1、5、17、19 和 22.

审查员 李林

权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 3 页

(54) 发明名称

一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物

(57) 摘要

本发明涉及一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物。该组合物含有有效量的血管扩张剂和解痉剂,和足以延迟该血管扩张药释放的纤维蛋白胶。其特征是由纤维蛋白胶和血管扩张剂复配而成,其复配比浓度根据血管扩张剂的种类不同在 0.1-10mg/ml 范围内变动。本发明纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物具有:有良好的组织相容性,药物缓慢释放,在应用部位维持时间长,对全身的副作用降低。用于可能引起血管痉挛发作的术中控制和术后预防和治疗,特别是预防和减少冠状动脉旁路移植手术中和手术后的痉挛发作,大幅减轻患者的痛苦提高术后治愈率并减少复发。

1. 一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,其特征在于它含有有效量的血管扩张剂或解痉剂,和足以维持该血管扩张剂或解痉剂释放的生物蛋白胶,其中所述的血管扩张剂或解痉剂选自盐酸罂粟碱,所述的足以维持该血管扩张剂或解痉剂释放的生物蛋白胶选自纤维蛋白胶,纤维蛋白胶和盐酸罂粟碱的复配比为 1 毫升: 1 毫克~ 1 毫升: 10 毫克。

2. 根据权利要求 1 所述的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,其特征在于所述的纤维蛋白胶和盐酸罂粟碱的复配比为 1 毫升: 3 毫克。

3. 根据权利要求 1 所述的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,其特征在于纤维蛋白胶作为血管扩张药载体用于术中和术后痉挛的治疗和预防的用途。

4. 根据权利要求 3 所述的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,其特征在于所述的用途是预防和减少冠状动脉旁路移植手术中和手术后的痉挛发作,减轻患者的痛苦,提高术后治愈率并减少复发。

## 一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物。具体的说是涉及一种含有纤维蛋白胶和含有有效量的血管扩张药物或解痉药物的用于扩张血管避免痉挛并能维持较长有效作用时间的组合物。

### [0002] 技术背景

[0003] 冠状动脉粥样硬化性心脏病（冠心病）是一个全球化的问题。随着人口老龄化的趋势以及人民生活方式、生活质量的改变，冠心病逐渐成为威胁全球健康的主要疾病。目前，对于绝大多数冠心病患者来说，早期进行冠状动脉旁路移植（coronary artery bypass graft, CABG）手术是最好的治疗方法，能明显提高患者的生存率和生活质量。动脉旁路在远期效果上有许多优点，但其最大缺点是术中和术后早期易发生血管痉挛，导致旁路血流量急剧下降，引起该旁路支配区的心肌缺血甚至发生术后心肌梗死、心律失常或心跳骤停。痉挛时旁路血管的内皮细胞会受到损伤，血管舒张因子释放受抑制，远期动脉旁路粥样硬化的发生率亦增加。因此动脉旁路痉挛对患者极为凶险。术中可将缓解痉挛的药物喷洒于血管表面或进行血管腔内注射、动脉壁内注射，可以起到解除动脉旁路痉挛的作用。而术后的痉挛则难以防治。以目前冠心病的发病率来看，接受 CABG 手术和术后面临动脉旁路痉挛威胁的病人数量十分庞大。如果能解决动脉旁路术后早期痉挛的问题，将会极大地提高动脉旁路的安全性。因此，如何防治动脉旁路痉挛，特别是术后早期痉挛，已成为提高 CABG 病人生存率的最关键问题。

[0004] 为了防止术后痉挛，本领域急需可有效延长血管扩张药物在体内的有效剂量的方法，使患者度过术后的血管痉挛危险期。

[0005] 在临床工作中，针对动脉痉挛的诱发的局部因素以及全身可能因素处理血管痉挛，比如手术中避免钳夹和过度牵扯动脉旁路，术中、术后纠正水、电解质和酸碱代谢紊乱，应用血管扩张药物扩张动脉旁路和冠状动脉等。例如，使用盐酸罂粟碱喷洒或罂粟碱盐水纱布包裹动脉旁路；罂粟碱（Papaverine, PPV）是一种作用较强的非特异性血管扩张剂，抑制环核苷酸磷酸二酯酶，松弛血管平滑肌。PPV 的作用效果与给药途径有关，局部使用 PPV 能使痉挛血管明显扩张，是目前临床上 CABG 术中处理动脉旁路痉挛的最常用的药物，术中用罂粟碱盐水纱布包裹动脉旁路或喷洒罂粟碱可有效预防和缓解动脉旁路痉挛。但罂粟碱代谢较快，手术中单纯喷洒难以维持长时间动脉血管壁足够的血药浓度。且手术关胸后无法再次局部用药发挥其预防痉挛的作用。术后服用钙离子拮抗剂：钙离子拮抗剂即钙离子通道阻滞药，通过选择性阻滞细胞膜上的电压依赖性钙离子通道，抑制细胞外钙离子跨膜内流，降低细胞内钙离子浓度，抑制血管平滑肌收缩。钙离子拮抗剂已成为目前防治动脉旁路痉挛的 CABG 术后常规用药。硝苯地平和氨氯地平为防治动脉旁路痉挛常用药物。术后服用钙离子拮抗剂（合心爽等）可在一定程度上预防动脉旁路痉挛。但钙离子拮抗剂常不能在术后即刻启用，因会引起心肌收缩力的下降导致术后心脏排出量减小，影响全身组织器官灌注，后果严重时会引起低血压、窦性心动过缓和心力衰竭等。有文献报道术后约 20% 的病人无法耐受使用钙离子拮抗剂后的上述不良反应。如果以不影响循环稳定为前提而减

低钙离子拮抗剂用量,常不能达到有效对抗旁路痉挛的血药浓度。这些都会限制术后早期钙离子拮抗剂的使用。

[0006] 医用生物蛋白胶 (fibrin glue) 是一种广泛用于外科手术的止血凝胶,它由冻干人纤维蛋白原 (主体胶,组分 I)、成分 I 的稀释液 (组分 II)、冻干人凝血酶和钙<sup>2+</sup>(组分 III) 及溶解组分 III 的灭菌注射用水 (组分 IV) 组成。具体而言,四种组分:组分 I 和组分 II,组分 III 和组分 IV 两两混合后,再通过特殊的注射器混合后形成胶体,模拟人体凝血最后阶段。各组分均匀混合后,纤维蛋白原之间的肽链 A、B 即被凝血酶水解形成纤维蛋白单体。纤维蛋白单体疏松聚合形成网状结构后在 VIII 因子和钙离子作用下形成稳定的多聚纤维蛋白原纤维。由此再进一步聚合成为强力的纤维蛋白丝网,形成乳白色蛋白凝胶,此胶在人体内两周左右被组织吸收。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种延长血管扩张药作用时间的方法。进一步,本发明以生物蛋白胶为药物的缓释载体,提供一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,该组合物可于施用后,在体外和体内维持长的有效的作用时间,从而用于可能引起血管痉挛发作的术中控制和术后预防和治疗,特别是预防和减少冠状动脉旁路移植手术中和手术后的痉挛发作,大幅减轻患者的痛苦提高术后治愈率并减少复发。

[0008] 本发明的目的是这样实现的:

[0009] 一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,其特征在于它含有有效量的血管扩张剂和解痉剂和足以维持该血管扩张剂和解痉剂释放的生物蛋白胶。

[0010] 其中,所述的血管扩张药物或解痉剂选自胍苯吡嗪、酚妥拉明、硝酸甘油、消心痛、钙离子拮抗剂、心痛定、硝普钠、盐酸罂粟碱、哌嗪类,β 受体阻断剂、盐酸维拉帕米。

[0011] 其中,优选的纤维蛋白胶和盐酸罂粟碱的复配比为 1 毫升: 1 毫克~ 1 毫升: 10 毫克。最优选的纤维蛋白胶和盐酸罂粟碱的复配比为 1 毫升: 3 毫克。

[0012] 优选的纤维蛋白胶和钙离子拮抗剂硝苯地平或氨氯地平的复配比为 1 毫升: 1 毫克~ 1 毫升: 5 毫克。

[0013] 优选的纤维蛋白胶和尼莫地平的复配比为 1 毫升: 3 毫克~ 1 毫升: 8 毫克。

[0014] 优选的纤维蛋白胶和硝酸甘油的复配比为 1 毫升: 0.1 毫升~ 1 毫升: 5 毫升。

[0015] 优选的纤维蛋白胶和酚妥拉明的复配比为 1 毫升: 0.5 毫克~ 1 毫升: 5 毫克。

[0016] 所述的一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,其特征在于纤维蛋白胶作为血管扩张药的缓释载体用于术中或术后血管痉挛的治疗和预防用途。

[0017] 所述的一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物中的纤维蛋白胶作为血管扩张药物的缓释载体,可延迟所含血管扩张药的释放,使该血管扩张剂在施用后维持较长的有效局部浓度。较优选的,一种纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物可延迟所含血管扩张药的释放,使该血管扩张药于施用后能维持 14 天的抗血管痉挛的作用。

[0018] 根据所含血管扩张药的不同,本发明纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物可达到多种有益的功效。例如变态反应率低,有良好的组织相容性,没有毒副作用,不影响伤口愈合,可逐步吸收,血管扩张药稳定性高,修复创面,填充空腔,止血和无需二次手术取出血管扩张药缓释载体等优点,减少患者皮肉之苦。可以应用于治疗动脉旁路移植术后痉挛发

作或者其他术后预防痉挛发作等,提供全社会一种有效,安全,经济,方便的治疗新技术,有着重大的经济与社会效益。

#### 附图说明

- [0019] 图 1 专用纤维蛋白胶混合注射剂 ;
- [0020] 图 2 本发明所含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的体外累积释放曲线 ;
- [0021] 图 3 本发明所含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的犬血管壁内浓度 ;
- [0022] 图 4 本发明所含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物给药后犬外周血罂粟碱的浓度 ;
- [0023] 图 5 本发明所含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物和盐酸罂粟碱的两种不同方式给药后犬外周空白血管壁内药物浓度 ;
- [0024] 图 6 本发明所含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶和盐酸罂粟碱的两种不同方式给药后犬外周动脉均压。

#### 具体实施方式

[0025] 以下结合实施例和试验例具体说明本发明,本发明的实施例和试验例仅用于说明本发明的技术方案,并非限定本发明的实质。

[0026] [ 实施例一 ]

[0027] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药盐酸罂粟碱复配而成,其复配比为 1 毫升 : 1 毫克。

[0028] 其中 :

[0029] 纤维蛋白胶是由经病毒灭活处理的哺乳动物纤维蛋白原,人凝血酶,纤溶抑制剂和氯化钙组成的止血剂。以模拟血凝的最后阶段反应,用凝血酶激活纤维蛋白原形成纤维蛋白,粘合于创口,有止血和促进愈合作用。

[0030] 可现场配置使用。使用时首选由组分 II,即主体胶稀释液溶解盐酸罂粟碱,再将含有盐酸罂粟碱的主体胶稀释液按操作规范稀释主体胶(组分 I),使用时严格按不含盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0031] 也可在生产纤维蛋白胶时即将盐酸罂粟碱与组分 I 混合。现场按纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0032] [ 实施例二 ]

[0033] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药盐酸罂粟碱复配而成,其复配比为 1 毫升 : 3 毫克。

[0034] 其中 :

[0035] 纤维蛋白胶是由经病毒灭活处理的哺乳动物纤维蛋白原,人凝血酶,纤溶抑制剂和氯化钙组成的止血剂。以模拟血凝的最后阶段反应,用凝血酶激活纤维蛋白原形成纤维

蛋白,粘合于创口,有止血和促进愈合作用。

[0036] 可现场配置使用。使用时首选由组分 II,即主体胶稀释液溶解盐酸罍粟碱,再将含有盐酸罍粟碱的主体胶稀释液按操作规范稀释主体胶(组分 I),使用时严格按不含盐酸罍粟碱的纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有盐酸罍素碱的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0037] 也可在生产纤维蛋白胶时即将盐酸罍素碱与组分 I 混合。现场按纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有盐酸罍素碱的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0038] [ 实施例三 ]

[0039] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药盐酸罍粟碱复配而成,其复配比为 1 毫升: 10 毫克。

[0040] 其中:

[0041] 纤维蛋白胶是由经病毒灭活处理的哺乳动物纤维蛋白原,人凝血酶,纤溶抑制剂和氯化钙组成的止血剂。以模拟血凝的最后阶段反应,用凝血酶激活纤维蛋白原形成纤维蛋白,粘合于创口,有止血和促进愈合作用。

[0042] 可现场配置使用。使用时首选由组分 II,即主体胶稀释液溶解盐酸罍粟碱,再将含有盐酸罍粟碱的主体胶稀释液按操作规范稀释主体胶(组分 I),使用时严格按不含盐酸罍粟碱的纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有盐酸罍素碱的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0043] 也可在生产纤维蛋白胶时即将盐酸罍素碱与组分 I 混合。现场按纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有盐酸罍素碱的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0044] [ 实施例四 ]

[0045] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药硝苯地平复配而成,其复配比为 1 毫升: 2 毫克。

[0046] 其它基本同 [ 实施例一 ]。

[0047] [ 实施例五 ]

[0048] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药硝酸甘油复配而成,其复配比为 1 毫升: 0.1 ~ 5 毫升。

[0049] 其它基本同 [ 实施例一 ]。

[0050] [ 实施例六 ]

[0051] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药硝普钠复配而成,其复配比为 1 毫升: 5 毫克。

[0052] 其它基本同 [ 实施例一 ]。

[0053] [ 实施例七 ]

[0054] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物,由纤维蛋白胶和血管扩张药尼莫地平复配而成,其复配比为 1 毫升: 3 毫克。

[0055] [ 实施例八 ]

[0056] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合剂,由纤维蛋白胶和血管扩张药酚妥拉明复配而成,其复配比为 1 毫升 : 0.5 毫克。

[0057] 其它基本同 [ 实施例一 ]。

[0058] [ 实施例九 ]

[0059] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合剂,由纤维蛋白胶和  $\beta$  受体阻断剂普萘洛尔复配而成,其复配比为 1 毫升 : 10 毫克。

[0060] 其它基本同 [ 实施例一 ]。

[0061] [ 实施例十 ]

[0062] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合剂,由纤维蛋白胶和血管扩张药盐酸维拉帕米复配而成,其复配比为 1 毫升 : 10 毫克。

[0063] 其它基本同 [ 实施例一 ]。

[0064] [ 实施例十一 ]

[0065] 一种能够预防和抑制冠状动脉旁路移植术后痉挛的纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合剂,由纤维蛋白胶和  $\beta$  受体阻断剂普萘洛尔和  $\text{Ca}^{2+}$  拮抗剂硝苯地平三者复配而成,其复配比为 1 毫升 : 10 毫克 : 2 毫克,即普萘洛尔浓度为 10 毫克 / 毫升,硝苯地平浓度为 2 毫克 / 毫升。

[0066] 其中 :

[0067] 纤维蛋白胶是由经病毒灭活处理的哺乳动物纤维蛋白原,人凝血酶,纤溶抑制剂和氯化钙组成的止血剂。以模拟血凝的最后阶段反应,用凝血酶激活纤维蛋白原形成纤维蛋白,粘合于创口,有止血和促进愈合作用。

[0068] 可现场配置使用。使用时由组分 II,即主体胶稀释液溶解普萘洛尔,再将含有普萘洛尔的主体胶稀释液按操作规范稀释主体胶(组分 I),组分 IV(注射用水)溶解硝苯地平,再将含有硝苯地平的注射用水按操作规范稀释组分 III。使用时严格按不含血管扩张药的纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有硝苯地平和普萘洛尔的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0069] 也可在生产纤维蛋白胶时即将普萘洛尔与组分 I 混合,将硝苯地平与组分 III 混合。现场按纤维蛋白胶使用说明操作,术后将含有普萘洛尔和硝苯地平的纤维蛋白胶涂抹或喷洒在动脉上,按手术规程要求缝合伤口。

[0070] 下面通过具体的实验和使用过程及其药物作用机理对本发明作进一步的说明。

[0071] [ 试验例一 ] 纤维蛋白胶凝胶活力和稳定性测定

[0072] 凝固活力测定法:(依照中国生物制品规程中“冻干人纤维蛋白原制造及检定规程”),于小试管内加入凝血酶溶液(3IU/ml)0.5ml,置 37°C 水域中观察其凝固时间。不超过 60 秒。

[0073] [ 试验例二 ] 纤维蛋白胶物理性状观察

[0074] 纤维蛋白原与凝血酶接触后产生可溶性纤维蛋白多聚体, X III 因子被凝血酶激

活,活化的 X III 因子促使可溶性蛋白多聚体转化为不可溶的纤维多聚体,并形成网状结构,3 ~ 4min 后凝胶变得更致密。凝胶呈乳白色,有弹性,增加压力,有液体释出,减压后释出液体重新吸入胶体内,振荡与挤压有利于液体的释出。镜下见凝胶表面呈膜状,内部呈丝状蛋白结构,其间充满液体颗粒。携载血管扩张药物的纤维蛋白胶组合物与对照组肉眼观察及镜下观察无不同。

[0075] [ 试验例三 ] 本发明含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的体外释放

[0076] 供试材料:本发明实施例 2 所制备的样品

[0077] 分析内容与结果:

[0078] 纤维蛋白胶的外观和形态:乳白色凝胶,有弹性,增加压力,有液体释出,减压后释出液体重新吸入胶体内,振荡与挤压有利于液体的释出。镜下见凝胶表面呈膜状,内部呈丝状蛋白结构,其间充满液体颗粒。

[0079] 药物的体外释放:分别精密称定盐酸罂粟碱 7.5mg 加至组分 II 和组分 IV 两个瓶子中,振摇,直至药品完全溶解。然后将含有药物的组分 II 和组分 VI 分别溶解生物蛋白胶主体与催化剂。取一次性专用注射器,一只专用于抽取生物蛋白胶主体溶液,另一只专用于抽取催化剂溶液,分别卡入推液支架上(注意两注射器内的液体一定要等容量,不要留有气泡),将两注射器锥头牢固地连接到连接针座上,再把喷嘴安装到连接针座的锥头,检查无松动渗漏后,将生物胶注入玻璃试管中,加入生理盐水 10ml,置恒温 37 度水浴中。震荡后分别于 0.5,1,2,4,6h,精密量取 1ml 后,立即补充 1ml 生理盐水。再加标准磷酸氢二钠缓冲液 2ml。在溶液混悬器上振荡后向各试管内加氯仿 2ml,振荡,以 4000r/min 离心 30min,取下层有机相氯仿,氮气吹干。甲醇定容至 0.5ml,供色谱测量。色谱条件:色谱柱为依利特 Hypersil ODS2(5  $\mu$ m) 柱,4.6mm\*250mm,流动相为甲醇:水:三乙胺 550:500:0.45,检测波长为 238nm,柱温:室温。流速:1ml/min.

[0080] 图 1 为专用纤维蛋白胶混合注射剂。

[0081] 图 2 为含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的体外累积释放曲线。说明纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物中的药物在体外可以缓慢释放出来。

[0082] [ 试验例四 ] 含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的犬游离血管实验

[0083] 供试材料:本发明实施例 2 所制备的样品

[0084] 试验方法及结果:

[0085] 动物麻醉:以普通犬(北京大学医学部生理系实验动物中心购买,符合国家《实验动物质量标准》),1-2 岁,体重 20-25Kg,雌雄不限,为模型动物。犬术前禁食 24 小时,禁水 6 小时。使用速眠新 II 号注射液按照 0.15ml/Kg 肌肉注射麻醉。

[0086] 手术操作:肌松满意称重后,固定于操作台,予青霉素 320 万单位入 100ml 生理盐水和 500ml 5%葡萄糖氯化钠持续静脉滴注。双侧腋窝及腹股沟备皮并常规消毒铺巾,沿动脉走行切开皮肤及皮下结缔组织,游离双侧腋动脉及双侧股动脉 6-8cm。仔细剥离动脉周围神经、静脉及结缔组织,取出动脉,蒸馏水漂洗后待用。

[0087] 将游离动脉剪成多个 2-3cm 小段后两断端分别用 0 号丝线结扎,分别使用上述浓度罂粟碱盐水浸泡和含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物涂抹。0.5 小时后模拟临床手术中情况使用蒸馏水简单冲洗动脉样本。

[0088] 给药后 0.5h、1h、2h、4h、6h 取样,盐水组样本使用流动蒸馏水简单漂洗 3 次后放入



无菌标本小瓶标记后快速冷冻送检；纤维蛋白胶盐酸罂粟碱缓释长效组合物组样本快速剥除附着凝胶后同法漂洗 3 次快速冷冻送检。

[0089] 称重,剪刀剪碎,加 1ml 水,标准磷酸氢二钠缓冲液 2ml,在溶液混悬器上充分振荡混匀。再加入氯仿 2ml,振荡后以 4000r 离心 30min。取有机相下层,氮气吹干,甲醇定容至 0.5ml,供色谱分析用。色谱柱为依利特 Hypersil10DS2 (5  $\mu$  m) 柱,4.6mm\*250mm,流动相为甲醇:水:三乙胺 550 : 500 : 0.45,检测波长为 238nm,柱温:室温。流速:1ml/min。

[0090] 图 3 为含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的犬血管壁内浓度。说明纤维蛋白胶血管扩张剂缓释长效组合物中的药物释放出来后可透入血管壁。

[0091] [ 试验例五 ] 含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的动物实验

[0092] 供试材料:本发明实施例 2 所制备的样品

[0093] 试验方法及结果:

[0094] 动物麻醉以普通犬(北京大学医学部生理系实验动物中心购买,符合国家《实验动物质量标准》),1-2 岁,体重 20-25Kg,雌雄不限,为模型动物。犬术前禁食 24 小时,禁水 6 小时。使用速眠新 II 号注射液按照 0.15ml/Kg 肌肉注射麻醉。

[0095] 手术操作肌松满意称重后,固定于操作台,予青霉素 320 万单位入 100ml 生理盐水和 500ml 5% 葡萄糖氯化钠持续静脉滴注。双侧腋窝及腹股沟备皮并常规消毒铺巾,沿动脉走行切开皮肤及皮下结缔组织,游离双侧腋动脉及双侧股动脉 6-8cm。仔细剥离动脉周围神经、静脉及结缔组织,暴露出动脉。

[0096] 麻醉后外周动脉置管接压力换能器、压力模块及监测仪。以盐酸罂粟碱盐水纱布包裹作为对照组。盐水组每条动脉给药 2.5ml(含盐酸罂粟碱 7.5mg),局部均匀喷洒;含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物组每条动脉给予含 7.5mg 盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶 2.5ml,均匀涂抹于动脉表面。12 小时以上样本犬予缝合伤口后集中饲养,术后每日静脉使用青霉素预防感染。

[0097] 给药后 1h、2h、4h、8h、12h、24h、48h、72h、7d、14d 取样,取下血管之前,除结扎远、近断端外,尚需结扎所取血管节段两端以防止药物进入动脉腔内造成污染,后续处理方法同离体实验。同时按给药后 0.5h 1h、2h、4h 取外周血样送检。并记录用药前外周动脉血压和用药后 5min、10min、20min、30min、1h、2h、3h、4h 外周动脉血压。另外,随机抽取部分犬在给药后 1h、4h 的远处外周血管样本,同上法处理后送检。

[0098] 称重,剪刀剪碎,加 1ml 水,标准磷酸氢二钠缓冲液 2ml,在溶液混悬器上充分振荡混匀。再加入氯仿 2ml,振荡后以 4000r 离心 30min。取有机相下层,氮气吹干,甲醇定容至 0.5ml,供色谱分析用。色谱柱为依利特 Hypersil10DS2 (5  $\mu$  m) 柱,4.6mm\*250mm,流动相为甲醇:水:三乙胺 550 : 500 : 0.45,检测波长为 238nm,柱温:室温。流速:1ml/min。

[0099] 图 4 为含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物给药犬外周血罂粟碱的浓度;图 5 为含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物和盐酸罂粟碱的两种不同方式给药犬外周空白血管壁内药物浓度。说明与纤维蛋白胶罂粟碱组合物组比较而言,罂粟碱盐水组表现出了在外周血较高的罂粟碱浓度和在给药处远端较高的罂粟碱浓度,这显示罂粟碱盐水组罂粟碱的全身吸收多,预计罂粟碱的全身副作用大。而在用药部位血管,纤维蛋白胶罂粟碱组合物组的药物浓度高于罂粟碱盐水组,说明纤维蛋白胶罂粟碱组合物组的抗痉挛作用会好于罂粟碱盐水组。

[0100] 图 6 为含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶和盐酸罂粟碱的两种不同方式给药狗外周动脉均压。表明纤维蛋白胶罂粟碱组合物组犬的动脉血压维持稳定,波动幅度较小,各时间点无显著性差异。而罂粟碱盐水浸泡组犬血压稳定性差,在给药 1 小时左右出现与给药前大于 30mmHg 的血压波动。从一定意义上讲,罂粟碱盐水浸泡解除动脉痉挛的方法安全性上的确有待商榷。

[0101] [ 试验例六 ] 本发明含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物的动物抗痉挛效果实验

[0102] 供试材料:本发明实施例 2 所制备的样品

[0103] 试验方法及结果:

[0104] 动物麻醉以普通犬(北京大学医学部生理系实验动物中心购买,符合国家《实验动物质量标准》),1-2 岁,体重 20-25Kg,雌雄不限,为模型动物。犬术前禁食 24 小时,禁水 6 小时。使用速眠新 II 号注射液按照 0.15ml/Kg 肌肉注射麻醉。

[0105] 手术操作肌松满意称重后,固定于操作台,予青霉素 320 万单位入 100ml 生理盐水和 500ml 5% 葡萄糖氯化钠持续静脉滴注。常规正中开胸,采用胸膜外游离乳内动脉技术。在心脏稳定器的帮助下,局部固定吻合口,结合气雾喷射系统保持吻合术野无血并帮助显露吻合口。左前降支全部与乳内动脉吻合,然后采用大隐静脉与其余靶血管吻合。以盐酸罂粟碱盐水纱布包裹作为对照组,给药 2.5ml(含盐酸罂粟碱 7.5mg),局部均匀喷洒;含有盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶组合物组每给予含 7.5mg 盐酸罂粟碱的纤维蛋白胶 2.5ml,均匀涂抹于动脉表面。犬予缝合伤口后集中饲养,术后每日静脉使用青霉素预防感染。术中和术后检测肌酸激酶同工酶和心肌肌钙蛋白 I 和监测心电图。两组结果进行组间比较。结果表明 2 小时内,罂粟碱盐水组的心率和搏动指数快于含有罂粟碱的纤维蛋白胶缓释长效组合物组,但两组间指标无显著性差异;2 小时后,罂粟碱盐水组 1/3 的样本心电图显示出现明显心肌缺血改变,给予罂粟碱注射后症状减轻或消失,含有罂粟碱的纤维蛋白胶缓释长效组合物组未见室性心律失常、心肌梗死和低心排血量等并发症发生,两周后处死动物解剖,可见手术处动脉吻合口通畅,纤维蛋白胶大部吸收。取出给药部位的血管,按 [ 试验例五 ] 的方法检测罂粟碱的浓度,仍有可检测到的药物存在,药物含量大于 10ng/mg。

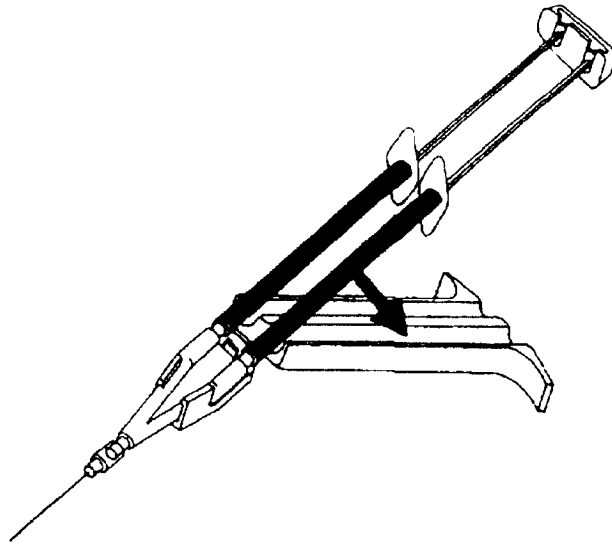


图 1

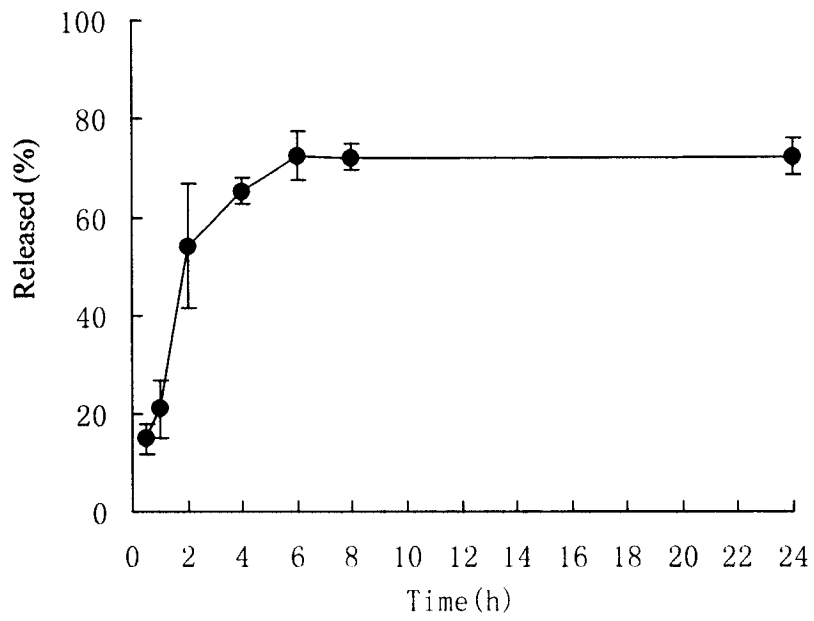


图 2

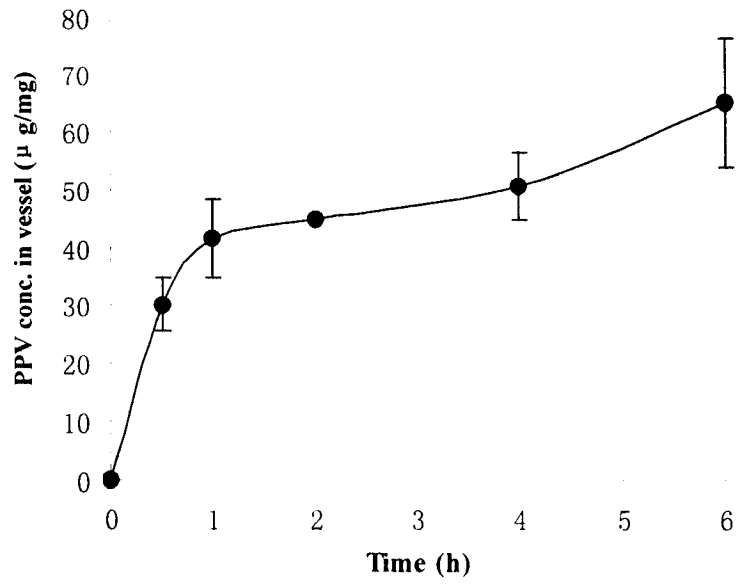


图 3

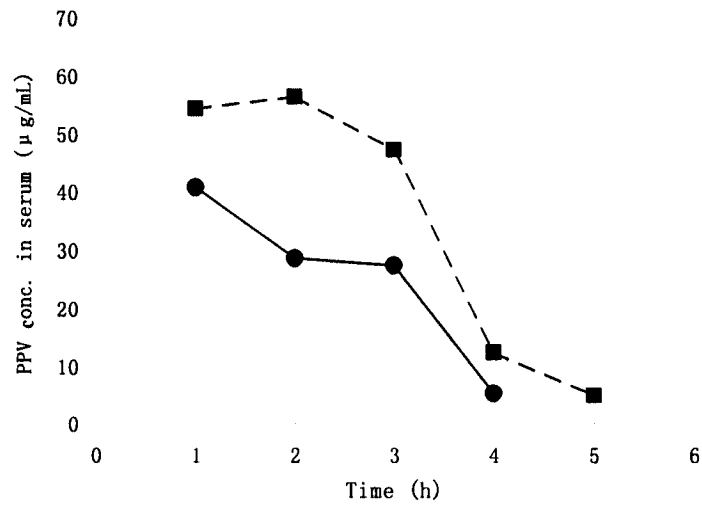


图 4

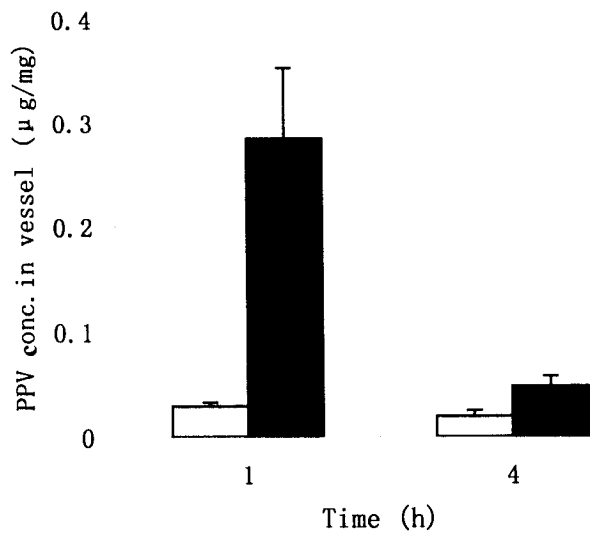


图 5

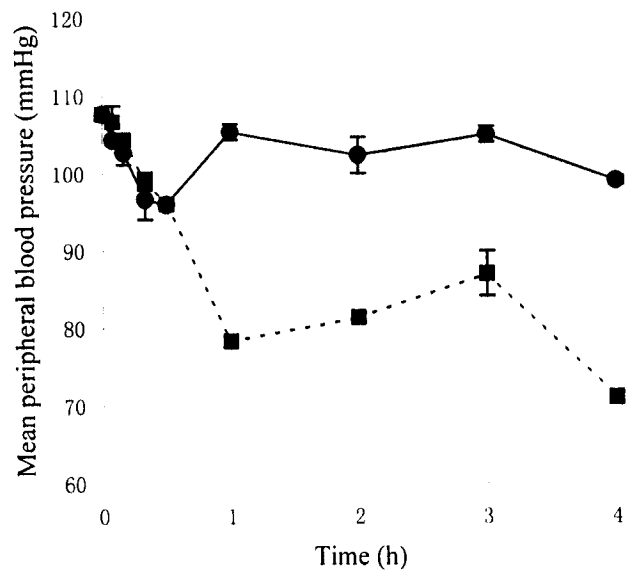


图 6