(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115916336 A
(43)申请公布日 2023.04.04

(21)申请号 202180029644.1

(22)申请日 2021.02.19

(30)优先权数据
202021007184 2020.02.19 IN
202021013770 2020.03.29 IN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.10.19

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IN2021/050159 2021.02.19

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/165992 EN 2021.08.26

(71)申请人 施里玛·麦钱特
地址 加拿大不列颠哥伦比亚省
申请人 马尼特·帕特尔

(72)发明人 马尼特·帕特尔
彼得·查尔斯·鲁本
穆罕默德·阿明·福达
穆罕默德-礼萨·焦万诺
维沙尔·阿南特·贾达夫
达纳·A·帕杰 库希克·乔杜里
鲁西诺娃·拉达
特亚斯·法特佩卡

(74)专利代理机构 北京市中伦律师事务所 11410
专利代理师 钟锦舜 刘烽

(51)Int.Cl.
A61P 9/10(2006.01)

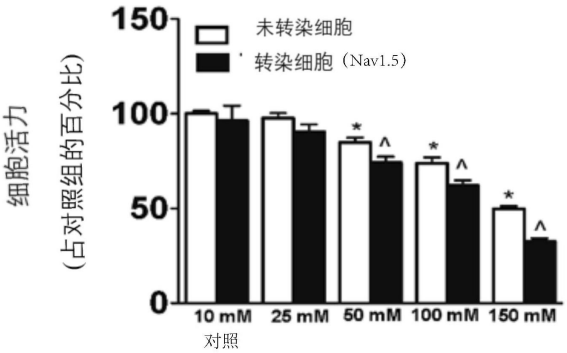
权利要求书5页 说明书111页 附图82页

(54)发明名称

大麻二酚的组合物和治疗用途

(57)摘要

本发明提供了多种药物组合物,其包含新的治疗剂大麻二酚,其挽救了受到不利影响的钠通道Nav1.5,并因此用作治疗多种心脏疾病的潜在治疗剂。本发明还提供了使用新的治疗剂大麻二酚的各种药物组合物,用于消除或最小化其他诱导或可能诱导长QT的治疗剂/药物的副作用。本发明进一步提供大麻二酚的药物组合物,用于治疗或避免由任何其他治疗剂引起的炎症、或在任何疾病或病痛(如Covid-19)中引起的炎症、以及由任何疫苗(如Covid-19疫苗)引起的炎症。



CN 115916336 A

1.一种包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病。

2.一种包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中所述门控缺陷包括来自下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

3.一种包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中所述门控缺陷选自晚期或持续的钠电流和动作电位的延长。

4.根据权利要求1、2或3所述的药物组合物，用于治疗包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、肥厚性心肌病中的一种或多种的心脏疾病、缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重构、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

5.根据权利要求1、2或3所述的药物组合物，用于治疗包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧中的一种或多种的心脏病。

6.一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起。

7.一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，其中所述门控缺陷包括至少i)中的一个不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

8.一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由门控缺陷引起，其中所述门控缺陷选自晚期或持续钠电流和动作电位的延长。

9.根据权利要求6所述的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚型心肌病中的一种或多种缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重构、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

10.根据权利要求6所述的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病选自长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧中的一种或多种。

11.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中所述门控缺陷由高血糖或糖尿病病症诱导。

12.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生，其中门控缺陷易于由高血糖或糖尿病状况诱发。

13.根据权利要求11或12所述的药物组合物，用于治疗包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、局部缺血、心力衰竭、肥大症中的一种或多种的心脏病。心肌病和缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

14.根据权利要求11或12所述的药物组合物，用于治疗包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧中的一种或多种的心脏病。

15.一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起并且其中所述门控缺陷是诱导的由高血糖或糖尿病状况引起。

16.一种避免或最小化心脏病发生的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，其中所述门控缺陷易于诱发由高血糖或糖尿病状况引起。

17.根据权利要求15或16所述的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

18.根据权利要求15或16所述的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧中的一种或多种。

19.一种药物组合物，包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中所述门控缺陷包括下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长；并且其中门控缺陷是由于用另一种治疗剂治疗而引起的。

20.根据权利要求19所述的药物组合物，其中所述门控缺陷包括延迟或持续的钠电流和动作电位的延长。

21.权利要求19的药物组合物，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征中的一种或多种。

22.权利要求21的药物组合物，其中引起钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括阿片样物质、阿奇霉素、氯喹、羟氯喹和抗病毒剂。

23.根据权利要求22所述的药物组合物，其中引起钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂是阿奇霉素。

24.权利要求22的药物组合物，其中导致钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括磷酸奥司他韦、硫酸阿扎那韦和利巴韦林中的一种或多种。

25.权利要求22的药物组合物，其中引起钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括氯喹和羟氯喹。

26.权利要求22的药物组合物，其中另一种引起钠通道Nav1.5门控缺陷的治疗剂是美沙酮。

27.根据权利要求22-26所述的药物组合物，其中钠通道Nav1.5中的门控缺陷是延迟的或持续的钠电流。

28.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生，其中所述门控缺陷包括来自下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速失活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长；并且其中门控缺陷很可能通过施用下列至少一种i)另一种治疗剂或ii)Covid-

19疫苗来诱导。

29.权利要求28的药物组合物，其中导致钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括阿片样物质、美沙酮、抗病毒药、阿奇霉素、氯喹、羟氯喹、磷酸奥司他韦、硫酸阿扎那韦和利巴韦林。

30.权利要求28和29的药物组合物，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征中的一种或多种。

31.一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，并且其中所述门控缺陷是由另一种治疗剂在此类患者中诱导的。

32.根据权利要求31所述的治疗心脏疾病的方法，其中所述门控缺陷包括晚期或持续的钠电流和动作电位的延长。

33.权利要求31的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征中的一种或多种。

34.权利要求31的治疗心脏病的方法，其中引起钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括阿片样物质、美沙酮、抗病毒药、阿奇霉素、氯喹、羟氯喹、磷酸奥司他韦、硫酸阿扎那韦和利巴韦林。

35.如权利要求34所述的治疗心脏病的方法，其中另一种引起钠通道Nav1.5门控缺陷的治疗剂是美沙酮；

36.如权利要求34所述的治疗心脏病的方法，其中另一种引起钠通道Nav1.5门控缺陷的治疗剂是阿奇霉素。

37.如权利要求34所述的治疗心脏病的方法，其中另一种引起钠通道Nav1.5门控缺陷的治疗剂是抗病毒剂。

38.权利要求34的治疗心脏病的方法，其中引起钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括氯喹和羟氯喹。

39.根据权利要求34-38所述的治疗心脏病的方法，其中钠通道Nav1.5中的门控缺陷是晚期的或持续的钠电流。

40.一种避免或最小化心脏疾病发生的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起并且其中所述门控缺陷可能是通过施用下列至少一种i)另一种治疗剂或ii)Covid-19疫苗诱导。

41.根据权利要求40所述的避免或最小化心脏病发生的方法，其中导致钠通道Nav1.5门控缺陷的另一种治疗剂包括阿片样物质、美沙酮、抗病毒药、阿奇霉素、氯喹、羟氯喹、磷酸奥司他韦、阿扎那韦硫酸盐和利巴韦林。

42.根据权利要求40和41所述的避免或最小化心脏病发生的方法，其中所述心脏病包括QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征中的一种或多种。

43.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生，其中门控缺陷可能在Covid-19流行或大流行中诱发。

44.根据权利要求43所述的药物组合物，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征中的一种或多种。

45.一种避免或最小化心脏疾病发生的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，其中所述门控缺陷可能在Covid-19流行病或大流行病中被诱导。

46.根据权利要求45所述的避免或最小化心脏病发生的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征中的一种或多种。

47.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于预防或预防性治疗，以避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生。

48.一种用于避免或最小化心脏病发生的预防或预防性治疗方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起。

49.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由受到不利影响的钠通道Nav1.5引起的心脏疾病，其中钠通道Nav1.5由于活性氧物质形成的影响或由于氧化应激/损伤。

50.治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由受到不利影响的钠通道Nav1.5引起，其中钠通道Nav1.5是由于活性氧的形成或氧化应激/损伤的影响而受到不利影响。

51.一种药物组合物，包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由炎症诱导或可能由炎症诱导的钠通道Nav1.5门控缺陷引起的心脏疾病。

52.权利要求51的药物组合物，其中钠通道Nav1.5中的门控缺陷包括下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

53.如权利要求51所述的药物组合物，用于治疗包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚型心肌病和缺氧心肌缺血、心肌梗塞(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重塑重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

54.根据权利要求51所述的药物组合物，用于治疗包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧中的一种或多种的心脏病。

55.一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起或可能由以下因素引起炎。

56.根据权利要求55所述的治疗心脏疾病的方法，其中钠通道Nav1.5中的门控缺陷包括下列至少一种i)不能激活或可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

57.根据权利要求55所述的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚型心肌病中的一种或多种和缺氧心肌缺血、心肌梗塞(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重塑重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

58.根据权利要求55所述的治疗心脏病的方法，其中所述心脏病包括长QT综合征、长

QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚性心肌病和缺氧中的一种或多种。

59.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由受到不利影响的钠通道Nav1.4引起的骨骼肌疾病。

60.根据权利要求59所述的药物组合物，其中所述骨骼肌病症包括导致低钾周期性麻痹的VSD中的肌肉僵硬、疼痛、肌强直、门控孔电流中的一种或多种。

61.一种治疗患有骨骼肌疾病的患者的方法，其中所述方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中骨骼肌疾病由受到不利影响的钠通道Nav1.4引起。

62.根据权利要求61所述的治疗骨骼肌疾病的方法，其中所述骨骼肌疾病包括导致低钾周期性麻痹的VSD中的肌肉僵硬、疼痛、肌强直、门控孔电流中的一种或多种。

63.一种药物组合物，包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由受到不利影响的钠通道Nav1.5或不利影响的钠通道Nav1.4引起的心脏疾病或骨骼肌疾病，其中此类组合物包含大麻二酚和至少一种药学上可接受的载体。

64.权利要求63的药物组合物，其中至少一种药学上可接受的载体包括可溶性赋形剂/稀释剂、增溶剂、稳定剂或生物利用度增强剂。

65.一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于治疗由受到不利影响的钠通道Nav1.5或钠通道Nav1.4引起的心脏疾病或骨骼肌疾病以及其他治疗剂。

66.根据权利要求66所述的药物组合物，其中所述其他治疗剂是一种诱导或可能诱导长QT或心律失常的一种。

67.根据权利要求66所述的药物组合物，其中所述其他治疗剂是阿片样物质、美沙酮、阿奇霉素、氯喹、羟氯喹、抗病毒药、磷酸奥司他韦、硫酸阿扎那韦和利巴韦林中的一种或多种。

68.如权利要求65-67所述的药物组合物，其为双层或三层片剂的形式；或以胶囊形式具有两种类型的丸剂/珠子/颗粒/块，每种具有不同的治疗剂；或含有大麻二酚和其他治疗剂的液体。

69.根据权利要求65所述的药物组合物，其中所述其他治疗剂是一种诱导或可能诱导炎症的治疗剂。

70.如权利要求69所述的药物组合物，其为双层或三层片剂的形式；或以胶囊形式具有两种类型的丸剂/珠子/颗粒/块，每种具有不同的治疗剂；或含有大麻二酚和其他治疗剂的液体。

71.一种包含至少两种药物组合物的试剂盒，其中第一药物组合物包含治疗有效量的大麻二酚，第二组合物包含其他治疗剂，该治疗剂是一种诱导或可能诱导长QT/心律失常或炎症的治疗剂。

72.一种包含至少两种药物组合物的试剂盒，其中第一种药物组合物包含治疗有效量的大麻二酚，第二种药物组合物是Covid-19疫苗。

大麻二酚的组合物和治疗用途

背景技术

[0001] 心血管并发症是糖尿病人群死亡和发病的主要原因。高血糖水平(高血糖)被认为是糖尿病诱发的心血管并发症发展的基础。这些有害影响的主要机制包括氧化应激、促炎激活和促生存途径(如Akt)的失活,最终导致细胞死亡。

[0002] 心血管异常与糖尿病引起的发病率和死亡率密切相关(Matheus、Tannus、Cobas、Palma、Negrato和Gomes,2013年)。这些有害的心血管并发症主要归因于高血糖/高血糖(Pistrosch,Natali&Hanefeld,2011)。

[0003] Grisanti提供的表1总结了检查糖尿病和心律失常之间相关性的临床研究,该研究表明糖尿病和心律紊乱之间存在明确的联系。Grisanti提到了一些之前的研究,这些研究表明1型和2型糖尿病患者传导速度减慢、QT间期延长的患病率增加。Napolitano等人提出,长QT综合征(LQT)是一种由Q-T间期延长引起的心律失常性疾病。

[0004] 电压门控钠(Na+)通道具有三种主要构象状态:闭合、开放和失活。在动作电位发生之前,膜处于正常静息电位,Na+通道处于失活状态。作为对膜电位增加至约-55mV的响应,激活门打开,使带正电荷的Na+离子通过通道流入细胞,并使细胞膜上的电压增加(去极化)至+30mV。

[0005] 在动作电位的峰值,当足够的Na+进入细胞并且膜电位变得足够高时,Na+通道通过关闭它们的失活门来失活自己。关闭失活门可防止Na+进一步进入通道,从而导致膜电位停止上升。随着其失活门关闭,该通道被认为是失活的,并且随着神经元重新极化并随后自身超极化,电位降低回其静息电位。这种电压下降构成了动作电位的下降阶段。

[0006] 当膜电压变得足够低时,失活门重新打开,激活门在称为失活的过程中关闭。

[0007] 随着激活门关闭和失活门打开,Na+通道再次可用并准备好产生另一个动作电位。

[0008] 以前的出版物(Ghovanloo等人(2016)、Estacion等人(2010)、Cannon等人(2006))报道说,Nav是由大的离子传导和电压感应α-亚基和较小的β-亚基组成的异多聚体蛋白。

[0009] 正如Ghovanloo(2016)所报道的,α-亚基由单个转录物组成,其中包括四个6跨膜片段结构域。每个结构域可分为两个功能子域:电压传感域(VSD)和孔域(PD)。

[0010] Nav孔是许多药物阻断剂相互作用的场所(Lee(2012)和Gamal(2018))。孔隙周围有四个脂内窗,其功能作用仍然是推测性的(Pan(2018))。

[0011] Nav1.5生物物理特性的改变在心律失常发生中起重要作用(Ruan,Liu&Priori,2009)。然而,糖尿病/高糖/高血糖引起的Nav1.5生物物理特性的变化尚不清楚。

[0012] 因此,Nav1.5的门控是一个复杂的现象,它在高血糖和糖尿病中受到不利影响。相同的调制不是一件容易的事。

[0013] Yu等人和其他人没有提供、测试、治疗或甚至建议治疗心律失常,特别是患者有糖尿病情况下。

[0014] 克里斯托弗·埃亨(ChristopherAhern)在评论“什么激活了失活?”中,提到钠通道传导的遗传性或后天性缺陷与一系列电信号障碍相关,包括心律失常(Wang等人,1995;Valdivia等人,2005)、癫痫、原发性红斑痛(一种外周疼痛障碍)(Yang等人,2004)、阵发性

极端疼痛障碍(Fertleman等人,2006),低钾性低钾周期性麻痹(Ptácek等人,1991;Rojas等人,1991)、先天性副肌强直(McClatchy等人,1992),以及偏头痛(Kahlig等人,2008)、自闭症(Weiss等人,2003;Han等人,2012a)、睡眠(Han等,2012b)和多发性硬化症(Craner等人,2004)中的意外作用。

[0015] 尽管对这些疾病的发病机制了解很多,但可用的治疗选择很少,需要做大量工作来缓解与电压门控钠通道相关的疾病,特别是在Nav1.5中,功能障碍的后果可能是致命的。

[0016] Shimizu等人提出,LQT3是由心脏钠通道功能增强引起的,该通道增加了整个动作电位平台的去极化电流。Yu等人表明,糖尿病大鼠的心脏钠通道与LQT的发病机制相关。此外,他们还表明,Nav1.5(心肌钠通道)功能的变化与糖尿病大鼠的LQT心律失常相关。

[0017] Yu等人的研究表明,Nav1.5门控缺陷对糖尿病大鼠心律失常的发展起作用。Yu等人选择了链脲佐菌素或链脲佐霉素(INN,USP)(STZ),这是一种天然存在的烷基化抗肿瘤剂,在医学研究中用于制作大剂量高血糖和阿尔茨海默病的动物模型,以及多个低剂量的2型糖尿病或1型糖尿病的动物模型。

[0018] 氧化应激和促炎途径的激活是糖尿病/高糖诱发心血管异常的主要途径之一(Rajesh等,2010)。心脏炎症在心血管异常的发展中起着关键作用(Adamo、Rocha-Resende、Prabhu和Mann,2020年)。抑制炎症信号通路可改善心脏(Adamo、Rocha-Resende、Prabhu和Mann,2020年)。重要的是,离子通道是炎症引起的心脏异常的关键因素(Eisenhut&Wallace,2011)。电压门控钠通道(Nav)是心脏动作电位0相的基础(Balser,1999;Ruan,Liu&Priori,2009)。主要心脏钠通道Nav1.5的生物物理特性变化与糖尿病引起的心血管异常有关(Fouda、Ghovanloo和Ruben,2020年;Yu等人,2018年)。然而,高血糖诱发炎症的潜在机制,以及炎症如何引发心脏功能障碍,尚不清楚。

[0019] 先前的研究表明:

[0020] 1.糖尿病诱导的QT延长易导致恶性室性心律失常(Ukpabi&Onwubere,2017)。

[0021] 2.此外,糖尿病患者的LQT使他们更容易遭受心脏骤停的风险(Whitseletal.,2005)。

[0022] 3.Nav1.5功能获得在LQT的发展中起着至关重要的作用(Shimizu&Antzelevitch,1999)。

[0023] 4.糖尿病诱导的QT延长易导致恶性室性心律失常(Ukpabi&Onwubere,2017)。

[0024] 5.糖尿病患者的LQT使他们更容易受到心脏骤停风险的影响(Whitseletal.,2005)。

[0025] 6.Nav1.5功能获得在LQT的发展中起着至关重要的作用(Shimizu&Antzelevitch,1999)。

[0026] 7.高血糖/高糖是促炎性的,炎症是心血管疾病发病机制中的关键因素(Fouda,Leffler&Abdel Rahman,2020;Tsalamandris等人,2019)。

[0027] 8.炎症是通过直接影响心肌电特性(包括其对Nav的影响)和间接自主心脏调节(Lazzerini,Capecchi&LaghiPasini,2015)而发展LQT的潜在原因。

[0028] 9.炎症改变心肌细胞Nav的电生理特性,INap增加导致APD延长(Shryock,Song,Rajamani,Antzelevitch&Belardinelli,2013;Ward,Bazzazi,Clark,Nygren&Giles,2006)。

[0029] 10.PK-A和PK-C的激活以及随后的蛋白磷酸化是与炎症(Karin,2005)和高血糖相关的关键信号通路之一,导致许多破坏性糖尿病引起的心脏并发症(Bockus&Humphries,2015;Koya&King,1998)

[0030] 11.PK-A磷酸化S525和S528,而PK-C磷酸化人类Nav1.5中的S1503(Iqbal&Lemmens-Gruber,2019)。

[0031] 12.关于PK-A和PK-C激活对Nav1.5门控的电压依赖性和动力学的影响,有相互矛盾的报告。这些差异可归因于不同的电压方案、不同的维持电位、不同浓度或类型的PK活化剂,或不同研究中使用的不同细胞系(Aromolaran、Chahine&Boutjdir,2018;Iqbal&LemmensGruber,2019)。

[0032] 13.PK-A或PK-C都会破坏Nav快速失活,从而增加INap,这与APD延长密切相关(Astman,Gutnick&Fleidervish,1998;Franceschetti,Taverna,Sancini,Panzica,Lombardi&Avanzini,2000;Tateyama,Rivolta,Clancy&Kass,2003)。

[0033] 14.大麻二酚通过抑制PK-A和PK-C信号发挥抗炎、抗氧化和抗肿瘤作用(Seltzer、Watters和MacKenzie,2020)。

[0034] 15.雌二醇(E2)直接影响Nav并发挥抗炎作用(Iorga、Cunningham、Moazeni、Ruffenach、Umar和Eghbali,2017;Wang、Garro和Kuehl Kovarik,2010)。

[0035] 16.雌二醇(E2)通过增加血管生成、舒张血管、减少氧化应激和纤维化而产生的心脏保护作用(Iorga、Cunningham、Moazeni、Ruffenach、Umar和Eghbali,2017)。

[0036] 17.许多研究支持雌二醇(E2)的抗心律失常作用,因为它对心脏离子通道的表达和功能有影响(Iorga、Cunningham、Moazeni、Ruffenach、Umar和Eghbali,2017;Odening和Koren,2014)。

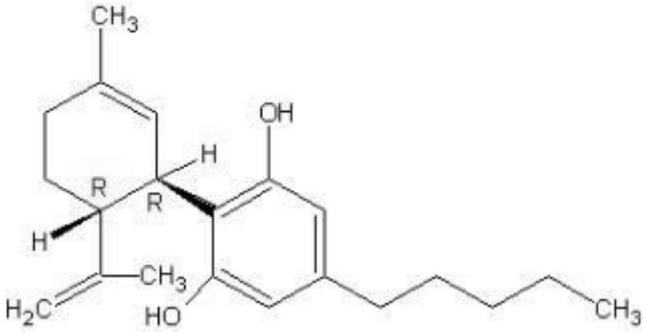
[0037] 18.雌二醇(E2)稳定Nav快速失活并降低INap,类似于大麻二酚(Wang,Garro&Kuehl Kovarik,2010)。

[0038] 19.雌二醇(E2)通过抑制PK-A和PK-C介导的信号通路,降低氧化应激和炎症反应(Mize,Shapiro&Dorsa,2003;Viviani,Corsini,Binaglia,Lucchi,Galli&Marinovich,2002)。

[0039] 20.LQT3心律失常是糖尿病的临床并发症(Grisanti,2018)。

[0040] 大麻二酚是大麻植物的主要大麻素成分。它与CB1和CB2受体的结合非常弱。大麻二酚不会引起精神活性或认知作用,并且在人体中耐受性良好且无副作用,因此使其成为假定的治疗靶点。在美国,大麻二酚药物Epidiolex于2018年获得食品药品监督管理局批准,用于治疗两种癫痫症:Dravet综合征和Lennox/Gasteaut综合征。

[0041] 大麻二酚在化学上被命名为2-[(1R,6R)-3-Methyl-6-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-yl]-5-pentyl-1,3-苯二醇。化学结构如下。

[0042] 

[0043] 美国专利号US6410588公开了大麻二酚治疗炎性疾病的用途。

[0044] PCT出版物编号WO2001095899A2涉及大麻二酚衍生物和包含大麻二酚衍生物的药物组合物，大麻二酚衍生物是具有镇痛、抗焦虑、抗惊厥、神经保护、抗精神病和抗癌活性的抗炎剂。

[0045] 大麻二酚被批准为一种抗癫痫药物(Barnes，2006；Devinsky等，2017)。大麻二酚无不良心脏毒性，可改善糖尿病/高糖诱导的有害心肌病(Cunha等人，1980年；Izzo、Borrelli、Capasso、DiMarzo和Mechoulam，2009年；Rajesh等人，2010年)。

[0046] Rajesh等人对大麻二酚对心律失常的影响(如有)保持沉默，并不表明大麻素对遗传或获得性长QT间期有影响。

[0047] 此外，大麻二酚在体外和体内抑制促炎细胞因子的产生(Nichols&Kaplan，2020)。

发明内容

[0048] 发明综述

[0049] 第一方面，本发明提供了包含新治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，该新治疗剂可以挽救受到不利影响的钠通道Nav1.5，从而用作治疗几种心脏疾病的潜在治疗剂。本发明还提供了这些药物组合物用于治疗各种心脏疾病的用途。本发明还包括通过施用包含大麻二酚的合适药物组合物来治疗患有各种心脏疾病的患者。

[0050] 在第一方面，本发明提供了一种包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病。

[0051] 由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起各种心脏疾病，其中门控缺陷包括来自下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速失活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

[0052] 在第二方面，本发明提供了采用新治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，用于治疗由高血糖或糖尿病诱导的各种心脏疾病。本发明还包括通过施用含有大麻二酚的合适药物组合物来治疗患有由高血糖或糖尿病引起的各种心脏疾病的患者。

[0053] 在第三方面，本发明提供了使用新治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，以避免或最小化更容易发生此类疾病的高血糖或糖尿病人群中心脏疾病的发生。本发明还提供了这些药物组合物的用途，以避免或最小化高血糖或糖尿病人群中的心脏疾病，并通过施用使用新治疗剂大麻二酚的药物组合物来进行治疗。

[0054] 本发明的大麻二酚药物组合物用于治疗下列一种或多种的心脏病：长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、肥厚型心肌病和缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常，以及炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏

重塑、适应不良、不同类型的血管紧张素、药物引起的心力衰竭、医源性心脏和血管疾病。

[0055] 在第四方面，本发明提供了使用新治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，以消除或最小化诱导或可能诱导长QT的其他治疗剂/药物的副作用。在这方面，大麻二酚药物组合物增强了其他治疗药物的安全性，并增强了它们的应用，因为它们的副作用主要是长QT间期而受到限制。

[0056] 诱导或可能诱导长QT的其他治疗剂药物有阿片类、阿奇霉素、氯喹、羟基氯喹和抗病毒药物。抗病毒药物有磷酸奥司他韦、硫酸阿他扎那韦和利巴韦林。

[0057] 在第四方面，新治疗剂大麻二酚的药物成分与Covid-19疫苗或任何可能诱发LQT心律失常的疫苗一起服用。因此，在本方面中，本发明提供了一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于避免或最小化因钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏病的发生，其中门控缺陷包括下列至少一种i)不太可能激活的；ii)无法快速失活；iii)不稳定快速失活；iv)晚期或持续的钠电流和v)动作电位延长；并且其中门控缺陷可能是由施用i)至少一种其他治疗剂或ii)Covid-19疫苗引起的。

[0058] 在第五方面，本发明提供了在以下两种情况下用于治疗Covid-19的大麻二酚药物组合物：

[0059] 1.当Covid-19已在患者体内诱导长QT间期，或Covid-19可能在患者体内诱发长QT时患有其他并发症。

[0060] 2.Covid-19治疗使用任何治疗剂或可能使用任何治疗剂，而该治疗剂已诱导或可能诱导患者出现长QT。

[0061] 本发明还提供了用于治疗因Covid-19或因Covid19治疗而诱发或可能诱发长QT的大麻二酚药物组合物，并通过单独或联合施用包含新治疗剂大麻二酚的药物组合物治疗Covid-19患者可能导致或已经导致长QT的其他治疗剂。这些其他治疗药物包括但不限于抗病毒药物、氯喹、羟基氯喹，甚至维生素等营养药物。这些其他治疗药物也可能包括但不限于天然-有机或有机、阿育吠陀、顺势疗法、悉达和非奈类药物。

[0062] 在第六方面，甚至可以对健康人群施用大麻二酚的药物组合物作为预防治疗剂，以避免发生钠通道门控特性受到影响的任何心脏病。当有可能感染Covid-19时，如在流行或大流行期间，也可对健康人群进行此类给药。

[0063] 此外，在这一方面，当有可能发生任何可能导致长QT的流行病或大流行时，甚至可以对健康人群施用大麻二酚药物组合物。

[0064] 因此，在这一方面中，本发明提供了一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻酚，用于预防或预防治疗，以避免或最小化因钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏病的发生。

[0065] 在第七方面，本发明提供了多种药物组合物，其采用新的治疗剂大麻二酚来使受到不利影响的钠通道Nav1.5免受活性氧物质形成的影响，并挽救由这些效应进一步产生的病症。活性氧物质的形成导致氧化损伤并导致细胞毒性，结果，细胞活力降低。

[0066] 本发明还提供这些药物组合物的用途i)用于减少ROS的形成，ii)用于处理由于活性氧物种的形成而引起的疾病。本发明还包括治疗患有以下疾病的患者：i)ROS形成对钠通道Nav1.5的影响，以及ii)通过施用含有大麻酚的合适药物组合物而引起的疾病。

[0067] 在第八方面下，本发明还提供了大麻二酚的药物组合物，用于治疗或避免由任何

其他治疗剂引起的炎症，或由任何疾病(如Covid-19)引起的炎症以及由任何疫苗(如Covid-19疫苗)引起的炎性。

[0068] 在第九个方面，本发明提供了使用新治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，以将受到不利影响的钠通道Nav1.4从收缩性功能障碍和这些效应进一步产生的疾病中挽救出来，例如肌肉僵硬、疼痛、肌强直、VSD中的门控孔隙电流导致周期性瘫痪等。

[0069] 在本发明的第十个方面中，提供了大麻二酚的药物组合物，大麻二酚是一种新的治疗剂，用于恢复钠通道的电生理学，从而避免、消除或最小化主要由于钠通道延迟或持续、动作电位延长、长QT心律失常等引起的心脏疾病的发生。

[0070] 在本发明的第十个方面中，提供了大麻二酚的药物组合物，大麻二酚是一种新的治疗剂，用于恢复钠通道的电生理学，从而避免、消除或最小化主要由于钠通道延迟或持续、动作电位延长、长QT心律失常等引起的心脏疾病的发生。

[0071] 附图的简要说明

[0072] 图1A提供了葡萄糖浓度(10、25、50、100、150mM)逐渐增加对未转染或Nav1.5转染细胞的细胞活力的影响。

[0073] 图1B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM)或它们的载体共同孵育对对照组(10mM)或者高葡萄糖浓度(50或100mM)培养的Nav1.5转染细胞的细胞活力的影响。

[0074] 图1C提供了逐渐增加葡萄糖浓度(10、25、50、100、150mM)或甘露醇(100mM)对模拟转染或Nav1.5稳定转染细胞的细胞活力的影响。

[0075] 图1D提供了大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或Tempol(100μM或1mM)或它们的载体共同孵育对在高葡萄糖浓度(100mM)下孵育的Nav1.5转染细胞的细胞活力的影响。

[0076] 图1E提供了大麻二酚(5μM)或其载体共同孵育对在正常(10mM)或高葡萄糖浓度(100mM)下孵育的未转染细胞的细胞活力的影响。

[0077] 图2A提供了葡萄糖浓度逐渐增加(10、25、50、100、150mM)对未转染或Nav1.5转染细胞的ROS生成的影响。

[0078] 图2B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM)或它们的载体共同培养对在正常(10mM)浓度或高葡萄糖浓度(50或100mM)培养的Nav1.5转染细胞产生ROS的影响。

[0079] 图2C提供了葡萄糖浓度(10、25、50、100、150mM)或甘露醇(100mM)逐渐增加对模拟转染或Nav1.5稳定转染细胞的ROS生成的影响。

[0080] 图2D提供了大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或Tempol(100μM或1mM)或它们的载体共同培养对在高葡萄糖浓度(100mM)下培养的Nav1.5转染细胞产生ROS的影响。

[0081] 图2E显示了大麻二酚(5μM)或其载体共同孵育对正常(10mM)或高葡萄糖浓度(100mM)孵育的未转染细胞产生ROS的影响。

[0082] 图3A显示了高糖(50或100mM)对Nav1.5转染细胞电导曲线的影响。

[0083] 图3B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM，灌注或孵育)或其载体对在对照(10mM)葡萄糖浓度下孵育的Nav1.5转染细胞的电导曲线的影响。

[0084] 图3C提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM，灌注或孵育)或其载体

对Nav1.5转染细胞在50mM葡萄糖中孵育24小时的电导曲线的影响。

[0085] 图3D提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对Nav1.5转染细胞在100mM葡萄糖中孵育24小时的电导曲线的影响。

[0086] 图3E提供了高葡萄糖(25、50或100mM)或甘露醇(100mM)对Nav1.5转染细胞的电导曲线的影响。

[0087] 图3F提供了大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或Tempol(1mM,灌注或100μM或1mM培养)或其载体对在高(100mM)葡萄糖浓度下培养24小时的Nav1.5转染细胞电导曲线的影响。

[0088] 图3G提供了具有代表性的各种条件下的宏观电流系列。

[0089] 图4A提供了高葡萄糖(50或100mM)对稳态快速失活的影响。

[0090] 图4B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对在对照(10mM)葡萄糖浓度下孵育的Nav1.5转染细胞的SSFI的影响。

[0091] 图4C提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对在50mM葡萄糖中孵育24小时的Nav1.5转染细胞稳态快速失活的影响.

[0092] 图4D提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对在100mM葡萄糖中孵育24小时的Nav1.5转染细胞稳态快速失活的影响.

[0093] 图4E提供了高葡萄糖(25、50或100mM)或甘露醇(100mM)对Nav1.5转染细胞稳态快速失活的影响。

[0094] 图4F提供了大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或Tempol(1mM,灌注或100μM或1mM培养)或其载体对在高(100mM)葡萄糖浓度下培养24小时的Nav1.5转染细胞稳态快速失活的影响。

[0095] 图5A提供了高葡萄糖(50或100mM)对Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响。

[0096] 图5B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对在对照(10mM)葡萄糖浓度下孵育的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响.

[0097] 图5C提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对在50mM葡萄糖中孵育24小时的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响。

[0098] 图5D提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或孵育)或其载体对在100mM葡萄糖中孵育24小时的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响。

[0099] 图5E提供了高葡萄糖(25、50或100mM)或甘露醇(100mM)对Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响。

[0100] 图5F提供了大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或Tempol(1mM,灌注,或100μM或1mM培养)或其载体对在100mM葡萄糖中培养24小时的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响。

[0101] 图6A和6B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或培养)或其载体对在对照、50或100mM葡萄糖中培养24小时的Nav1.5转染细胞持续钠电流百分比的影响。*与相应的“对照”值相比,$P<0.05$。

[0102] 图6C和6D提供了大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或Tempol(1mM,灌注或100μM或1mM培养)或其载体对在100mM葡萄糖中培养24小时的Nav1.5转染细胞的持续钠电流百分比的影响。*与相应的“对照”值相比,$P<0.05$。#与相应的“100mM葡萄糖对应物”相

比,P<0.05。

[0103] 图7A提供了在50或100mM葡萄糖对照溶液中培养24小时的Nav1.5转染细胞的动作电位持续时间。

[0104] 图7B提供了大麻二酚(5μM)、利多卡因(1mM)或Tempol(1mM,灌注或培养)或其载体对在100mM葡萄糖中培养24小时的Nav1.5转染细胞动作电位持续时间的影响。

[0105] 图8提供了大麻二酚、利多卡因或Tempol通过影响心脏电压门控钠通道(Nav1.5)对高糖诱导的氧化作用和细胞毒性的保护作用可能涉及的细胞事件示意图。

[0106] 图9A和9B提供了切割成半横膈膜的大鼠横膈膜图像。

[0107] 图9C显示大麻二酚(100μM)将收缩幅度降低至对照组的约60%,而TTX(300nM)的这一值是约20%

[0108] 图9D、9E和9F分别提供了对照组、大麻二酚和TTX的肌肉收缩的代表性轨迹。

[0109] 图10A和10B提供了在大麻二酚对1-棕榈酰-2-油酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)的分子动力学(MD)模拟中,大麻二酚对每个脂质和脂质扩散的POPC膜面积的影响。

[0110] 图10C提供了作为膜小叶坐标函数的大麻二酚密度估计值,其中脂质双层以0为中心。它提供了大麻二酚在一系列条件下进入膜的分布。磷酸基团的分布以实线表示,大麻二酚的分布以虚线表示。

[0111] 图10D提供了从MD模拟估计的脂质酰基链的顺序参数,前提是大麻二酚在棕榈酰链(C3-C8)的平台区域中引起膜亚甲基的轻微排序。

[0112] 图10E、10F、10G和18A、18B和18C提供了分子动力学的结果,表明大麻二酚倾向于优先定位在磷酸头和脂肪链底端之间,靠近POPC分子脂肪链的碳3-7

[0113] 图10F、10G和10H以及图18A、18B和18C提供了三种不同温度(20℃、30℃和40℃)下贫氘水中POPC-d31和POPC-d31/大麻二酚(比例为4:1)的NMR数据。

[0114] 图11A、11B、11C和11D提供了在-120、-80、0和+50mV时电流幅度与细胞膜电容(pA/pF)之比的平均短杆菌肽电流密度。

[0115] 图11A、11B和11C提供了作为阳性对照的1μM(～失活NavIC505)和10μM(～静止NavIC055)大麻二酚以及10μMTritonX100(TX100)对对短杆菌肽-HEK细胞的作用。

[0116] 图11C显示TX100改变了所有电位上的阳离子短杆菌肽电流(p<0.05)。图11C还表明了大麻二酚与TX100具有相反的效果,并且在1μM(p<0.05)和10μM(p>0.05)下都略微改变了短杆菌肽电流。

[0117] 图11E、11F、11G和11H提供了在降低细胞外钠[Na+=1mM]的情况下进行的基于短杆菌肽(gA)的分析的结果。对于大麻二酚和TX100,该实验产生了与高[Na+]实验相同的短杆菌肽电流密度变化总体趋势。

[0118] 图12A和12B提供了使用人类Nav1.4冷冻电镜结构的分子对接研究。这些图显示大麻二酚停靠在Nav1.4孔上,支持在LA站点可能发生的相互作用。

[0119] 图12A是大麻二酚的侧视图,其停靠在人类Nav1.4结构的孔中。该结构按域着色。DIV以深蓝色着色。

[0120] 图12B是放大的侧视图,F1586以黄色着色。

[0121] 图12C、12D、12E和12F提供了F1586A与WT-Nav1.4相比的生物物理特性。

[0122] 图12C和12D提供了来自WT-Nav1.4和F1586A的具有代表性的宏观电流轨迹系列。

[0123] 图12E提供了作为标准化电导对膜电位绘制的电压依赖性激活(Nav1.4:V1/2＝-19.9±2.7mV,z＝2.8±0.3;F1586A:V1/2＝-22.4±2.2mV,z＝3.0±0.3;n＝5-7)。

[0124] 图12F显示,当将F1586A的生物物理特性与WT-Nav1.4进行比较时,失活电压依赖关系几乎相同(p>0.05)。它提供了SSFI的电压依赖性,作为根据膜电位绘制的标准化电流(Nav1.4:V1/2＝-66.9±2.8mV,z＝-2.6±0.3;F1586A:V1/2＝-63.3±3.0mV,z＝-3.5±0.3;n＝8-9)。

[0125] 图12G和12H提供了利多卡因/大麻二酚在1Hz和-110mV(静止)下对Nav1.4和F1586A的抑制,在1Hz时从-110mV(静止)(利多卡因-Nav1.4:平均阻滞＝60.6±2.3%;利多卡因-F1586A:平均阻滞＝24.6±9.3%;大麻二酚-Nav1.4:平均阻滞＝42.4±6.4%;大麻二酚-F1586A:平均阻滞＝25.3±4.8%;n＝3-5)。

[0126] 图12G和12H提供了利多卡因/大麻二酚在1Hz和-110mV(静止)下对Nav1.4和F1586A的抑制作用(利多卡因-Nav1.4:平均阻滞＝60.6±2.3%;利多卡因-F1586A:平均阻滞＝24.6±9.3%;大麻二酚Nav1.4:平均阻滞＝42.4±6.4%;大麻二酚-F1586A:平均阻滞＝25.3±4.8%;n＝3-5)。

[0127] 图13A-13G提供了大麻二酚与Nav窗的相互作用以及通过Nav窗进行的相互作用。

[0128] 图13A提供了与人类Nav1.4结构对接的大麻二酚的侧视图。该结构按域着色,大麻二酚以紫色表示。

[0129] 图13B提供了人类Nav1.4所有四个侧面的侧视图(按领域着色)。Nav1.4窗口以红色突出显示,以及突变为色氨酸(W)的各个残基的位置。

[0130] 图13C提供了开窗的计算诱变结果:2个完全遮挡和2个部分遮挡(平行区域)。

[0131] 图13D提供了利多卡因(1.1mM)对Nav1.4和WWWW的抑制,电位-110mV(静止),频率为1Hz(Nav1.4:平均阻滞＝60.6±2.3%;WWWW:平均阻滞＝53.6±11.7%),氟卡尼(350μM)抑制(Nav1.4:平均阻滞＝64.6±6.0%;WWWW:平均阻滞＝76.4±11.3%)和大麻二酚(10μM)抑制(Nav1.4:平均阻滞＝42.4±6.4%;WWWW:平均阻滞＝6.4±1.3%;n＝3-5面板宽)。

[0132] 图13E从侧视图提供了通过Nav1.5开窗的大麻二酚通路,正如MD模拟所预测的,红色和蓝色分别与大麻二酚开窗的内部和外部相关。

[0133] 图13F从通道的顶视图提供了大麻二酚路径。

[0134] 图13G提供了大麻二酚随时间从通道内到通道外移动的渐进快照。

[0135] 图14A-14D提供了大麻二酚(1μM)对Nav1.4门控的影响。

[0136] 图14A和14B提供了作为标准化电导对膜电位绘制的激活电压依赖性(对照:V1/2＝-19.9±4.2mV,z＝2.8±0.3;大麻二酚:V1/2＝-14.3±4.2mV,z＝2.8±0.3;n＝5)和标准化的激活电流作为电位的函数。

[0137] 图14C提供了根据膜电位绘制的SSFI的电压依赖性(对照:V1/2＝-64.1±2.4mV,z＝-2.7±0.3;大麻二酚:V1/2＝-72.7±3.0mV,z＝-2.8±0.4;n＝5-8)。

[0138] 图14D提供了从快速失活中恢复的时间:500ms(对照:τFast＝0.0025±0.00069s,τSlow＝0.224±0.046s;大麻二酚:τFast＝0.0048±0.00081s;τSlow＝0.677±7)n.

[0139] 图15A-15H提供了大麻二酚(1μM)对肌强直/低钾周期性麻痹变体P1158S门控的影响。

[0140] 图15A和15B提供了在pH7.4(对照:V1/2＝-30.0±3.3mV,z＝3.1±0.2;大麻二酚:

V1/2＝-32.7±3.6mV,z＝2.9±0.2;n＝7-8)和pH6.4(对照:V2/2＝-23.0±3.3mV,z＝2.9±0.2;大麻二酚:V1/2＝-21.1±3.3mV,z＝2.5±0.2;n＝8)下,根据膜电位绘制的标准化电导图的激活电压依赖性。

[0141] 图15C和15D提供了SSFI在pH7.4(对照组:V1/2＝-73.2±2.6mV,z＝2.9±0.2;大麻二酚:V1/2＝-83.0±2.6mV,z＝3.0±0.3;n＝7)和pH6.4(对照组:V1/2＝-68.4±3.0mV,z＝2.7±0.4;大麻二酚:V1/2＝-81.7±2.3mV,z＝2.7±0.3;n＝5-9)下对膜电位的电压依赖性。

[0142] 图15E和15F提供了在pH7.3(对照:τ快速＝0.0018±0.006s,τ慢速＝0.15±0.6s;大麻二酚:τ快速＝0.24±0.07s;τ慢速＝2.5±0.6s;n＝6-7)和pH6.4(对照:τ快速＝0.065±0.04s,τ慢速＝0.75±0.4s;大麻二酚:τ快速＝0.13±0.07s;τ慢速＝0.62±0.1s;n＝4-7)下500ms从快速失活中恢复。

[0143] 图15G和15H提供了从200ms去极化脉冲测量的在pH7.4(对照组:百分比＝4.4±1.2%;大麻二酚:百分比＝1.0±0.2%;n＝4)和pH6.4(对照组:百分比＝4.4±2.1%;大麻二酚:百分比＝5.4±1.2%;n＝5-6)下从维持电位-130mV到0mV的持续电流。

[0144] 图16A-16F提供了基于电压钳数据在存在和不存在大麻二酚时骨骼肌动作电位的AP模拟。图顶部显示了用于模拟的脉冲方案,以及P1158S-pH体外/计算机内测定的卡通表示,其中pH可用于控制P1158S表型。

[0145] 图16A-16F基于电压钳数据,提供了存在和不存在大麻二酚时骨骼肌动作电位的AP模拟。图的顶部显示了用于模拟的脉冲方案,以及P1158S体外/体内pH值分析的卡通图示,其中pH值可用于控制P1158S表型。

[0146] 图16A和16B在存在和不存在大麻二酚的情况下提供了WT-Nav1.4中的模拟。

[0147] 图16C和16D提供了P1158S在pH6.4下的模拟。

[0148] 图16E和16F提供了pH7.4下的结果。

[0149] 图17提供了大麻二酚抑制Nav1.4的机制和途径的卡通图示。一旦大麻暴露于骨骼肌,鉴于其高亲脂性,大部分进入肌膜。进入肌膜后,它定位于小叶的中间区域,并通过Nav1.4开窗进入毛孔。LAF1586A的孔内突变降低了大麻二酚抑制。大麻二酚还改变了膜的刚度,从而促进了Nav通道的失活状态,从而增加了整体的大麻二酚抑制作用。最终结果是骨骼肌的电兴奋性降低,这至少部分有助于减少肌肉收缩。

[0150] 图18A、18B和18C提供了不同温度下的2H核磁共振。

[0151] 图18A、18B和18C提供了在20、30和40℃下与POPC膜相关的顺序参数。

[0152] 图19A-19C提供了大麻二酚在基于短杆菌肽的荧光测定(GFA)中改变脂质双层特性。

[0153] 图19A提供了荧光猝灭轨迹,显示了含有DC22:1PCLUV且不含药物(对照组,黑色)的短杆菌肽中ANTS荧光的Tl+猝灭,并在所述浓度下与大麻二酚孵育10分钟。每种药物的结果代表5到8次重复(点)及其平均值(实线白线)。

[0154] 图19B提供了具有拉伸指数拟合(红色实线)的单个重复(点)。

[0155] 图19C提供了由在不同浓度的大麻二酚(红色)和TX100(紫色,来自43)下的拉伸指数拟合确定的荧光淬灭率,标准化为不存在药物时的淬灭率。平均值±标准偏差,n＝2(对于大麻二酚)。

[0156] 图20A、20B和20C使用等温滴定量热法(ITC)提供了大麻二酚与DIV-S6的相互作用。

[0157] 图20A提供了将100mM利多卡因滴定到1mM肽或空白缓冲液中的代表性ITC迹线。

[0158] 图20B提供了将40mM大麻二酚滴定到1mM肽或空白缓冲液中的代表性ITC迹线。

[0159] 图20C和20D提供了(C)空白条件减去蛋白质条件下的滴定热,显示了利多卡因,和(D)大麻二酚。观察到利多卡因滴定的峰值热值为968.0±23.4kcal*mol-1,卡那比多滴定的峰值热值为1022.2±160.6kcal*mol-1(n=3-4)。

[0160] 图21A-21E提供了Nav1.4开窗与大麻二酚的相互作用。

[0161] 图21A至21D提供了使用分子对接置于人Nav1.4结构中的大麻二酚。

[0162] 图21E提供了在没有(黑色)和有大麻二酚通过开窗的情况下(红色和绿色,两个不同的模拟参数集),开窗残余物随时间的变化的RMSD。类似的RMSD图像表明,大麻二酚的通过不会扭曲开窗的结构完整性。

[0163] 图22A-22E提供了大麻二酚稳定开窗闭塞结构中的失活。

[0164] 图22A和22B提供了WWWW构建体中对照(细胞外(ECS)溶液)(22A)和大麻二酚(22B)之前和之后SSFI的电压依赖性。进行ECS实验是为了确保大麻二酚条件中的超极化变化不是由于与内部(CsF)溶液中的氟化物相关的可能的混杂效应。

[0165] 图22C和22D提供了灌注前后失活电流的代表性系列。大麻二酚不会阻断峰值电流,而是将SSFI曲线向左移动。

[0166] 图22E提供了灌注前后SSFI中点的平均超极化偏移(对照=2.7±1.6mV;大麻二酚=24.0±6.6mV,n=3-8)。

[0167] 图23A提供了炎症介质或100mM葡萄糖或它们的载体的混合物(24小时)对Nav1.5转染细胞的电导曲线的影响,其中插入显示了方案(每个n=5)。

[0168] 图23B提供了炎症介质混合物或100mM葡萄糖或其载体(24小时)对Nav1.5转染细胞的SSFI的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0169] 图23C提供了炎症介质或100mM葡萄糖或其载体的混合物(24小时)对Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0170] 图23D提供了炎症介质或100mM葡萄糖或其载体的混合物(24小时)对Nav1.5转染细胞的持续钠电流百分比的影响,其中插物显示了方案(n=5,每个)。

[0171] 图23E提供了宏观电流的典型系列。

[0172] 图23F提供了跨越条件的代表性持续电流。电流标准化为峰值电流振幅。插图显示了非标准化电流。

[0173] 图23G提供了在炎症介质或100mM葡萄糖或载体中培养24小时的Nav1.5转染细胞的电脑模拟动作电位持续时间。*与相应的“对照”值相比,P<0.05。

[0174] 图24A提供了炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂在Nav1.5转染细胞电导曲线上的作用,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0175] 图24B提供了炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活物(PMA;10nM,20分钟)对Nav1.5转染细胞SSFI的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0176] 图24C提供了炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPT-cAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂(PMA;10nM,20分钟)对从Nav1.5转染细胞,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0177] 图24D提供了炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPT-cAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂(PMA;10nM,20分钟)对持久性钠百分比的影响Nav1.5转染细胞的电流,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0178] 图24E提供了宏观电流的代表性系列。

[0179] 图24F提供了跨越条件的代表性持续电流。

[0180] 电流被标准化为峰值电流幅度。插图显示非标准化电流。跨条件的代表性持续电流。

[0181] 图24G提供了PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)、PK-C激活物(PMA;10nM,20分钟)或炎症介质(24小时)对Nav1.5转染细胞的经由电脑模拟的动作电位持续时间的影响。*与相应的"对照"值相比,P<0.05。

[0182] 图25A提供了PK-A抑制剂(H-89,2μM 20分钟)或PK-C抑制剂(Gö6983,1μM 20分钟)或其载体对在炎症介质中培养24小时的Nav1.5转染细胞电导曲线的影响,插入物显示方案(n=5,每个)。

[0183] 图25B提供了PK-A抑制剂(H-89,2μM 20分钟)或PK-C抑制剂(Gö6983,1μM 20分钟)或其载体对在炎症介质中培养24小时的Nav1.5转染细胞SSFI的影响,插入物显示方案(n=5,每个)。

[0184] 图25C提供了PK-A抑制剂(H-89,2μM,20分钟)或PK-C抑制剂(Gö6983,1μM(20分钟))或其载体对在炎症介质中培养24小时的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响,插入物显示了方案(n=5,每个)。

[0185] 图25D提供了PK-A抑制剂(H-89,2μM,20分钟)或PK-C抑制剂(Gö6983,1μM(20分钟))或其载体对在炎症介质中培养24小时的Nav1.5转染细胞的持续钠电流百分比的影响,插入物显示方案(n=5,每个)。

[0186] 图25E提供了宏观电流的代表性系列。

[0187] 图25F提供了跨条件的代表性持续电流。

[0188] 电流标准化为峰值电流振幅。插图显示了非标准化电流。跨越条件的代表性持续电流。

[0189] 图25G提供了PK-A抑制剂(H-89,2μM 20分钟)或PK-C抑制剂(Gö6983,1μM 20分钟)对在炎症介质中培养24小时的Nav1.5转染细胞的电脑模拟动作电位持续时间的影响。*与相应的"Control/Veh"值相比,P<0.05。#与相应的"炎症介质/Veh"值相比,P<0.05。

[0190] 图26A提供了大麻二酚(5μM,灌注)对Nav1.5转染细胞的电导曲线的影响,这些细胞与炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM;20分钟)或PK-C活化剂(PMA;10nM,20分钟)孵育,插入物显示方案(n=5,每个)。

[0191] 图26B提供了大麻二酚(5μM,灌注)对与炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPT-cAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂(PMA;10nM,20分钟),插入显示方案(n=5,每个)。

[0192] 图26C提供了大麻二酚(5μM,灌流)对与炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM;20分钟)或PK-C激活物(PMA;10nM,20分钟)孵育的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响,插入显示方案(n=5,每个)。

[0193] 图26D提供了大麻二酚(5μM,灌流)对与炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM;20分钟)或PK-C激活物(PMA;10nM,20分钟)孵育的Nav1.5转染细胞持续钠电

流百分比的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0194] 图26E提供了具有代表性的宏观电流族。

[0195] 图26F提供了跨条件的代表性持续电流。电流被标准化为峰值电流幅度。插图显示非标准化电流。跨条件的代表性持续电流。

[0196] 图26G提供了大麻二酚(5μM,灌注)对Nav1.5转染细胞在炎症介质(24小时)或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM;20分钟)或PK-C活化剂(PMA;10nM,20分钟)中培养的电脑模拟动作电位持续时间的影响。*与相应的"Control/Veh"值相比,P<0.05。

[0197] 图27A提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对Nav1.5转染细胞在100mM葡萄糖中孵育(24小时)的电导曲线的影响,其中插入显示了方案(每个n=5)。

[0198] 图27B提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对100mM葡萄糖(24小时)中Nav1.5转染细胞SSFI的影响,插入显示方案(n=5,每个)。

[0199] 图27C提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对Nav1.5转染细胞在100mM葡萄糖(24小时)中从快速失活中恢复的影响,插入显示了方案(每个n=5)。

[0200] 图27D提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对Nav1.5转染细胞在100mM葡萄糖(24小时)中的持续钠电流百分比的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0201] 图27F提供了跨条件的代表性持续电流。电流被标准化为峰值电流幅度。插图显示非标准化电流。跨条件的代表性持续电流。

[0202] 图27G提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对在100mM葡萄糖中培养(24小时)的Nav1.5转染细胞的电脑模拟动作电位持续时间的影响。*与相应的"Control/Veh"值相比,P<0.05。#与相应的"100mM葡萄糖/Veh"值相比,P<0.05。

[0203] 图28A提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对Nav1.5转染细胞在炎症介质(24小时)、PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C活化剂(PMA;10nM,20min)中培养的电导曲线的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0204] 图28B提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对在炎症介质(24小时)、PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂中培养的Nav1.5转染细胞SSFI的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0205] 图28C提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对在炎症介质(24小时)、PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂中培养的Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。

[0206] 图28D提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对Nav1.5转染细胞在炎症介质(24小时)、PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C活化剂(PMA;10nM,20min)中孵育的持续钠电流百分比的影响,插入显示了方案(n=5,每个)。图6E提供了宏观电流的代表性系列。

[0207] 图28F提供了跨条件的代表性持续电流。电流被标准化为峰值电流幅度。插图显示非标准化电流。跨条件的代表性持续电流。

[0208] 图28G提供了雌二醇(E2)(5或10μM)对在炎症介质(24小时)、PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM,20分钟)或PK-C激活剂中培养的Nav1.5转染细胞的电脑模拟动作电位持续时间的影响。

[0209] 图29-涉及大麻二酚保护作用的可能细胞途径示意图。雌二醇(E2)通过影响心脏电压门控钠通道(Nav1.5)对抗高葡萄糖诱导的炎症和PK-A和PK-C的激活。

[0210] 图30A——显示了作为膜电位函数绘制的电导。结果发现，在炎症介质中孵育24小时后，激活V1/2显著右移(P＝0.0015)(从-37.3±1.2mV右移到-22.3±2.4mV，各n＝4)，激活曲线z减小(P＝0.0034)(从3.8±0.16mV右移到2.7±0.17mV，每n＝4个)。

[0211] 图30B-它显示了作为预脉冲电位函数绘制的标准化电流振幅。炎症介质导致从玻尔兹曼拟合获得的V1/2正向显著偏移(P＝0.0084)(从-92.3±3.4mV到-77.1±1.7mV，每个n＝4)。

[0212] 图30C-与对照组相比，炎症介质中的孵育显著增加INap(炎症介质:P<0.0001)(从0.80±0.05到5.44±0.11)。

[0213] 图30D和30E-提供了跨条件的宏观和持续电流的代表性系列。

[0214] 图31A提供了电流振幅随时间变化的曲线图(单位:毫秒)，该曲线图提供了细胞与阿奇霉素孵育时的晚期钠电流。用5μM大麻二酚进一步灌注细胞可降低晚期电流。

[0215] 图31B提供了电流振幅与时间的关系曲线(单位:毫秒)，该曲线提供了细胞与阿奇霉素孵育时的晚期钠电流。用5μM大麻二酚进一步灌注细胞可降低晚期电流。所使用的细胞是不同的。

[0216] 图32A提供了在对照组(10mM葡萄糖)、高(100mM)葡萄糖或高糖和5uM大麻二酚中培养的Nav1.5转染细胞的电导曲线的影响。高糖培养使激活曲线向右移动。大麻二酚与高糖共同孵育可挽救激活。

[0217] 图32B提供了在对照组(10mM葡萄糖)、高(100mM)葡萄糖或高糖和5uM大麻二酚中培养的Nav1.5转染细胞的标准化电流曲线的影响。高糖培养使稳态失活向右移动。大麻二酚与高糖共同孵育可挽救稳态失活。

[0218] 图32C提供了在对照组(10mM葡萄糖)、高(100mM)葡萄糖或高糖和5uM大麻二酚中培养的Nav1.5转染细胞的持续钠电流百分比的影响。高糖培养增强了持续钠电流。与大麻二酚共同孵育可降低晚期钠电流。

[0219] 图32D提供了在对照组(10mM葡萄糖)、高(100mM)葡萄糖或高糖和5uM卡那比多中培养的Nav1.5转染细胞的动作电位的影响。高糖孵育导致动作电位延长。与大麻二酚共同孵育可降低动作电位，与对照组无明显区别。

[0220] 图32E和32F分别提供了激活方案(32E)和持续电流方案(32F)期间记录的电流轨迹。

具体实施方式

[0221] 发明的详细描述

[0222] 钠电流通过Nav(钠通道)在神经元、心肌和骨骼肌中启动动作电位(AP)。主要在骨骼肌中表达的Nav亚型是Nav1.4，而主要在心肌中表达的是Nav1.5。

[0223] 本发明提供了一种新型治疗剂大麻二酚的组合物，其通过对钠通道Nav1.5和1.4的作用来治疗各种心脏疾病、炎症和骨骼肌疾病。

[0224] 钠通道Nav1.5——治疗心脏疾病的分子靶点。

[0225] 在心肌中，钠电流有助于心室动作电位。通常，钠通道激活，然后迅速失活，剩余的动作电位由钙和钾通道控制。

[0226] Nachimuthu等人在图1中提供了心脏去极化和复极的五个阶段，其中前两个阶段

(阶段0和阶段1)分别以钠离子的大内向电流(阶段0)和去极化钠电流的失活(阶段1)为特征。

[0227] 钠通道的激活、稳态快速失活、失活的稳定和失活后的恢复对钠通道的正常功能至关重要。除非钠通道从快速失活中恢复过来,否则它们不能被激活,除非它们被激活,否则它们还不准备参与进一步的动作电位。

[0228] 某些生理条件和某些诱导条件可能会影响钠通道的正常功能。这些条件影响钠通道的门控特性。这种门控特性受到影响的通道在此也称为受不利影响的钠通道。这种钠通道在任何给定的膜电位下都不太可能激活。此外,如果钠通道不能正常失活,这会导致晚期钠电流或持续性钠电流,延长动作电位持续时间并延迟复极。复极延迟导致QT延长,即QRS复合波和心电图T波之间的时间增加。

[0229] 本发明提供一种新治疗剂的药物组合物,其作用于钠通道并纠正钠通道门控特性中的缺陷。这被称为挽救受到不利影响的钠通道,以恢复这些通道的正常电生理。新的治疗剂可以消除晚期/持续性钠电流,从而防止i)动作电位延长和ii)复极延迟。因此,新的治疗剂为长QT心律失常和几种心脏功能障碍提供了突破性治疗,这些心律失常是由a)门控特性缺陷或b)超兴奋性或c)心律失常或c)导致心律失常的疾病引起的。新的治疗剂是大麻二酚。

[0230] 这些药物组合物还包括一种或多种适合给药给有需要的个人的药物载体。药物组合物适于作用于至少一个分子靶点Nav1.5。这些药物组合物在以下各种心血管疾病的一种或多种发病机制中产生有益作用,包括但不限于长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、,心力衰竭、肥厚型心肌病、缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病,心脏重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物引起的心力衰竭、医源性心脏病和血管病,或其任何组合,缺血。这些药物组合物在以下各种心血管疾病的一种或多种发病机制中产生有益作用,尤其包括长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚型心肌病和缺氧。

[0231] 正如Nachimuthu等人在一篇论文中提到的那样,已经识别出超过10种不同类型的先天性LQTS[Hedley et al.2009;Modell and Lehmann,2006;Roden,2008]。LQT1、LQT2和LQT3占先天性LQTS病例的大多数。此外,Nachimuthu等人提到LQT3占病例的8-10%[Schwartz et al.2001;Splawski et al.2000]。它是由位于3号染色体21-24位点的钠通道基因(SCN5A)突变引起的。它的特点是在休息或睡眠期间发生病症。

[0232] 钠通道突变是遗传的,因此从出生就存在,导致遗传的长QT3。除了遗传性长QT3外,后天性长QT可能由于各种条件和原因而出现。Nachimuthu等人在其题为“药物诱导的QT间期延长:机制和临床管理(Drug-induced QT interval prolongation:mechanisms and clinical management)”的文章中提供了导致获得性长QT的药物清单。

[0233] 除了几种药物外,某些疾病/病症也会导致长QT,例如糖尿病、高血糖、缺血等。最近爆发的Covid-19被发现会导致患者出现长QT和几种心脏疾病。

[0234] 钠通道的正常功能受到影响的几种情况中的一些是糖尿病或高血糖症。在糖尿病和低血糖患者中,这种获得性长QT综合征似乎会导致心脏并发症。

[0235] 因此,无论是遗传的还是由于药物或疾病获得的,LQT都与钠通道正常功能出现问题有关。换言之,钠通道的门控特性受到影响,从而导致过度兴奋。

[0236] 因此,发明人发现钠通道Nav1.5是一种分子治疗靶标,用于减轻几种心脏疾病的不良后果,包括用于治疗长QT和心律失常的钠通道的过度兴奋或门控特性的其他问题。

[0237] 发明人已经进行了几个实验来研究钠通道的电生理变化以完成本发明。首先使用各种介质来诱导钠通道的门控变化,然后用新的治疗剂治疗这种受到不利影响的钠通道,以检查通道是否可以挽救。使用中国仓鼠卵巢产生钠通道。

[0238] 编码Nav1.5α-亚基、β1-亚基和eGFP。

[0239] Nav1.5的编码如下。中国仓鼠卵巢(CHO)在pH7.4的过滤无菌F12(Ham)营养培养基(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific,Waltham,MA,USA)中生长,补充5%FBS并保持在37℃的湿润环境中含5%的二氧化碳。将细胞与编码Nav1.5α-亚基、β1-亚基和eGFP的人类cDNA瞬时共转染。根据(Qiagen,Germantown,MD,USA)转染方案进行转染。每组转染后允许至少孵育8小时。随后用0.25%胰蛋白酶-EDTA(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific)解离细胞。

[0240] 这些细胞已准备好接受各种可能引起门控特性变化的介质。如果观察到钠通道Nav1.5的门控特性发生变化,它们会受到不利影响,可用于进一步研究。

[0241] 本发明集中于一种新的治疗剂以确定其在各种心脏疾病中的潜在作用。本发明旨在通过研究其对钠通道Nav1.5的作用来研究新治疗剂的作用,钠通道Nav1.5是心脏的主要心脏钠通道异构体。为了研究这种影响,首先产生受到不利影响的钠通道,用治疗剂处理这些钠通道以检查是否可以挽救这种不利影响。受到不利影响的钠通道是那些其门控特性受到影响的钠通道,因此它们至少存在一个问题,即它们没有激活,或者它们没有正确失活,或者它们没有从失活中恢复以参与进一步的动作电位等。

[0242] 本发明人惊奇地发现了产生不利影响的钠通道Nav1.5的两种类型的介质。这些介质是高血糖状况和炎症。

[0243] 在研究的第一部分,高葡萄糖条件被用作导致门控特性缺陷的介质,而在研究的第二部分,炎症介质被用来模拟炎症对门控特性的影响。此外,本发明人惊奇地发现受不利影响的钠通道被研究中使用的新治疗剂挽救,因此这些新治疗剂在涉及这种受不利影响的钠通道的各种心脏疾病的治疗中提供了突破。

[0244] 除了电生理学变化之外,发明人还研究了通过一种或多种介质的作用形成活性氧物质对钠通道的影响。高葡萄糖条件增强了活性氧的形成,这也得到了另一个实验的支持,在该实验中测量了细胞活力并发现它降低了。由于介质作用于钠通道而产生的活性氧物质被新的治疗剂减少。由于新的治疗剂而增强的细胞活力支持了这一点。这项研究表明,如果任何介质诱导活性氧的形成,新的治疗剂能够减少活性氧的形成,从而防止氧化损伤。如果活性氧变得不受控制,这可能会导致过度兴奋、细胞毒性和动作电位延长,从而导致长QT心律失常和其他心脏疾病。

[0245] 人心肌细胞

[0246] 除了编码的钠通道外,人类心肌细胞还用于检查一种或多种介质是否会导致人类心肌细胞的电生理变化,以及是否观察到变化,新的治疗剂是否能将心肌细胞从这些变化中挽救出来。

[0247] 人心肌细胞制备如下:

[0248] 通过将冷冻的冷冻管浸入37℃水浴中,将解冻的心肌细胞转移到50-ml管中并稀

释用10ml冰冷的电镀培养基(Cellular Dynamics International,kit 01434,Madison,WI,USA)(Ma等人,2011年)。对于单细胞膜片钳记录,玻璃盖玻片涂有0.1%明胶(Cellular Dynamics International,kit 01434,Madison,WI,USA)并放入24孔板的每个孔中1小时。然后在每个盖玻片中加入1ml含有40,000-60,000个心肌细胞的iCPM。铺板的心肌细胞密度低,可作为单细胞进行培养,并储存在保持在37℃和7%CO2的环境控制培养箱中。48小时后,将iCPM更换为细胞培养基(Cellular Dynamics International,kit 01434,Madison,WI,USA),每隔一天更换一次,将心肌细胞在盖玻片上维持到使用前4至21天(Maetal.,2011)。

[0249] 这些人类心肌细胞已准备好接受各种可能引起门控特性变化的介质,这些变化可以从这些细胞的电生理变化中反映出来。如果观察到人心肌细胞的门控特性发生变化,它们可用于涉及治疗剂的进一步研究,以检查治疗剂是否可以挽救这些电生理变化。

[0250] 发明人发现人类心肌细胞的行为与编码的钠通道完全相似。影响钠通道Nav1.5门控特性的介质也以类似方式影响心肌细胞的电生理学(图30A和30D)。新的治疗剂还挽救了由介质诱导的人类心肌细胞的电生理变化。

[0251] 介质的选择:

[0252] 研究的第一部分

[0253] 影响Nav(钠通道)门控特性的几种情况之一是糖尿病或高血糖症。

[0254] 由Viskupicova等人提供(Viskupicova等人,2015年)。

[0255] i)高血糖是糖尿病并发症发生和发展的最重要因素;

[0256] ii)高葡萄糖浓度通常用作模拟糖尿病体内高血糖情况的模型,并且以前曾使用高葡萄糖浓度(高达100mM的D-葡萄糖)来模拟基于所用细胞系的人类高血糖。

[0257] 因此,高葡萄糖似乎是调节钠通道门控特性的条件之一。本发明人已经发现,高葡萄糖至少部分地通过氧化应激对Nav1.5(心脏的主要心脏钠通道同种型)产生不利影响。高葡萄糖调节Nav1.5的门控特性以诱导过度兴奋。因此,发明人提出Nav1.5可以是用于减轻糖尿病/高葡萄糖的有害后果的分子治疗靶标。

[0258] 高葡萄糖调节Nav1.5的门控特性以诱导过度兴奋。钠通道的过度兴奋进一步导致几种心脏疾病。因此,为了模拟各种心脏疾病中钠通道的状况,考虑使用高葡萄糖浓度(高达100mM的D-葡萄糖)。

[0259] 发明人已使用高葡萄糖浓度(高达100mMD-葡萄糖)来模拟人类高血糖状况/糖尿病状况。

[0260] 因此,使用高糖作为介质有以下两个目的:

[0261] 1.在高血糖或糖尿病患者中,钠通道Nav1.5受到不利影响。由于Nav1.5是心脏的主要心脏钠通道异构体,因此此类患者还患有各种心脏疾病。因此,高葡萄糖浓度(高达100mM的D-葡萄糖)用于模拟各种心脏疾病中受到不利影响的钠通道。

[0262] 2.高葡萄糖浓度(高达100mMD-葡萄糖)模拟人类高血糖状况/糖尿病状况。这样的病人更容易患心脏病。因此,高葡萄糖浓度(高达100mM的D-葡萄糖)用于模拟高血糖/糖尿病患者中受到不利影响的钠通道,这些患者代表更容易患各种疾病的人群。

[0263] 在本发明中,发明人惊奇地发现,高糖条件影响了钠通道的所有门控特性。此外,高糖条件会引发氧化应激和细胞毒性。活性氧(ROS)的形成以多种方式表现出来,导致钠通

道Nav1.5的严重发病，从而产生细胞毒性作用，降低细胞活力、过度兴奋，并进一步延长动作心电位、LQT和心律失常。细胞内活性氧的积累可能会导致DNA、RNA和蛋白质受损，并可能导致细胞死亡。

[0264] 此外，发明人已经测试了几种治疗剂，包括一种新的治疗剂，以检查这些药物，特别是新的药物是否可以将这些通道从高糖的影响中挽救出来。

[0265] 除了新的治疗剂大麻二酚之外，在研究设计中还添加了被称为参考化合物或用于治疗各种心脏疾病的参考的标准治疗剂作为对照。例如，利多卡因用于治疗室性心律失常或无脉性室性心动过速(除颤、尝试、CPR和血管加压药给药后)。使用的另一种治疗剂/参考是Tempol，它也用作对照。Tempol是一种抗氧化剂，据报道可减少氧化应激并减轻氧化损伤。

[0266] 抗氧化剂在减少活性氧及其作用的同时发挥三个主要作用。

[0267] (i)直接清除已形成的活性氧；(ii)抑制活性氧的进一步形成；(iii)消除或修复由活性氧造成的损坏或修改。

[0268] 已在临床试验中研究了使用tempol作为血管扩张剂。如果这些现有的治疗剂显示出对不利影响的钠通道的挽救，那么任何潜在的治疗剂也必须显示出这种挽救。对照治疗剂表现出的效果也称为参考化合物或简称为参考和新的治疗剂进行比较，以检查新的治疗剂的性能。测试新的治疗剂大麻二酚和tempol以检查它们是否可以挽救高葡萄糖诱导的细胞毒性作用和高葡萄糖诱导的ROS形成对钠通道Nav1.5的影响。

[0269] 发明人惊奇地发现，新的治疗剂大麻二酚在减少活性氧物质的形成和作用方面至少与tempol一样好，从而最大限度地减少和完全消除这些通道过度兴奋的机会。该数据由细胞活力数据支持。由于活性氧物质的形成减少，细胞活力大大增强。由于体内各种情况下都会产生细胞毒性作用和活性氧物质，因此新的治疗剂大麻二酚可用于治疗这种疾病，如果不对这种疾病加以控制，可能会导致严重的发病机制，甚至可能导致致命的疾病。

[0270] 发明人惊奇地发现，新的治疗剂大麻二酚能够挽救已表现出电生理变化的受到不利影响的钠通道，使得它们可以激活、快速失活和从快速失活中恢复等。

[0271] 此外，新的治疗剂大麻二酚能够减少活性氧的形成，从而降低氧化应激和细胞毒性并增强细胞活力。

[0272] 发明人提供了新型治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，其具有两种功能：

[0273] 1.可以挽救已经受到影响的钠通道门控特性，因此对于治疗各种心脏疾病以及易患心脏疾病的高血糖或糖尿病患者至关重要；

[0274] 2.它们可以通过提供预防作用来防止钠通道受到不利影响，因此i)避免或尽量减少健康人群中心脏疾病的发生；ii)避免或尽量减少易患此类疾病的糖尿病或高血糖患者的心脏疾病的发生。

[0275] 因此，本发明提供了新治疗剂大麻二酚的药物组合物和治疗用途。

[0276] 1.治疗心脏疾病或预防心脏疾病，即防止此类心脏疾病的发生；

[0277] 2.预防性治疗易患心脏病的糖尿病或高血糖人群。。

[0278] 下面描述本发明的几个方面。

[0279] 在第一方面，本发明提供了使用新的治疗剂大麻二酚的各种药物组合物。发明人惊奇地发现，新的治疗剂大麻二酚挽救了受到不利影响的钠通道Nav1.5，因此可以作为治

疗几种心血管疾病的潜在治疗剂。本发明进一步提供了这些药物组合物用于治疗各种心脏疾病的用途。本发明还包括通过施用含有大麻二酚的合适药物组合物来治疗患有各种心脏疾病的患者。

[0280] 因此，本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病。

[0281] 本发明还提供包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中门控缺陷包括下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

[0282] 在这方面，本发明还提供一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻酚，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中门控缺陷的可选项有：晚期或持续的钠电流和动作电位延长。

[0283] 在这方面，本发明还提供了一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起。

[0284] 本发明还提供一种治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法，包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，其中所述门控缺陷包括至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长。

[0285] 在第一方面，本发明还提供一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻酚，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中门控缺陷的可选项有：晚期或持续的钠电流和动作电位延长。

[0286] 这些药物组合物还包括一种或多种适合给药给有需要的个人的药物载体。药物组合物适于作用于至少一个分子靶点，即Nav1.5。这些药物组合物在以下各种心血管疾病的一种或多种发病机制中产生有益作用，包括但不限于长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、缺血、，心力衰竭、肥厚型心肌病和缺氧心肌缺血、心肌梗死(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物引起的心力衰竭、医源性心脏病和血管病，或其任何组合。这些药物组合物在以下各种心血管疾病的一种或多种发病机制中产生有益作用，尤其是长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心律失常、缺血、心力衰竭、肥厚型心肌病和缺氧。

[0287] 高葡萄糖浓度(高达100mM的D-葡萄糖)用于模拟高血糖/糖尿病患者中受到不利影响的钠通道，这些患者代表更容易患各种心脏病的人群。与利多卡因等对照治疗剂(参考化合物或参考)类似，如果大麻二酚可以挽救受到不利影响的钠通道Nav1.5，它是预防高血糖或糖尿病引起的心脏疾病的潜在药物。本发明人惊奇地发现，新的治疗剂大麻二酚挽救了受到不利影响的钠通道Nav1.5，因此可以作为潜在的治疗剂用于治疗可能由高血糖或糖尿病状况诱发的几种心血管疾病。

[0288] 在第二方面，本发明提供了多种药物组合物，其采用新的治疗剂大麻二酚用于治疗由高血糖或糖尿病病症引起的各种心脏疾病。本发明还包括通过施用包含大麻二酚的合适的药物组合物来治疗患有由高血糖或糖尿病引起的各种心脏疾病的患者。

[0289] 因此，本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通

道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中门控缺陷由高血糖或糖尿病状况诱导。

[0290] 在这个方面，本发明进一步提供了治疗患有这种疾病的患者的心脏病的方法，该方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起并且其中所述门控缺陷由高血糖或糖尿病引起。

[0291] 在第三方面，本发明提供了使用新的治疗剂大麻二酚的各种药物组合物，用于避免或最小化更容易发生此类疾病的高血糖症或糖尿病人群中心脏疾病的发生。本发明的药物组合物在本质上对易患心脏疾病的高血糖或糖尿病人群具有预防性，并且可以由高血糖或糖尿病人群在其日常方案中食用。血液/血浆中的大麻二酚水平将帮助个体免受心脏疾病的影响，或至少将此类机会降至最低。本发明进一步提供了这些药物组合物用于避免或最小化高血糖或糖尿病人群中的心脏疾病以及通过施用采用新的治疗剂大麻二酚的药物组合物来实现相同的治疗的用途。

[0292] 因此，在本方面中，本发明提供了一种药物组合物，其包含治疗有效量的大麻二酚，用于避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏病的发生，其中，门控缺陷容易由高血糖或糖尿病状态诱导。

[0293] 在第三方面，本发明进一步提供了一种避免或最小化心脏病发生的方法，包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，其中所述门控缺陷是容易由高血糖或糖尿病状况诱发。

[0294] 因此，根据前三个方面，可能接受新治疗剂大麻二酚药物组合物的患者总结如下：

[0295] 表1：前三个方面的患者人群

[0296]

第一方面	由于钠通道的门控特性缺陷而患有心脏病的患者。
第二方面	由于钠通道的门控特性缺陷而患有高血糖和/糖尿病和心脏病的患者，其中这种心脏病是由高血糖和/糖尿病引起的。
第三方面	患有高血糖和/糖尿病但没有心脏病的患者，但他们容易患上心脏病。

[0297]

[0298] 由于采用新治疗剂大麻二酚的本发明药物组合物有助于消除或最小化钠通道Nav1.5的超兴奋性，从而消除或最小化动作电位和长QT间期的延长，因此这些药物组合物与诱导长QT间隔的其他药物/药物一起使用。

[0299] 在第四方面，本发明提供了多种药物组合物，其采用新的治疗剂大麻二酚来消除或最小化诱导或可能诱导长QT的其他治疗剂/药物的副作用。在这方面，大麻二酚药物组合物增强了其他治疗剂的安全性，并增强了它们的应用，这些应用由于其副作用主要是长QT间期而受到限制。

[0300] 本发明进一步提供了这些药物组合物用于避免或最小化诱导或可能诱导长QT的其他治疗剂/药物的副作用的用途，并通过施用包含新治疗剂大麻二酚的药物组合物来实现相同的治疗。

[0301] 因此，本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病，其中所述门控缺陷包括来自下列的至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速灭活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长；并且其中门控缺陷是由于用另一种治疗剂治疗而引起的。

[0302] 在这个方面，本发明进一步提供了治疗心脏病患者的心脏病的方法，该方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起并且其中所述门控缺陷由于用另一种治疗剂治疗，这种患者会出现这种情况。

[0303] 在这方面，本发明还提供了一种治疗患有这种疾病的患者的心脏病的方法，包括施用含有治疗有效量的卡那地酚的药物组合物，其中心脏病是由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的，并且门控缺陷是由用另一种治疗药物治疗引起的。

[0304] 据报道，Covid-19疫苗会在一些个体中引起严重的副作用，导致长QT心律失常。

[0305] 在第四方面，新治疗剂大麻二酚的药物组合物与Covid-19疫苗或任何可能诱发LQT心律失常的疫苗一起施用。

[0306] 因此，本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生，其中门控缺陷包括来自下列至少一种i)不太可能激活；ii)无法快速失活；iii)不稳定的快速失活；iv)延迟或持续钠电流和v)动作电位延长；并且其中门控缺陷很可能通过施用下列至少一种i)其他治疗剂或ii)Covid-19疫苗来诱导。

[0307] 在这个方面，本发明还提供了一种避免或最小化心脏病发生的方法，该方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中所述心脏病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起，并且其中所述门控缺陷可能通过施用下列至少一种i)其他治疗剂或ii)Covid-19疫苗来诱导。

[0308] 人类心脏钠通道(hNav1.5，由SCN5A基因编码)对于心脏中动作电位的产生和传播至关重要。药物诱导的钠通道抑制降低了心肌细胞去极化的速率，从而降低了传导速度。

[0309] Warner B.和Hoffmann P(Warner B.和Hoffmann P;2002)在他们题为“研究氯氮平引起尖端扭转型室速的潜力(Investigation of the potential of clozapine to cause torsade de pointes)”的文章中提到，抑制心脏钠通道可以减轻药物的hERG通道阻断作用，如图所示用于抗精神病药氯氮平。

[0310] Zequn Z等人提供了可能由于hERG减少而诱导长QT和/或心脏毒性的药物示例，包括氯喹、羟氯喹、阿奇霉素和洛匹那韦/利托那韦，

[0311] 延长QT的药剂的例子包括但不限于药物如阿奇霉素、巴洛沙韦、洛匹那韦和利托那韦；神经氨酸酶抑制剂(如奥司他韦)、瑞德西韦；抗疟药，如磷酸氯喹、羟氯喹；辅助药物如Sarilumab、西罗莫司、托珠单抗和其他药物如ACE抑制剂、血管紧张素II受体阻滞剂(ARB)、布洛芬、消炎痛和氯硝柳胺。

[0312] 阿片类药物也会诱导长QT。Kuryshev等人(Kuryshev等人2010)提到，美沙酮是一种用于治疗慢性疼痛和戒除阿片类药物依赖的合成阿片类药物，与QT间期延长、潜在的致命性尖端扭转型室速和心源性猝死有关。

[0313] 因此，阿片类药物尤其是美沙酮的治疗可将其组合物与本发明的药物组合物联合使用。

[0314] 本发明人已证明阿奇霉素对钠通道Nav1.5的作用，其中他们在10μM阿奇霉素中培养异源表达Nav1.5的细胞，并观察到与对照(无阿奇霉素培养)细胞相比，晚期钠电流增加。此外，发明人用5μM大麻二酚对显示阿奇霉素诱导的晚期钠电流的细胞进行灌注，并观察到晚期电流减少。因此，在需要使用大环内酯类抗生素(可能包括新冠肺炎)治疗的情况下，大

麻二酚可以挽救阿奇霉素的致心律失常作用,因此可以作为一种有用的辅助治疗。

[0315] 在第五方面,本发明提供了在以下两种情况下用于Covid-19治疗的大麻二酚药物组合物:

[0316] 1.Covid-19已在患者体内诱发长QT或Covid-19可能在患有其他合并症的患者体内诱发长QT;

[0317] 2.Covid-19治疗使用任何治疗剂或可能使用任何治疗剂,而该治疗剂已诱发或可能诱发患者的长QT。

[0318] 本发明进一步提供了用于新冠肺炎治疗的大麻二酚药物组合物,其中长QT已经诱导或可能由于新冠肺炎或由于使用任何可能引起LQT的治疗剂治疗Covid-19而诱导,并通过单独或联合施用使用新治疗剂大麻二酚的药物组合物来治疗新冠肺炎患者可能导致或已经导致长QT的其他治疗剂。因此,第五方面涵盖可在新冠肺炎治疗中施用的大麻二酚的药物组合物。此类药物组合物可单独含有大麻二酚或大麻二酚和治疗新冠肺炎的治疗剂。不受限制地,这些其他治疗药物包括抗病毒药物、氯喹、羟基氯喹,甚至维生素等中性药物。这些其他治疗药物也可能包括但不限于天然-有机或有机、阿育吠陀、顺势疗法、悉达和非奈类药物。

[0319] 因此,本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,用于避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生,其中门控缺陷可能在Covid-19流行或大流行中诱发.

[0320] 在这个方面,本发明还提供了避免或最小化心脏疾病的发生的方法,包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,其中心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起,其中门控缺陷可能在Covid-19流行或大流行病中诱发。

[0321] 在Covid-19的治疗中,大麻二酚可以与一种或多种其他治疗剂(例如抗病毒药物)同时或依次给药。特定的例子是,大麻二酚与氯喹/羟氯喹和任选的阿奇霉素同时或依次给药。

[0322] 发明人发现大麻二酚在治疗Covid-19中的作用是多方面的。大麻二酚被认为长期使用是安全的,并且具有心脏保护作用。它可以减少细胞因子并对抗炎症。最重要的是,它降低了晚期钠电流、延长动作电位和LQT,并可以预防/挽救心脏离子通道的过度兴奋。大麻二酚可以挽救Covid-19患者诱发的LQT。此外,它可以提高治疗(该治疗建议使用治疗剂治疗Covid-19,尽管此类治疗剂能够引起LQT)的安全性,这将使人们能够以最好的方式接受Covid治疗。

[0323] 此外,据报道,一些Covid-19疫苗可诱导LQT。因此,大麻二酚可以与疫苗一起使用,这将使群众能够以最好的方式接受Covid疫苗。

[0324] 在第六方面,大麻二酚的药物组合物甚至可以作为预防性治疗剂施用于健康人群以避免发生影响钠通道门控特性的任何心脏疾病。

[0325] 当有可能发生Covid-19时,例如在Covid-19流行或大流行期间,也可以对健康人群进行此类给药。

[0326] 此外,在这方面,当存在任何可能诱发长QT的流行或大流行的可能性时,甚至将大麻二酚药物组合物施用于健康人群。

[0327] 因此,本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,用于预防或预防

性治疗,以避免或最小化由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起的心脏疾病的发生。

[0328] 在这个方面,本发明还提供了一种预防或预防性治疗的方法,用于避免或最小化心脏疾病的发生。该方法施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,治疗由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起心脏疾病。

[0329] 本发明的发明人研究了在模拟大麻二酚组合物用于预防或预防性治疗的另一种条件的条件下钠通道Nav1.5的各种电生理变化。该过程在示例41下进行了描述,数据在图32A-32E下提供。高葡萄糖孵育使活化和稳态失活曲线向右移动(图32A和32B,红色数据)并增加晚期钠电流(图32C,红色数据)。这些变化预测心室动作电位的延长(图32D)。大麻二酚(CBD)与高葡萄糖的共同孵育挽救了活化和稳态失活曲线(图32A和32B,蓝色数据),并将晚期钠电流(图32C)降低至对照值(数据以黑色显示)。预计与CBD共同孵育可挽救动作电位延长(图32D)。图32E和32F显示了在激活方案(32E)和持续电流方案(32F)期间记录的电流轨迹。令人惊讶地发现,与大麻二酚共孵育可将晚期钠电流恢复到与对照无法区分的幅度。

[0330] 在第七方面下,本发明提供了使用新治疗剂大麻二酚的各种药物组合物,以将受到不利影响的钠通道Nav1.5从活性氧物种形成的影响及由此进一步产生的病症中挽救出来。活性氧物种的形成导致氧化应激和/或损伤,并导致细胞毒性。因此,细胞活力降低。

[0331] 本发明进一步提供了这些药物组合物i)用于减少ROS形成和ii)用于治疗由于活性氧物质的形成而产生的病症的用途。本发明还包括通过施用使用大麻二酚的合适药物组合物治疗患有i)在钠通道Nav1.5影响ROS形成和ii)由这些影响进一步产生的病症的患者。

[0332] 在第八方面下,本发明还提供了大麻二酚的药物组合物,用于治疗或避免由任何其他治疗剂引起的炎症,或由任何疾病(如Covid-19)引起的炎症以及由任何疫苗(如Covid-19疫苗)引起的炎性。

[0333] 本研究的第一部分帮助本发明人达成上述本发明的各个方面。

[0334] 研究的第二部分着重于另一种介质炎症引起的钠通道门控特性的电生理变化。虽然研究的第二部分重点关注炎症对钠通道nav1.5门控特性的影响以及新治疗剂对通道的挽救,但据了解,即使是高糖状态也会导致炎症。

[0335] 研究的第一部分和第二部分并不相互排斥。高糖会诱发炎症。无论是疾病、治疗剂、疫苗还是任何其他因素,任何方式诱发的炎症都会在钠通道中产生与高葡萄糖相似的门控缺陷。

[0336] 研究的第一部分和第二部分都没有限制任何介质的使用,但它们仅仅表明发生了两个不同的先决条件,导致钠通道受到不利影响,而钠通道被新的治疗药物大麻二酚挽救。许多其他先决条件也可能导致钠通道Nav1.5的门控缺陷,导致晚期或持续性钠电流、动作电位延长、LQT间期延长和心律失常。新治疗剂的药物组合物旨在挽救此类变化,并旨在恢复正常的电生理学,从而消除或最小化心脏疾病的发生。

[0337] 在第八方面的研究的第二部分中,本发明提供了多种药物组合物,其采用了新的治疗剂大麻二酚,用于

[0338] 1.消除或减少炎症引起的Nav1.5门控特性的改变;以及

[0339] 2.从炎症诱导的门控特性改变中挽救钠通道Nav1.5。

[0340] 3.本发明还提供了这些大麻二酚药物组合物的用途,以避免、消除或最小化Nav1.5的门控特性中的炎症诱导缺陷(Nav1.5的门控特性的改变),并通过施用使用新治疗

剂CANNABIDIOL的药物组合物来治疗以挽救通道或恢复电生理。

[0341] 在第八方面下，本发明还提供了大麻二酚的药物组合物，用于治疗或避免由任何其他治疗剂诱导的炎症或由任何疾病(如Covid-19)诱导的炎症，以及由任何疫苗(如Covid-19疫苗)诱导的炎性。

[0342] 因此，本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，用于治疗由炎症诱导或可能由炎症诱导的钠通道Nav1.5门控缺陷引起的心脏疾病。

[0343] 在这个方面，本发明进一步提供了一种治疗心脏病患者的心脏疾病的方法，该方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，该心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起或可能是炎症引起的。

[0344] 主要在骨骼肌中表达的Nav亚型的变体是Nav1.4。钠通道Nav1.4的致病条件导致收缩功能障碍。尽管这种情况不被认为是致命的，但由于它可能导致多种收缩性问题，包括僵硬和疼痛，它可能会限制生命。

[0345] 主要在骨骼肌中表达的Nav亚型变体是Nav1.4。钠通道Nav1.4的致病条件导致收缩功能障碍。虽然这种情况不被认为是致命的，但由于它可能引起许多收缩性问题，包括僵硬和疼痛，它可能会限制寿命。

[0346] 在第九方面，本发明提供了多种药物组合物，其采用新的治疗剂大麻二酚来挽救受到不利影响的钠通道Nav1.4的收缩功能障碍和由这些效应进一步产生的病症，例如肌肉僵硬、疼痛、肌强直、门孔VSD中的电流导致周期性瘫痪等。

[0347] 手术切除大鼠膈肌，并测量由电极刺激膈神经引起的肌肉收缩。此外，在饱和浓度为100μM的大麻二酚下，测量了由电极刺激膈神经引起的肌肉收缩。发明人惊奇地发现大麻二酚将收缩幅度降低至对照的约60％($p<0.05$)(图9C)。为了证实这一点，测试了已知的阻断剂与对照治疗剂或参考化合物的相似作用。使用饱和浓度为300nM的河豚毒素(TTX)，它是选定Nav通道的有效阻断剂(TTX敏感通道上的IC50～10-30nM39)。发现TTX将收缩减少至控制的约20％($p<0.05$)(图1C)，确认大麻二酚的收缩减少部分是由于Nav1.4的活性所致。

[0348] 另一方面，本发明的第十个方面提供了大麻二酚的药物组合物，该组合物是一种新的治疗剂，用于恢复钠通道的电生理学，从而避免、消除或最小化主要由于钠通道延迟或持续延长、动作电位延长、长QT心律失常等引起的心脏疾病的发生。

[0349] 大麻二酚的药物组合物以单独的药物组合物或与其他治疗剂的组合形式提供。在组合形式中，大麻二酚可以与另一种治疗剂的药物组合物一起在单独的药物组合物中提供，或者在与另一种治疗剂的药物组合物相同的药物组合物中提供。

[0350] 大麻二酚的药物组合物包含至少一种药学上可接受的成分。据报道，大麻二酚在水中的溶解度极低，并且具有感光性。降解时可能会产生四氢大麻酚。

[0351] 根据本发明的大麻二酚药物组合物优先采用能够带来溶解性和/或稳定性的药剂。所述药物组合物可进一步使用增强大麻二酚生物利用度的成分。

[0352] 此外，应仔细设计制备大麻二酚剂型的过程，使其不会导致大麻二酚降解。

[0353] 第十方面提供了各种药物组合物和用于制备这些药物组合物的方法。

[0354] 下文通过各种实验和结果详细描述了所有方面。

[0355] 研究的第一部分采用了对钠通道Nav1.5产生不利影响的高葡萄糖条件。这些通道进一步接受以下研究，

[0356] A.电生理实验。

[0357] B.细胞活力研究。

[0358] C.活性氧物质测量。

[0359] 此外,在实验中使用了利多卡因和Tempol等治疗剂以及一种新的治疗剂大麻二酚,以检查这些治疗剂是否可以挽救受到不利影响的钠通道。因此,用治疗剂处理后的通道再次进行上述研究/实验,并记录两项研究之间的差异并在提供的各种数据下呈现。

[0360] 电生理实验进一步涉及以下内容:

[0361] a、激活;

[0362] b、稳态快速灭活;

[0363] c、从快速失活中恢复;

[0364] d、晚期或持续性钠电流;和

[0365] e、动作电位建模;

[0366] 电生理学

[0367] 电生理学是一种能够测量生物组织中离子流(离子电流)的电记录技术。采用例3所述的全细胞膜片钳技术。

[0368] 利用这项技术,发明人通过测量-130和+80mV之间的峰值通道电导,检查了四种浓度(10(正常)、25(高)、50(高)和100mM(高))的葡萄糖对Nav1.5激活的影响。

[0369] 激活方案

[0370] 图3A提供了绘制为膜电位函数的Nav1.5电导。高糖(50或100mM)以浓度依赖的方式显著地将Nav1.5激活中点(V)向正方向移动(50mM:P=0.01;100mM:P=0.001),而25mM葡萄糖或甘露醇(100mM,渗透控制)没有引起显著影响(图3E和表1)。这表明,较高的葡萄糖浓度使Nav1.5在任何给定的膜电位下都不太可能激活。

[0371] 为了确定是否可以挽救由于葡萄糖孵育引起的Nav1.5激活变化,发明人测量了大麻二酚、利多卡因或Tempol存在下的通道电导,发现大麻二酚(灌注)、利多卡因(灌注)或Tempol都没有。灌注或孵育)在对照条件(10mM葡萄糖)下对Nav1.5激活的电压依赖性产生任何显著影响(P>0.05)(图3B和表1)。

[0372] 灌注大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)或与Tempol(100μM或1mM)共同孵育(24小时)消除了高葡萄糖(50或100mM)引起的变化V和以浓度依赖性方式激活的表观效价(图3C、3D、3F和表1)。Tempol灌注对Nav1.5激活的高葡萄糖诱发的改变没有影响(图3C和3D)。大麻二酚和利多卡因可能在膜中的Nav1.5水平上起作用,因此可能不需要Tempol所需的长时间暴露。大麻二酚的灌注降低了Nav1.5的电流密度,在对照条件(从-2.05±0.61到-0.87±0.23nA/pF)或高葡萄糖(50或100mM)(从-2.40±0.85)之间没有显著差异分别为-1.19±0.46nA/pF或-2.86±0.76至-0.95±0.29nA/pF)。这项研究表明,大麻二酚可以挽救由于葡萄糖孵育引起的Nav1.5活化变化。

[0373] 稳态快速灭活(SSFI)

[0374] 如图4A所示,将作为标准化电流的稳态快速灭活(SSFI)的电压依赖性与对照、甘露醇和3葡萄糖浓度的膜电位作图以确定较高的葡萄糖浓度是否会对稳态快速灭活产生不利影响,这令人惊讶观察到较高的葡萄糖浓度右移稳态快速失活。

[0375] 较高的葡萄糖(50或100mM)在高葡萄糖(50mM:P=0.019;100mM:P=0.001)下导致

从玻尔兹曼函数获得的V显著正向变化(图4A和表2)。这些变化表明Nav1.5SSFI的电压依赖性功能增强,并表明在任何给定的膜电位下,Nav1.5在较高的葡萄糖浓度下不太可能失活。这可能导致动作电位延长(过度兴奋),从而导致长QT3心律失常。高葡萄糖(25mM)或甘露醇(100mM,高葡萄糖的渗透控制)对Nav1.5稳态快速失活的电压依赖性没有影响(图4E和表2)。

[0376] 为了确定是否可以挽救Nav1.5中不稳定的SSFI,发明人测量了在大麻二酚、利多卡因或Tempol存在下的失活。发现大麻二酚和利多卡因都将失活曲线向左移动(图4B)。然而,在对照条件下,灌注和Tempol孵育均未导致Nav1.5的SSFI显著左移(图4B)。

[0377] 接下来,发明人在50或100mM葡萄糖中孵育后进行相同的实验。大麻二酚(1或5μM)和利多卡因(100μM或1mM)均将失活曲线向左移动,呈浓度依赖效应(图4D和表2)。

[0378] 有趣的是,虽然Tempol灌注并未改变高葡萄糖诱导的SSFI效应,但Tempol(100μM或1mM)孵育浓度依赖性地将曲线向左移动(图4D和表2)。

[0379] 从快速失活中恢复

[0380] 除非钠通道从快速失活中恢复,否则它们不能被灭活,除非它们被灭活,否则它们还没有准备好参与进一步的动作电位。因此,钠通道的关键生物物理特征之一是它们从失活状态恢复的动力学。

[0381] 为了测量快速失活恢复,发明人将通道保持在-130mV以确保通道完全静止,然后将通道脉冲至0mV持续500ms,并允许在-130mV的不同时间间隔来测量作为时间函数的恢复。

[0382] 图5A-5F提供了从快速失活中恢复的情况,其中标准化电流与一系列恢复持续时间进行了对比。如图所示。在图5A中,可以看到高葡萄糖(25、50或100mM)或甘露醇(100mM)对Nav1.5转染细胞快速失活恢复的影响。发现与对照相比,在高葡萄糖中孵育显著(P<0.05,尽管差异幅度相对较小)增加了快速失活恢复的缓慢分量(图5A、图5E和表3)。

[0383] 此外,在浓度依赖性效应中,大麻二酚、利多卡因或与Tempol共同孵育显著(P=0.0032,

[0384] P<0.0001或P=0.0013分别)增加了从快速失活中恢复的缓慢组分的时间常数,而与葡萄糖浓度(对照或高浓度)无关(图5B,图5)。然而,无论葡萄糖浓度如何,只有利多卡因,而不是大麻二酚或Tempol,增加了从快速失活中恢复的快速组分的时间常数(图5B和表3)。这些发现表明,葡萄糖对Nav1.5的快速失活恢复造成轻微的功能丧失,并且受试化合物进一步稳定了通道的失活状态(Ghovanloo,Shuart,Mezeyova,Dean,Ruben&Goodchild,2018;Nuss,Tomaselli&Marban,1995;Wang,Mi,Lu,Lu&Wang,2015)。

[0385] 钠持续电流

[0386] 需要稳定快速灭活和从快速灭活中恢复。钠持续电流增加是不稳定的快速失活的表现,因此不受欢迎。大的持续钠电流与一系列病理状况相关,包括LQT3(Ghovanloo,Abdelsayed&Ruben,2016;Wangetal.,1995)。为了确定葡萄糖对Nav1.5失活稳定性的影响,将通道保持在-130mV,然后是去极化脉冲至0mV,持续200ms,以引发持续电流。

[0387] 如图6A所示,与对照相比,在高葡萄糖(50或100mM)中孵育显著(50mM:P=0.003;100mM:P=0.001)增加了持续电流。另一方面,与对照相比,葡萄糖(25mM)和甘露醇(100mM)都对持续电流没有任何影响(图6C)。

[0388] 尽管大麻二酚、利多卡因或Tempol的灌注(灌注或孵育)对对照条件下的小持续电流没有影响(图6A),但三种化合物中的每一种都显著浓度依赖性地降低了高葡萄糖(50或100mM)引起的持续钠电流增加(图6C和表4)。相比之下,Tempol灌注对高葡萄糖(50或100mM)引起的持续电流增加没有影响(图6A和表4)。大麻二酚降低高血糖时过度持续电流与先前在神经元钠通道中的报告一致(Ghovanloo,Shuart,Mezeyova,Dean,Ruben&Goodchild,2018;Patel,Barbosa,Brustovetsky,Brustowetsky&Cummins,2016)。

[0389] 此外,图7A提供了动作电位模型模拟。在高糖中孵育导致动作电位持续时间的浓度依赖性延长,在50mM葡萄糖中从约300ms延长至约450ms,在100mM葡萄糖内延长至>600ms(图7A)。正如Nachimuthu等人所报告的那样,动作电位持续时间的增加可能导致QT间期延长。

[0390] 此外,为了确定大麻二酚和其他药物是否能将高糖引起的动作电位持续时间延长,使其接近对照组,在大麻二酚、利多卡因或Tempol存在的情况下在葡萄糖中进行培养。模拟结果表明,大麻二酚、利多卡因或与Tempol孵育(但不灌注)可挽救动作电位状态的延长(图7B)。预计兴奋性的降低与所用化合物的抗兴奋作用相一致,尤其是大麻二酚和利多卡因(Ghovanloo,Shuart,Mezeyova,Dean,Ruben&Goodchild,2018;Nuss,Tomaselli&Marban,1995)。

[0391] 图8提供了大麻二酚、利多卡因或Tempol通过影响心脏电压门控钠通道(Nav1.5)对高糖诱导的氧化作用和细胞毒性的保护作用可能涉及的细胞事件示意图。

[0392] 因此,在大麻二酚的情况下观察到它具有:

[0393] 1.在高葡萄糖环境中增强细胞活力;

[0394] 2.施加离子在较高浓度下完全降低ROS水平;

[0395] 3.挽救了由于葡萄糖孵育引起的Nav1.5活化变化,其中由于较高的葡萄糖浓度,Nav1.5在任何给定的膜电位下不太可能活化;

[0396] 4.挽救了Nav1.5,否则它在较高葡萄糖浓度下不太可能失活,这可能导致动作电位延长(过度兴奋),这可能导致长QT3心律失常。发明人的发现暗示了Nav1.5通过氧化应激在高葡萄糖诱导的过度兴奋和细胞毒性中的作用,这可能导致LQT3心律失常(图8);

[0397] 5.显著浓度依赖性降低了高葡萄糖(50或100mM)诱导的持续钠电流增加。持续的钠电流是不稳定的快速失活的表现;

[0398] 6.从高糖引起的动作电位延长中挽救Nav1.5。

[0399] 第四方面的本发明提供了大麻二酚的药物组合物,大麻二酚是一种钠通道调节剂,用于逆转/预防药物诱导的LQT,从而使患有LQT的患者或易患LQT的患者能够接受最好的治疗。

[0400] 本发明人已经证明了阿奇霉素对钠通道Nav1.5的作用,其中他们在10μM阿奇霉素中孵育异源表达Nav1.5的细胞,并观察到与对照(无Az孵育)细胞相比晚期钠电流增加。图31A提供了以毫秒为单位绘制的电流幅度对时间的图,并且该图提供了当细胞与阿奇霉素一起孵育时的晚期钠电流。此外,发明人用5μM大麻二酚灌注显示阿奇霉素诱导的晚期钠电流的细胞,并观察到晚期电流降低。因此,大麻二酚挽救了阿奇霉素的促心律失常副作用,因此,在需要大环内酯类抗生素(可能包括COVID-19)治疗的情况下,它可能是一种有用的辅助治疗。

[0401] 图31B提供了对不同细胞进行的相同实验。

[0402] 建议将大麻二酚的药物组合物与其他药物或药物组合同时或依次给药，其中至少一种此类药物可能产生药物诱导的LQT。

[0403] 大麻二酚的同时给药包括大麻二酚与至少一种能够诱导LQT的药物一起给药。大麻二酚可以添加到与此类其他药物相同的药物组合物中，或者大麻二酚可以以不同的剂型存在，但在施用其他药物时同时或在同一时间依次施用。此处出现的术语同时给药是指大麻二酚在其他物理药物的同时给药，也意味着在生物环境中存在其他药物的情况下施用大麻二酚，或者当大麻二酚在生物环境中存在时施用其他药物。

[0404] 顺序给药意味着大麻二酚和其他药物不是一起物理给药，而是在它们之间有一段时间间隔给药。当大麻二酚可能与其他药物发生物理相互作用时，优选顺序给药。当大麻二酚的给药频率与其他此类药物的给药频率不匹配时，也是优选顺序给药。

[0405] 在同时给药时，大麻二酚是否可以以相同或不同的剂型给药将取决于多种因素，例如各种药代动力学因素、大麻二酚与其他药物的相容性、其他药物与大麻二酚所需的非活性成分的相容性、高剂量大麻二酚和不能将它们组合在一个剂型中的其他药物等。大麻二酚药物组合物中存在的所需非活性成分通常是提高大麻二酚溶解度的药剂，例如粘合剂、表面活性剂、增溶剂、崩解剂、溶剂等。

[0406] 该方面提供了大麻二酚和在相同或不同的药物组合物中其他治疗剂，以促进同时和/或顺序给药来适应两种药物的不同给药频率和/或给药途径。

[0407] Nachimuthu等人在其题为“药物诱导的QT间期延长:机制和临床管理(Drug-induced QT interval prolongation:mechanisms and clinica lmanagement)”的文章中提供了导致获得性长QT的药物列表。本发明通过联合施用大麻二酚的药物组合物，增强了所有此类药物和此处未列出但具有相同或类似安全顾虑的任何其他药物的安全性。

[0408] 当联合给药涉及同时给药时，两种药物组合物(大麻二酚药物组合物和引起长QT的其他治疗剂的药物组合物)可以配制成单一的药物组合物或一起施用的两种单独的药物组合物。

[0409] 例如，一种无限制的单一制剂可以是双层或三层片剂、具有不同混合物的胶囊，其中每种混合物可以具有一种活性，或者胶囊具有两种类型的丸/珠/粒/块等，每种具有不同的治疗剂或具有两种活性的液体等。

[0410] 例如，单一配方可以是具有以下组合的双层或三层片剂，

[0411] 1.双层片剂中的两种治疗剂，其中压缩前的每一层具有一种治疗剂，或压缩前的某一层具有除活性剂以外的成分，并且两种治疗剂在压缩前位于不同层中；

[0412] 2.三层片剂中的两种治疗剂，其中每一层具有一种治疗剂，第三层包含非活性物质，其中第三层可以位于具有活性物质(活性成分)的两层之间或侧面，或压缩前的一层或多层包含活性物质以外的成分。

[0413] 3.三层片剂中的三种治疗剂，其中每一层具有一种治疗剂，或在压制前的一层或多层包含除活性剂之外的成分。

[0414] 当由于任何原因(例如但不限于不同的稳定性曲线、不同的给药途径、大剂量导致更大的配方或不同的给药剂频率等)，无法在单个药物组合物中提供两种或多种活性剂(例如大麻二酚和Long QT诱导治疗剂)时，大麻二酚药物组合物以药盒形式与其他治疗剂的药

物组合物一起提供。因此，在这种情况下，提供药剂盒形式的药物组合物。

[0415] 根据本发明的第四方面，能降低QT使大麻二酚成为可以与所有会诱导LQT的药物一起使用的理想药剂。这将提高任何会导致LQT的治疗、药物或药物组合的安全性。

[0416] 最近正在进行几项研究，包括体外研究和临床试验，涉及至少一种抗疟药物，如氯喹和羟基氯喹，以探索选择性使用阿奇霉素治疗Covid-19的可能性。已知氯喹/羟基氯喹和阿奇霉素都会产生药物诱导的LQT。在Gaurett的研究中，一些患者被明确排除在研究之外，包括QT间期延长的患者。

[0417] 大麻二酚是一种潜在的治疗剂，可以挽救/预防药物诱导的LQT，并提高任何导致这种QT间期延长的治疗的安全性。提出大麻二酚的这种作用是通过调节一个或多个心脏离子通道(包括钠通道Nav1.5)的门控特性来介导的。因此，大麻二酚被提议作为治疗Covid-19的治疗剂。最近，发明人发现大麻二酚降低了阿奇霉素的促心律失常作用。由阿奇霉素产生的持续钠电流/晚期电流通过大麻二酚的作用降低，如图31A和31B所示。从这些结果来看，很明显，大麻二酚可以挽救阿奇霉素的促心律失常副作用，因此，在需要大环内酯类抗生素(可能包括COVID-19)治疗的情况下，它可能是一种有用的辅助治疗。

[0418] 本发明涵盖可用于各种治疗的各种药物组合物，包括抗病毒治疗，特别是涵盖最近爆发的Covid-19的治疗。

[0419] 当在任何治疗中需要心脏保护时，或当需要减少炎症或需要减少细胞因子风暴时，以及最重要的是当需要挽救/逆转或避免LQT时，无论LQT是遗传性还是获得性的(由某些健康状况和/或药物引起的)，都可以施用大麻二酚药物组合物。

[0420] 本发明提供药物组合物和方法以增强任何治疗的安全性，包括抗病毒治疗，特别是包括针对Covid-19的治疗，其中所述治疗包括施用一种或多种可引起药物诱导的LQT的药物。

[0421] 在Covid-19的治疗中，大麻二酚可以与一种或多种抗病毒药物同时或依次给药。具体而言，大麻二酚与氯喹/羟氯喹和任选的阿奇霉素同时或依次给药。

[0422] 在第五方面，本发明提供了用于治疗Covid-19的大麻二酚药物组合物。发明人提出大麻二酚在治疗Covid-19中的作用是多方面的。大麻二酚被认为长期使用是安全的，并且具有心脏保护作用。它可以减少细胞因子并作为抗炎剂。最重要的是，它可以降低LQT并可以预防/挽救心脏离子通道的过度兴奋。通过这种方式，它可以提高治疗(该治疗建议使用治疗Covid-19但会引起LQT的药物)的安全性，，并使患者能够接受最好的治疗。

[0423] 此外，据报道，一些Covid-19疫苗可诱导LQT。大麻二酚有可能提高COVID-19疫苗的安全性和有效性。

[0424] 因此，大麻二酚可以与疫苗一起使用，这将使大众能够以最好的方式接受Covid-19疫苗。

[0425] 在第六方面，大麻二酚药物组合物被作为预防性治疗剂甚至施用于健康人群以避免发生影响钠通道门控特性的任何心脏疾病。

[0426] 当有可能发生Covid-19时，例如在Covid-19流行或大流行期间，也可以对健康人群进行这样给药。

[0427] 此外，在这方面，当存在任何可能诱发长QT的流行或大流行的可能性时，甚至可以将大麻二酚药物组合物施用于健康人群。

[0428] 在这个方面，本发明还提供了一种预防或预防性治疗的方法，用于避免或最小化心脏疾病的发生，包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物，其中心脏疾病由钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起。

[0429] 本发明的发明人研究了在模拟大麻二酚组合物用于预防或预防性治疗的条件下钠通道Nav1.5的各种电生理变化。为了模拟这种条件，有必要选择至少一种在添加大麻二酚时钠通道不会受到不利影响的条件。因此，选择在大麻二酚(5μM)和高葡萄糖中共孵育钠通道作为条件，与先前的条件(钠通道在高葡萄糖条件下孵育24小时以在大麻二酚作用之前诱导门控缺陷)作对比。

[0430] 示例41描述了该过程，图32A-32E提供了数据。瞬时转染SCN5A的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞在对照组(10mM葡萄糖)、高(100mM)葡萄糖或高糖和5uM大麻二酚中培养。高糖培养将激活和稳态失活曲线向右移动(图32A和32B，红色数据)，并增加晚期钠电流(图32C，红色数据。这些变化预测心室动作电位的延长(图32D)。大麻二酚(CBD)与高葡萄糖的共同孵育挽救了活化和稳态失活曲线(图32A和32B，蓝色数据)，并将晚期钠电流(图32C)降低至对照值(数据以黑色显示)。预计与CBD共同孵育可挽救动作电位延长(图32D)。图32E和32F显示了在激活方案(32E)和持续电流方案(32F)期间记录的电流轨迹。令人惊讶地发现，与大麻二酚共孵育可将晚期钠电流恢复到与对照无法区分的幅度。

[0431] 在第七方面，本发明提供了多种药物组合物，其采用新的治疗剂大麻二酚来挽救受到不利影响的钠通道Nav1.5免受活性氧物质形成的影响，并挽救由这些效应进一步产生的病症。活性氧物质的形成导致氧化损伤并导致细胞毒性。结果，细胞活力降低。本发明进一步提供了这些药物组合物i)用于减少ROS形成和ii)用于治疗由于活性氧物质的形成而产生的病症的。本发明还包括治疗患有以下疾病的患者：i)细胞毒性作用和活性氧形成对钠通道Nav1.5的影响和ii)通过施用包含大麻二酚的合适药物组合物而进一步产生的病症的患者。

[0432] 细胞活力研究结果与活性氧测定结果相关性良好。新的治疗剂将钠通道Nav1.5从活性氧的影响中挽救出来，并提高细胞活力。

[0433] 2.细胞活力研究

[0434] 为了确定葡萄糖引起的细胞毒性，本发明人在对照和高糖条件下(50或100mM，24小时)，使用与编码Nav1.5α-亚单位的cDNA瞬时共转染的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。示例1中提供的实验，以确定所选模型系统中葡萄糖引起的浓度依赖性细胞毒性。将CHO细胞以50000个细胞/ml接种在96孔板中24小时，然后在正常(10mM)或升高(25-150mM)葡萄糖浓度的条件下，在存在或不存在不同处理的(大麻二酚(1或5μM)、利多卡因(100μM或1mM)、Tempol(100μM或1mM)或其载体)的情况下，再开始处理24小时。在孵育期结束时(24小时)，根据制造商(Abcam，ab197010，加拿大多伦多)的说明，使用MTS细胞增殖分析试剂盒测量细胞活力，在495nm处测量吸光度。

[0435] 如图1A所示，暴露于高于正常葡萄糖(即>10mM)的环境中24小时会导致细胞活力的浓度依赖性降低(图1A)。此外，在葡萄糖浓度为50、100或150mM时，与未转染细胞相比，转染Nav1.5的细胞的存活率降低更大($P<0.05$)(图1A)。这些发现表明，高糖水平会降低细胞活力，这种影响在Nav1.5转染后更为明显。

[0436] 图1B提供了暴露于i)载体、ii)大麻二酚、iii)利多卡因和iv)Tempol的转染细胞

的细胞存活率。如图1B所示，经大麻二酚处理的转染细胞在50和100mM高糖浓度下的细胞活性最好。

[0437] 为了确保细胞活力的降低确实是由于Nav1.5的存在而不是瞬时转染过程对细胞诱导的应激的副产物，我们比较了稳定转染Nav1.5的细胞与经过瞬时转染程序但未添加Nav1.5cDNA(模拟转染)的空白细胞的细胞活力。据观察，在葡萄糖浓度为50、100或150mM时，与模拟转染细胞($P<0.05$)相比，稳定转染的Nav1.5细胞的细胞活力降低更大(图1C)。

[0438] 为了确保没有因失去渗透压而造成的混杂影响，在甘露醇(100mM，24小时)存在下进行实验，作为高葡萄糖的渗透对照(图1C)。与未转染或模拟转染的细胞相比，甘露醇(100mM)对稳定转染的Nav1.5的细胞活力没有显著影响(图1C)。

[0439] 此外，如图1D所示，为了确定在高糖下通过药物减弱细胞活力降低的可能性，发明人将不同葡萄糖浓度的细胞与大麻二酚、利多卡因或Tempol共同孵育。观察到，与大麻二酚(5μM)共同孵育24小时的结果比抗心律失常药物利多卡因更好。大麻二酚(5μM)减弱了高糖条件下(50或100mM)细胞活力的降低；然而，利多卡因(1mM)仅部分降低了葡萄糖诱导的细胞毒性(图1D)。与抗氧化剂Tempol(1mM)共孵育显示出与大麻二酚相似的结果(图1D)。即使在未转染细胞的情况下，也可以看到大麻二酚的这种作用(图1E)。

[0440] 作为参考的利多卡因有两种浓度，即在目前的研究中的100μM和1mM，而大麻二酚的使用浓度要低得多，即1μM和5μM。上述结果对于考虑大麻二酚通过充当Nav1.5调节剂改善心脏健康的未来作用非常令人鼓舞。这一作用甚至比目前的抗心律失常利多卡因更为明显。

[0441] 高葡萄糖水平的主要表现之一是活性氧(ROS)的形成。为了确定来自先前实验的细胞活力数据是否与增加的ROS形成相关，发明人在升高的葡萄糖浓度(25-150mM)中孵育24小时后使用DCF荧光测量了ROS水平。

[0442] 3.活性氧测量

[0443] 高糖诱发与活性氧(ROS)升高相关的细胞死亡。高糖诱导的活性氧生成增加与细胞凋亡和细胞死亡相关(Fouda&AbdelRahman，2017；Fouda，El-Sayed&Abdel-Rahman，2018)。

[0444] 以前的研究报道，氧化应激通过细胞膜的脂氧化和/或抑制Nav1.5向细胞膜的运输来影响Nav1.5的生物物理特性(Liu等人，2013；Nakajima等人，2010)．此外，Yu等人将Nav1.5功能的变化与糖尿病大鼠的LQT心律失常相关联(Yu等人，2018)。本发明的发明人通过实验和由实验得出的结果提出，高葡萄糖至少部分地通过氧化应激改变Nav1.5功能并导致细胞毒性和心律失常。

[0445] 使用ROS检测器2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)测量氧化应激(Korystov et al.,Free radical research 43:149-155,2009)。根据制造商(Abcam，ab113851，Toronto，Canada)的说明，将读数器设置为激发485nm/发射530nm，在反应开始后30分钟使用微孔板荧光读数器测量荧光强度，使用DCF的标准曲线将ROS水平确定为生成的DCF的相对荧光单位(RFU)(Fouda et al.,The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 361:130-139,2017,Fouda et al.,The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 364:170-178.2018)。

[0446] 如图2A所示，DCF荧光强度显示ROS水平的葡萄糖浓度依赖性增加，未转染细胞和

Nav1.5转染细胞之间无显著差异(图2A)。

[0447] 为了确定在高糖条件下药物减弱ROS减少的可能性,将转染细胞在大麻二酚(1或5μM)或Tempol(100μM或1mM)或利多卡因(100μM或1mM)中共同孵育24小时(图2B)。已观察到较高浓度的大麻二酚或Tempol可完全降低ROS水平(图2B和图2D)。而利多卡因(100μM或1mM)以浓度依赖性方式降低ROS,仅产生部分ROS减少(图2B和图2D)。

[0448] 研究的第二部分

[0449] 除了高糖病症外,这种高糖情况还产生以下两种影响,

[0450] 1.高糖浓度(高达100mMD-葡萄糖)对各种心脏病的钠通道产生不利影响;和

[0451] 2.高糖浓度(高达100mMD-葡萄糖)对高血糖/糖尿病患者的钠通道产生不利影响,这些患者更容易患各种心脏病,

[0452] 导致心血管疾病的其他主要疾病是炎症。

[0453] 一些研究人员报道炎症在心脏疾病中的作用如下:

[0454] 1.心脏炎症在心血管异常的发展中起着关键作用(Adamo,Rocha-Resende,Prabhu&Mann,2020);

[0455] 2.抑制炎症信号通路可改善心脏功能(Adamo,Rocha-Resende,Prabhu&Mann,2020);

[0456] 3.重要的是,离子通道在炎症引起的心脏异常中起着关键作用(Eisenhut&Wallace,2011)。

[0457] 然而,高血糖诱发炎症的潜在机制,以及炎症如何引发心脏功能障碍,尚不清楚。

[0458] R.G.Pertwee还证明,即使在人体中长期给药,大麻二酚也具有良好的耐受性,没有显著影响。

[0459] 由于新的治疗药物大麻二酚已将钠通道Nav1.5(心脏的主要心脏钠通道异构体)从高糖的有害影响中挽救出来,因此值得进一步研究。

[0460] 1.钠通道Nav1.5受炎症影响;和

[0461] 2.大麻二酚可以从炎症的影响中挽救钠通道Nav1.5。

[0462] 钠通道的激活、稳态快速失活、失活的稳定和失活的恢复对于钠通道的正常功能非常重要。除非钠通道从快速失活中恢复,否则它们不能被关闭,除非它们被关闭,否则它们还没有准备好参与进一步的动作电位。

[0463] 本发明人研究了炎症对钠通道Nav1.5的影响。他们进一步研究了新的治疗剂大麻二酚是否可以使这些通道免受这种影响。

[0464] 为了研究炎症对钠通道Nav1.5的影响,使用了高糖条件和各种炎症介质。

[0465] 对于影响钠通道Nav1.5的炎症,由于这些介质的作用,应观察到至少一种以下影响;

[0466] 1.钠通道Nav1.5在任何静息膜电位下都不太可能被激活;

[0467] 2.钠通道Nav1.5不会失活,即快速失活受到影响;

[0468] 3.从快速失活中恢复受到影响,即他们还没有准备好参与进一步的动作电位。

[0469] 在这项研究中,除了高糖,Akin等人(Akinetal.,2019)提供的炎症介质混合物含有缓激肽(1μM)、PGE-2(10μM)、组胺(10μM)、5-HT(10μM)和腺苷5'-三磷酸(15μM)用于诱导炎症,并研究炎症对钠通道Nav1.5的影响。

[0470] 此外，正如Karin(Karin,2005)所报道的，涉及炎症的关键信号通路之一是蛋白激酶A(PK-A)或蛋白激酶C(PK-C)的激活以及随后的蛋白磷酸化。可以通过使用蛋白激酶激活剂来模拟体内响应炎症的蛋白激酶(A和C)的激活。

[0471] 因此，研究了炎症介质和蛋白激酶激活剂对钠通道Nav1.5的影响，以通过使用高葡萄糖、炎症介质和蛋白激酶激活剂的混合物来模拟炎症和炎症通路的影响。

[0472] 有必要测试炎症介质和蛋白激酶激活剂是否确实影响钠通道Nav1.5，如果影响钠通道Nav1.5，抗炎化合物是否能将这些通道从其有害作用中解救出来。

[0473] 抗炎剂是消除或最小化/减轻炎症的药剂。正如利多卡因和tempol在早期实验中用作对照以比较新治疗剂大麻二酚的性能一样，蛋白激酶抑制剂在本研究中用作对照以比较大麻二酚对钠通道Nav1.5的抗炎作用。这些抑制剂能够逆转/抑制炎症介质。

[0474] 本研究第二部分的主要目的是研究炎症对心脏主要钠通道亚型钠通道Nav1.5的影响，以提供治疗药物，消除或减少或预防性预防炎症引起的心脏功能障碍。然而，炎症在其他几种情况下起着更大的作用。

[0475] 一些研究人员已经证明了激素，特别是E2对炎症的以下影响：

[0476] 1.性腺激素在炎症反应中起着至关重要的作用(El-Lakany,Fouda,El-Gowelli,El-Gowilly&El-Mas,2018;El-Lakany,Fouda,El-Gowelli&El-Mas,2020)；

[0477] 2.雌激素(E2)，主要的女性性激素，通过基因组和非基因组机制抑制炎症级联反应(Murphy,Guyre&Pioli,2010)；

[0478] 3.在临床上，与绝经前女性相比，绝经后女性在应对内毒素血症时表现出更高水平的TNF-α(Moxley,Stern,Carlson,Estrada,Han&Benson,2004)。

[0479] 4.E2稳定Nav快速失活并减少晚期钠电流(Wang,Garro&Kuehl-Kovarik,2010)，类似于大麻对Nav1.5的影响(Fouda,Ghovanloo&Ruben,2020)。

[0480] 因此，E2似乎是将钠通道Nav1.5从炎症的有害影响中挽救出来的有希望的候选者之一，牢记这一点。本发明人设计了研究方案以涵盖以下研究：

[0481] 1.比较高糖和炎症介质对钠通道Nav1.5引起的电生理变化的研究，检查炎症介质对通道的影响是否与高糖相同(图23A-23G)；

[0482] 2.比较炎症介质和蛋白激酶激活剂对钠通道Nav1.5引起的电生理变化的研究，以检查蛋白激酶激活剂是否在通道上产生与炎症介质相同的变化，(图24A-24G)；

[0483] 3.比较单独炎症介质和炎症介质与蛋白激酶抑制剂对钠通道Nav1.5诱导的电生理变化的研究，以检查“蛋白激酶抑制剂作为对照”对炎症的影响，即蛋白激酶抑制剂是否可以挽救诱导的变化，(图25A-25G)；

[0484] 4.炎性介质单独和炎性介质与大麻二酚联合诱导的电生理变化研究的比较；以及蛋白激酶激活剂与大麻二酚共同诱导的电生理变化，以检查大麻二酚在挽救炎症介质和蛋白激酶激活物产生的有害影响方面的作用(图26A-26G)；

[0485] 5.单独由高葡萄糖和高葡萄糖与两种浓度的E2引起的电生理变化研究的比较，以检查E2在挽救高葡萄糖产生的有害影响方面的作用(图27A-27G)；

[0486] 6.单独炎症介质和炎症介质与两种不同浓度的E2引起的电生理变化研究的比较；还有，由蛋白激酶激活剂和高浓度的E2诱导的电生理变化，以检查E2在挽救由蛋白激酶的炎症介质和激活剂产生的有害作用中的作用，(图28A-28G)；

[0487] 7.单独使用大麻二酚、单独使用炎症介质和炎症介质与大麻二酚一起诱导人心肌细胞的电生理变化研究的比较;检查大麻二酚在挽救炎症介质产生的有害影响方面的作用(图30A-30G);

[0488] 因此,除了炎症介质(炎症介质混合物),蛋白激酶A激活剂(PK-A)和蛋白激酶C激活剂(PK-C)也用于检查是否激活蛋白激酶A(PK-A)或蛋白激酶C(PK-C)的激活剂影响门控特性Nav1.5。

[0489] 新的治疗剂大麻二酚和雌二醇(E2)也与用作参考化合物或对照的蛋白激酶抑制剂一起进行了测试。

[0490] 在本研究中,本发明提供了多种使用新治疗剂大麻二酚的药物组合物,用于

[0491] 1.消除或最小化炎症引起的Nav1.5门控特性的改变;和

[0492] 2.从炎症诱导的门控特性改变中挽救钠通道Nav1.5。

[0493] 3.本发明还提供了这些大麻二酚药物组合物的用途,以避免、消除或最小化Nav1.5的门控特性中的炎症诱导缺陷(Nav1.5的门控特性的改变),并通过施用使用新治疗剂CANNABIDIOL的药物组合物来治疗以挽救通道或恢复电生理。

[0494] 此外,本发明提供了大麻二酚的药物组合物,用于治疗或避免由任何其他治疗剂引起的炎症或在任何疾病或病症如Covid-19中引起的炎症,以及由任何疫苗如Covid-19疫苗引起的炎症。

[0495] 因此,本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,用于治疗由炎症诱导或可能由炎症诱导的钠通道Nav1.5门控缺陷引起的心脏疾病。

[0496] 本发明进一步提供了治疗患有此类疾病的患者的心脏疾病的方法,该方法包括施用包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,这里所说的心脏疾病由炎症诱导或可能由炎症诱导的钠通道Nav1.5中的门控缺陷引起.

[0497] 电生理实验结果和动作电位建模

[0498] 发明人惊奇地发现如下,

[0499] 1.炎症介质改变Nav1.5的门控特性,类似于高葡萄糖。

[0500] 2.PK-A和PK-C的激活介导炎症介质诱导的Nav1.5门控特性的改变。

[0501] 3.大麻二酚挽救炎症介质的Nav1.5门控变化,激活PK-A或PK-C。

[0502] 4.E2通过PK-A和PK-C通路挽救高糖诱导的Nav1.5门控改变。

[0503] 该方面在下文中详细描述。

[0504] 本研究旨在调查以下内容:

[0505] 1.炎症和随后的PK-A和PK-C激活是否以与长QT心律失常基础的门控缺陷一致的方式介导Nav1.5的高糖诱导的电生理变化;和

[0506] 2.大麻二酚和雌二醇是否至少部分通过该信号通路挽救了高糖诱导的Nav1.5门控缺陷。

[0507] 研究炎症和随后的PK-A和PK-C激活是否介导Nav1.5的高糖诱导的电生理变化,检测灌注PK-A抑制剂(H-89)或PK-C抑制剂(Gö6983)对在炎症介质或载体中培养24小时的Nav1.5的影响。

[0508] 大麻二酚和雌二醇(E2)是本研究中感兴趣的主要药物。发明人假设炎症可通过蛋白激酶A和C的蛋白磷酸化介导高葡萄糖诱导的Nav1.5生物物理变化,并且该信号通路至少

部分参与大麻二酚和E2的心脏保护作用。

[0509] 为了研究上述假设，本研究涉及瞬时共转染中国仓鼠卵巢(CHO)细胞与受控制的编码人类Nav1.5α亚基的cDNA，并向其中添加炎症介质混合物或100mM葡萄糖条件(用于24小时)并进一步对其进行电生理实验和动作电位建模。详细过程在各种示例下提供。电生理学是一种电记录技术，可以测量生物组织中的离子流动(离子电流)。采用如示例2中所述的全细胞膜片钳技术。

[0510] 激活方案：它包括在-130至+80mV的测试脉冲电压下，以10mV的增量测量峰值电流振幅，持续19ms，以确定激活的电压依赖性。下面的详细过程见示例3。

[0511] 稳态快速灭活方案：它包括测量/确定快速失活的电压依赖性，包括将通道预调节至-130mV的超极化电位，然后以10mV的增量引发从-170到+10mV的预脉冲电位500ms，然后是10ms的测试脉冲，在此期间电压步进至0mV。示例4提供了随后的详细过程。

[0512] 快速失活恢复

[0513] 除非钠通道从快速失活中恢复，否则它们不能被停用，除非它们被停用，否则它们还没有准备好参与进一步的动作电位。因此，钠通道的关键生物物理特征之一是它们从失活状态恢复的动力学。

[0514] 为了测量快速失活恢复，第一个通道在500ms去极化步骤中快速失活至0mV。在-130mV恢复脉冲之后的19ms测试脉冲至0mV期间测量恢复，持续时间在0到1.024s之间。示例5提供了随后的详细过程。

[0515] 持续电流方案

[0516] 它包括在50ms的去极化脉冲期间测量45和50ms之间的晚期钠电流，从-130mV的维持电位到0mV。随后的详细过程在示例6中提供。

[0517] 动作电位建模

[0518] 所选模型应考虑到激活电压依赖性、稳态快速失活电压依赖性、持续钠电流和峰值钠电流(复合条件)。在Matlab中编程的O'Hara-Rudy模型的修改版本(O'Haraetal.2011，PLoSComput.Bio)用于模拟动作电位。示例7中提供了后续的详细过程

[0519] 实例8描述了涉及大麻二酚、Gö6983、H-89、腺苷CPTcAMP或PMA制剂的药物制剂。

[0520] 电生理实验结果和动作电位建模

[0521] 从本研究中获得了以下结果。

[0522] 1.炎症介质改变Nav1.5的门控特性类似于高葡萄糖，表明炎症对钠通道Nav1.5的门控特性带来相同的影响。

[0523] 2.PK-A和PK-C的激活介导炎症介质诱导的Nav1.5门控特性的改变。

[0524] 3.大麻二酚挽救炎症介质的Nav1.5门控变化，激活PK-A或PK-C。

[0525] 4.E2通过PK-A和PK-C通路挽救高糖诱导的Nav1.5门控改变。

[0526] 1.炎症介质改变Nav1.5的门控特性，类似于高糖

[0527] 在电生理实验中，全细胞电压钳法用于测量人类Nav1.5中的门控，并测试在炎症介质混合物(如Akin等人，2019年所述)或100mM葡萄糖(如Fouda、Ghovanloo和Ruben，2020年所示)中孵育24小时的效果。

[0528] 在存在炎症介质的情况下，在-130和+80mV之间测量峰值通道电导，以确定高糖诱导的Nav1.5激活变化(Fouda、Ghovanloo和Ruben，2020)是否至少部分通过炎症介导。

[0529] 图23A显示了作为膜电位函数绘制的电导。高糖(100mM)使Nav1.5激活中点(V1/2)显著向正方向移动(P＝0.0002)。此外,活化曲线的斜率(表观效价,z)显示100mM葡萄糖显著降低(P＝0.007)(图23A和表6)。斜率的减小表明活化电荷灵敏度降低。研究发现,在炎症介质中孵育24小时,类似于100mM葡萄糖,激活V1/2显著右移(P＝0.001),激活曲线z减小(P＝0.03)(图23A和表6)。这表明,100mM葡萄糖或炎症介质都会降低Nav1.5激活的概率。

[0530] 正如West等人(West,Patton,Scheuer,Wang,Goldin&Catterall,1992)所提供的,DIII-IV连接器在导航激活的几毫秒内介导快速失活。如图23B所示,当标准化电流幅度绘制为预脉冲电位的函数时,100mM葡萄糖或炎症介质导致从Boltzmann拟合获得的V1/2的正方向显著变化(100mM葡萄糖:P<0.0001;炎症介质:P＝0.001)(图23B和表7)。这些变化表明快速失活的功能丧失,并表明高葡萄糖或炎症介质降低了Nav1.5中稳态快速失活的可能性。

[0531] 为了研究100mM葡萄糖或炎症介质对快速失活恢复的影响,将通道保持在-130mV以确保通道完全静止,然后将通道脉冲至0mV达500ms,并允许-130mV的不同时间间隔来测量恢复随时间的变化。结果发现,与对照组相比,在100mM葡萄糖或炎症介质中孵育可显著增加快速失活恢复的缓慢成分(P<0.05),而不影响恢复的快速成分(图23C和表8)。

[0532] 接下来,研究100mM葡萄糖或炎症介质对Nav1.5失活稳定性的影响。持续钠电流(INap)增加是失稳快速失活的表现(Goldin,2003)。大INap与一系列病理状况相关,包括LQT3(Ghovanloo,Abdelsayed&Ruben,2016;Wang等人,1995)。为了确定葡萄糖或炎症介质对Nav1.5失活稳定性的影响,将通道保持在-130mV,然后将去极化脉冲保持在0mV并持续50ms,以激发持续电流(Abdelsayed,Peters&Ruben,2015;Abdelsayd,Ruprai&Ruben,2018)。图23D显示,与对照组相比,在100mM葡萄糖或炎症介质中孵育可显著增加INap(100mM葡萄糖:P<0.0001;炎症介质:P<0.0001)。

[0533] 图23E提供了宏观电流的代表性系列,图23F提供了跨越条件的代表性持续电流。

[0534] 动作电位建模——O'Hara-Rudy模型用于模拟心脏动作电位(AP)(O'Hara,Virag,Varro&Rudy,2011)。利用当前实验结果和受试化合物对测定的活化(中点和表观效价)、稳态快速失活(中点)、快速失活恢复和持续钠电流振幅的生物物理性质的影响,对模型进行了修改。调整原始模型参数,以符合膜片钳实验的控制结果,随后在其他条件的模拟中相对于控制参数进行幅度变化(Fouda、Ghovanloo和Ruben,2020)。

[0535] 图23G显示,使用在100mM葡萄糖或炎症介质中孵育获得的数据修改模型后,模拟AP持续时间(APD)从约300ms延长至约500ms(炎症介质),并延长至>600ms(100mM糖)。

[0536] 这种增加的动作电位持续时间可能会导致QT间期延长(Nachimuthu,Assar&Schussler,2012)。尽管100mM葡萄糖和炎症介质诱导的Nav1.5变化之间存在相似性,但它们的反应并不完全相同(图23)。这可能归因于高葡萄糖对Nav1.5电生理特性的浓度依赖性影响(Fouda、Ghovanloo和Ruben,2020)。选择100mM葡萄糖浓度的原因是为了确保有足够大的窗口来检测整个研究中的读出信号。

[0537] 2.PK-A和PK-C的激活介导炎症介质诱导的Nav1.5门控特性的改变

[0538] 涉及炎症的关键信号通路之一是蛋白激酶A(PK-A)或蛋白激酶C(PK-C)的激活以及随后的蛋白磷酸化(Karin,2005)。

[0539] 为了从药理学上研究PK-A或PK-C信号通路在Nav1.5的炎症诱发门控变化中的作

用,在没有PK-C或灌注20分钟后在室温下记录Nav1.5电流激活剂(PMA;10nM(Hallaq,Wang,Kunic,George,Wells&Murray,2012))或PK-A激活剂(CPT-cAMP;1μM(Gu,Kwong&Lee,2003;Ono,Fozzard&Hanck,1993)))。

[0540] 为了从药理学角度研究PK-A或PK-C信号通路在炎症诱发的Nav1.5门控变化中的作用,在没有PK-C激活剂(PMA;10nM(Hallaq,Wang,Kunic,George,Wells&Murray,2012))或PK-A激活剂(CPTcAMP;1μM(Gu,Kwong&Lee,2003;Ono,Fozzard&Hanck,1993)或灌注激活剂20分钟后,在室温下记录Nav1.5电流。

[0541] 注意到以下观察结果:

[0542] 1.PMA或CPT-cAMP使Nav1.5V1/2的激活显著向正方向移动(PMA:P=0.0003;CPT-Camp:P=0.0007)(图24A和表6)。

[0543] 2.PMA或CPT-Camp显著降低了激活曲线的有效化合价(z)(PMA:P=0.002;CPT-Camp:P=0.007)(图24A和表6)。

[0544] 3.PMA或CPT-cAMP导致SSFI的V1/2显著右移(PMA:P=0.0008;CPT-Camp:P=0.0005)(图24B和表7)。

[0545] 4.与对照相比,PMA或CPT-cAMP显著(P<0.05)增加了快速失活恢复的缓慢成分(图24C和表8)。

[0546] 5.与对照相比,PMA或CPT-cAMP显著(PMA:P<0.0001;CPT-Camp:P<0.0001)增加了INap。

[0547] 所有上述作用与葡萄糖和炎症介质的作用相似(图23A、图24A和表6)。

[0548] 图中显示了跨越条件的宏观电流和持续电流的代表性系列。24E和24F。

[0549] 6.与100mM葡萄糖和炎症介质类似,来自PK-A(CPT-cAMP)或PK-C(PMA)激活剂实验的数据显示,计算机模拟APD从~300ms增加到~400ms(图24G)。

[0550] 有必要检查灌注PK-A抑制剂或PK-C抑制剂的效果,以确保炎症介质对Nav1.5的影响确实被介导,因此,灌注PK-A抑制剂(H-89,2μM20分钟(Wangetal.,2013))或PK-C抑制剂(Gö6983,1μM20分钟(Wangetal.,2013))在炎症介质或载体中已孵育24小时的Nav1.5上进行检查。

[0551] 注意到以下观察结果。

[0552] 1.尽管H-89或Gö6983在对照条件下对Nav1.5门控没有显著影响(表6-9),但H-89或Gö6983减少了炎症介质引起的V1/2变化(H-89:P=0.0108;Gö6983:P=0.0203)(图25A和表6)。

[0553] 2.此外,H-89或Gö6983挽救了Nav1.5SSFI中炎症介质诱导的转变(图25B和表7)。

[0554] 3.此外,与炎症介质相比,H-89或Gö6983(分别为P=0.0041或P=0.0017)进一步增加了从快速失活中恢复的缓慢成分的时间常数(图25C和表8)。

[0555] 4.如图25D所示,H-89或Gö6983(P<0.0001)无法完全降低炎症介质诱导的持续电流增加(表9)。

[0556] 显示了跨越条件的宏观电流和持续电流的代表性系列(图25E和25F)。

[0557] 显示了跨越条件的宏观电流和持续电流的代表性系列(图25E和25F)。

[0558] 5.重要的是,使用来自PK-A(H-89)或PK-C(Gö6983)抑制剂的数据的计算机模拟APD减少了炎症介质诱导的模拟APD延长(图25G)。

[0559] 3.大麻二酚挽救炎症介质的Nav1.5门控变化,激活PK-A或PK-C

[0560] 大麻二酚和雌二醇E2是本研究中感兴趣的主要药物。发明人假设炎症可以通过蛋白激酶A和C的蛋白磷酸化介导高葡萄糖诱导的Nav1.5生物物理变化,并且该信号通路至少部分参与大麻二酚和雌二醇(E2)的心脏保护作用.

[0561] 发明人先前的实验表明,大麻二酚可挽救Nav1.5中高葡萄糖诱导的功能障碍(Fouda等人,2020)。

[0562] 由于H-89或Gö6983在炎症介质诱导的效应上表现出显著的对抗作用,它激励发明人在存在炎症介质、PK-C激活剂(PMA)或PK-A激活物(CPT-cAMP)的情况下测试大麻二酚对Nav1.5生物物理性质的影响。

[0563] 为了确定观察到的激活和SSFI的变化是否由炎症介质引起,或者PK-A或PK-C的激活是否可以通过大麻二酚挽救,在大麻二酚存在的情况下测量钠电流峰值。

[0564] 注意到以下观察结果:

[0565] 1.大麻二酚(5μM)灌注消除了炎症介质、PMA或CPT-cAMP的影响,包括激活的V1/2、激活的z和SSFI的V1/2的变化(图26A和26B以及表6和7)。

[0566] 2.无论同时进行何种治疗(炎症介质、PMA或CPT-cAMP),大麻二酚均显著增加了快速失活恢复缓慢部分的时间常数(图26C和表8)。。

[0567] 3.大麻二酚减少由炎症介质PMA或CPT-cAMP引起的INap增加(图26D和表9)

[0568] 代表性的宏观和持续电流如图26E和26F所示。

[0569] 4.O'Hara-Rudy模型结果还表明,大麻二酚将由炎症介质或PK-A或PK-C诱导的激活剂引起的延长的计算机模拟APD恢复到接近对照条件的情况(图26G)。APD的减少与大麻二酚的抗兴奋作用一致(Ghovanloo、Shuart、Mezeyova、Dean、Ruben&Goodchild,2018)。

[0570] 4.E2通过PK-A和PK-C通路挽救高糖诱导的Nav1.5门控改变

[0571] 鉴于E2之前被证明除抗炎作用外还影响Nav,因此研究E2是否挽救了高糖诱导的Nav1.5生物物理特性变化(Iorga、Cunningham、Moazeni、Ruffenach、Umar和Eghbali,2017;Wang、Garro和KuehlKovarik,2010)。

[0572] 注意到以下观察结果:

[0573] 1.发明人首先在对照条件下测试了E2(5或10μM)的作用,发现E2对Nav1.5门控没有显著影响(表6-9)。相比之下,图27显示,向浴液中灌注E2(5或10μM)至少10分钟(Möller&Netzer,2006;Wang等人,2013)以浓度依赖的方式消除了高糖(100mM,24小时,包括活化V1/2、z和SSFI的V1/2)引起的位移(图27A、27B和表6和7)。

[0574] 2.另一方面,发现E2(5或10μM)对100mM葡萄糖诱导的快速失活恢复的缓慢成分的轻微增加没有显著的影响(图27C和表8)。

[0575] 3.然而,E2以浓度依赖性方式显著降低了100mM葡萄糖诱导的INap增加(图27D和表9)。

[0576] 4.E2降低葡萄糖加剧的INap与之前关于神经元钠通道中类似效应的报告一致(Wang,Garro&KuehlKovarik,2010)。

[0577] 5.图27G显示O'Hara-Rudy模型结果表明E2以浓度依赖性方式挽救了由100mM葡萄糖引起的计算机模拟APD延长(图27G)。

[0578] 6.发明人测试了E2(5或10μM)是否能挽救炎症介质、PK-C激活剂(PMA)或PK-A激活

剂(CPT-cAMP)对Nav1.5门控特性的影响。图28显示同时添加E2以浓度依赖性方式消除了炎症介质对活化和SSFI的影响(图28A、28B和表6和7)。

[0579] 8.类似地,E2浓度依赖性地挽救了PMA或CPT-cAMP对激活和SSFI的影响(图28A、28B和表6和7)。

[0580] 9.虽然E2(5或10μM)对炎症介质PMA或CPT-cAMP引起的快速失活恢复的缓慢成分的轻微增加没有显著影响(图28C和表8),

[0581] 10.E2以浓度依赖性方式显著降低INap的增加(图28D和表9;

[0582] 代表性电流如图28E和28F所示。

[0583] 11.此外,E2浓度依赖性地将由炎症介质或PK-A或PK-C的激活剂引起的延长的计算机模拟APD恢复到接近对照组的情况(图28G)。

[0584] 讨论和结论

[0585] 本研究中进行的实验首次解决了炎症/PK-A和PK-C信号通路介导高葡萄糖诱导的心脏异常(图29)。

[0586] 在各种电生理学和动作电位模型中获得的结果表明并得出结论,大麻二酚和E2可能至少部分地通过该信号通路发挥其对抗高葡萄糖的心脏保护作用。

[0587] 该结论基于以下发现:

[0588] (i)与高葡萄糖类似,炎症介质引起激活和失活的电压依赖性右移并加剧持续电流。持续电流增加会延长模拟动作电位的持续时间;

[0589] (ii)PK-A和PK-C的激活剂再现了Nav1.5门控中高葡萄糖和炎症诱导的变化;

[0590] (iii)PK-A和PK-C抑制剂在很大程度上降低了高糖和炎症诱导的Nav1.5门控变化;

[0591] (iv)大麻二酚或E2挽救了高葡萄糖、炎症介质或PK-A或PK-C激活剂的影响。

[0592] 结果表明Nav1.5通过炎症和随后的PK-A和PK-C激活,在高葡萄糖诱导的过度兴奋中的发挥作用,,这可能导致LQT3型心律失常(图29)。此外,这些发现表明大麻二酚可能对糖尿病患者,尤其是绝经后患者的高葡萄糖引起的心功能障碍有治疗作用。

[0593] 考虑到Ukpabi&Onwubere,2017年和Whitsel等人2005年提供的糖尿病和LQT之间的相互关系;同时,考虑到Shimizu&Antzelevitch(1999年)教授的Nav1.5功能增强在LQT发展中的关键作用,发明人发现炎症介质复制了高糖诱导的Nav1.5门控变化,这与Yu等人(Yu等人,2018年)教导的糖尿病大鼠中与LQT3相关的变化相似。这一发现与其他报告一致,这些报告表明高血糖/高糖是促炎性的,炎症是心血管疾病发病机制中的关键因素(Fouda,Leffler&Abdel-Rahman,2020;Tsalamandris等人,2019)。炎症改变心肌细胞Nav的电生理特性,INap增加导致APD延长,这类似于图23所示的本发明者的发现。本研究和以前的研究支持本发明者提出的假设,即高血糖至少部分通过炎症诱导,改变Nav1.5门控并导致LQT心律失常。

[0594] 如图25和26所示,目前的研究表明PK-A或PK-C的激活复制了Nav1.5门控中高葡萄糖和炎症诱导的门控变化,而PK-A或PK-C的抑制消除了这些变化.这一发现表明PK-A和PK-C可能是高糖诱导的心脏并发症中炎症的下游效应物。

[0595] 尽管关于PK-A和PK-C激活对Nav1.5门控的电压依赖性和动力学的影响存在相互矛盾的报道,但这些差异可能归因于不同的电压方案、不同的维持电位、不同的PK浓度或类

型的激活剂,或在各种研究中使用的不同细胞系(Aromolaran、Chahine和Boutjdir,2018年;Iqbal和Lemmens-Gruber,2019年)。尽管存在这种差异,PK-A或PK-C都会使Nav快速失活不稳定,从而增加INap,这与延长的APD密切相关,如图29所示。(Astman,Gutnick和Fleidervish,1998;Franceschetti,Taverna,Sancini,Panzica、Lombardi和Avanzini,2000年;立山、Rivolta、Clancy和Kass,2003年)。

[0596] 目前对PK-A和PK-C调节剂的研究促使发明人测试卡大麻二酚是否通过这一途径影响Nav1.5的生物物理性质。发明人随后研究了大麻二酚通过该信号传导途径对高糖有害影响的可能保护作用,因为正如Fouda等人所报告的那样,CANNABIDIOL可以防止高糖诱导的Nav1.5门控变化(Fouda,Ghovanloo&Ruben,2020)。此外,正如Rajesh等人所报告的那样,大麻二酚通过抑制磷酸化酶(如MAPK)减轻糖尿病引起的炎症和随后的心脏纤维化(Rajesh等,2010年)。本研究中获得的结果表明,大麻二酚可减轻PK-A或PK-C诱导的生物物理变化的炎症/激活,如图27所示。本研究的结果与大麻二酚通过抑制PK-A和PK-C信号传导而产生的抗炎、抗氧化和抗肿瘤作用相一致(Seltzer,Watters&MacKenzie,2020)。PK-A和PK-C抑制剂对Nav1.5炎症诱导门控变化的保护作用与大麻二酚的作用相比不完全,这可能是因为大麻二酚对Nav1.5的联合直接抑制作用及其对PK-A与PK-C的间接抑制作用(图26、27和28)。

[0597] 此外,在本研究中研究了E2的作用。正如Iorga等人和Wang等人所报道的,E2直接影响Nav并发挥抗炎作用。

[0598] 不同研究人员的其他报告显示,E2通过增加血管生成、舒张血管、减少氧化应激和纤维化而具有心脏保护作用(Iorga、Cunningham、Moazeni、Ruffenach、Umar和Eghbali,2017)。许多研究支持E2的抗心律失常作用,因为它对心脏离子通道的表达和功能有影响(Iorga、Cunningham、Moazeni、Ruffenach、Umar和Eghbali,2017;Odening和Koren,2014)。

[0599] 关于E2的两个主要发现很重要:

[0600] 1.E2稳定Nav快速失活并减少INap,类似于大麻二酚(Wang,Garro&Kuehl-Kovarik,2010);和

[0601] 2.E2通过抑制PK-A和PK-C介导的信号通路来减少氧化应激和炎症反应(Mize,Shapiro&Dorsa,2003;Viviani,Corsini,Binaglia,Lucchi,Galli&Marinovich,2002)。

[0602] 发明人发现,与大麻二酚相似,E2可挽救高葡萄糖、炎症和激活PK-A或PK-C的影响(图27-29)。

[0603] 总之,本研究表明炎症和随后的PK-A和PK-C激活与Nav1.5门控中高葡萄糖诱导的电生理变化相关(图29)。这些门控变化导致电脑模拟动作电位延长,导致LQT3心律失常,这是糖尿病的临床并发症(Grisanti,2018)。大麻二酚和E2通过抑制该信号通路,改善高血糖的影响和由此产生的临床病症。

[0604] 因此,总而言之,本研究有如下发现:

[0605] • 炎症和PK-A和PK-C随后的激活以一种与导致长QT心律失常的门控缺陷相一致的方式介导高糖诱导的Nav1.5电生理变化。

[0606] • 大麻二酚和雌二醇至少部分通过这种信号通路来挽救高糖诱导的Nav1.5门控缺陷。

[0607] 发明人发现,炎症/PK-A和PK-C信号通路是预防与糖尿病相关的心律失常的潜在

治疗靶点,并进一步提出大麻二酚作为一种替代治疗方法,用于预防糖尿病患者尤其是绝经后人群的心脏并发症,因为大麻二酚水平降低。心脏保护性雌激素,尤其是在糖尿病绝经后人群中。

[0608] 发明人发现,炎症/PK-A和PK-C信号通路是预防糖尿病相关心律失常的潜在治疗靶点,并进一步提出大麻二酚作为一种替代治疗方法,以防止由于心脏保护性雌激素水平降低而导致的糖尿病患者(特别是绝经后患者)的心脏并发症,尤其是糖尿病绝经后人群。

[0609] 本发明还提供了这些大麻二酚药物组合物的用途,以避免、消除或最小化Nav1.5的门控特性中的炎症诱导缺陷(Nav1.5的门控特性的改变),并通过施用使用新治疗剂大麻二酚的药物组合物来治疗以挽救通道或恢复电生理。

[0610] 此外,在第八方面,本发明提供了大麻二酚的药物组合物,用于治疗或避免或最小化由任何其他治疗剂诱导的炎症或在任何疾病或病痛(例如Covid-19)中诱导的炎症,,以及由任何疫苗(例如Covid-19)疫苗诱导的炎症。

[0611] 大麻二酚的同时给药包括大麻二酚与至少一种能够诱导炎症的治疗剂/药物一起给药。大麻二酚可以添加到与此类其他药物相同的药物组合物中,或者大麻二酚可以以不同的剂型存在,但在施用其他药物时同时或在同一时间依次施用。此处出现的术语同时给药是指大麻二酚在给药其他药物时施用,也意味着大麻二酚在生物环境中存在其他药物的情况下给药,或者当大麻二酚在生物环境中存在时给药其他药物。。

[0612] 大麻二酚可以单独给药,也可以与E2一起在下文讨论的合适的药物制剂/药物组合物中共同给药。

[0613] 大麻二酚对钠通道Nav1.4的作用

[0614] 在第九方面,本发明提供了多种药物组合物,其采用新的治疗剂大麻二酚来挽救受到不利影响的钠通道Nav1.4的收缩功能障碍和由这些效应进一步产生的病症,例如肌肉僵硬、疼痛、肌强直、门孔VSD中的电流导致周期性瘫痪等。

[0615] 因此,本发明提供了包含治疗有效量的大麻二酚的药物组合物,用于治疗由受不利影响的钠通道Nav1.4引起的骨骼肌疾病。

[0616] 在这方面,本发明还提供了一种治疗患有这种疾病的患者的骨骼肌疾病的方法,包括施用包含治疗有效量的大麻酚的药物组合物,其中骨骼肌疾病来自受到不利影响的钠通道Nav1.4。

[0617] 钠通道Nav1.4是大麻二酚的分子靶点

[0618] Nav亚型的变体主要表达于骨骼肌Nav1.4,导致收缩功能障碍。大多数Nav1.4变体使肌膜去极化;然而,这种去极化可以导致表型的过高或过低兴奋性(Cannon等人(2006))。改变膜兴奋性的Nav通道病是临床综合征的基础。过度兴奋性肌肉通道病分为非营养不良性肌强直或周期性瘫痪(Lehmann-Horn等人(2008))。大多数这些通道病都是由SCN4A的偶发新发或常染色体显性突变引起的(Ghovanloo(2018))。

[0619] 大多数功能获得(GOF)Nav1.4变体导致强直综合征。肌强直的定义是肌肉收缩后延迟松弛(Lehmann-Horn(1995)和Tan(2011))。在肌强直中,肌肉膜的兴奋性增加,即使是短暂的随意收缩也会导致一系列APs,这些APs在运动神经元活动终止后可持续数秒。这种现象被认为是肌肉僵硬(Tan(2019))。非营养不良性肌强直的全球患病率约为1/100,000(Emery(1991))。虽然这种情况不被认为是致命的,但由于它可能导致多种收缩性问题,包

括僵硬和疼痛,它可能会限制寿命(Vicart(2005))。

[0620] 具有与Shaker钾通道中的ω电流相似的特性的阳离子泄漏(VSD中的门孔电流)已被证明会导致低钾周期性麻痹(Jiang(2018))。这种机制表明低钾周期性麻痹可能是由Nav1.4(Wu,F(2011))和(Tombola(2005))中严重形式的GOF引起的。

[0621] 因此,更需要开发治疗方法以减少i)骨骼肌收缩性,ii)肌强直,iii)VSD中导致低钾周期性麻痹的门控孔电流,iv)肌肉僵硬和疼痛。

[0622] 很少有针对骨骼肌疾病和治疗肌强直和低钾周期性麻痹的疗法,它们主要依赖于为其他疾病开发的药物,包括局部麻醉剂(LA)。肌强直治疗的重点是减少非自愿的AP爆发(Vicart(2005)和Desaphy(2004))。

[0623] 发明人通过进行的各种研究提出,Nav1.4可以是用于减少骨骼肌收缩性、肌强直、VSD中导致低钾周期性麻痹、肌肉僵硬和疼痛的门孔电流的分子治疗靶标。

[0624] 此外,通过各种研究,本发明的发明人发现大麻二酚减少骨骼肌收缩。由于骨骼肌收缩与Nav1.4相关,因此研究了大麻二酚对Nav1.4的完整调节机制和影响。发现大麻二酚改变膜刚度并通过开窗渗透到Nav孔中。最后,提出大麻二酚可能通过其对Nav1.4的直接和间接影响来缓解肌强直。

[0625] 大麻二酚对大鼠膈肌收缩的影响

[0626] 为了确定大麻二酚是否减少骨骼肌收缩,发明人研究了大麻二酚对大鼠膈肌的作用。肌肉被手术切除。测量由膈神经刺激引起的肌肉收缩。图9A-B提供了隔膜的图像,切成半隔膜。在饱和浓度为100μM的大麻二酚中,用电极刺激膈神经,并使用力传感器测量肌肉收缩,理由是如果大麻二酚减少肌肉收缩,那么饱和浓度应提供足够大的窗口来检测任何收缩的潜在减少。结果表明,大麻二酚将收缩幅度降低至对照组的60%($p<0.05$)(图9C)。

[0627] 大麻二酚对骨骼肌的这种作用可能是由于其对钠通道Nav1.4的阻断作用。为了确认这一点,对一种已知的阻断剂进行了类似作用的测试。使用饱和浓度为300nM的河豚毒素(TTX),它是选定Nav通道的有效阻断剂(TTX敏感通道上的IC50～10-30nM39)。发现TTX将收缩减少至控制的约20%($p<0.05$)(图1C),表明大麻二酚的收缩减少可能部分是由于Nav的活动所致。图9D-F显示了对照组、大麻二酚和TTX中的典型肌肉收缩轨迹。这些结果共同支持这样的观点,即抑制Nav可以减少骨骼肌收缩,并且大麻二酚减少肌肉收缩至少部分是由于其对Nav的影响,正如Ghovanloo(2018年)之前提出的那样。

[0628] 大麻二酚的分子动力学(MD)模拟研究

[0629] 进一步的研究包括找出大麻二酚作为导航阻滞剂的机制。一项研究涉及查明大麻二酚是否会改变膜刚度,从而间接抑制Nav1.4。在此,对1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine(POPC)脂质膜在100纳秒范围内进行了大麻二酚(膜中mM浓度)的分子动力学(MD)模拟研究。MD结果表明,在对称(即膜的两个小叶中的大麻二酚分子数量相同)和不对称(即单叶中的大麻二酚)两种情况下,每个脂质的面积没有显著变化。图10A-E通过MD模拟提供了大麻二酚对POPC膜的影响。图10C特别提供了作为膜小叶坐标函数的大麻二酚密度估计,其中脂质双层以0为中心。它提供了大麻二酚在一系列条件下在膜中的分布。图10C中的虚线代表大麻二酚分布。这些结果表明,在对称条件下,在负坐标和正坐标范围内都有两个密度峰,几乎完全重叠,大麻二酚位于脂质头基和膜中心之间的区域,靠近脂质头基区域.

[0630] 然而,在不对称条件下,最初放置在两个小叶之一中的3个大麻二酚分子,然而,在正坐标范围内只有一个峰。MD结果还表明,大麻二酚分子往往能够快速接触和分离,并且偶尔会向脂质外的水分子移动。然而,大麻二酚随后迅速向下移动到脂质中。这表明,在数百纳秒的模拟时间范围内,大麻二酚不会扩散到两个小叶中,而是倾向于主要定位在最初放置的小叶中。总体而言,MD结果表明,大麻二酚倾向于优先定位在磷酸盐头和脂肪链的底端之间,靠近POPC分子的脂肪链的碳3-7(图10E)。

[0631] 通过进行NMR(可磁共振)研究,对大麻二酚定位的MD预测进行了进一步的功能测试。按照Lafleur(1989)的规定,在三种不同温度(20℃、30℃和40℃)下,在贫氘水中以4:1的比例使用POPC-d31和POPC-d31/大麻二酚进行NMR(图10F-H;图18A-C)。NMR结果与酰基链序参数的MD预测极为一致,并表明大麻二酚以温度依赖的方式导致C2-C8亚甲基的有序化,以及C10-C15的轻微无序化。

[0632] 用基于短杆菌肽(gA)测定法测定大麻二酚对HEK细胞膜刚性的影响

[0633] 为了发现大麻二酚对膜硬度的影响,使用了基于短杆菌肽(gA)的测定。短杆菌肽通道由二聚体组成,每个单体位于一个膜小叶中。当两个单体二聚化形成跨膜的连续孔时,这些通道优先传导阳离子(Na+和K+)电流。因此,二聚化与膜刚性Lundbæk(2004)直接相关。

[0634] 在不存在和存在26μMgramicidin的情况下,使用未转染HEK细胞的全细胞电压钳。使用斜坡方案在标准高钠[Na+=140mM]细胞外溶液中测量短杆菌肽电流。细胞被钳制在-80mV,接近K+平衡电位(EK+)。然后,细胞超极化至-120mV,钳位上升至+50mV,接近ENa+。图11A-D提供了在-120、-80、0和+50mV时电流幅度与细胞膜电容(pA/pF)之比的平均短杆菌肽电流密度。如图所示,在负电位下,短杆菌肽通道向内传导电流,随着膜电位变得更正,电流向外,反转电位(Erev)接近0mV。测量1μM(~灭活NavIC505)和10μM(~静息NavIC505)大麻二酚和10μMTritonX100(TX100)(作为阳性对照)对短杆菌肽-HEK细胞的影响(图11A-C)。TX100是一种去污剂,已被证明可以改变膜的硬度,从而改变短杆菌肽电流幅度Lundbæk(2004))。研究结果表明TX100改变了所有电位的阳离子短杆菌肽电流($p<0.05$)(图11C)。然而,大麻二酚与TX100具有相反的效果,并且在1μM($p<0.05$)和10μM($p>0.05$)处的短杆菌肽电流略有改变。有趣的是,虽然大麻二酚改变短杆菌肽电流的趋势在两种浓度下是相同的,但大麻二酚在10μM时的影响比1μM变化更大,这种可变性导致在10μM时缺乏统计显著性(图11C)。据推测,这可能是由于短杆菌肽和高浓度大麻二酚导致HEK细胞健康在电压钳实验的时间范围内恶化。

[0635] 短杆菌肽通道的二聚化表明细胞膜上有孔形成。这些孔类似于在细胞中穿孔。为了确保电流确实是短杆菌肽电流,并且没有潜在的泄漏电流成分,在降低细胞外钠[Na+=1mM]的情况下进行相同的实验。对于大麻二酚和TX100,该实验产生了与高[Na+]实验相同的短杆菌肽电流密度变化总体趋势(图11E-H)。

[0636] 总体而言,大麻二酚改变膜刚度的短杆菌肽测定结果与大麻二酚可能通过膜发挥其某些作用的假设一致并证实了这一假设。

[0637] 大麻二酚改变基于短杆菌肽的荧光测定(GFA)的刚性

[0638] Ingólfsson等人提供了(Ingólfsson 2010))基于短杆菌肽的荧光测定法,用于确定改变脂质双层特性的小分子潜力。为了进一步探索大麻二酚对膜刚性的可能影响,发明人使用GFA在大麻二酚对Nav有急性影响的浓度下测试了它对脂质双层特性的影响。GFA利

用了短杆菌肽通道对双层特性变化的独特敏感性。图19中提供的该测定证实大麻二酚改变短杆菌肽信号，因此改变膜硬度。

[0639] 大麻二酚与Nav局部麻醉部位相互作用

[0640] 先前有报道称，大麻二酚在Nav抑制中表现出大约10倍的状态依赖性(Ghovanloo(2018))，这一特性类似于经典的孔隙阻滞剂(Kuo(1994)和Bean(1983))。Ghovanloo在Nav1.1孔突变体(F1763A-LA突变体)中测试了失活状态下的大麻二酚抑制作用，结果表明效力下降相对较小，约为2.5倍。

[0641] 为了进一步探索孔内可能的大麻二酚相互作用，使用Pan(Pan(2018))的人Nav1.4低温EM结构进行分子对接研究。图12A-B提供了停靠在Nav1.4孔上的大麻二酚，支持LA站点可能的交互作用。此外，为了对对接结果进行功能测试，发明人将LA Nav1.4F1586突变为丙氨酸，并进行电压钳位。图12C-F提供了F1586A与WT-Nav1.4相比的生物物理特性。发现两个通道具有相似的生物物理性质，最重要的是，失活电压依赖关系几乎相同($p>0.05$)(图12F)，表明在任何给定电位下，F1586A和Nav1.4都具有相同的可用性；因此，可以在两个通道上使用相同的电压方案进行药理实验。

[0642] 与在静息膜电位(RMP)也为～-65mV的神经元中具有～-65mV的失活中点(V1/2)的神经元Navs相比，Nav1.4的骨骼肌纤维的V1/2为～-67mV，RMP为～-90mV。这表明，尽管神经元Nav在RMP几乎总是半失活，但Nav1.4在RMP却几乎总是完全可用。

[0643] 因此，为了更接近生理条件(图12G-H)，测量了利多卡因作为阳性对照和大麻二酚对Nav1.4静止状态(-110mV维持电位到1Hz时的0mV测试脉冲)的抑制作用。结果表明，1.1mM(在Nav1.446上静息IC50)利多卡因阻断WT中约60％的INa，F1586A中约20％($p=0.020$)，而10μM大麻二酚阻断WT中约45％INa，F1586A中约25％($p=0.037$)。因此，利多卡因对WT的抑制与F1586A之间存在3倍差异，而对大麻二酚的抑制差异则较小，为1.5倍。这表明，虽然大麻二酚与Nav孔的相互作用类似于利多卡因，但与利多卡因相比，大麻二酚在孔处的相互作用可能不是其INa抑制的关键决定因素。

[0644] 大麻二酚与DIV-S6相互作用

[0645] 由于与利多卡因等成熟的孔隙阻滞剂相比，大麻二酚的INa抑制作用较少依赖于局部麻醉部位的相互作用，因此使用等温滴定量热法对其进行了进一步研究。无论大麻二酚与DIV-S6(包括F1586)相互作用，还是它是惰性的，大麻二酚的相互作用都与利多卡因进行比较。发现利多卡因和大麻二酚均与蛋白质片段相互作用；然而，这两种化合物之间相互作用的性质不同，可能是由于物理化学性质的变化(图20)。

[0646] 大麻二酚通过开窗渗入孔隙

[0647] 正如GamalEl-Din(2018)所报道的，LAs通过以尺寸依赖的方式通过开窗进入孔隙(即较小的LAs更容易通过)，从而阻断处于静止状态的细菌Navs。在这里，试图确定是否有可能通过封闭开窗来阻止大麻从膜的脂质相进入人Nav1.4孔。由于先前发现(Ghovanloo(2018))大麻二酚与脂质高度结合(99.6％)，并且由于MD结果表明它优先定位于膜的疏水部分，就在脂质头部基团下方，因此，可以推断，一旦大麻二酚分配到膜中，通向Nav孔的通路就可以通过膜内开窗获得。为了验证这一想法，发明人仔细检查了大麻二酚在人类Nav1.4中的对接姿势，并观察了其靠近开窗的位置(图13A；图20A-D)。

[0648] 接下来，如计算突变和结构最小化预测的那样，确定了4个残基(DI-F432、DII-

V787、DIII-I1280和DIV-I1583)，当突变为W时，部分或完全阻断了窗口(部分或完全闭塞是由于哺乳动物Nav的结构不对称)(图13B-C)。

[0649] 发明者在WWWW结构上测量了-110mV的1.1mM利多卡因、350μM氟卡尼和10μM大麻二酚的静息状态阻滞。结果表明，利多卡因($p>0.05$)和氟卡尼($p>0.05$)而不是大麻二酚($p<0.05$)与WT一样阻断WWWW突变体(图13D)。这是一个有趣的结果，考虑到大麻比利多卡因大，但比氟卡尼略小。大麻二酚相对于WT-Nav1.4的WWWW阻断作用被废除，可能是由于其亲脂性与利多卡因(LogD～1)和氟卡尼(LogD～1.7)相比存在巨大差异。总体而言，这些结果与关于大麻二酚从膜、通过开窗到孔的途径的假设一致。

[0650] 为了可视化大麻二酚通过Nav1.4开窗并以原子分辨率进入孔隙的可能途径，进行了MD模拟，其中发明人鼓励大麻二酚从其结合位点分离(图13E-G;图21E)。这些结果表明，大麻二酚可以通过开窗进入其在孔中的结合位点，而不会对通道结构进行重大重组。

[0651] 大麻二酚不影响Nav1.4激活，但稳定了失活状态

[0652] Ghovanloo(2018)描述了大麻对Nav1.1门控的影响。据Ghovanloo报道，约IC50水平的大麻二酚降低了通道电导，不改变激活的电压依赖性、超极化稳态快速失活(SSFI)，并减慢了从快速(300ms)和慢速(10s)失活。DePetrocellis(2011)报告了大麻对钠电流复苏的抑制作用。这些结果表明大麻二酚阻止了大多数Navs的打开。然而，那些仍然开放、以不变的电压依赖性激活并且更有可能使整体效应失活的通道的兴奋性降低(Ghovanloo(2018))。

[0653] 在这项研究中，假设大麻二酚在INa抑制中的非选择性表明在调节Nav门控方面的非选择性。为了验证这个想法，Nav1.4在存在和不存在1μM大麻二酚的情况下的激活是通过测量-100和+80mV之间的膜电位的峰值通道电导来评估的(图14A)。大麻二酚没有显著影响激活的V1/2或表观效价(z)($p>0.05$)。作为膜电位函数的标准化Nav1.4电流如图14B所示。这些结果表明，与Nav1.1一样，大麻二酚不会改变Nav1.4的激活。

[0654] 此外，使用标准的200ms预脉冲电压方案检查SSFI的电压依赖性。将标准化的电流幅度绘制为预脉冲电压的函数(图14C)。这些结果与Ghovanloo(2018)之前在Nav1.1中的观察结果相似，因为大麻二酚左移了Nav1.4失活曲线($p<0.05$)。

[0655] 为了测量失活的恢复情况，将Nav1.4保持在-130mV以确保通道完全可用，然后将通道脉冲至0mV持续500ms，然后在-130mV允许不同的时间间隔以测量恢复，将其作为时间的函数。正如之前在Nav1.1中观察到的，大麻二酚减缓了Nav1.4从失活中恢复的速度($p<0.05$)，这表明大麻二酚从通道中离开通道所需的时间比通道从失活中恢复所需的时间要长(图14E和F)。总的来说，这些结果支持大麻二酚非选择性调节Nav门控的假设，并进一步表明大麻二酚降低了Nav1.4的兴奋性。

[0656] 大麻二酚在Nav1.4-WWWW中超极化SSFI

[0657] 为了确定膜刚性和稳定失活之间可能存在的关联，在WWWW突变体中复合灌注之前和之后测量了大麻二酚的影响。发现尽管大麻二酚不抑制峰值INa，但它使SSFI曲线超极化，表明大麻二酚对膜刚度的调节至少部分负责稳定Nav失活(图22)。

[0658] 大麻二酚对pH敏感混合肌强直/hypoPPNav1.4突变体P1158S(DIII-S4-S5)的影响

[0659] 研究了大麻二酚改善骨骼肌GOF状况的作用。最近发现Nav1.4中的P1158S突变增加了通道的pH敏感性(Ghovanloo和Abdelsayed(2018))。有趣的是，P1158S门控显示pH依赖

性变化，使用AP建模，预计这些变化与与该变体相关的表型相关。因此，pH和P1158S之间的关系可用作Nav1.4过度兴奋性的体外/计算机分析(模拟中度至重度GOF)。该测定法用作研究大麻二酚对骨骼肌过度兴奋的影响的模型。测试了1μM大麻二酚(pKa＝9.64)在pH6.4(肌强直触发)和pH7.4(低PP触发)下对P1158S的影响。图15提供了大麻二酚在低和高pH条件下对P1158S的影响。有趣的是，在两种pH值下，P1158S中也存在大麻二酚门控调节缺乏选择性。大麻二酚没有改变激活($p>0.05$)，但超极化失活($p<0.05$)并减慢了从失活中恢复的速度($p<0.05$)(图15A-F)。与之前的结果一致(Ghovanloo(2018)和Ghovanloo(2016))，大麻二酚抑制持久性INa，大麻二酚还降低了与P1158S在pH7.4相关的持久性INa的加剧($p<0.05$)(图15G)。在pH6.4($p>0.05$)(图15H)下无法检测到持续的INa减少，因为低pH值(Ghovanloo和Abdelsayed;和Ghovanloo和Peters)和大麻二酚都将电流幅度降低到一定程度，使得小电流幅度差异无法在背景噪音之上解决。

[0660] AP模型预测大麻二酚可减少肌强直，但在P1158S-pH测定中不会降低hypoPP(低钾周期性麻痹)

[0661] 在这项研究中，发明者使用WT和P1158S(对照和大麻二酚(1μM))的膜片钳实验中的门控变化来模拟骨骼肌AP49。使用50μA/cm2刺激运行模拟。模拟脉冲在50ms开始，在350ms停止(图16A)。在此脉冲期间，WT通道在50ms时激活并触发单个AP。通道保持失活状态，直到在350毫秒时去除刺激，然后膜电位恢复到其静息值(图16A)。大麻酚降低了AP幅度(图16B)，这与Ghovanloo(2018年)和Khan(2018年)提供的在不同神经元类型中观察到的大麻二酚效应一致。如图16C所示，在pH6.4时，P1158S在整个刺激期间显示出一连串的AP。去除刺激后，P1158S显示出一系列进行性的膜电位后去极化。这一系列的后去极化是强直爆发的特征(Cannon(2015))。有趣的是，大麻二酚介导的pH6.4下P1158S的变化降低了整个脉冲持续时间的模拟AP幅度，延迟了第一次AP的发作，与大麻二酚阻止Nav开放一致，并在去极化后消除了脉后肌强直(图16D)。在pH7.4时，P1158S发射单个AP，随后一段时间膜电位在-35mV附近保持去极化，即使是在刺激终止后(图16E)。这种无法复极化使Navs处于失活状态，并且与低钾周期性麻痹表型一致。与强直表型相比，大麻二酚并未减轻P1158S-pH体外/计算机试验中的hypoPP表型(图16F)，这与其从快速失活中恢复的速度减慢一致。

[0662] 骨骼肌收缩性并发症是由于骨骼肌钠通道Nav1.4的致病变异引起的。从上述所有研究中，大麻二酚已成为一种缓解骨骼肌收缩并发症的治疗剂，以及一种改变膜刚度并通过开窗渗透到导航孔的药物。使用各种离体、体外和计算机模拟技术进行的研究表明，大麻二酚通过其对Nav1.4的直接和间接影响来缓解肌强直。大麻二酚对Nav电流(可能还有其他离子电流)的抑制至少部是通过改变脂质双层刚性来介导的。

[0663] 因此，可以施用合适药物组合物中的大麻二酚以减轻

[0664] i)骨骼肌收缩力；

[0665] ii)肌强直，通过其对Nav1.4的直接和间接影响

[0666] iii)肌肉僵硬。

[0667] 大麻二酚在骨骼肌疾病中的可能临床应用

[0668] 大麻二酚对分子靶标Nav1.5产生了显著的积极影响，并将使该靶标免受高葡萄糖的有害影响。较高的葡萄糖浓度通常用作模拟糖尿病体内高血糖情况的模型，因此，大麻二酚被设置为挽救分子靶标Nav1.5，使其免受糖尿病高血糖情况下对所述钠通道施加的各种

影响。

[0669] 高血糖和糖尿病以一种或多种方式影响钠通道Nav1.5的门控特性。钠通道要么保持过度兴奋,无法在所需时间内失活,要么没有从失活中恢复,无法用于进一步的动作电位。有时它无法在任何给定的膜电位下激活。高血糖和糖尿病也会引起细胞毒性并影响钠通道的细胞活力。这些条件也会提高ROS水平,从而导致细胞毒性。

[0670] 因此,大麻二酚通过其有利的抗氧化和钠通道抑制作用,防止高糖诱导的心律失常和细胞毒性。

[0671] 与其他组织(包括大脑)的疾病相比,骨骼肌过度兴奋性障碍在历史上受到的关注较少。最常用于肌强直的药物包括为其他疾病开发的化合物,例如抗惊厥药和抗心律失常药(Alfonsi(2007)和Trip(2008)),它们可能会导致不必要的脱靶副作用。因此,另一种治疗方法是改变生活方式。例如,强直患者可能会改变他们的生活方式,以避免摄入钾或低温等触发因素。低PP的治疗通常通过口服钾和避免饮食中的碳水化合物和钠来实现。

[0672] 长期以来,大麻素一直被用于缓解肌肉问题。进行了一项研究,以确定大麻二酚是否会减少大鼠膈肌的骨骼收缩。由于大麻二酚是一种多药理学化合物,人们可能无法确定观察到的收缩减少仅仅是由于INa抑制,但与TTX结果的相似性表明INa阻断足以减少收缩,因此CANNABIDIOL在Nav1.4的活性可能是这种减少机制的一部分。

[0673] 为了探索大麻二酚在肌强直和低钾周期性麻痹中的可能用途,它在体外/计算机模拟测定中进行了测试。结果表明,大麻二酚可以缓解强直但不能减轻低钾周期性麻痹表型。

[0674] Jurkat-Rott报告说,在1990年代,离子通道病这一术语被创造并定义为由离子通道蛋白的故障或调节改变引起的疾病。因此,它们可能是遗传性的(例如通过离子通道基因的突变)或获得性的(例如通过自身抗体)。从那时起,已经描述了50多种人类通道病,其中12种影响骨骼肌。其中,五种是由其电压门控钠通道NaV1.4突变引起的:钾加重型肌强直(PAM)、先天性副肌强直(PMC)、高钾性周期性麻痹(HyperPP)、低钾性低钾周期性麻痹(HypoPP)和先天性肌无力综合征(CMS)。发明人进一步提出,即使Nav1.4没有突变但有任何影响其功能的获得性病症,大麻二酚药物组合物将提供有希望的治疗。此类情况可能包括因治疗而造成的影响。

[0675] 总之,各种实验的结果表明,大麻二酚对Nav1.4的抑制至少有两个部分:改变膜硬度和孔堵塞。Nav1.4抑制可能有助于大麻二酚减少骨骼肌收缩,并可能对肌强直有潜在的治疗价值。

[0676] 兽医应用:可以制备合适的大麻二酚药物组合物,用于哺乳动物的兽医应用,尤其是宠物,如山羊、狗、猫等。强直性肌无力或无力性山羊,其症状特征是先天性强直,是一种受到惊吓时会僵硬或跌倒的遗传性疾病,可以用大麻二酚药物组合物治疗。

[0677] 从更广泛的角度来看,所提出的机制可能适用于与大麻二酚相似的其他化合物,以调节Navs或具有类似结构的其他通道。

[0678] 对于每种大麻二酚,一种或多种大麻二酚的合适剂量为0.00001mg/kg体重至4000mg/kg体重。合适的剂量也可以是0.00001至1000mg/kg体重或0.01至500mg/kg体重。优选的剂量可以是0.01至100mg/kg体重或0.01至10mg/kg体重。

[0679] 剂量将取决于人类或动物患者健康的性质和状态。它还取决于年龄和合并症(如

果有的话)。此外,剂量将取决于药物组合物的类型,例如,是口服的还是肠胃外的或局部的。

[0680] 为了更好地理解本发明,描述了以下药物制剂/药物组合物并且它们不以任何方式限制本发明的范围。

[0681] 在第十方面,本发明提供了在1-9的几个方面中使用的大麻二酚的各种药物组合物。

[0682] 剂型可以优选地是口服的,但是当预期紧急治疗或当患者不能接受口服治疗时,一种或多种或所有药物也可以肠胃外给药。制剂可以通过任何合适的给药途径给药。例如,例如,制剂(和/或药物组合物)可以口服、静脉注射、肌肉注射、阴道内注射、腹腔内注射、直肠内注射、肠外注射、口腔内注射、局部注射、鼻内注射、皮下注射或通过耳道投与需要的受试者。

[0683] 合适的口服剂型包括片剂-舌下、含服、泡腾、咀嚼;喷雾剂、锭剂、分散粉末或颗粒和糖衣丸;胶囊剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂、锭剂、药用口香糖、口腔凝胶或贴剂。片剂可以使用本领域众所周知的压缩或成型技术制成。其他剂型也可以通过三维(3D)或4D打印以及碳石墨烯负载的纳米颗粒和微粒制备。明胶或非明胶胶囊可以配制为硬胶囊壳或软胶囊壳,其可以使用本领域众所周知的技术封装液体、固体和半固体填充材料。

[0684] 当患者可以接受口服治疗时,治疗可能涉及给予大麻二酚的口服片剂或胶囊,以及任何药物的药物组合物,由于CANNABDIOL的多种作用,CANNABIDEIOL是需要服用的药物。任何能诱发LQT的药物、任何能引发细胞因子或炎症的药物或任何可能对心脏产生不利影响的药物都可能是候选药物。大环内酯类抗生素等抗生素是此类首选药物之一。类似氯喹和羟基氯喹的药物也可能引起LQT,最近发现其具有对抗新冠肺炎的潜力。任何此类治疗剂均可在大麻二酚之前、之后或与大麻二酚一起服用。有时可以将其他治疗剂与大麻二酚的药物组合物结合。在一个示例中,可以如示例中所提供的那样制备含有大麻二酚、氯喹/羟基氯喹和阿奇霉素的三层片剂。当治疗对象为儿童或老年人时,可以首选口服液,而不是口服固体剂型。

[0685] 当患者可以接受口服治疗时,治疗可能涉及给予口服大麻二酚片剂或胶囊以及任何药物的药物组合物,由于大麻二酚的多重作用,大麻二酚的给药是可取的。任何可以诱导LQT的药物、任何可以引发细胞因子或炎症的药物或任何可能对心脏有任何不利影响的药物都可能是候选药物。诸如大环内酯类抗生素之类的抗生素是此类优选的候选者之一。氯喹和羟基氯喹等药物也可诱导LQT,最近发现它们具有对抗Covid-19的潜力,也可能是候选药物。任何此类治疗剂可以在大麻二酚之前、同时或之后施用。有时可以将其他治疗剂与大麻二酚组合在相同的药物组合物中。在一个实施方案中,可以如示例中提供的那样制备含有大麻二酚、氯喹/羟氯喹和阿奇霉素的三层片剂。当对儿童或老年人进行治疗时,可以首选液体口服剂型,而不是固体口服剂型。

[0686] 大麻二酚可以与另一种治疗剂的混悬剂或溶液一起给药。当大麻二酚与其他治疗剂一起施用时,这种施用可以是同时/伴随或顺序的,并且用于某些目的。

[0687] 大麻二酚可以与诱导长QT或炎症的其他治疗剂以合适的组合物的形式施用,以避免此类其他治疗剂在钠通道中诱导门控缺陷。

[0688] 大麻二酚和其他治疗剂可以组合在相同的组合物中或可以在不同的组合物中提

供。决定它们是否应该或不应该组合在单一组合物中的因素很多，但不限于，包括剂量、溶解度、稳定性、相容性、生物利用度、给药途径、给药频率、半衰期等。

[0689] 当不可能在单一组合物中组合时，大麻二酚组合物可以与其他治疗剂的组合物以试剂盒形式提供。

[0690] 由于可以减少活性氧，大麻二酚组合物减少了氧化应激/损伤并且可以与诱导氧化应激/损伤和炎症的任何药剂或病症一起使用。

[0691] 大麻二酚组合物增强了另一种治疗剂或疗法的安全性，并且它们可以在任何现有疗法中施用，例如，与疫苗一起施用，特别是已知会引起包括心脏副作用和炎症在内的多种副作用的Covid-19疫苗。

[0692] 作为口腔治疗的替代方案或在需要时避免口腔途径，如鼻喷雾剂等鼻治疗可以如示例中所述制备。所述制剂可以通过鼻腔途径作为滴鼻剂或使用适当的医疗器械作为鼻喷雾剂施用。所述制剂可通过吸入或/和不借助医疗器械(计量或未计量)雾化施用。

[0693] 作为另一种选择，也可以制成口腔或舌下喷雾剂。

[0694] 对于需要注射剂的患者，大麻二酚和其他治疗剂可以作为注射剂给药。

[0695] 只要有可能将大麻二酚与其他治疗剂的现有疗法(例如已上市的氯喹/羟氯喹药物组合物)结合，就应按照示例提供的方法制备大麻二酚药物组合物，但有时当这种治疗不可用或存在需要将某种形式的大麻二酚与氯喹/羟氯喹组合，甚至在示例中提供了相应的抗病毒药物组合物。一些可以与大麻二酚一起给药的治疗剂的例子包括磷酸奥司他韦、硫酸阿扎那韦和利巴韦林。

[0696] 提供了含有药理学有效浓度的大麻二酚的大麻二酚药物组合物，其可以减轻致病性钠通道Nav1,4的多种影响，例如骨骼肌收缩并发症、肌强直、肌肉僵硬和疼痛以及遗传性和获得性LOT。

[0697] 提供了含有药理学有效浓度的大麻二酚的大麻二酚药物组合物，其可挽救钠通道免受高血糖症和糖尿病中观察到的高葡萄糖的大部分不利影响。

[0698] 这些药物组合物还包括一种或多种适合施用于有需要的个体的药物载体。该药物组合物适用于作用于至少一种分子靶标，即Nav1.5。这些药物组合物将在各种心血管疾病的以下一种或多种发病机制中产生有益作用，包括但不限于长QT综合征、长QTc综合征、长QRS综合征、心肌病、心力衰竭、心律失常、心肌缺血、心肌梗塞(MI)、缺血性和非缺血性心律失常、炎症、血管功能障碍、心肌病、心脏重塑、适应不良、不同类型的心绞痛、药物性心力衰竭、医源性心脏和血管疾病，或它们的任何组合。

[0699] 有需要的个体可能具有或可能怀疑具有延长的QT间期、其症状和/或其相关并发症，包括但不限于高葡萄糖引发的氧化应激和细胞毒性。

[0700] 药物组合物可以通过任何合适的给药途径给药。例如，它们可以口服、舌下、口腔、静脉内、肌肉内、阴道内、腹膜内、直肠、肠胃外、眼内、局部、透皮、鼻内或皮下给予有需要的受试者。本文描述了其他合适的途径。

[0701] 下文描述了多种药物组合物。

[0702] 口服药物组合物

[0703] 药物组合物旨在调整、改变和特别提高大麻二酚的溶解度。大麻二酚具有良好的脂溶性，但其水溶性较差。因此，大麻二酚的药物组合物可以含有可溶性或崩解性赋形剂或

粘合剂，特别是那些提高大麻二酚在水或在液体制剂情况下使用的溶剂中的溶解度的赋形剂。药物组合物还可包含稳定剂、抗氧化剂、甜味剂、调味剂和着色剂。

[0704] 合适的稀释剂包括但不限于二水合磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素、微晶纤维素、高岭土、氯化钠、干淀粉、水解淀粉、预胶化淀粉、二氧化硅、二氧化钛、硅酸铝镁和糖粉。常用的稀释剂包括惰性粉末物质，例如淀粉、粉末纤维素，尤其是结晶和微晶纤维素，糖例如果糖、甘露醇和蔗糖，谷物粉和类似的可食用粉末。典型的稀释剂包括例如各种类型的淀粉、乳糖、甘露醇、高岭土、磷酸钙或硫酸钙、无机盐如氯化钠和糖粉。粉状纤维素衍生物也是有用的。

[0705] 粘合剂可以赋予固体剂型以粘性，因此可以确保片剂或珠子或颗粒在剂型形成后保持完整。

[0706] 合适的粘合剂材料包括但不限于淀粉、预胶化淀粉、明胶、糖(包括蔗糖、葡萄糖、葡萄糖、乳糖和山梨醇)、聚乙二醇、蜡、天然和合成树胶，例如阿拉伯胶、黄松果胶、海藻酸钠、纤维素，包括羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、乙基纤维素、，和硅酸铝镁(Veegum®)，以及合成聚合物，例如丙烯酸和甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物，甲基丙烯酸甲酯共聚物、甲基丙烯酸酯氨基烷基共聚物、聚丙烯酸/聚甲基丙烯酸和聚乙烯吡咯烷酮。典型的片剂粘合剂包括淀粉、明胶和糖等物质，如乳糖、果糖和葡萄糖。也可以使用天然和合成树胶，包括阿拉伯胶、藻酸盐、甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。聚乙二醇、亲水聚合物、乙基纤维素和蜡也可用作粘合剂。

[0707] 可以包括润滑剂以促进片剂制造。合适的润滑剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、山嵛酸甘油酯、聚乙二醇、滑石和矿物油。片剂配方中可包含润滑剂，以防止片剂和冲头粘在模具中。润滑剂可选自滑石、硬脂酸镁和硬脂酸钙、硬脂酸和氢化植物油等光滑固体。

[0708] 崩解剂可用于促进剂型在给药后崩解或“分解”，通常包括但不限于淀粉、羟基乙酸淀粉钠、羧甲基淀粉钠、羧甲基纤维素钠、羟丙基纤维素预胶化淀粉、粘土、纤维素、海藻氨酸、胶或交联聚合物，例如交联PVP(来自GAFChemicalCorp的Polyplasdone®XL)。

[0709] 稳定剂可用于抑制或延缓药物-药物组合物反应，包括例如氧化反应。合适的稳定剂包括但不限于抗氧化剂、丁基化羟基甲苯(BHT)；抗坏血酸、其盐类和酯类；维生素E、生育酚及其盐类；亚硫酸盐，例如焦亚硫酸钠；半胱氨酸及其衍生物；柠檬酸；没食子酸丙酯和丁基羟基茴香醚(BHA)。

[0710] 增溶剂可以包含表面活性剂。合适的表面活性剂可以是阴离子、阳离子、两性或非离子表面活性剂。合适的阴离子表面活性剂包括但不限于含有羧酸根、磺酸根和硫酸根离子的那些。

[0711] 延迟释放/缓释/延长释放酶药物组合物

[0712] 含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂的延迟释放剂量药物组合物可以如标准参考文献如"Pharmaceutical dosage form tablets",eds.Liberman et.al.(New York, Marcel Dekker,Inc.,1989),"Remington-The science and practice of pharmacy", 20th ed.,Lippincott Williams&Wilkins,Baltimore,MD,2000,以及"Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems",6th Edition,Ansel et al.,(Media,PA: Williams and Wilkins,1995)。这些参考资料提供了有关片剂和胶囊剂以及片剂、胶囊剂

和颗粒剂的缓释剂型的辅料、材料、设备和工艺的信息。这些参考资料提供了有关制备片剂和胶囊剂的载体、材料、设备和工艺以及片剂、胶囊剂和颗粒剂的缓释剂型的信息。

[0713] 作为延迟释放传递的替代方案，药物组合物还可以制备成持续释放或延长释放，或组合的持续释放和延长释放部分剂型，或即释剂型，或组合的持续释放部分和即释部分剂型，或它们的组合。

[0714] 释放被改变的药物组合物可以配制成基质制剂、包衣制剂、片剂制剂中的多层或片剂、渗透制剂等。含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂的药物组合物可以用合适的包衣材料包衣，用于例如，在颗粒通过胃的酸性环境后延迟释放。合适的包衣材料包括但不限于纤维素聚合物，例如乙酸邻苯二甲酸纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素和乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素；聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯、丙烯酸聚合物和共聚物，以及以商品名EUDRAGIT®(RothPharma,Westerstadt,Germany)商购的甲基丙烯酸树脂、玉米醇溶蛋白、虫胶和多糖。

[0715] 可以用不同比例的水溶性聚合物、水不溶性聚合物和/或pH依赖性聚合物形成包衣，有或没有水不溶性/水溶性非聚合赋形剂，以产生所需的释放曲线。包衣可以在剂型(基质或简单)上进行，包括但不限于片剂(有或没有包衣的珠子)、胶囊(有或没有包衣的珠子)、珠子、颗粒药物组合物、“成分”“原样”配制成但不限于混悬剂形式或喷洒剂型。

[0716] 此外，包衣材料可包含常规载体，例如增塑剂、颜料、着色剂、助流剂、稳定剂、成孔剂和表面活性剂。任选的药学上可接受的赋形剂包括但不限于稀释剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、稳定剂和表面活性剂。

[0717] 稀释剂，也称为“填充剂”，可用于增加固体剂型的体积，从而为片剂的压制或珠粒和颗粒的形成提供实用的尺寸。合适的稀释剂包括但不限于二水合磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素、微晶纤维素、高岭土、氯化钠、干淀粉、水解淀粉、预胶化淀粉、二氧化硅、二氧化钛、硅酸铝镁和糖粉。常用的稀释剂包括惰性粉末物质，例如淀粉、粉末纤维素，尤其是结晶和微晶纤维素，糖，例如果糖、甘露醇和蔗糖，谷物粉和类似的可食用粉末。典型的稀释剂包括例如各种类型的淀粉、乳糖、甘露醇、高岭土、磷酸钙或硫酸钙、无机盐如氯化钠和糖粉。粉状纤维素衍生物也是有用的。

[0718] 粘合剂可以赋予固体剂型以粘性，因此可以确保片剂或珠子或颗粒在剂型形成后保持完整。

[0719] 合适的粘合剂材料包括但不限于淀粉、预胶化淀粉、明胶、糖类(包括蔗糖、葡萄糖、右旋糖、乳糖和山梨糖醇)、聚乙二醇、蜡、天然和合成树胶如阿拉伯胶、黄蓍胶、海藻酸钠、纤维素，包括羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、乙基纤维素和硅酸铝镁(Veegum®),以及合成聚合物，例如丙烯酸和甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸甲酯共聚物、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物、聚丙烯酸/聚甲基丙烯酸和聚乙烯吡咯烷酮。典型的片剂粘合剂包括淀粉、明胶等物质和乳糖、果糖和葡萄糖等糖类。也可以使用天然和合成树胶，包括阿拉伯树胶、藻酸盐、甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。聚乙二醇、亲水聚合物、乙基纤维素和蜡也可以用作粘合剂。

[0720] 可以包括润滑剂以促进片剂制造。合适的润滑剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、山嵛酸甘油酯、聚乙二醇、滑石和矿物油。片剂配方中可包含润滑剂，以防止片剂和冲头粘在模具中。润滑剂可选自滑石、硬脂酸镁和硬脂酸钙、硬脂酸和氢化植物油等光

滑固体。

[0721] 崩解剂可用于促进剂型在给药后崩解或“分解”，通常包括但不限于淀粉、羟基乙酸淀粉钠、羧甲基淀粉钠、羧甲基纤维素钠、羟丙基纤维素预胶化淀粉、粘土、纤维素、海藻氨酸、胶或交联聚合物，例如交联PVP(Polyplasdone®XL from GAF Chemical Corp)。稳定剂可用于抑制或延缓药物-药物组合物反应，包括例如氧化反应。合适的稳定剂包括但不限于抗氧化剂、丁基化羟基甲苯(BHT)；抗坏血酸、其盐类和酯类；维生素E、生育酚及其盐类；亚硫酸盐，例如焦亚硫酸钠；半胱氨酸及其衍生物；柠檬酸；没食子酸丙酯和丁基羟基茴香醚(BHA)。

[0722] 肠胃外药物组合物

[0723] Nav1.5通道调节剂可以配制成溶液或悬浮液的形式，用于注射或输液等肠外给药。该制剂可以通过任何途径投与，例如血液或直接投与待治疗的器官或组织。

[0724] 可以使用本领域已知的技术将肠胃外制剂制备为水性药物组合物。通常，此类药物组合物可以制备为可注射制剂，例如溶液或悬浮液；适用于在注射前加入重构介质后制备溶液或悬浮液的固体形式；乳剂，例如油包水(w/o)乳剂、水包油(o/w)乳剂及其微乳剂、脂质体或乳剂，例如自微乳化药物传递系统(SMEDDS)和或胶束。

[0725] 载体可以是溶剂或分散介质，其含有例如水、乙醇、一种或多种多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)、油，例如植物油(例如花生油、玉米油、芝麻油等)及其组合。例如，通过使用包衣(如卵磷脂)、在分散的情况下保持所需的粒径和/或使用表面活性剂，可以保持适当的流动性。在许多情况下，最好包括等渗剂，例如糖或氯化钠。

[0726] 本文所述Nav1.5通道调节剂的溶液和分散液可在水或其他溶剂或分散介质中制备，该溶剂或分散剂与一种或多种药学上可接受的赋形剂适当混合，包括但不限于表面活性剂、分散剂、乳化剂、pH改性剂及其组合。

[0727] 合适的表面活性剂可以是阴离子、阳离子、两性或非离子表面活性剂。合适的阴离子表面活性剂包括但不限于含有羧酸盐、磺酸盐和硫酸根离子的表面活性剂。合适的阴离子表面活性剂包括长链烷基磺酸盐的钠、钾、铵和烷基芳基磺酸盐，例如十二烷基苯磺酸钠；磺基琥珀酸二烷基钠，如十二烷基苯磺酸钠；磺基琥珀酸二烷基钠，例如双-(2-乙基硫氧基)-磺基琥珀酸酯钠；和烷基硫酸盐，如十二烷基硫酸钠。合适的阳离子表面活性剂包括但不限于季铵化合物，如苯扎氯铵、苯乙氧基氯化铵、溴化十六铵、硬脂基二甲基苄基氯化铵，聚氧乙烯和椰胺。合适的非离子表面活性剂包括单硬脂酸乙二醇酯、肉豆蔻酸丙二醇酯、单硬脂酸酯甘油酯、硬脂酸甘油酯、聚甘油-4-油酸酯、山梨醇酯、蔗糖酯、聚乙二醇150月桂酸酯、聚乙二醇400单月桂酸酯，聚氧乙烯单月桂酯、聚山梨醇酸酯、聚氧乙烯辛基苯醚、聚乙二醇1000十六烷基醚、聚氧乙烯十三烷基醚、聚丙烯二醇丁基醚、,Poloxamer®401、硬脂酰单异丙醇酰胺和聚氧乙烯氢化牛油酰胺。两性表面活性剂的实例包括N-十二烷基-p-丙氨酸钠、N-月桂基-p-氨基二丙酸钠、肉豆蔻酸酯、月桂基甜菜碱和月桂基磺基甜菜素。

[0728] 该制剂可以含有防腐剂以防止微生物的生长。合适的防腐剂包括但不限于对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸和硫柳汞。该配方还可以包含抗氧化剂以防止Nav1.5通道调制器的降解。该制剂可以缓冲至pH3-8，用于在重构时肠胃外给药。合适的缓冲液包括但不限于磷酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液和柠檬酸盐缓冲液。

[0729] 水溶性聚合物可用于肠胃外给药的药物组合物中。合适的水溶性聚合物包括但不

限于聚乙烯吡咯烷酮、葡聚糖、羧甲基纤维素和聚乙二醇。可以通过将所需量的Nav1.5通道调节剂加入到适当的溶剂或分散介质中来制备无菌注射溶液，其中含有一种或多种上面列出的赋形剂，根据需要，然后过滤灭菌。可以通过将各种已灭菌的Nav1.5通道调节剂加入到无菌载体中来制备分散体，该载体包含基本分散介质和上面列出的所需的其他成分。用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末可以通过真空干燥和冷冻干燥技术制备，这产生了Nav1.5通道调节剂的粉末以及来自其先前无菌过滤的溶液的任何其他所需成分。粉末可以以这样的方式制备，即颗粒本质上是多孔的，这可以增加颗粒的溶解。制备多孔颗粒的方法在本领域中是众所周知的。

[0730] 用于肠胃外给药的药物制剂可以是由一种或多种Nav1.5通道调节剂形成的颗粒的无菌水溶液或悬浮液的形式。可接受的溶剂包括例如水、林格溶液、磷酸盐缓冲盐水(PBS)和等渗氯化钠溶液。该制剂还可以是在无毒、肠胃外可接受的稀释剂或溶剂如1,3-丁二醇中的无菌溶液、悬浮液或乳液。

[0731] 在一些情况下，制剂可以以液体形式分配或包装。在其他实施方案中，用于肠胃外给药的制剂可以包装为固体，例如通过合适的液体制剂的冻干获得。固体可以在给药前用适当的载体或稀释剂重构。

[0732] 用于肠胃外给药的溶液、悬浮液或乳液可以用有效量的缓冲液进行缓冲，以维持适合眼部给药的pH。合适的缓冲剂包括但不限于乙酸盐、硼酸盐、碳酸盐、柠檬酸盐和磷酸盐缓冲剂。

[0733] 用于肠胃外给药的溶液、悬浮液或乳剂也可以含有一种或多种张度剂以调节制剂的等渗范围。合适的张度剂包括但不限于甘油、甘露醇、山梨糖醇、氯化钠和其他电解质。用于肠胃外给药的溶液、悬浮液或乳剂也可以含有一种或多种防腐剂以防止眼用制剂的细菌污染。

[0734] 合适的防腐剂包括但不限于聚六亚甲基双胍(PHMB)、苯扎氯铵(BAK)、稳定的氧氯络合物(也称为Purite®)、乙酸苯汞、氯丁醇、山梨酸、氯己定、苯甲醇、对羟基苯甲酸酯、硫柳汞和其混合物。

[0735] 溶液、悬浮液或乳液、纳米技术的使用包括用于肠胃外给药的纳米制剂也可以包含一种或多种赋形剂，例如分散剂、润湿剂和悬浮剂。

[0736] 局部和透皮药物组合物

[0737] 如本文所述的Nav1.5通道调节剂可以配制用于局部给药。Nav1.5信道调节剂方案可以基于本文所述的方案。用于局部给药的合适剂型包括霜剂、软膏剂、油膏剂、喷雾剂、凝胶剂、洗剂、乳液、液体和透皮贴剂。该制剂可以配制用于经粘膜、经上皮、经内皮或经皮给药。局部制剂可以包含一种或多种化学渗透增强剂、膜渗透剂、膜转运剂、润肤剂、表面活性剂、稳定剂及其组合。

[0738] 在一些实施方案中，Nav1.5通道调节剂可以作为液体制剂如溶液或悬浮液、半固体制剂如洗剂或软膏或固体制剂给药。在一些实施方案中，Nav1.5通道调节剂可以配制成液体，包括溶液和悬浮液，例如滴眼剂或半固体制剂，例如用于局部施用于皮肤、黏膜的软膏或洗剂，例如眼睛、阴道或直肠。

[0739] 该制剂可以包含一种或多种赋形剂，例如润肤剂、表面活性剂、乳化剂、渗透促进剂等。

[0740] 合适的润肤剂包括但不限于杏仁油、蓖麻油、角果提取物、鲸蜡硬脂醇、鲸蜡醇、十六烷基酯蜡、胆固醇、棉籽油、环甲硅油、棕榈硬脂酸乙二醇酯、甘油、单硬脂酸甘油酯、单油酸甘油酯、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、羊毛脂、卵磷脂、轻质矿物油、中链甘油三酯、矿物油和羊毛脂醇、凡士林、凡士林和羊毛脂醇、大豆油、淀粉、硬脂醇、葵花油、木糖醇及其组合。在一些实施方案中，润肤剂可以是硬脂酸乙基己酯和棕榈酸乙基己酯。

[0741] 合适的表面活性剂包括但不限于乳化蜡、单油酸甘油酯、聚氧乙烯烷基醚、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚山梨醇酯、脱水山梨糖醇酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、环糊精、单硬脂酸甘油酯、泊洛沙姆、聚维酮及其组合。在一些示例中，表面活性剂可以是硬脂醇。

[0742] 合适的乳化剂包括但不限于阿拉伯树胶、金属皂、某些动植物油和各种极性化合物、阴离子乳化蜡、硬脂酸钙、卡波姆、鲸蜡硬脂醇、鲸蜡醇、胆固醇、二乙醇胺、乙二醇棕榈硬脂酸酯、甘油单硬脂酸酯、单油酸甘油酯、羟丙基纤维素、羟丙甲纤维素、羊毛脂、含水羊毛脂醇、卵磷脂、中链甘油三酯、甲基纤维素、矿物油和羊毛脂醇、磷酸二氢钠、单乙醇胺、非离子乳化蜡、油酸、泊洛沙姆、泊洛沙姆、聚氧乙烯烷基醚、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯、聚氧乙烯硬脂酸酯、海藻酸丙二醇酯、自乳化单硬脂酸甘油酯、脱水柠檬酸钠、月桂基硫酸钠、脱水山梨糖醇酯、硬脂酸、葵花油、黄蓍胶、三乙醇胺、黄原胶及其组合。在一些实施方案中，乳化剂可以是硬脂酸甘油酯。

[0743] 合适种类的渗透促进剂包括但不限于脂肪醇、脂肪酸酯、脂肪酸、脂肪醇醚、氨基酸、磷脂、卵磷脂、胆酸盐、酶、胺和酰胺、络合剂(脂质体、环糊精、改性纤维素和二酰亚胺)、大环化合物，例如大环内酯、酮和酸酐和环状脲、表面活性剂、N-甲基吡咯烷酮及其衍生物、DMSO和相关化合物、离子化合物、氮酮和相关化合物，以及溶剂，例如醇、酮、酰胺、多元醇(例如乙二醇)。

[0744] 合适的乳液包括但不限于水包油、油包水乳液或多重乳液。乳液的任一相或两相可包含表面活性剂、乳化剂和/或液体非挥发性非水性材料。在一些示例中，表面活性剂可以是非离子表面活性剂。在其他实施方案中，乳化剂是乳化蜡。在进一步的实施方案中，液体非挥发性非水材料是乙二醇。在一些示例中，二醇是丙二醇。油相可以包含其他合适的油性药学上可接受的赋形剂。合适的油性药学上可接受的赋形剂包括但不限于羟基化蓖麻油或芝麻油，可在油相中用作表面活性剂或乳化剂。

[0745] 还提供了含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂的洗剂。在一些实施方案中，洗剂可以是粘度在100和1000厘泊之间的乳液形式。洗剂的流动性可以允许在广泛的表面积上快速和均匀地施用。乳液可以配制成在皮肤上干燥，在皮肤表面留下一层薄薄的药用成分。

[0746] 还提供了含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂的乳膏。乳膏可以含有乳化剂和/或其他稳定剂。在一些实施方案中，乳膏是具有大于1000厘斯，通常在20,000-50,000厘斯范围内的粘度的乳膏的形式。与软膏相比，面霜更容易涂抹和去除。

[0747] 乳霜和乳液之间的一个区别是粘度，它取决于各种油的用量/使用以及用于制备配方的水的百分比。面霜可以比乳液厚，可以有多种用途，并且可以有更多不同的油/黄油，这取决于对皮肤的期望效果。在乳膏制剂的一些实施方案中，水基百分比可为约60％至约75％，而油基百分比可为总量的约20％至约30％，其他百分比为乳化剂、防腐剂和添加剂总量为100％。

[0748] 还提供了含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂的软膏和合适的软膏基。合适的软

膏基质包括烃基质(例如凡士林、白凡士林、黄色软膏和矿物油);吸收基质(亲水凡士林、无水羊毛脂、羊毛脂和冷霜);水溶性基质(例如亲水性软膏)和水溶性基质(例如聚乙二醇软膏)。

[0749] 糊剂通常与软膏不同,因为它们含有较大百分比的固体。与使用相同成分制备的软膏相比,糊剂通常更易吸收且油腻感更低。

[0750] 本文还描述了含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂、胶凝剂和液体载体的凝胶。合适的胶凝剂包括但不限于改性纤维素,例如羟丙基纤维素和羟乙基纤维素;Carbopol®均聚物和共聚物;热可逆凝胶及其组合。

[0751] 液体载体中的合适溶剂包括但不限于二甘醇单乙醚;亚烷基二醇,例如丙二醇;二甲基异山梨醇;醇类,例如异丙醇和乙醇。可以根据溶剂溶解药物的能力来选择溶剂。也可以掺入其他添加剂,其可以改善制剂的皮肤感觉和/或润肤性。此类添加剂包括但不限于肉豆蔻酸异丙酯、乙酸乙酯、苯甲酸C12-C15烷基酯、矿物油、角鲨烷、环甲硅油、癸酸/辛酸甘油三酯及其组合。

[0752] 本文还描述了可包括本文所述Nav1.5信道调节剂的泡沫。泡沫可以是与气体推进剂结合的乳化液。气体推进剂可包括氢氟烷(HFA)。合适的推进剂包括氢氟烷,例如1,1,1,2-四氟乙烷(HFA134a)和1,1,1,2,3,3-七氟丙烷(HFA227),但这些和其他目前已批准或可批准用于医疗用途的氢氟烷的混合物和添加剂是合适的。推进剂可以不含碳氢推进剂气体,碳氢推进剂气体在喷涂过程中会产生易燃或爆炸性蒸汽。此外,泡沫不含挥发性醇,它在使用过程中会产生易燃或爆炸性蒸汽。缓冲液可用于控制药物组合物的pH值。缓冲液可以将药物组合物的pH值从大约4缓冲到大约7.5,从大约4到大约7,或者从大约5到大约7。在一些示例中,缓冲液可以是三乙醇胺。

[0753] 可以包括防腐剂以防止真菌和微生物的生长。合适的防腐剂包括但不限于苯甲酸、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠、丙酸钠、苯扎氯铵、苄索氯铵、苯甲醇、氯化十六烷基吡啶鎓、氯丁醇、苯酚、苯乙醇和硫柳汞.

[0754] 在某些实施方案中,可以将一种或多种制剂连续交付给有需要的患者,来提供制剂。对于局部应用,可以重复应用或使用贴片在较长时间内提供Nav1.5通道调节剂的连续给药。

[0755] 肠内制剂

[0756] 如本文所述的Nav1.5通道调节剂可以制备成肠内制剂,例如用于口服给药。Nav1.5通道调节剂可以是根据本文提及的那些的化合物或其药用盐。合适的口服剂型包括片剂——舌下、含服、泡腾片、咀嚼片;锭剂、锭剂、可分散粉剂或颗粒剂和糖衣丸;胶囊剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂、锭剂、药用口香糖、口腔凝胶或贴剂。片剂可以使用本领域熟知的压缩或模制技术制备。明胶或非明胶胶囊可以使用本领域熟知的技术制备成硬胶囊壳或软胶囊壳,其可以包封液体、固体和半固体填充材料。

[0757] 可以使用药学上可接受的载体制备包含如本文所述的Nav1.5通道调节剂的制剂。如本文通常使用的“载体”包括但不限于稀释剂、防腐剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、溶胀剂、填充剂、稳定剂及其组合。剂型中使用的聚合物包括但不限于合适的疏水性或亲水性聚合物和合适的pH依赖性或非依赖性聚合物。合适的疏水和亲水聚合物包括但不限于羟丙基甲

基纤维素、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、聚乙二醇、乙基纤维素、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、聚乙酸乙烯酯和离子交换树脂。“载体”还包括包衣药物组合物的所有组分，其可以包括增塑剂、颜料、着色剂、稳定剂和助流剂。

[0758] 含有如本文所述的Nav1.5通道调节剂的制剂可以使用一种或多种药学上可接受的赋形剂制备，所述赋形剂包括稀释剂、防腐剂、粘合剂、润滑剂、崩解剂、溶胀剂、填充剂、稳定剂及其组合。

[0759] 其他活性剂

[0760] 在一些实施方案中，含有Nav1.5通道调节剂或其药用盐的药物组合物中包含一定量的一种或多种附加的活性剂。合适的附加活性剂包括但不限于DNA、RNA、氨基酸、肽、多肽、抗体、适体、核酶、抑制必需肿瘤蛋白和基因翻译或转录的核酶指导序列、激素、免疫调节剂、退烧药、抗焦虑药、抗精神病药、镇痛药、解痉药、抗炎药、抗组胺药、抗感染药和化疗药。

[0761] 其他合适的附加活性剂包括但不限于他汀类药物、降低胆固醇的药物、降低血糖的药物。Nav1.5通道调节剂可用作单一疗法或与其他活性剂联合用于治疗代谢紊乱(糖尿病、高胆固醇、高脂血症、高甘油三酯)。

[0762] 其他合适的治疗剂还包括在钠通道Nav1.5和Nav1.4中诱导门控缺陷的那些药物。这些治疗剂是诱导或可能诱导长QT或炎症的药物。此类药物先前已描述，但它们也涵盖其副作用已经或可以被大麻二酚纠正的所有此类治疗剂。

[0763] 大麻二酚的剂量

[0764] 大麻二酚制剂的剂量是至关重要的，因为观察到它可能具有Nav1.5的浓度依赖性效应，并且希望以多种强度生产药物组合物。

[0765] 合适的剂量为0.1毫克/公斤体重至4000毫克/公斤体重。合适的剂量也可以是0.1至1000mg/kg体重或0.1至500mg/kg体重。优选的剂量可以是0.1至100mg/kg体重或0.1至20mg/kg体重。

[0766] 剂量将取决于心脏健康的性质和状态。这也将取决于年龄。此外，剂量将取决于药物组合物的类型，例如，是口服的还是肠胃外的或局部的。

[0767] 表2-9：下表提供了在研究的第一部分和第二部分中涉及稳态激活、稳态快速失活、从快速失活中恢复和持续电流的实验中记录的实际读数，其中第一部分采用高葡萄糖条件，而第二部分采用炎症作为介质诱导钠通道Nav1.5的门控缺陷。

[0768] 表

[0769] 表2：稳态激活

[0770]

	GV – $V_{1/2}$ (mV)	GV – z (斜率)	n
对照			
对照/载体	-38.2 ± 0.9	3.7 ± 0.1	6
对照/CBD 5 uM	-31.1 ± 3.1	3.1 ± 0.2	6
对照/利多卡因1 mM	-39.9 ± 5.5	3.6 ± 0.2	5
对照/Tempol 1 mM灌注	-36.1 ± 2.2	3.9 ± 0.6	5
对照/ Tempol 1 mM孵化	-41.9 ± 3.2	4.4 ± 0.5	7
甘露醇（100mM）	-39.2 ± 1.6	5.1 ± 0.8	7
葡萄糖25 mM	-37.4 ± 1.2	3.1 ± 0.2	5
葡萄糖50 mM			
葡萄糖50 mM/载体	-30.7 ± 2.2	2.9 ± 0.3	6
葡萄糖50 mM/大麻二酚 5uM	-39.1 ± 2.8	4.7 ± 0.9	6
葡萄糖50 mM/利多卡因1 mM	-39.4 ± 4.0	5.5 ± 0.9	8
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	-27.6 ± 3.9	2.6 ± 0.2	6
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM培养	-43.1 ± 0.5	4.0 ± 0.6	5
葡萄糖 100 mM			
葡萄糖 100 mM/载体	-18.9 ± 2.9	2.8 ± 0.2	9
葡萄糖100 mM/CBD 5 uM	-39.9 ± 1.0	3.7 ± 0.6	5
葡萄糖 100 mM/CBD 1 uM	-26.9 ± 1.0	2.8 ± 0.2	5
葡萄糖100 mM/利多卡因1 mM	-36.3 ± 3.6	4.2 ± 0.8	5
葡萄糖100 mM/利多卡因100 uM	-24.7 ± 1.7	3.1 ± 0.1	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	-23.1 ± 2.2	2.2 ± 0.1	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM孵育	-41.1 ± 2.4	4.3 ± 1.0	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 100 uM孵育	-30.2 ± 1.4	3.4 ± 0.3	5

[0771] 表3:稳态快速激活

[0772]

	SSFI – $V_{1/2}$ (mV)	SSFI – z (斜率)	n
对照			
对照/载体	-94.3 ± 2.5	-2.2 ± 0.2	5
对照/CBD 5 uM	-113.3 ± 6.2	-1.7 ± 0.1	5
对照/利多卡因1 mM	-111.7 ± 5.6	-1.5 ± 0.1	5
对照/Tempol 1 mM灌注	-94.1 ± 3.0	-2.2 ± 0.2	6
对照/ Tempol 1 mM孵化	-98.6 ± 2.8	-2.2 ± 0.1	5
甘露醇（100mM）	-93.6 ± 2.3	-2.1 ± 0.3	5
葡萄糖25 mM	-94.8 ± 3.5	-2.2 ± 0.2	5
葡萄糖50 mM			
葡萄糖50 mM/载体	-80.7 ± 3.9	-2.6 ± 0.2	6
葡萄糖50 mM/大麻二酚 5uM	-89.6 ± 2.5	-2.5 ± 0.3	5
葡萄糖50 mM/利多卡因1 mM	-96.7 ± 5.4	-1.5 ± 0.5	7
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	-76.7 ± 2.4	-2.7 ± 0.1	6
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM培养	-94.3 ± 2.7	-2.9 ± 0.2	5
葡萄糖100毫米			
葡萄糖 100 mM/载体	-66.8 ± 2.6	-2.7 ± 0.2	9
葡萄糖100 mM/CBD 5 uM	-89.5 ± 2.7	-3.1 ± 0.3	5
葡萄糖 100 mM/CBD 1 uM	-75.0 ± 2.4	-2.4 ± 0.1	5
葡萄糖100 mM/利多卡因1 mM	-91.7 ± 2.4	-1.6 ± 0.1	8
葡萄糖100 mM/利多卡因100 uM	-73.9 ± 2.0	-2.7 ±0.3	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	-71.8 ± 3.8	-3.0 ± 0.2	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM孵育	-90.5 ± 2.8	-2.8 ± 0.2	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 100 uM孵育	-79.9 ± 2.1	-2.3 ± 0.2	5

[0773] 表4:从快速失活中恢复的时间常量

	τ_{fast}	τ_{slow}	*n*
对照			
对照/载体	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001	6
对照/CBD 5 uM	0.007 ± 0.002	0.104 ± 0.025	6
对照/利多卡因1 mM	0.276 ± 0.030	0.307 ± 0.022	4
对照/Tempol 1 mM灌注	0.006 ± 0.001	0.027 ± 0.005	6
对照/ Tempol 1 mM孵化	0.004 ± 0.001	0.054 ± 0.012	4
甘露醇（100mM）	0.020 ± 0.015	0.058 ± 0.016	5
葡萄糖25 mM	0.006 ± 0.001	0.091 ± 0.019	6
葡萄糖50 mM			
葡萄糖50 mM/载体	0.015 ± 0.011	0.070 ± 0.006	7
葡萄糖50 mM/大麻二酚 5uM	0.006 ± 0.001	0.081 ± 0.009	6
葡萄糖50 mM/利多卡因1 mM	0.160 ± 0.031	0.232 ± 0.029	5
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	0.008 ± 0.001	0.104 ± 0.021	6
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM培养	0.004 ± 0.001	0.055 ± 0.009	5
葡萄糖 100 mM			
葡萄糖 100 mM/载体	0.007 ± 0.001	0.082 ± 0.026	9
葡萄糖100 mM/CBD 5 uM	0.005 ± 0.001	0.101 ± 0.006	5
葡萄糖 100 mM/CBD 1 uM	0.020 ± 0.013	0.104 ± 0.019	6
葡萄糖100 mM/利多卡因1 mM	0.178 ± 0.020	0.336 ± 0.042	8
葡萄糖100 mM/利多卡因100 uM	0.032 ± 0.025	0.212 ± 0.013	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	0.005 ± 0.001	0.065 ± 0.032	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM孵育	0.005 ± 0.001	0.065 ± 0.020	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 100 uM孵育	0.009 ± 0.003	0.118 ± 0.011	5

[0774]

[0775] 表5:持续电流

[0776]

	持续 I_{Na}	*n*
对照		
对照/载体	0.97 ± 0.11	7
对照/CBD 5 uM	0.72 ± 0.13	6
对照/利多卡因1 mM	0.97 ± 0.17	5
对照/Tempol 1 mM灌注	1.06 ± 0.07	5
对照/ Tempol 1 mM孵化	1.03 ± 0.08	5
甘露醇（100mM）	0.97 ± 0.10	7
葡萄糖25 mM	1.06 ± 0.12	5
葡萄糖50 mM		
葡萄糖50 mM/载体	3.16 ± 0.42	7
葡萄糖50 mM/大麻二酚 5uM	1.26 ± 0.20	5
葡萄糖50 mM/利多卡因1 mM	1.82 ± 0.11	5
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	3.04 ± 0.35	8
葡萄糖50 mM/四甲基哌啶 1 mM培养	0.90 ± 0.22	5
葡萄糖 100mM		
葡萄糖 100 mM/载体	6.41 ± 0.61	9
葡萄糖100 mM/CBD 5 uM	1.38 ± 0.20	7
葡萄糖 100 mM/CBD 1 uM	3.03 ± 0.12	6
葡萄糖100 mM/利多卡因1 mM	1.31 ± 0.25	7
葡萄糖100 mM/利多卡因100 uM	3.50 ± 0.36	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM灌注	6.07 ± 0.82	7
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 1 mM孵育	1.33 ± 0.26	5
葡萄糖100 mM/四甲基哌啶 100 uM孵育	2.93 ± 0.18	5

[0777]

表 6: 稳态激活

	GV – $V_{1/2}$ (mV)	GV – z (slope)	*n*
对照			
对照/载体	-36.2 ± 1.6	3.3 ± 0.2	5
载体/H-89	-39.6 ± 1.4	3.2 ± 0.1	5
载体/Gö 6983	-37.7 ± 0.7	3.1 ± 0.1	5
葡萄糖 (100 mM)			
100 mM 葡萄糖/载体	-16.6 ± 2.8	2.5 ± 0.1	5
炎性介质 (IM)			

[0778]

IM/载体	-22.3 ± 2.4	2.7 ± 0.2	5
IM/H-89	-32.7 ± 1.4	2.8 ± 0.2	5
IM/Gö 6983	-31.7 ± 1.6	2.7 ± 0.1	5
CPT- cAMP	-25.2 ± 0.5	2.5 ± 0.1	5
PMA	-22.6 ± 1.6	2.5 ± 0.1	5
大麻二酚(5 μM)			
IM/大麻二酚	-39.1 ± 2.8	3.6 ± 0.1	5
CPT-cAMP/大麻二酚	-33.1 ± 0.6	3.4 ± 0.1	5
PMA/大麻二酚	-35.3 ± 0.9	3.3 ± 0.1	5
雌二醇（E_2）			
E_2 5 μM/载体	-34.8 ± 1.5	3.1 ± 0.1	5
E_2 10 μM/载体	-34.3 ± 0.9	3.0 ± 0.1	5
E_2 5 μM/葡萄糖 100 mM	-27.3± 0.7	2.4 ± 0.1	5
E_2 10 μM/葡萄糖 100 mM	-37.9 ± 1.4	3.5 ± 0.1	5
E_2 5 μM/IM	-29.8 ± 1.3	2.8 ± 0.1	5
E_2 10 μM/IM	-35.7 ± 2.0	3.5 ± 0.1	5
E_2 10 μM/CPT-cAMP	-37.7 ± 0.6	3.6 ± 0.1	5
E_2 10 μM/PMA	-35.9 ± 1.5	3.4 ± 0.2	5

[0779]

表 7: 稳态快速失活

	SSFI – $V_{1/2}$ (mV)	**SSFI – z (slope)**	***n***
对照组			
对照组/载体	-90.9 ± 1.8	-2.6 ± 0.1	5
载体/H-89	-89.3 ± 1.9	-2.7 ± 0.1	5
载体/Gö 6983	-88.6 ± 2.1	-3.0 ± 0.1	5
Glucose (100 mM)			
100 mM 葡萄糖/载体	-61.7 ± 2.6	-2.9 ± 0.1	5
炎症介质(IM)			
IM/载体	-77.1 ± 1.7	-2.6 ± 0.1	5
IM/H-89	-86.4 ± 2.8	-2.9 ± 0.2	5
IM/Gö 6983	-87.1 ± 2.0	-2.4 ± 0.2	5
CPT- cAMP	-79.4 ± 1.1	-3.0 ± 0.1	5
PMA	-76.4 ± 1.7	-2.9 ± 0.2	5
大麻二酚(5 μM)			
IM/大麻二酚	-85.9 ± 1.5	-2.6 ± 0.3	5
CPT-cAMP/大麻二酚	-86.8 ± 2.3	-2.9 ± 0.2	5
PMA/大麻二酚	-85.7 ± 1.2	-2.9 ± 0.1	5
雌二醇（E_2）			
E_2 5 μM/载体	-87.4 ± 2.1	-2.8 ± 0.1	5
E_2 10 μM/载体	-87.6 ± 2.1	-3.0 ± 0.2	5

[0780]

E_2 5 μM/葡萄糖 100 mM	-75.5 ± 1.9	-2.8 ± 0.2	5
E_2 10 μM/葡萄糖 100 mM	-91.1 ± 3.6	-2.8 ± 0.1	5
E_2 5 μM/IM	-81.1 ± 2.1	-2.8 ± 0.1	5
E_2 10 μM/IM	-92.6 ± 0.8	-2.6 ± 0.1	5
E_2 10 μM/CPT-cAMP	-89.3 ± 1.9	-2.6 ± 0.1	5
E_2 10 μM/PMA	-88.7 ± 0.6	-2.3 ± 0.2	5

[0781]

表 8: 快速失活恢复的时间常数			
	τ_{fast} **(s)**	τ_{slow} **(s)**	***n***
对照组			
对照/载体	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	5
载体/H-89	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.001	5
载体/Gö 6983	0.006 ± 0.001	0.010 ± 0.002	
葡萄糖(100 mM)			
100 mM 葡萄糖/载体	0.008 ± 0.002	0.111± 0.03	5
炎症介质 (IM)			
IM/载体	0.005 ± 0.001	0.123± 0.002	5
IM/H-89	0.010 ± 0.002	0.303 ± 0.036	5
IM/Gö 6983	0.008 ± 0.002	0.304 ± 0.031	5
CPT- cAMP	0.006 ± 0.001	0.168 ± 0.009	5
PMA	0.005 ± 0.001	0.175 ± 0.005	5
大麻二酚(5 μM)			
IM/大麻二酚	0.008 ± 0.001	0.209 ± 0.020	5
CPT-cAMP/大麻二酚	0.009 ± 0.001	0.207 ± 0.004	5
PMA/大麻二酚	0.006 ± 0.001	0.218 ± 0.014	5
雌二醇（E_2）			
E_2 5 μM/载体	0.006 ± 0.001	0.011 ± 0.002	5
E_2 10 μM/载体	0.006 ± 0.001	0.010 ± 0.002	5
E_2 5 μM/葡萄糖 100 mM	0.005 ± 0.001	0.148 ± 0.009	5
E_2 10 μM/葡萄糖 100 mM	0.008 ± 0.002	0.228 ± 0.015	5
E_2 5 μM/IM	0.005 ± 0.001	0.182 ± 0.015	5
E_2 10 μM/IM	0.005 ± 0.001	0.262 ± 0.015	5
E_2 10 μM/CPT-cAMP	0.007 ± 0.001	0.222 ± 0.008	5
E_2 10 μM/PMA	0.007 ± 0.001	0.233 ± 0.006	5

[0782]

表 9: 持续电流		
	Percentage of persistent I_{Na}	***n***
对照组		
对照/载体	0.80 ± 0.05	5
载体/H-89	0.82 ± 0.07	5
载体/Gö 6983	0.84 ± 0.08	5
葡萄糖 (100 mM)		

[0783]

100 mM 葡萄糖/载体	6.86 ± 0.17	5
炎症介质(IM)		
IM/载体	3.64 ± 0.23	5
IM/H-89	1.21 ± 0.07	5
IM/Gö 6983	1.22 ± 0.06	5
CPT- cAMP	2.20 ± 0.08	5
PMA	2.18 ± 0.06	5
大麻二酚(5 μM)		
IM/大麻二酚	0.93 ± 0.05	5
CPT-cAMP/大麻二酚	1.04 ± 0.11	5
PMA/大麻二酚	0.88 ± 0.07	5
雌二醇（E_2）		
E_2 5 μM/载体	0.85 ± 0.06	5
E_2 10 μM/载体	0.91 ± 0.06	5
E_2 5 μM/葡萄糖 100 mM	1.92 ± 0.09	5
E_2 10 μM/葡萄糖 100 mM	0.89 ± 0.06	5
E_2 5 μM/IM	1.73 ± 0.03	5
E_2 10 μM/IM	0.85 ± 0.06	5
E_2 10 μM/CPT-cAMP	0.95 ± 0.09	5
E_2 10 μM/PMA	0.90 ± 0.11	5

[0784] 以下示例不以任何方式限制本发明的范围。

[0785] 示例

[0786] 研究的第一部分

[0787] 示例1:细胞活力研究

[0788] 细胞培养:中国仓鼠卵巢(CHO)在pH7.4的过滤无菌F12(Ham)营养培养基(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific,Waltham,MA,USA)中生长,添加5%FBS并保持在37℃,含5%CO2。将细胞与编码Nav1.5α-亚基、β1-亚基和eGFP的人类cDNA瞬时共转染。根据PolyFect(Qiagen,Germantown,MD,USA)转染方案进行转染。每组转染后允许至少孵育8小时。然后,在电生理或生化实验之前,用0.25%胰蛋白酶-EDTA(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific)将细胞解离,并在正常(10mM)或升高的葡萄糖浓度(25-150mM)下将细胞置于无菌盖玻片上24小时。为了优化模拟CHO细胞中糖尿病/高血糖状态的葡萄糖浓度,使用MTS细胞活性测定检查不同葡萄糖浓度下CHO细胞的活性。

[0789] 为了确保渗透压损失不会产生混淆效应,实验还使用甘露醇(100mM,24小时)作为高糖的渗透对照,这是根据已报道的研究(ElRemessy等人,《研究性眼科学和视觉科学》(Investigative ophthalmology&visual science)44:3135-3143,2003;Fouda等人,《药理学和实验治疗学杂志》(The Journal of pharmacology and experimental therapeutics)361:130-1392017;Sharifi等人,《神经科学通讯》(Neuroscience letters)459:47-512009)。

[0790] 细胞活力的测定-为了确定葡萄糖引起的浓度依赖性细胞毒性,CHO细胞以50000细胞/ml的速度接种在96孔板中24小时(90%融合),然后,在正常(10mM)或升高(25-150mM)葡萄糖浓度的情况下,在有无不同治疗的情况下再进行24小时的治疗[大麻二酚(1或5μM)、

利多卡因(100μM或1mM)、Tempol(100μM或1mM)或其载体]。根据制造商的说明(Abcam,ab197010,Toronto,Canada),通过MTS细胞增殖测定试剂盒测量细胞活力,在495nm处测量吸光度。

[0791] 图1A-1E提供了细胞活力研究的结果,并在说明书中进行了讨论。

[0792] 示例2:ROS测量

[0793] 使用ROS检测器2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)测量氧化应激水平(Korystov等人,自由基研究(Freeradical research)43:149-155,2009)。根据制造商的说明(Abcam,ab113851,Toronto,Canada),在反应开始后30分钟使用微孔板荧光读数器测量荧光强度,该读数器设置为激发485nm/发射530nm。使用DCF的标准曲线将ROS水平确定为生成的DCF的相对荧光单位(RFU)(Fouda等人,药理学和实验治疗学杂志(The Journal of pharmacology and experimental therapeutics)361:130-139,2017,Fouda等人,The Journal of pharmacology and experimental therapeutics 364:170-178.2018)。

[0794] 图2A-2E提供了ROS研究的结果,并在规范中进行了讨论。

[0795] 示例3:电生理学

[0796] 使用由NaCl(140mM)、KCl(4mM)、CaCl2(2mM)、MgCl2(1mM)、HEPES(10mM)组成的细胞外溶液进行全细胞膜片钳记录。用CsOH将细胞外溶液滴定至pH7.4。移液器使用硼硅酸盐玻璃(SutterInstruments,CA,USA)用P-1000拉拔器制造,浸入牙科蜡以降低电容,然后热抛光至1.0-1.5MΩ的电阻。移液管充满细胞内溶液,包含:CsF(120mM)、CsCl(20mM)、NaCl(10mM)、HEPES(10mM),滴定至pH7.4。所有录音均使用EPC-9膜片钳放大器(HEKAElektronik,Lambrecht,德国)通过ITC-16接口(Instrutech,GreatNeck,NY,USA)以20kHz数字化。使用在AppleiMac上运行的PatchMaster/FitMaster软件(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany)控制电压钳位和数据采集。电流以5kHz进行低通滤波。在测试脉冲之后使用P/4程序自动进行泄漏减法。在建立整个电池配置之前,允许千兆欧姆密封件在电池配置中稳定1分钟。所有记录的串联电阻均小于5MΩ。必要时使用高达80%的串联电阻补偿。在达到全细胞配置后至少5分钟获取所有数据,并且在数据收集之前,在药物应用后让细胞孵育5分钟。在每个方案之前,将膜电位超极化至-130mV,以确保完全去除快速失活和缓慢失活。使用P/4方案减去泄漏电流和电容电流。所有实验均在22℃下进行。

[0797] 示例4:激活方案

[0798] 为了确定激活的电压依赖性,发明人测量了在-130到+80mV范围内以10mV为增量持续19ms的测试脉冲电压下的峰值电流幅度。从峰值INa计算通道电导(G):

[0799] 其中GNa是电导,INa是响应于指令电位V的峰值钠电流,ENa是能斯特平衡电位。通过将标准化电导绘制为测试电位的函数,得出激活的中点和表观效价。然后用玻尔兹曼函数对数据进行拟合:

[0800] 其中G/Gmax是标准化电导幅度,Vm是指令电位,z是表观效价,e0是基本电荷,V1/2是中点电压,k是玻尔兹曼常数,T是以K为单位的温度。

[0801] 图3A-3G和表2提供了稳态激活的结果,并在说明书中进行了讨论。

[0802] 示例5:稳态快速灭活方案

[0803] 快速灭活的电压依赖性是通过将通道预处理至-130mV的超极化电位,然后引发范围为-170至+10mV的预脉冲电位以10mV的增量持续500ms来测量的,然后是10ms测试脉冲,

在此期间电压步进至0mV。使用玻尔兹曼函数拟合作为电压函数的标准化电流幅度：

[0804] 其中Imax是最大测试脉冲电流幅度。z是表观效价，e0是基本电荷，Vm是预脉冲电位，V1/2是SSFI的中点电压，k是玻尔兹曼常数，T是温度，单位为K。

[0805] 图4A-4F和表3提供了稳态快速灭活研究的结果，并在说明书中进行了讨论。

[0806] 示例6：快速失活恢复

[0807] 在500ms去极化1步至0mV期间，通道快速失活。在-130mV恢复脉冲之后的19ms测试脉冲至0mV期间测量恢复，持续时间在0到1.024s之间。使用双指数方程推导出快速灭活的时间常数：

[0808] 其中I是电流幅度，Iss是平台幅度，α1和α2是时间常数τ1和τ2在时间0的幅度，t是时间。

[0809] 图5A-5F和表4提供了快速灭活恢复的结果，并在说明书中进行了讨论。

[0810] 示例7：持续电流方案

[0811] 在200ms从-130mV的维持电位到0mV的去极化脉冲期间，在145和150ms之间测量晚期钠电流，。平均五十个脉冲以增加信噪比。

[0812] 图6A-6D和表5提供了持续电流研究的结果，并在说明书中进行了讨论。

[0813] 示例8：动作电位建模

[0814] 使用Matlab中改进版本的动作电位建模程序模拟动作电位(O'Hara等人，PLoS计算生物学7:e1002061，2011)。修改后的门控INa参数与本研究中不同条件下全细胞膜片钳实验获得的生物物理数据一致。该模型考虑了激活电压依赖、稳态快速失活电压依赖、持续钠电流和峰值钠电流(复合条件)。

[0815] 图7A-7B提供了关于延长动作电位的研究结果，并在说明书中进行了讨论。

[0816] 示例9：药物制剂

[0817] 大麻二酚以粉末形式购自Toronto Research Chemicals。其他化合物(例如利多卡因、Tempol、D-葡萄糖或甘露醇)购自Sigma-Aldrich(加拿大安大略省)。将粉末状大麻二酚、利多卡因或Tempol溶解在100％DMSO(二甲基亚砜)中以制成原液。该原液用于在不同浓度的细胞外溶液中制备药物溶液，总DMSO含量不超过0.5％。

[0818] 作为合成大麻二酚的替代品，可以使用生物合成制备的大麻二酚。

[0819] 示例10：数据分析和统计

[0820] 数据和统计分析符合英国药理学杂志关于药理学实验设计和分析的建议(Curtis等人，英国药理学杂志(British journal of pharmacology)175:987-9932018)。研究旨在使用随机化和盲法分析产生相同规模的组。进行标准化是为了控制钠通道表达和内向电流幅度的变化，并为了能够将记录的数据与玻尔兹曼函数(用于电压依赖性)或指数函数(用于失活的时间过程)拟合。使用Fit Master软件(HEKA Elektronik，Lambrecht，Germany)和IgorPro(Wavemetrics，Lake Oswego，OR，USA)进行拟合和绘图。统计分析包括单向方差分析(终点数据)以及对重要发现的事后检验以及使用Prism7软件(Graphpad Software Inc.，San Diego，CA)的Studentt检验和Tukey检验。数值以平均值±SEM表示，概率水平小于0.05视为显著。

[0821] 示例11：大鼠隔膜制备

[0822] 对四只4周大的雄性Sprague Dawley大鼠(Charles River，Raleigh site)实施安

乐死。根据Bulbring(1946)描述的方法分离大鼠膈半隔膜制剂。从左侧分离出一块具有完整膈神经的扇形肌肉并转移到装有克雷布斯溶液(NaCl 95.5,KCl 4.69,CaCl2 2.6,MgSO4.7H2O 1.18,KH2PO4 2.2,NaHCO3 24.9,and葡萄糖10.6mM)的容器中,并通入碳合气(95%氧气和5%二氧化碳)。所有实验方案均经动物护理和使用委员会批准。使用Radnoti Myograph系统进行收缩实验。

[0823] 研究的数据和结果在说明书的图9A-9F中提供。

[0824] 示例12:分子对接

[0825] 将大麻二酚与hNav1.4冷冻电镜结构对接(PDBID:6AGF是使用Autodock Vina进行的)。大麻二酚是以PDB格式从Drugbank下载的。为了将大麻二酚连接到Nav1.4中,考虑了32Åx44Åx26Å的大搜索量,它几乎包含了整个孔隙域和VSD的部分。这产生了按平均能量得分排名的大麻二酚的前9个最佳结合姿势。

[0826] 示例13:MD模拟系统准备

[0827] 使用CHARMM-GUI膜构建剂制备了由188个POPC组成的均质脂质双层。创建了三个不同的系统:一个具有两个大麻二酚分子,每个分子位于双层的每个小叶中,一个具有三个CANNIBIDIOL,所有这些分子都位于上部小叶中;第三个具有六个大麻二酚,其中三个位于上部小叶中,三个位于下部小叶中。手动将大麻二酚放入双层膜中,大麻二酚的极性头部组面对脂质头基。手动删除了在大麻二酚2Å范围内至少有一个原子的脂质分子。还准备了不含任何卡大麻二酚的控制模拟。通过向膜两侧添加两层～25μl的水使系统水合。最后,系统用150mMNaCl离子化。

[0828] 从Autodock Vina获得的最佳停靠位置用作起始结构。起始系统嵌入POPC脂质双层中。通过在膜的两侧添加两层～25Å的水来使系统水合。最后,系统用150mM NaCl离子化。该系统被定义为Nav1.4-大麻二酚-脂质系统。

[0829] 数据和研究结果在说明书中的图10A-10H中提供。

[0830] 示例14:MD模拟

[0831] 使用修补了Plumed-2.1.5的GROMACS 201863进行绝热偏压分子动力学(ABMD)模拟,以研究大麻二酚与Nav1.4的相互作用。ABMD是一种模拟方法,其中应用随时间变化的偏压谐波势驱动系统朝向目标系统。沿着预定义的集合变量。每当系统沿着集合变量向目标系统靠近时,谐波势就会移动到这个新位置,从而将系统推向最终状态。沿着大麻二酚和F1586质心之间的距离施加偏置电位。偏置电位以两种方式施加。一个沿距离的y分量,另一个沿所有距离分量。使用GROMACS 2018.4版对脂质大麻二酚系统进行MD模拟。CHARMM36力场用于描述蛋白质、脂质双层和离子。使用SWISS-PARAM软件对大麻二酚进行参数化。TIP3P水模型用于描述水分子。使用最陡下降法将系统最小化5000步,并在恒定粒子数、压力和温度(NPT)下使脂质大麻二酚系统至少达到450ps,Nav1.4-大麻二酚-lipid系统至少达到36ns,在此期间,根据默认CHARMM-GUI方案逐渐释放位置限制。在平衡过程中,使用2fs的时间步长,通过Berendsen压力耦合将压力保持在1bar,通过与蛋白质、膜和溶剂耦合的Berendsen温度耦合将温度保持在300K,并使用LINCs算法约束含氢键。对于长程相互作用,使用了周期性边界条件和粒子网格Ewald(PME)。对于短程相互作用而言,使用了12°的截止值。最后,使用Parinello-Rahaman压力耦合和Nose-Hoover温度耦合,对每个脂质大麻二酚系统进行150ns的无限制生产模拟,对Nav1.4-大麻二酚-lipid系统进行10ns的无约束生产

模拟。

[0832] 说明书中的图10A-10H提供了研究数据和结果。

[0833] 示例15:2HNMR(2H核磁共振)脂质分析

[0834] 1-棕榈酰-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC-d31,sn-1链全氘化)是从Avanti Polar Lipids(Alabaster,AL)中获得的。POPC-d31:大麻二酚样品由约50mg脂质和3.4mg大麻二酚以POPC/大麻二酚8:2的比例制备。将两个样品,即纯POPC-d31和POPC-d31.CANNABIDEIOL(8:2)溶解在Bz/MeOH4:1(v/v)中并冷冻干燥。在用过量的贫氘水(ddw)水合后,在液氮(-196℃)和60℃之间进行五次冻融-涡旋循环以产生多层分散体(MLD)。

[0835] 氘2HNMR实验是在46.8MHz的TacMagScout光谱仪上使用四极回波技术上进行。光谱由约20,000个双脉冲序列产生。90°脉冲长度设置为3.1μs,脉冲间距为50μs,停留时间为2μs,采集延迟为300ms。使用具有Cyclops八循环相位循环的正交法收集数据。在存在或不存在大麻二酚的情况下,对光谱进行去帕克(dePaked)以提取POPCsn-1链的平滑顺序参数分布。样品在20、30和40℃下运行,在进行测量前在每个温度下平衡20分钟。数据和研究结果在说明书的图10F-10H中提供。

[0836] 示例16:细胞培养

[0837] 中国仓鼠卵巢(CHOK1)细胞与编码eGFP和β1-亚基的cDNA以及WT-Nav1.4(GenBank登录号:NM_000334)或任何突变的α-亚基一起瞬时共转染。根据PolyFect转染方案进行转染。在每组转染后,在接种到无菌盖玻片上之前,允许至少孵育8小时。人胚肾(HEK293)细胞用于短杆菌肽膜硬度测定。

[0838] 示例17自动化膜片钳-短杆菌肽膜硬度测定

[0839] 对未转染的HEK细胞进行自动膜片钳记录。使用Qube-384(Sophion A/S,Copenhagen,Denmark)自动电压钳系统在全细胞配置中测量电流。细胞内溶液含有(以mM计):120CsF、10NaCl、2MgCl2、10HEPES,用CsOH调节至pH7.2。用于高钠实验的细胞外记录溶液含有(以mM计):140NaCl、3KCl、1MgCl2、1.5CaCl2、10HEPES,用NaOH调节至pH7.4。对于低钠实验,用NMDG作为NaCl替代品,将外部溶液钠浓度降低到1mM。未调整计算为～7mV的液结电位。电流在5kHz下进行低通滤波,并以25kHz采样频率记录。串联电阻补偿为100%。测量是在室温下进行的,室温下对应于记录室的27±2℃。使用了适用于细胞膜电阻(通常>500MΩ)和串联电阻(<10MΩ)的过滤器。短杆菌肽溶解在100%DMSO(二甲基亚砜)中,最终浓度为26μM。

[0840] 数据和研究结果在规范的图11A-11H中提供。

[0841] 示例18:短杆菌肽-荧光膜硬度测定

[0842] 1,2-二芥子酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DC22:1PC)来自Avanti Polar Lipids(Alabaster,AL)。大麻二酚来自Sigma-Aldrich(St.Louis,MO)..8-Aminonaphthalene-1,3,6-trisulfonate(ANTS)来自Invitrogen Life Technologies(Grand Island,NY)。短杆菌肽D来自(Sigma Aldrich)。

[0843] 1,2-二芥子酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DC22:1PC)来自阿凡提极性脂质(Alabaster,AL)。大麻二酚来自Sigma-Aldrich(St.Louis,MO)。8-氨基萘-1,3,6-三磺酸(ANTS)来自Invitrogen Life Technologies(Grand Island,NY)。Gramicidin D来自(Sigma Aldrich)。

[0844] GFA:如前所述,大单层囊泡(LUV)由DC22:1PC制成71。简单来说,将氯仿中的磷脂和甲醇中的gA(1000:1脂质:gA重量比)混合。通过用拉伸指数拟合每个混合反应的淬火时间过程,获得淬火速率:

[0845] $F(t)=F(\infty)+(F(0)-F(\infty)\cdot\exp\{-(t/\tau_0)^{\beta}\}$ (Eq.1)

[0846] 并评估2ms时的淬火速度(仪器死区时间为~1.5ms):

[0847] $k(t)=(\beta/\tau_0)\cdot(t/\tau_0)^{(\beta-1)}|_{2ms}$ (Eq.2)

[0848] 为了测试药物对脂质双层的影响,在获得淬灭时间过程之前,在25℃下将大麻二酚与LUV平衡10分钟。每次测量包括(4-8)个单独的混合反应,在没有药物的情况下,将每个混合反应的速率平均并标准化为对照速率。

[0849] 说明书中的图19A-19C提供了研究数据和结果。

[0850] 示例19:手动膜片钳

[0851] 在含有(单位:mM):140NaCl、4KCl、2CaCl2、1MgCl2、10HEPES或MES(pH6.4)的细胞外溶液中进行全细胞膜片钳记录。用CsOH将溶液调节至pH6.4和7.4。移液管充满细胞内溶液,含有(以mM为单位):120CsF、20CsCl、10NaCl、10HEPES。在一些实验中,使用1mM(细胞内)的较低钠浓度来提高驱动力,从而提高电流大小。所有记录均使用EPC-9膜片钳放大器(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany),通过ITC-16接口(Instrutech,Great Neck,NY,USA)以20kHz数字化。使用在AppleiMac上运行的PatchMaster/FitMaster软件(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany)控制电压钳位和数据采集。电流以10kHz低通滤波。在测试脉冲之后使用P/4程序由软件自动执行泄漏减法。在建立全细胞结构之前,允许千兆欧姆密封件在细胞结构中稳定1分钟。所有记录的串联电阻均小于5MΩ。必要时使用高达80%的串联电阻补偿。在获得全细胞结构后至少1分钟获取所有数据。在每个方案之前,将膜电位超极化至-130mV,以确保完全去除快速失活和缓慢失活。所有实验均在22±2℃下进行。使用FitMaster软件(HEKA Elektronik)和Igor Pro(Wavemetrics,Lake Oswego,OR,USA)进行分析和绘图。所有数据采集和分析程序均在Apple iMac(Apple计算机)上运行。

[0852] 一些cDNA构建体产生小的离子电流。为了确保记录的电流确实是构建体产生的电流而不是内源性背景电流,未转染的细胞被修补并与转染的细胞进行比较。专门用于cDNA表达的未转染CHOK1细胞不产生内源性钠电流。。

[0853] 示例20:激活方案

[0854] 为了确定激活的电压依赖性,在-100mV至+80mV的测试脉冲电位范围内以+10mV的增量测量峰值电流幅度,持续20ms。从峰值INa计算通道电导(G):

[0855] $GNa=INa/V-ENa$ (Eq.3)

[0856] 其中GNa是电导,INa是响应于指令电位V的峰值钠电流,ENa是能斯特平衡电位。电导的计算值符合玻尔兹曼方程:

[0857] $G/Gmax=1/(1+\exp[-ze0[Vm-V1/2]/kT])$ (Eq.4)

[0858] 其中G/Gmax是标准化电导幅度,Vm是指令电位,z是表观效价,e0是基本电荷,V1/2是中点电压,k是玻尔兹曼常数,T是以K为单位的温度。

[0859] 示例21:稳态快速灭活方案

[0860] 快速失活的电压依赖性是通过将通道预处理到-130mV的超极化电位,然后以10mV的增量引发范围为-170到+10mV的预脉冲电位并持续500ms来测量的,然后是10ms测试脉

冲,在此期间电压步进至0mV。使用玻尔兹曼方程将来自测试脉冲的标准化电流幅度拟合为电压的函数:

[0861] I/Imax＝1/(1+exp(-ze0(VM-V1/2)/kT) (Eq.5)

[0862] 其中Imax是最大测试脉冲电流幅度。

[0863] 示例22:持续电流方案

[0864] 在200ms去极化脉冲至0mV(从维持电位-130mV)期间,在145和150ms之间测量了持续电流。对脉冲进行平均以提高信噪比。

[0865] 示例23:从快速灭活方案中恢复

[0866] 通道在500ms去极化步骤中快速失活至0mV,并在-130mV恢复脉冲之后的19ms测试脉冲至0mV期间测量恢复,持续时间在0到4秒之间。快速失活恢复的时间常数显示两个分量,并使用双指数方程拟合:

[0867] 通道在500ms去极化步骤至0mV期间快速失活,并在19ms测试脉冲至0mV(在-130mV恢复脉冲后)期间测量恢复,持续时间为0至4s。快速失活恢复的时间常数显示两个分量,并使用双指数方程进行拟合:

[0868] I＝Iss+α1exp(-t/τ1)+α2exp(-t/τ2) (等式6)

[0869] 其中I是电流幅度,Iss是平台幅度,α1和α2是时间常数τ1和τ2在时间0的幅度,t是时间。

[0870] 示例24:等温滴定量热法

[0871] 该肽序列如下:SYIIISFLIVVVNM(取自Nav1.4DIV-S6)由GenScript合成。将其溶解于二甲基亚砜中,并稀释至最终浓度1mM,最终缓冲液中含有以下百分比的各组分:10％二甲基亚磺酸、60％乙腈、30％ITC缓冲液。需要乙腈来溶解肽。ITC缓冲液含有50mMHEPESpH7.2和150mMKCl。将大麻二酚和利多卡因分别溶解于DMSO中,并分别在与肽相同的最终缓冲液中稀释至最终浓度为40mM和100mM。

[0872] 除了第一次进样量为0.4μM外,每种滴定剂均以3μM的体积注入含有肽的样品池13次。搅拌速度设定为750rpm。

[0873] 示例25:动作电位建模

[0874] 骨骼AP建模基于Cannon等人(1993年)开发的模型。所有AP都是使用Python编程和运行的。修改参数基于全细胞膜片钳实验获得的电生理结果。该模型考虑了激活电压依赖性、SSFI电压依赖性和持续INa。WTpH7.4模型使用模型中的原始参数。P1158S模型是通过在给定pH值/大麻二酚条件下P1158S实验值之间的差异,从原始Cannon模型中改变参数来编程的。

[0875] 示例26:统计

[0876] 采用单因素方差分析(ANOVA)比较平均反应。使用Tukey-Kramer调整的事后测试比较了不同条件下通道变量之间的平均响应。在所有总体事后检验中,显著性水平α＝0.05,且p值小于0.05的影响被认为具有统计学意义。所有值都报告为n个样品的平均值±平均值标准误差(SEM)。进行α＝0.05的功率分析,得出n≧3。分析在JMP版本14中进行。

[0877] 示例27:Nav1.5的细胞培养物的制备和炎症介质的作用

[0878] 中国仓鼠卵巢细胞(CHO)(RRID:CVCL_0214)在pH7.4的过滤无菌F12(Ham's)营养培养基(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific,Waltham,MA,USA)中生长,补充

5%FBS并维持在37℃的加湿环境，含5%CO2。将细胞与编码Nav1.5α-亚基、β1-亚基和eGFP的人类cDNA瞬时共转染。根据PolyFect(Qiagen,Germantown,MD,USA)转染方案进行转染。每组转染后允许至少孵育8小时。随后将细胞用0.25%胰蛋白酶-EDTA(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific)解离，并被铺在无菌盖玻片上，在电生理实验前24小时，盖玻片浸泡于正常浓度(10mM)或浓度升高的葡萄糖中(100mM)中(Fouda，Ghovanloo&Ruben,2020)或炎症介质混合物(含有缓激肽(1μM)、PGE-2(10μM)、组胺(10μM)、5-HT(10μM)和腺苷5'-三磷酸(15μM)的(Akinetal.,2019))。

[0879] 例28:电生理学

[0880] 使用由NaCl(140mM)、KCl(4mM)、CaCl2(2mM)、MgCl2(1mM)、HEPES(10mM)组成的细胞外溶液进行全细胞膜片钳记录。用CsOH将细胞外溶液滴定至pH7.4。移液器使用硼硅酸盐玻璃(Sutter Instruments,CA,USA)用P-1000拉拔器制造，浸入牙科蜡以降低电容，然后热抛光至1.0-1.5MΩ的电阻。移液管充满细胞内溶液，包含:CsF(120mM)、CsCl(20mM)、NaCl(10mM)、HEPES(10mM)，滴定至pH7.4。所有记录均使用EPC-9膜片钳放大器(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany)，通过ITC-16接口(Instrutech,GreatNeck,NY,USA)以20kHz数字化。使用在Applei Mac(Cupertino,California)上运行的PatchMaster/FitMaster软件(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany)控制电压钳位和数据采集。电流以5kHz进行低通滤波。在测试脉冲之后使用P/4程序自动进行泄漏减法。在建立全细胞结构之前，允许千兆欧姆密封件在细胞结构中稳定1分钟。所有记录的串联电阻均小于5MΩ。必要时使用高达80%的串联电阻补偿。在得到全细胞结构后至少5分钟获取所有数据，并且在数据收集之前，在药物应用后让细胞孵育5分钟。在每个方案之前，将膜电位超极化至-130mV，以确保完全去除快速失活和缓慢失活。使用P/4方案减去泄漏电流和电容电流。所有实验均在22℃下进行。

[0881] 示例29:激活方案

[0882] 为了确定激活的电压依赖性，峰值电流幅度在-130到+80mV的测试脉冲电压范围内以10mV的增量测量19毫秒。从峰值INa计算通道电导(G)：

[0883] $GNa = INa/(V-ENa)$ (Eq.1)

[0884] 其中GNa是电导，INa是响应于指令电位V的峰值钠电流，ENa是能斯特平衡电位。通过将标准化电导绘制为测试电位的函数，得出激活的中点和表观效价。然后用玻尔兹曼函数对数据进行拟合：

[0885] $G/Gmax = 1/(1+exp(-ze0(Vm-V1/2)/kT)$ (Eq.2)

[0886] 其中G/Gmax是标准化电导幅度，Vm是指令电位，z是表观效价，e0是基本电荷，V1/2是中点电压，k是玻尔兹曼常数，T是以K为单位的温度。

[0887] 示例30:稳态快速灭活方案

[0888] 快速灭活的电压依赖性是通过以下方法测量的:将通道预处理至-130mV的超极化电位，然后以10mV的增量引发范围为-170至+10mV的预脉冲电位，并持续500ms，然后是10ms测试脉冲，在此期间电压步进至0mV。使用玻尔兹曼函数拟合作为电压函数的标准化电流幅度：

[0889] $I/Imax = 1/(1+exp(-ze0(VM-V1/2)/kT)$ (Eq.3)

[0890] 其中Imax是最大测试脉冲电流幅度。z是表观效价，e0是基本电荷，Vm是预脉冲电

位,V1/2是SSFI的中点电压,k是玻尔兹曼常数,T是温度,单位为K。

[0891] 示例31:快速失活恢复

[0892] 在500ms去极化步骤至0mV期间,通道快速失活。在-130mV恢复脉冲之后的19ms测试脉冲至0mV期间测量恢复,持续时间在0到1.024s之间。使用双指数方程推导出快速失活的时间常数:

[0893] $I = Iss + \alpha 1 \exp(-t/\tau 1) + \alpha 2 \exp(-t/\tau 2)$ (Eq.4)

[0894] 其中I是电流幅度,Iss是平台幅度,α1和α2是时间常数τ1和τ2在时间0的幅度,t是时间。

[0895] 示例32:持续电流方案

[0896] 在50ms的去极化脉冲期间,从-130mV的维持电位到0mV,在45和50ms之间测量了晚期钠电流。平均50个脉冲以提高信噪比(Abdelsayed、Peters&Ruben,2015;Abdelsayed、Ruprai&Ruben,2018)。

[0897] 示例33:动作电位建模

[0898] 使用在Matlab中编程的O'Hara-Rudy模型的修改版本模拟动作电位(O'Hara et al.2011,PLoS Comput.Bio)。用于生成模型的代码可从RudyLab网站(http://rudylab.wustl.edu/research/cell/code/Allcodes.html)在线获得。修改后的门控INa参数与本研究中从全细胞膜片钳实验中获得的各种条件下的生物物理数据一致。该模型考虑了激活电压依赖性、稳态快速失活电压依赖性、持续钠电流和峰值钠电流(复合条件)。

[0899] 示例34:药物制剂

[0900] 大麻二酚以粉末形式购自Toronto Research Chemicals(Toronto,Ontario)。其他化合物(例如17β-雌二醇(E2)、缓激肽、PGE-2、组胺、5-HT、腺苷5'-三磷酸、D-葡萄糖、Gö6983(PKC抑制剂)、H-89(PKA抑制剂)、8-(4-氯苯硫基)腺苷-3',5'-环一磷酸(CPT-cAMP;PKA激活剂)或PMA(PKC激活剂))购自Sigma-Aldrich(ON,Canada)。将粉末状大麻二酚、Gö6983、H-89、腺苷CPT-cAMP或PMA溶解在100%DMSO中以制成原液。该原液用于制备各种浓度的细胞外溶液中的药物溶液,总DMSO含量不超过0.5%。

[0901] 研究人类心肌细胞(示例35-40)

[0902] 示例35:人心肌细胞的细胞培养物的制备和介质的作用

[0903] 将含有≥1×10^6个心肌细胞(Cellular Dynamics International,试剂盒01434,Madison,WI,USA)的单个小瓶通过将冷冻管浸入37℃水浴中,将解冻的心肌细胞转移到50-ml管中并用10ml冰冷的电镀培养基稀释它们(iCell心肌细胞电镀培养基(iCPM);(Cellular Dynamics International,Madison,WI,USA)(Ma等人,2011年)。对于单细胞膜片钳记录,玻璃盖玻片涂有0.1%明胶(Cellular Dynamics International,Madison,WI,USA)并放入24孔板的每个孔中1小时。然后在每个盖玻片中加入1ml含有40,000-60,000个心肌细胞的iCPM。铺板的心肌细胞密度低,可作为单细胞进行培养,并储存在37℃和7%CO2的环境控制培养箱中。48小时后,将iCPM更换为细胞培养基(iCell Cardiomyocytes Plating Medium(iCPM);Cellular Dynamics International,Madison,WI,USA),每隔一天更换一次,将心肌细胞在盖玻片上维持4至21天(使用前)(Maetal.,2011)。在电生理实验前,心肌细胞在含有缓激肽(1μM)、PGE-2(10μM)、组胺(10μM)、5-HT(10μM)和腺苷5'-三磷酸盐(15μM)的炎症介质混合物或载体中孵育24小时(Akinetal.,2019)。

[0904] 示例36:电生理学

[0905] 使用由NaCl(50mM)、CaCl2(1.8mM)、MgCl2(1mM)、CsCl2(110mM),葡萄糖(10mM)、HEPES(10mM)和硝苯地平(0.001mM)组成的细胞外溶液进行全细胞膜片钳记录(Maetal.,2011)。用CsOH将细胞外溶液滴定至pH7.4。使用P-1000拔出器,使用硼硅酸盐玻璃(Sutter Instruments,CA,USA)制作移液管,将其浸入牙蜡中以减少电容,然后热抛光至2.0-3.5MΩ电阻。移液管内充满细胞内溶液,其中含有:CsCl2(135mM)、NaCl(10mM),CaCl2(2mM)和EGTA(5mM)。HEPES(10mM)和Mg-ATP(5mM)用CsOH滴定至pH7.2(Maetal.,2011)。所有记录均使用EPC-9膜片钳放大器(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany)进行,通过ITC-16接口(Instrutech,GreatNeck,NY,USA)以20kHz的频率数字化。电压箝位和数据采集是使用运行在Applei Mac(Cupertino,California)上的PatchMaster/FitMaster软件(HEKA Elektronik,Lambrecht,Germany)进行控制的。电流以5kHz低通滤波。在建立整个细胞结构之前,允许千兆欧姆密封件在细胞结构中稳定1分钟。所有记录的串联电阻均小于5MΩ。所有实验均在22℃下进行。

[0906] 示例37:激活方案

[0907] 为了确定激活的电压依赖性,测量了在-130到+80mV范围内以10mV为增量持续19ms的测试脉冲电压下的峰值电流幅度。从峰值INa计算通道电导(G):

[0908] GNa＝INa/(V-ENa) (Eq.1)

[0909] 其中GNa是电导,INa是响应于指令电位V的峰值钠电流,ENa是能斯特平衡电位。通过将标准化电导绘制为测试电位的函数,得出激活的中点和表观效价。然后用玻尔兹曼函数对数据进行拟合:

[0910] G/Gmax＝1/(1+exp(-ze0(Vm-V1/2)/kT) (Eq.2)

[0911] 其中G/Gmax是标准化电导幅度,Vm是指令电位,z是表观效价,e0是基本电荷,V1/2是中点电压,k是玻尔兹曼常数,T是以K为单位的温度。

[0912] 示例38:稳态快速灭活方案

[0913] 测量快速灭活的电压依赖性是通过以下方法实现的:预处理至-130mV的超极化电位,然后以10mV的增量引发范围为-170至+10mV的预脉冲电位,并持续500ms,然后是10ms测试脉冲,在此期间电压步进至0mV。使用玻尔兹曼函数拟合作为电压函数的标准化电流幅度:

[0914] I/Imax＝1/(1+exp(-ze0(VM-V1/2)/kT) (等式3)

[0915] 其中Imax是最大测试脉冲电流幅度。z是表观效价,e0是基本电荷,Vm是预脉冲电位,V1/2是SSFI的中点电压,k是玻尔兹曼常数,T是温度,单位为K。

[0916] 示例39:持续电流方案

[0917] 在200ms的去极化脉冲期间,在145和150ms之间测量了晚期钠电流,从-130mV的维持电位到0mV

[0918] 示例40:动作电位建模

[0919] 使用在Matlab中编程的O'Hara-Rudy模型的修改版本模拟动作电位(O'Hara et al.2011,PLoS Comput.Bio)。用于生成模型的代码可从RudyLab网站(http://rudylab.wustl.edu/research/cell/code/Allcodes.html)在线获得。修改后的门控INa参数与本研究中从全细胞膜片钳实验中获得的各种条件下的生物物理数据一致。该模型考虑

了激活电压依赖性、稳态快速失活电压依赖性、持续钠电流和峰值钠电流(复合条件)。

[0920] 表2-5提供了上述实验中的实际读数。

[0921] 示例41:大麻二酚降低阿奇霉素的促心律失常作用

[0922] 细胞培养:中国仓鼠卵巢(CHO)在pH7.4的过滤无菌F12(Ham)营养培养基(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific,Waltham,MA,USA)中生长,补充5%FBS,并在37℃、5%CO2的湿化环境中保持。细胞与编码Nav1.5α-亚基、β1-亚基和eGFP的人类cDNA瞬时共转染。根据PolyFect(Qiagen,Germantown,MD,USA)转染方案进行转染。每组转染后允许至少8小时的培养。然后,用0.25%胰蛋白酶-EDTA(Life Technologies,Thermo Fisher Scientific)将细胞分离,并在10μMAz中异源表达Nav1.5孵育细胞,并观察到与对照(无Az培养)细胞相比,晚期钠电流增加。显示AZ诱导的晚期钠电流的细胞是进一步灌注5μM大麻二酚的细胞,观察到晚期电流减少。从这些初步结果中,我们得出结论,大麻二酚可以缓解AZ的致心律失常作用,因此,在需要使用大环内酯类抗生素(可能包括新冠肺炎)治疗的情况下,它可能是一种有用的辅助治疗。

[0923] 以下示例说明了本发明的各种药物组合物而不限制本发明的范围。

[0924]

示例 42-配方 1：阿奇霉素薄膜包衣片剂		
A	**片芯**	
1	阿奇霉素二水合物，USP 相当于阿奇霉素	50 毫克至 400 毫克
2	交联羧甲基纤维素钠	片芯总重量的 5%
3	无水磷酸二钙	片芯总重量的 40%
4	预胶化淀粉	片芯总重量的 10%
5	硬脂酸镁	片芯总重量的 0.5%
B	薄膜包衣	
	由羟丙基纤维素、聚乙二醇和二氧化钛组成，在水-异丙醇混合物*或异丙醇中重新配制成 10%w/w 的分散液*	片芯总重量的 2.0-2.5%
	*=片剂包衣过程中蒸发，且在最终产品-薄膜包衣片剂中基本不存在。	
C	**过程:**	
	将二水合阿奇霉素、交联羧甲基纤维素钠、无水磷酸二钙和预胶化淀粉通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。 通过 ASTM#40 将硬脂酸镁单独筛选并收集在一个塑料袋中。 将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。 将最终混合物卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上“润滑混合物-准备压缩”的标签。使用适当的压缩	

[0925]

	工具将润滑混合物压缩成具有适当硬度的双凸片，以使脆碎度百分比小于0.5%w/w，崩解时间（DT）不超过15分钟。 注：从配料到片剂压缩和储存的所有活动都必须在严格控制环境温度和湿度条件下进行，即温度不超过（NMT）18摄氏度，相对湿度（%RH）不超过40%。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现2.0-2.5%w/w的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

示例42A配方1A：阿奇霉素薄膜包衣片剂		
A	**片芯**	
1	阿奇霉素二水合物，USP相当于阿奇霉素	400毫克至800毫克
2	交联羧甲基纤维素钠	片芯总重量的5%
3	无水磷酸二钙	片芯总重量的40%
4	预胶化淀粉	片芯总重量的10%
5	硬脂酸镁	片芯总重量的0.5%
B	**薄膜包衣**	
	由羟丙基纤维素、聚乙二醇和二氧化钛组成，在水-异丙醇混合物*或异丙醇中重新配制成10%w/w的分散液*	片芯总重量的2.0-2.5%
	*=片剂包衣过程中蒸发，且在最终产品-薄膜包衣片剂中基本不存在。	
C	**过程:**	

[0926]

	将二水合阿奇霉素、交联羧甲基纤维素钠、无水磷酸二钙和预胶化淀粉通过ASTM#40筛孔共筛两次。将其标记为混合物A。 通过ASTM#40将硬脂酸镁单独筛选并收集在一个塑料袋中。 将混合物A转移到适当尺寸的V型搅拌机中，使其占用率达到60%。以15RPM的转速搅拌10分钟。将其标记为混合物B。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物B中，并以10RPM的转速继续搅拌2分钟。 将最终混合物卸入双层LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放5个干燥剂枕头袋（每个容量为100克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上“润滑混合物-准备压缩”的标签。使用适当的压缩工具将润滑混合物压缩成具有适当硬度的双凸片，以使脆碎度百分比小于0.5%w/w，崩解时间（DT）不超过15分钟。 注：从配料到片剂压缩和储存的所有活动都必须在严格控制环境温度和湿度条件下进行，即温度不超过（NMT）18摄氏度，相对湿度（%RH）不超过40%。

[0927]

	在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0928]

示例 43-配方 2：大麻二酚薄膜包衣片剂		
A	**片芯**	
1	大麻二酚	0.1mg 至 100mg 或 100mg 至 200mg
2	微晶纤维素（MCCPH105）	片芯总重量的 40%
3	纤维素甲基羟丙基 5CPS	片芯总重量的 2%
4	胶体二氧化硅	片芯总重量的 2%
5	聚乙烯吡咯烷酮(PVPK29/32)	片芯总重量的 2%
6	硬脂酸镁	片芯总重量的 0.5%
B	**薄膜包衣**	
	由聚乙烯醇、聚乙二醇、滑石、不透明剂、卵磷脂组成，在水中重新配制成 10%w/w 的分散液-异丙醇混合物*或异丙醇*	片芯总重量的 2.0-2.5%
	*=片剂包衣过程中蒸发，且在最终产品-薄膜包衣片剂中基本不存在。	
C	**过程:**	
	将大麻二酚和 MCCPH105、纤维素甲基羟丙基和聚乙烯吡咯烷酮通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。 通过 ASTM#40 分别筛选胶体二氧化硅和硬脂酸镁，并收集在单独的塑料袋中。 将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将预先筛选过的胶体二氧化硅添加到搅拌器中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 5 分钟。将其标记为混合物 C。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 C 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。 将最终混合物卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上“润滑混合物-准备压缩”的标签。使用适当的压缩工具将润滑混合物压缩成具有适当硬度的双凸片，以使脆碎度百分比小于 0.5%w/w，崩解时间（DT）不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增	

[0929]

	重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0930]

示例 44-配方 3：大麻二酚胶囊		
A	**核心成分**	
1	大麻二酚	0.1mg 至 100mg 或 100mg 至 200mg
2	微晶纤维素（MCCPH105）	胶囊芯总重量的 40%
3	纤维素甲基羟丙基 5CPS	胶囊芯总重量的 2%
4	胶体二氧化硅	胶囊芯总重量的 2%
5	POLYVINYLPYROLLIDONE(PVP K29/32)	胶囊芯总重量的 2%
6	硬脂酸镁	胶囊芯总重量的 0.5%
B	**胶囊包**	
	由不透明、有色的羟丙基甲基纤维素（HPMC）组成，尺寸适当，即 00el-5，以包裹或封装成分。	
C	**过程:**	
	将大麻二酚和 MCCPH105、纤维素甲基羟丙基和聚乙烯吡咯烷酮通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。 通过 ASTM#40 分别筛选胶体二氧化硅和硬脂酸镁，并收集在单独的塑料袋中。 将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将预先筛选过的胶体二氧化硅添加到搅拌器中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 5 分钟。将其标记为混合物 C。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 C 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。 将最终混合物卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上标签，标明“润滑混合物已准备好填充胶囊”。使用合适的工具和胶囊填充机将润滑混合物填充到合适尺寸的胶囊中，使崩解时间（DT）不超过 10 分钟。将其标记为成品胶囊。 将成品胶囊装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。	

[0931]

示例 45-配方 4：磷酸氯喹片		
A	**片芯**	
1	包含： 50 毫克磷酸氯喹（相当于 30 毫克碱）或 100 毫克磷酸氯喹（相当于 60 毫克碱）或 250 毫克磷酸氯喹（相当于 150 毫克碱）或 500 毫克磷酸氯喹（相当于 300 毫克碱）。	50 或 100 或 150 或 250 毫克
2	微晶纤维素（AvicelPH102）/磷酸二钙（颗粒自由流动级）	片芯总重量的 40%
3	玉米淀粉	片芯总重量的 10%
4	聚维酮（PVPK29/32）	片芯总重量的 5%
5	淀粉乙醇酸钠	片芯总重量的 3%
6	胶体二氧化硅	片芯总重量的 1%
7	硬脂酸镁	片芯总重量的 1%
B	**薄膜包衣**	
	由羟丙基纤维素、聚乙二醇 400、聚乙二醇 3350、聚山梨醇酯 80、滑石粉和二氧化钛组成，在水-异丙醇混合物*或异丙醇中重组为 10%w/w 分散*	
	*=片剂包衣过程中蒸发，且在最终产品-薄膜包衣片剂中基本不存在。	
	将磷酸氯喹、微晶纤维素/磷酸二氢钙、玉米淀粉、聚维酮和淀粉乙醇酸钠通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。 通过 ASTM#40 分别筛选胶体二氧化硅和硬脂酸镁，并收集在单独的塑料袋中。 将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将预先筛选过的胶体二氧化硅添加到搅拌器中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 5 分钟。将其标记为混合物 C。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 C 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。 将最终混合物卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上“润滑混合物-准备压缩”的标签。使用适当的压缩工具将润滑混合物压缩成具有适当硬度的双凸片，以使脆碎度百分比小于 0.5%w/w，崩解时间（DT）不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。	

[0932]

	将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

示例 46 配方 5：硫酸羟基氯喹片		
A	**片芯**	
1	硫酸羟氯喹	50 毫克至 500 毫克
2	一水乳糖（颗粒自由流动级）	片芯总重量的 40%
3	玉米淀粉	片芯总重量的 10%
4	交联聚维酮	片芯总重量的 5%
5	羟丙基甲基纤维素	片芯总重量的 3%
6	硬脂酸镁	片芯总重量的 0.5%
B	**薄膜包衣**	
	由聚乙二醇、聚乙烯醇、滑石粉和二氧化钛组成，在水-异丙醇混合物*或异丙醇*中重组为 10%w/w 分散体	
	*=片剂包衣过程中蒸发，且在最终产品-薄膜包衣片剂中基本不存在。	

[0933]

将硫酸羟氯喹、一水乳糖、玉米淀粉、交联聚维酮和羟丙基甲基纤维素通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。

通过 ASTM#40 单独筛选硬脂酸镁，并收集在单独的塑料袋中。将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。

将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。

将最终混合物卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上“润滑混合物-准备压缩”的标签。使用适当的压缩工具将润滑混合物压缩成具有适当硬度的双凸片，以使脆碎度百分比小于 0.5%w/w，崩解时间（DT）不超过 15 分钟。

在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。

将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0934]

示例 47-配方 6：阿奇霉素和大麻二酚双层片

[0935]

	使用合适的压片机和压缩工具；将配方 1 和配方 2 的润滑混合物压缩成合适剂量和尺寸的片剂，片剂为双凸型，脆碎度%小于 0.5%，崩解时间不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0936]

示例 48-第 7 号配方：大麻二酚和磷酸氯喹双层片	
	使用合适的压片机和压缩工具；将配方 2 和 4 的润滑混合物压缩成合适剂量和尺寸的片剂，片剂为双凸型，脆碎度%小于 0.5%，崩解时间不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂

[0937]

示例 49-配方 8：阿奇霉素、大麻二酚和磷酸氯喹三层片剂。
使用合适的压片机和压缩工具；将配方 1、2 和 4 的润滑混合物压缩成适当剂量和尺寸的双凸片，其脆碎度%小于 0.5%，崩解时间不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0938]

示例 50-配方 9：大麻二酚和硫酸氢氯喹双层片
使用合适的压片机和压缩工具；将配方 2 和 5 的润滑混合物压缩成适当剂量和尺寸的片剂，片剂为双凸，脆碎度%小于 0.5%，崩解时间不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0939]

示例 51-配方 10：阿奇霉素、大麻二酚和硫酸氢氯喹三层片剂

[0940]

使用合适的压片机和压缩工具；将配方 1、2 和 5 的润滑混合物压缩成适当剂量和尺寸的双凸片，其脆碎度%小于 0.5%，崩解时间不超过 15 分钟。 在适当的片剂包衣机/包衣机中，用具有适当可喷涂稠度的水酒精或酒精片剂包膜分散液进一步包衣片剂，以在片剂芯上实现 2.0-2.5%w/w 的增重。 将薄膜包衣片装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂

[0941]

示例 52-配方 11：口服阿奇霉素悬浮液		
A	**成分**	
1	阿奇霉素一水合物，相当于 100 mg 或 200 mg 阿奇霉素/5 ml	
2	蔗糖	40%w/vof5ml
3	无水三盐基二磷酸	0.5%w/vof5ml
4	羟丙基纤维素	20%w/vof5ml
5	黄原胶	10%w/vof1ml
6	胶体二氧化硅	30%w/vof1ml
7	食用香精-橙子或香草	0.2%w/vof1ml
	纯化水=足够重构的数量，如悬浮液中含有 100mg 或 200mg 阿奇霉素的每 5mg 的水。	
B	**过程**	
	将一水合阿奇霉素、蔗糖、无水磷酸三钠、羟丙基纤维素、黄原胶、胶体二氧化硅和香料通过 ASTM#40 筛分两次。标记为混合物 A。 将混合料 A 装入适当尺寸的 V 型搅拌机，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将最终混合物卸入双层低密度聚乙烯塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上标签，标明“润滑混合物已准备好装瓶”。 在不透明的高密度聚乙烯瓶中加入适量的水，这样当用新煮沸和冷却的水适当复原时，悬浮液将达到 100mg 或 200mg/5ml。 注：从配料到片剂压缩和储存的所有活动都必须在严格控制环境温度和湿度条件下进行，即温度不超过（NMT）18 摄氏度，相对湿度（%RH）不超过 40%。	

[0942]

示例 53-配方 12：奥塞米韦磷酸酯胶囊		
A	**核心成分**	
1	磷酸奥司他韦	10 毫克或 30 毫克
2	预胶化淀粉	胶囊芯总重量的 40%

3	交联羧甲基纤维素钠	胶囊芯总重量的 5%
4	聚维酮（PVPK29/32）	胶囊芯总重量的 2%
5	滑石	胶囊芯总重量的 1%
6	硬脂富马酸钠	胶囊芯总重量的 0.5%
B	**胶囊包**	
	由不透明、有色的羟丙基甲基纤维素（HPMC）组成，尺寸适当，即 00el-5，以包裹或封装成分。	

[0943]

将磷酸奥司他韦、预糊化淀粉、交联羧甲基纤维素钠和聚维酮（PVPK29/32）通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。

按照 ASTM#40 分别筛选滑石粉和富马酸硬脂酯钠，并收集在单独的塑料袋中。

将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。

将预先筛选过的滑石加入搅拌机中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 5 分钟。将其标记为混合物 C。

将预先筛选过的富马酸硬脂酯钠添加到搅拌器中的混合物 C 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。

将最终混合物卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外层为黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上标签，标明“润滑混合物已准备好填充胶囊”。使用合适的工具和胶囊填充机将润滑混合物填充到合适尺寸的胶囊中，使崩解时间（DT）不超过 10 分钟。将其标记为成品胶囊。

将成品胶囊装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0944]

示例 54-配方 13：口服奥塞米韦磷酸酯悬浮液。		示例 54-配方 13：口服奥塞米韦磷酸酯悬浮液。
A	**成分**	
1	磷酸奥司他韦	60 毫克
2	山梨糖醇	药粉总重量的 40%
3	二氧化硅	药粉总重量的 40%
4	苯甲酸钠	药粉总重量的 0.5%
5	黄原胶	药粉总重量的 10%
6	糖精钠	药粉总重量的 0.5%
7	食用香精-橙子或香草	药粉总重量的 0.2%
B	**过程**	

[0945]

	将磷酸奥司他韦、山梨醇、二氧化硅、苯甲酸钠、黄原胶、糖精钠和香料通过 ASTM#40 筛分两次。标记为混合料 A。将混合料 A 装入适当尺寸的 V 型搅拌机，允许其 60%的占用率。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将最终混合物 B 卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋最外侧有黑色内衬。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上标签，标明“润滑混合物已准备好装瓶”。 向不透明的 HDPE（高密度聚乙烯）瓶中加入适量的水，以便在用新煮沸和冷却的水适当重新配制时，能够产生 6mg/ml 的奥司他韦碱悬浮液。 注：从配料分配到灌装和储存的所有配方活动必须在严格控制环境温度和湿度条件下进行，即温度不超过（NMT）18 摄氏度，相对湿度（%RH）不超过 40%。

[0946]

示例 55–配方 14：阿扎那韦硫酸盐胶囊		
A	**核心成分**	
1	硫酸阿扎那韦	50 毫克或 100 毫克或 150 毫克或 200 毫克或 300 毫克
2	乳糖一水合物	胶囊芯总重量的 40%
3	交联聚维酮(15MPA.SAT5%)	胶囊芯总重量的 5%
4	硬脂酸镁	胶囊芯总重量的 0.5%
B	**胶囊包**	
	由不透明、有色的羟丙基甲基纤维素（HPMC）组成，尺寸适当，即 00el-5，以包裹或封装成分。	

[0947]

	通过 ASTM#40 筛孔两次共同筛选硫酸阿他那韦、一水乳糖、交联聚维酮，将其标记为混合物 A。 通过 ASTM#40 单独筛选硬脂酸镁，并收集在单独的塑料袋中。 将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 B 中，并以 10RPM 的转速继续搅拌 2 分钟。将其标记为混合物 C。 将最终混合物 C 卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上标签，标明“润滑混合物已准备好填充胶囊”。使用合适的工具和胶囊填充机将润滑混合物填充到合适尺寸的胶囊中，使崩解时间（DT）不超过 10 分钟。将其标记为成品胶囊。 将成品胶囊装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0948]

示例 56-配方 15：利巴韦林胶囊		
A	**核心成分**	
1	利巴韦林	50 毫克或 100 毫克或 150 毫克或 200 毫克
2	微晶纤维素 PH102 或 PH105	胶囊芯总重量的 45%
3	乳糖一水合物	胶囊芯总重量的 45%
4	交联羧甲基纤维素钠	胶囊芯总重量的 9%
5	硬脂酸镁	胶囊芯总重量的 0.5%
6	**胶囊包**	
	由不透明、有色的羟丙基甲基纤维素（HPMC）组成，尺寸适当，即 00el-5，以包裹或封装成分。	
	将利巴韦林、微晶纤维素、一水乳糖、交联羧甲基纤维素钠通过 ASTM#40 筛孔共筛两次。将其标记为混合物 A。按照 ASTM#40 分别过滤硬脂酸镁，并收集在单独的塑料袋中。 将混合物 A 转移到适当尺寸的 V 型搅拌机中，使其占用率达到 60%。以 15RPM 的转速搅拌 10 分钟。将其标记为混合物 B。 将预先筛选过的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物 B 中，并以 10RPM 的	

[0949]

	转速继续搅拌 2 分钟。将其标记为混合物 C。 将最终混合物 C 卸入双层 LDPE（低密度聚乙烯）塑料袋中，塑料袋的最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子里的空气，用尼龙标签把每个袋子绑起来。在第二个外袋中放 5 个干燥剂枕头袋（每个容量为 100 克），然后用尼龙扎带捆扎。最后，将带有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。在最后一个袋子上贴上标签，标明“润滑混合物已准备好填充胶囊”。使用合适的工具和胶囊填充机将润滑混合物填充到合适尺寸的胶囊中，使崩解时间（DT）不超过 10 分钟。将其标记为成品胶囊。 将成品胶囊装入适当的填充良好、不透明的白色/彩色容器（采用适当的材料）中，以便有最小的顶部空间以及适当的防潮和抗氧化保护剂。

[0950]

示例 57-配方 16：利巴韦林口服溶液		
A	**成分**	
1	利巴韦林	10mg 或 20mg 或 30mg 或 40mg
2	蔗糖	总质量的 20%w/v
3	甘油	总质量的 30%w/v
4	山梨糖醇	总质量的 0.5%w/v
5	丙二醇	总质量的 30%w/v
6	柠檬酸钠	总质量的 0.5%w/v
7	柠檬酸	总质量的 0.5%w/v
8	苯甲酸钠	总质量的 0.2%w/v
9	食用香精	总质量的 0.2%w/v
10	制造用水 Qs（总量）	1ml
	注：上述配方是每毫升的配方，需要适当的放大因子进行制造。 流程： 在密闭容器中取水，并持续搅拌。 依次加入蔗糖、甘油、山梨醇、丙二醇柠檬酸钠、柠檬酸、苯甲酸钠、香料和利巴韦林。 继续搅拌，直到含有透明的淡黄色至浅黄色溶液。 将其标记为利巴韦林溶液。 将溶液装入适当尺寸的填充良好的容器中。	

[0951]

示例 58-配方 17： **大麻二酚注射剂或大麻二酚滴鼻剂或** **大麻二酚鼻喷雾剂或 CANNABIDEIOL 口腔滴剂或** **大麻二酚口腔喷雾剂或 CANNABIDIOL 舌下滴剂或** **大麻二酚舌下喷雾剂**		
1	大麻二酚	0.5-100 毫克/毫升

2	丙二醇	30%
3	乙醇	20%
4	苯甲酸钠/苯甲酸	5%
5	苯甲醇	1.50%
6	注射用水	~43%
	这是一种无菌、无热原的溶液。如果重新配制，pH 范围应为 5-9，最好为 6.5-7.5	

[0952]

在密闭容器中连续搅拌，将大麻二酚溶解在乙醇中。将其标记为混合物 A。

在较大容器中连续搅拌，将苯甲酸钠/苯甲酸和苯甲醇添加到丙二醇中。在搅拌的情况下，慢慢向其加水。将其标记为混合物 B。

在连续搅拌下添加混合物 B 至混合物 A。

继续搅拌，直至形成澄清溶液。通过 0.2 微米过滤器过滤最终的澄清溶液，得到无菌溶液。

所有活动只能在使用无菌工艺的肠外设施中进行。

使用无菌灌装，在氮气吹扫、弱光或钠蒸气灯下，将无菌溶液装入容量为 1ml 的安瓿中。

所述制剂可以通过鼻腔途径作为滴鼻剂或使用适当的医疗器械作为鼻喷雾剂施用。

所述制剂可通过吸入或不借助医疗器械（计量或未计量）和/或雾化施用。

所述制剂可通过口腔途径作为口腔滴注或使用适当的医疗设备作为口腔喷雾剂施用。

所述制剂可通过舌下途径使用舌下滴剂或使用适当的医疗设备进行舌下喷洒。

[0953]

示例 59-配方 18：
大麻二酚注射剂或大麻二酚滴鼻剂或
大麻二酚鼻喷雾剂或 CANNABIDEIOL 口腔滴剂或
大麻二酚口腔喷雾剂或 CANNABIDIOL 舌下滴剂或
大麻二酚舌下喷雾剂

1	大麻二酚	0.5-100 毫克/毫升（活性）
2	乙醇	活性的 20%
3	丙二醇	活性的 40%
4	注射用水	~40%
	它是一种无菌、无热原的溶液，pH 范围为 4.0-7.0。如果重新配制，pH 范围应为 5-9，最好为 6.5-7.5	

[0954]	在小容器中连续搅拌，将大麻二酚溶解在乙醇中。将其标记为混合物A。 在较大容器中连续搅拌下，添加丙二醇以混合A。在搅拌的情况下，慢慢向其加水。 继续搅拌，直至形成澄清溶液。通过 0.2 微米过滤器过滤最终的澄清溶液，得到无菌溶液。 所有活动只能在使用无菌工艺的肠外设施中进行。使用无菌灌装，在氮气吹扫、弱光或钠蒸气灯下，将无菌溶液装入容量为1ml的安瓿中。 所述制剂可以通过鼻腔途径作为滴鼻剂或使用适当的医疗器械作为鼻喷雾剂施用。 所述制剂可通过吸入或不借助医疗器械（计量或未计量）和/或雾化施用。 所述制剂可通过口腔途径作为口腔滴注或使用适当的医疗设备作为口腔喷雾剂施用。 所述制剂可通过舌下途径使用舌下滴剂或使用适当的医疗设备进行舌下喷洒。

示例 60-配方 19：阿奇霉素注射液		
1	阿奇霉素二水合物，USP 相当于 100mg 阿奇霉素	100 毫克
2	依地酸二钠	5.4 毫克
3	聚山梨酯 80	75 毫克
4	无水乳糖	375 毫克
5	氢氧化钠和/或盐酸（用于 pH 调节）。	qs
6	注射用水	~99%
	以白色冻干蛋糕或粉末形式提供，装在 10mL 小瓶/安瓿中	
[0955]	可将其稀释在适当的无菌盐水、葡萄糖或林格溶液中。如果重新配制，pH 范围应为 5-9，最好为 6.5-7.5	
	将依地酸二钠、聚山梨酯 80、无水乳糖和阿奇霉素二水合物溶解在注射用水中，并在容器中持续搅拌。将其标记为混合物 A。将氢氧化钠溶解在少量水中。通过在连续搅拌下添加氢氧化钠溶液或盐酸来调整混合物 A 的 pH 值，直到 pH 值达到 6.5 至 7.5。 通过 0.2 微米过滤器过滤最终的澄清溶液，得到无菌溶液。 所有活动只能在使用无菌工艺的肠外设施中进行。 使用无菌灌装，在氮气吹扫、弱光或钠蒸气灯下，将无菌溶液装入容量为 1ml 的安瓿中。	

[0956] 示例61A-61大麻二酚的药物组合物

[0957] 示例61A-61I的制备过程

[0958] 过程：

[0959] 舌下片(61A)

[0960] 通过ASTM#40目共筛分并混合大麻二酚、乳糖一水合物和甘露醇两次。将其预先标记为混合物A。将分别通过ASTM#40预筛分的淀粉和聚乙烯吡咯烷酮共同筛分到混合物A中，并在V型锥形搅拌机中以20RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂富马酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用

尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。将最终的袋子标记为“润滑混合准备好压缩”。使用9-10毫米平面椭圆形压制工具将最终润滑混合物压制成具有适当硬度和厚度的扁平片剂，优选小于2.0毫米，并且它们的崩解时间(DT)不小于3分钟。或者，片剂可具有2条或更多条分割线，以5mg/片剂段的倍数调整剂量。

[0961] 速溶片剂(61B)

[0962] 将大麻二酚和吐温20(糊状)、乳糖一水合物、柠檬酸钠和甘露醇通过ASTM#40目共筛分两次并混合。将其预先标记为混合物A。将通过ASTM#40预筛分的聚乙烯吡咯烷酮共同筛分到混合物A中，并在V锥搅拌机中以20RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的石蜡添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中，并用尼龙扎带固定。将最终的袋子标记为“润滑混合准备好压缩”。使用9-10mm平面椭圆形压制工具将最终润滑混合物压制成具有适当硬度的扁平片剂，以使脆碎度百分比低于0.5％w/w，崩解时间(DT)不超过2分钟。或者，片剂可具有2条或更多条分割线，以5mg/片剂段的倍数调整剂量。

[0963] 速分散片(61C)

[0964] 通过ASTM#40目共筛分并混合大麻二酚、柠檬酸钠和超交联聚维酮两次。将其预先标记为混合物A。共筛分并将分别通过ASTM#40预筛分的淀粉和聚乙烯吡咯烷酮添加到混合物A中，并在V型锥形搅拌机中以20RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#40预筛分的硬脂富马酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用9mm平面椭圆形压制工具将最终润滑混合物压制成具有适当硬度的扁平片剂，使其脆碎度百分比低于0.5％w/w，崩解时间(DT)不少于3分钟。或者，片剂可具有2条或更多条分割线，以5mg/片剂段的倍数调整剂量。

[0965] 迷你药片(61D)

[0966] 通过ASTM#40目共筛分并混合大麻二酚、山梨糖醇单月桂酸酯、超交联聚维酮和柠檬酸钠两次。将其预先标记为混合物A。将分别通过ASTM#40预筛分的淀粉和聚乙烯吡咯烷酮共同筛分到混合物A中，并在V锥形搅拌机中以20RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂富马酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用1.5-2.0mm平面圆形压缩工具将最终润滑混合物压缩成具有适当硬度的扁平迷你片剂，使其脆碎度百分比低于0.5％w/w，崩解时间(DT)为不少于3分钟。

[0967] 口腔崩解片(61E)

[0968] 通过ASTM#40目共筛选和混合大麻二酚、吐温20和超交联聚维酮两次。将其预先标记为混合物A。将淀粉、柠檬酸钠和聚乙烯吡咯烷酮分别通过ASTM#40预筛分到混合物A中，并在V型锥形搅拌机中以20RPM混合20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂富马酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用9mm平面斜边、椭圆形压制工具将最终润滑混合物压制成具有适当硬度的扁平片剂，使其脆碎度百分比小于0.5％w/w，崩解时间(DT)小于30秒根据官方纲要-美国药典(USP)。

[0969] 速释片剂和胶囊剂(61F)

[0970] 通过ASTM#40目共筛分并混合大麻二酚、脱水山梨糖醇单月桂酸酯和超交联聚维酮两次。将其预先标记为混合物A。将分别通过ASTM#40预筛分的淀粉、柠檬酸钠和聚乙烯吡咯烷酮共同筛分到混合物A中，并在V型锥形搅拌机中以20RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂富马酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用适当的压制工具将最终的润滑混合物压制成具有适当硬度的片剂，以使它们的百分脆碎度小于0.5％w/w，并且崩解时间(DT)不超过10分钟。

[0971] 或者，可以将适量的润滑混合物填充到适当大小的硬明胶胶囊中用于口服给药。

[0972] 速释药丸(61G)

[0973] 通过ASTM#40目共筛选和混合大麻二酚、超交联聚维酮、淀粉、PVP两次。将其预先标记为混合物A。将混合物A装入快速混合造粒机(RMG)。以30RPM混合15分钟。用异丙醇将其造粒并在配备适当底板和适当进料速率和速度的挤出滚圆机中将其挤出滚圆，以产生负ASTM#20和正ASTM#40的球体。在45±2℃的内部温度和负40mm汞压的真空下，在真空托盘干燥器中干燥球体约30分钟或直到NMT0.5％w/压碎颗粒的干燥失重读数w达到。它们的脆碎度百分比应不超过0.5％w/w，崩解时间(DT)不超过5分钟。将其预先标记为混合物B。将混合物B加载到V锥搅拌机中。将通过ASTM#60预筛分的硬脂富马酸钠和柠檬酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为润滑颗粒准备好进行处理。使用适当的小袋或胶囊填充药丸。

[0974] 喷雾胶囊或香囊用于速释颗粒(61H)

[0975] 或者，胶囊或香囊中的速溶微丸可用作软食品的喷雾剂，通过口服途径摄入。

[0976] 自微乳化分散片(61I)

[0977] 通过ASTM#60筛子共同筛选大麻二酚和HP-BetaCD。在继续搅拌下将共筛分的混合

物加入丙二醇和脱水山梨糖醇单月桂酸酯中直至形成混合物。将此标记为混合物A。另外，将PVPK29/32和柠檬酸钠混合，并在搅拌下将其添加到混合物A中10分钟。将此标记为混合物B。将其加载到Crospovidone Ultra和MCC102混合物上，并加载到快速混合造粒机(RMG)中。以30rpm的速度造粒20分钟以获得适当稠度的质量。卸载并通过ASTM40目筛分颗粒。使用具有ASTM#12的多磨机研磨残留物，并将研磨后的材料通过ASTM#40。将这些最终尺寸的颗粒在V型锥形搅拌机中与通过ASTM#60筛子以15rpm预筛分的硬脂富马酸钠混合2分钟。这是最终的“可用于压缩的混合物”或合并成压缩片剂。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将混合好的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最后一个袋子标记为“润滑混合-准备压缩”。使用适当的压制工具来获得硬度，使其脆碎百分比小于0.5％w/w并且崩解时间(DT)小于3分钟。或者，片剂可具有2条或更多条分割线，以5mg/片剂段的倍数调整剂量。

[0978] 示例62

[0979]

成分	口腔药片	口腔药片
	百分比 age(w/w)	
大麻二酚	20	20
卡波姆 934	20	20

[0980]

羟丙基甲基纤维素(HPMC)K4M	45	-
甘露醇	-	45
硬脂酸镁	13	13
滑石	1	1
滑石	1	1
总计	100	100

[0981] 过程：

[0982] 将大麻二酚、Carbopol934和HPMCK4M通过ASTM#40目共筛和混合两次。将其预先标记为混合物A。将通过ASTM#40预筛分的甘露醇与混合物A共同筛分，并在V形锥形搅拌机中以15RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以15RPM搅拌1.5分钟。进一步将通过ASTM#60预筛分的滑石粉添加到搅拌机中的混合物中，并继续以15RPM搅拌1分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用6x4毫米平面、改进的胶囊形压缩工具将最终润滑混合物压缩成具有适当硬度的扁平迷你片剂，使其脆碎度百分比低于0.5％w/w和崩解时间(DT)不少于5分钟。

[0983] 示例63

[0984]

缓释片和胶囊的成分	**百分比(w/w)**
核心	
大麻二酚	20
甘露醇	20
微晶纤维素（MCCPH102）	17.5
磷酸三钠	10
纤维素甲基羟丙基15cps（HPMC15cps）	10
纤维素羟丙基5cps（HPMC5cps）	5
超交联聚维酮	15
胶体二氧化硅	2
硬脂酸镁	0.5
小计	**100**
密封包衣	**百分比w/wtothecore**
乙基纤维素	3
氧化镁	1
水或异丙醇和二氯甲烷	QS

[0985]

小计	**4**
抗胃酸包衣	**占核心成分的w/w百分比**
Eudragitl100-55号	15
柠檬酸三乙酯	5
氧化铁颜料	1
滑石	4
二氧化钛	1
水	QS
小计	**26**
总计	**130**

[0986] 过程

[0987] 通过ASTM#40目共筛两次，并在V型锥形混合器中以20RPM混合大麻二酚、甘露醇、MCCPH102、磷酸三钠、HPMC5cps、HPMC15cps和交联聚维酮20分钟。将其标记为混合物A。将通过ASTM#20预筛分的胶体二氧化硅加入搅拌机中的混合物A中，并以15RPM的速度搅拌3分钟。将通过ASTM#40预筛分的硬脂酸镁加入其中，并以15rpm的速度进一步混合2分钟将最终混合物卸载到最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用适当的压缩工具(最好是标准凹面)将最终润滑混合物压缩成具有适当硬度的片剂，以使它们的脆碎度百分比小于0.5%w/w并且崩解时间(DT)大于10

分钟。使用适当的溶剂系统，即用密封包衣药物组合物包衣片芯。含水的，非水的；优选非水性(异丙醇和二氯甲烷)，以使片芯重量增加4-5％。将这些标记为密封包衣片剂。进一步用耐胃包衣药物组合物对密封包衣片剂进行包衣，使片芯的总重量增加26-30％。将这些标记为延迟释放片剂。

[0988] 示例64

[0989]

成分 缓释片和胶囊	**百分比(w/w)**
核心	
大麻二酚	20
微晶纤维素	20
纤维素甲基羟丙基 K100M	20
纤维素甲基羟丙基 K15M	12.5
胶体二氧化硅	2
聚乙烯吡咯烷酮（PVPK29/32）	2
硬脂酸镁	0.5
小计	**75**

[0990]

薄膜包衣	**百分比 w/w**
聚乙烯醇	38-46
聚乙二醇（或甘油）	13-25
滑石	09-20
颜料/乳浊剂	20-30
卵磷脂	0-4
小计	**100**
总计	175

[0991] 过程

[0992] 将大麻二酚、微晶纤维素、纤维素甲基羟丙基K100M和纤维素甲基羟丙基K15M通过ASTM#40目共筛分两次。将其预先标记为混合物A。将通过ASTM#40预筛分的聚乙烯吡咯烷酮(PVPK29/32)共同筛分到混合物A中，并在V锥形搅拌机中以20RPM搅拌20分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂富马酸钠添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用合适的压缩工具，最好是标准凹面，将最终润滑混合物压缩成具有适当硬度的片剂，以使它们的脆碎度百分比小于0.5％w/w。将片芯薄膜包衣至片芯重量增加2.5至3.0％w/w。最初2小时的大麻二酚释放百分比为NMT20％；4小时为20-40％，8小时为40-80％，12小时不低于(NLT)75％。

[0993] 或者，可以将适量的润滑混合物填充到适当大小的硬明胶胶囊中用于口服给药。

[0994] 示例65

[0995]

泡腾片和泡腾喷头的成分	百分比(w/w)
大麻二酚	20
柠檬酸钾	27
柠檬酸	8.5
碳酸氢钠	7.5
甘露醇	5
阿斯巴甜	2
草莓(食用香精胶囊固体)	5
苯甲酸钠	5
聚乙二醇6000	20
总计	100

[0996] 过程

[0997] 通过ASTM#40共同筛分柠檬酸、碳酸氢钠、柠檬酸钾和甘露醇，并在翻滚的V形锥形搅拌器中以20RPM混合约15分钟。将获得的混合物装入带有热水夹套的快速混合造粒机(RMG)。将65-70℃的热水通过其夹套循环，以获得55±2℃的内部温度。在RMG内将粉末混合物造粒，直到柠檬酸的结晶水被释放并充当粘合剂(约30分钟))。通过连接到RMG并具有ASTM筛#20的多磨机获得的湿质量大小。将整粒颗粒通过20号筛子。将此混合物装入V-Cone搅拌机并以20RPM的速度混合15分钟。将此混合物标记为混合物A。取约10％w/w的混合物A并使用装有ASTM#40网眼的多磨机对其进行调整。将获得的细粉通过ASTM#60目并单独收集。通过ASTM#40将细粉、大麻二酚、阿斯巴甜、草莓味、苯甲酸钠和PEG6000一起过筛，然后加入到混合物A中。以15RPM搅拌10分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将混合好的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最后一个袋子标记为“润滑混合-准备压缩”。使用适当的压制工具来获得硬度，使其脆碎度百分比小于0.5％w/w并且崩解时间(DT)小于3分钟。或者，片剂可具有2条或更多条分割线，以5mg/片剂段的倍数调整剂量。注意:所有活动都在25±2℃和NMT40±5℃的％RH的环境中进行。

[0998] 示例66

[0999]

OROS片剂的成分	
核心	**百分比(w/w)**
大麻二酚	20
山梨醇酐月桂酸酯	10
氯化钠	20
微晶纤维素	15
纤维素甲基羟丙基K100M	20
纤维素甲基羟丙基K15M	12.5
胶体二氧化硅	2
硬脂酸镁	0.5
总计	**100**
涂层贴膜	**百分比 w/w**
聚乙烯醇	38-46
聚乙二醇（或甘油）	13-25
滑石	09-20
颜料/乳浊剂	20-30
卵磷脂	0-4
异丙醇	qs
总计	**100**

[1000]

功能涂层	**百分比 w/w**
醋酸纤维素	20
聚乙二醇（或甘油）	5
滑石	10
颜料/乳浊剂	2
卵磷脂	1
异丙醇	qs
总计	**100**

[1001] 过程：

[1002] 通过ASTM#40目共筛分并混合大麻二酚、山梨糖醇单月桂酸酯和氯化钠两次。将其预先标记为混合物A。将MCCPH102、纤维素甲基羟丙基K100M和纤维素甲基羟丙基K15M通过ASTM#40共同筛分到混合物A中，并在V锥形混合器中以20RPM混合20分钟。添加通过ASTM#20预筛分的胶态二氧化硅，并以10RPM的速度进一步混合2分钟。将其标记为混合物B。将通过ASTM#60预筛分的硬脂酸镁添加到搅拌机中的混合物B中，并继续以20RPM搅拌2分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中，最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最终的袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用合适的压制工具，最好是标准的凹面，将最终的润滑混合物压制

成具有合适硬度的片剂，使它们的脆碎度百分比低于0.5％w/w。将片芯薄膜包衣至重量增加2.5至3.0％w/w使用非水介质至片芯。用异丙醇中的醋酸纤维素非水分散体对片剂进行功能性包衣，使片芯的重量增加25-30％w/w。用150-250微米的孔对药片进行激光钻孔。将这些片剂标记为渗透控释口服给药系统(OROS)片剂-OROS片剂。

[1003] 最初2小时的大麻二酚释放百分比为NMT20％；4小时为20-40％，8小时为40-80％，12小时不低于(NLT)75％..

[1004] 示例67

[1005]

Pastilles成分	百分比(w/w)
大麻二酚	20
明胶	50
甘油	17.8
硅氧烷(抗泡沫)	5
食用香精	5
柠檬酸钠	2
着色剂(水溶性)	0.2
水	QS
乙醇	QS
总计	100

[1006] 过程：

[1007] 将明胶浸泡在其重量的约90％w/w中约30分钟。确保所有干明胶颗粒都被彻底润湿或浸泡，并且在浸泡过程中没有干块。在搅拌下将甘油、二甲基硅油、柠檬酸钠和着色剂加入浸泡过的明胶中。将上述混合物装入预热至100±5℃的蒸汽锅中，使混合物的温度在90±5℃之间。将混合物持续搅拌30分钟。关闭预热。继续搅拌。在连续搅拌下将分散在少量乙醇中的大麻二酚加入锭剂模具中。让混合物冷却至室温，在室温下固化成锭剂。从各自的模具中取出锭剂并储存在密封、避光的容器中，直到包装在适当的包装中。

[1008] 示例68

[1009]

口服粉或膏剂的成分	百分比(w/w)
大麻二酚	20
单月桂酸山梨醇酐	20
聚乙烯吡咯烷酮K29/32	15
安赛蜜钾	5
胶体二氧化硅	10
甘露醇	28
富马酸硬脂酰钠	1
香草(粉末香精)	1
总计	100

[1010] 过程：

[1011] 将大麻二酚、山梨糖醇单月桂酸酯、聚乙烯吡咯烷酮K29/32、乙酰磺胺酸钾、胶体二氧化硅和甘露醇通过ASTM#40目共筛两次。将混合物在V型锥形搅拌机中以15RPM搅拌10

分钟。将其预先标记为混合物A。通过ASTM#40筛选香草味。添加到混合物A中并以10RPM混合5分钟。通过ASTM#40筛选硬脂富马酸钠。在搅拌机中加入混合物并以10RPM再搅拌2分钟。将最终混合物倒入双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中,最外侧衬有黑色塑料袋。置换每个袋子内的空气,并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥枕袋放在第二个外袋中,然后用尼龙领带系好。最后,将装有混合物的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最后的袋子标记为润滑混合,准备装入小袋。根据适当的处方或需要的剂量,这种粉末在小袋中也可以作为蜂蜜或调味糖浆基质或在奶粉中服用。

[1012] 示例69

[1013]

口服果冻的成分	**百分比(w/w)**
大麻二酚	20
黄原胶	2.5
柠檬酸钠	1
硅氧烷（抗泡沫）	4.8
食用香精	2

[1014]

乙醇	5
颜料（水溶性）	0.2
尼泊金甲酯	0.18
尼泊金丙酯	0.02
蔗糖	44.3
水	20
总计	**100**

[1015] 过程:

[1016] 将黄原胶浸泡在大约一半重量的含有二甲硅油和柠檬酸钠的水中约60分钟。标记为混合物A。将剩余的水预热至接近沸腾,并在持续搅拌下将对羟基苯甲酸酯溶解在其中。停止加热,加入蔗糖并继续搅拌。标记为混合物B。在搅拌下混合A和B。将其标记为混合物C。在35-40℃下,将溶解在乙醇中的香精、色素和大麻二酚添加到混合物C中并继续搅拌。加入剩余的水并继续搅拌直至混合物达到室温。

[1017] 储存在密封、避光的容器中,直到包装在适当的包装中。

[1018] 示例70

[1019]

压缩锭剂、嚼片或棒棒糖的成分	百分比(w/w)
大麻二酚	20
聚氧基35蓖麻油(ChremophoreEL/KolliphorEL)	10
葡萄糖(Emdex)	25.25
聚乙二醇(PEG)6000	10
微晶纤维素MCCPH102	24.5
聚乙烯醇缩甲醛(PVPK29/32)	10
颜料-FD&C黄色6号	0.25
硬脂酸镁	

总计	100

[1020] 过程：

[1021] 将大麻二酚与Polyoxyl35蓖麻油、糊精、PEG6000(通过ASTM#40筛子预先筛分)、MCC102、PVPK29/32和FD&CYellowNo.6一起筛分。将筛分后的混合物混合成V-以20RPM的转速搅拌15分钟。

[1022] 将通过ASTM#40预筛分的硬脂酸镁添加到上述混合物中，并以15RPM的速度混合3分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙领带系好。最后，将混合好的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最后一个袋子标记为“润滑混合-准备压缩”。使用适当的压缩工具来获得含片的硬度，使其脆性百分比低于0.5％w/w，崩解时间(DT)低于15分钟。或者，压缩锭剂可具有2条或更多条分割线，以5毫克/段的倍数调整剂量。注意：所有活动都在25±2℃和NMT40±5℃的％RH的环境中进行。

[1023] 或者，这些片段可以用作口香糖或棒棒糖，其中每个片段中都插入了一个不透射线的塑料支架。

[1024] 示例71

[1025]

糖衣丸的成分	百分比(w/w)
主要成分	
大麻二酚	20
山梨醇酐月桂酸酯	2
交联聚维酮超	5
一水乳糖(DC级)	20
微晶纤维素MCCPH102	15
肉桂酸甘油酯	38
总计	100
包衣	
阿拉伯树胶	2.5
萨克哈伊斯	5
液体葡萄糖	10
碳酸氢钠	5
对羟基苯甲酸甲酯钠	0.18
对羟基苯甲酸丙酯钠	0.02
滑石	3
颜料	1.8
水足量，配置100。(不存在于最终产品中)	72.5
总计	100

[1026] 过程：

[1027] 通过ASTM#40筛子共同筛选大麻二酚、山梨聚糖单月桂酸酯和超交联聚维酮两次。将其标记为混合物A。分别通过ASTM#20筛子共同筛选一水合乳糖(DC级)和微晶纤维素

MCCPH102。将其标记为混合物B。将山嵛酸甘油酯通过ASTM#20筛子筛分两次，以粉碎任何结块。将其标记为成分C。通过ASTM#40筛子将混合物A、混合物B和成分C共同筛分。将其标记为混合物D。将混合物D装入合适的V型锥形搅拌机中并以15RPM搅拌10分钟。将最终混合物倒入最外侧衬有黑色塑料袋的双层LDPE(低密度聚乙烯)塑料袋中。置换每个袋子内的空气，并用尼龙标签将每个袋子系好。将5-6个干燥剂枕袋放在第二个外袋中，然后用尼龙扎带系好。最后，将混合好的双层塑料袋放入黑色塑料袋中。将最后一个袋子标记为“润滑混合物-准备压缩”。使用适当的压制工具来获得具有适当硬度的双凸片剂，以使它们的脆碎度百分比小于0.5％w/w。使用包衣分散体，将压缩片剂包衣至片芯增重20％w/w，从而产生最终产品-糖衣丸。

[1028] 示例72

[1029]

成分	口服液或舌下滴剂	口服液
	百分比(w/w)	
大麻二酚	20	20
聚氧基35蓖麻油（ChremophoreEL/KolliphorEL）	10	10
糖精钠	2	2
焦糖色	1	1
FD&C 黄色 6 号	0.05	0.05
薄荷油	0.05	0.05
酒精-乙醇	10	10
蔗糖	-	20
水足量，配置 100	56.9	36.9
总计	**100**	**100**

[1030] 过程：

[1031] 口服溶液或舌下滴剂

[1032] 在密闭容器中，在连续搅拌下将大麻二酚、Polyoxyl35蓖麻油和薄荷油溶解在乙醇中。标记为混合物A。在单独的密闭水箱(是混合物A的两倍容量)中取出的水中，溶解糖精钠、焦糖和色素。标记为混合物B。将混合物A与混合物B在后一个密闭罐中在连续搅拌下混合。这是大麻二酚的口服溶液，在黑暗或柔和的光线下储存在一个填充良好、密闭的容器中。该溶液浓缩物可以进一步用类似的水稀释并分配到深琥珀色玻璃瓶或适当的100％不透明(即不透光)容器中。

[1033] 或者，该溶液也可以通过舌下途径，以合适容器中的舌下滴剂给药。

[1034] 口服糖浆

[1035] 在密闭容器中，在连续搅拌下将大麻二酚、Polyoxyl35蓖麻油和薄荷油溶解在乙醇中。将其标记为混合物A。在从单独的密闭水箱(容量是混合物A的两倍)中取出的水中，溶解蔗糖、糖精钠、焦糖和色素。将其标记为混合物B。在后一个密闭罐中，在不断搅拌下将混合物A与混合物B混合。这是大麻二酚口服糖浆，在黑暗或柔和的光线下储存在填充良好、密闭的容器中。这种糖浆可以进一步用类似的水稀释并分配到深琥珀色玻璃瓶或适当的

100％不透明(即不透光)容器中。

[1036] 示例73

[1037]

口香糖的成分	mg/单位
大麻二酚	20
口香糖基	1000
口味-樱桃/草莓/薄荷	10
甘氨酸单铵(MAG)	30
阿斯巴甜	20
大豆卵磷脂	20
氢化蓖麻油	12
滑石	10
总计	1122

[1038] 过程：

[1039] 通过ASTM#40在V-Cone搅拌器中共同筛选香料和大麻二酚30分钟。将其标记为混合物A。通过ASTM#40筛子将胶基、MAG、阿斯巴甜、大豆卵磷脂和氢化蓖麻油共同筛分。将其标记为混合物B。将混合物B添加到V-cone搅拌机中的混合物A中，并以15RPM搅拌10分钟。

[1040] 将通过ASTM#40预筛分的氢化蓖麻油加入搅拌机中的上述混合物中，并以15RPM搅拌10分钟。将其标记为：“润滑混合物--准备压缩”。上述混合物可以在压片机上使用适当的工具合并成口香糖片。所获得的口香糖片剂可以另外用调味的即释包衣进行包衣。

[1041] 示例74

[1042]

软胶囊-即释	
成分	**mg/胶囊**
大麻二酚	100
聚乙烯吡咯烷酮 K29/32	50-150
乙醇+水（90:10）	100
丙二醇	200-250
聚乙二醇（PEG）400	200-350
丁基羟基甲苯（BHT）	0.1
总计	**600**

[1043] 过程：

[1044] 在密闭容器中，混合并不断搅拌丙二醇和PEG-400，使其充分溶解。在搅拌下将聚乙烯吡咯烷酮K29/32添加到上述混合物中以使其溶解。在连续搅拌下将大麻二酚和乙醇-水加入其中。将BHT添加到混合物中并搅拌直至获得澄清溶液。对密闭容器中的混合物进行超声处理，以去除任何截留的空气，并将混合物储存在填充良好、密闭的不透明容器中。将所述最终混合物填充到软明胶胶囊中。使用不透明和有色软明胶。将这些软明胶胶囊存放在深琥珀色玻璃或适当的不透明容器中。

[1045] 示例75

[1046]

软胶囊-缓释	
成分	**mg/胶囊**
大麻二酚	100
聚乙烯吡咯烷酮 K29/32	50-150
乙醇+水（90:10）	100
丙二醇	200-250
聚乙二醇（PEG）6000	200-350
丁基羟基甲苯（BHT）	0.1
总计	**600**

[1047] 过程：

[1048] 在密闭的热水循环夹套容器中，加热至70℃混合并不断搅拌丙二醇和PEG-6000以充分溶解。在搅拌下将聚乙烯吡咯烷酮K29/32添加到上述混合物中以使其溶解。停止升温并持续搅拌直至混合物达到室温。标记为混合物A。在另一个类似的单独容器中，将大麻二酚添加到乙醇-水中。继续搅拌。将BHT添加到混合物中并搅拌直至获得澄清溶液。标记为混合物B。在搅拌下将混合物A添加到混合物B。对密闭容器中的混合物进行超声处理，以去除任何截留的空气，并将混合物储存在填充良好、密闭的不透明容器中。将所述最终混合物填充到软明胶胶囊中。使用不透明和有色软明胶。将这些软明胶胶囊存放在深琥珀色玻璃或适当的不透明容器中。将这些胶囊标记为缓释软凝胶胶囊。

[1049] 最初2小时的大麻释放百分比，为NMT40％；在4小时，为40-60％；在8小时不低于(NLT)75％。

[1050] 示例76

[1051]

快速溶解膜-口腔和/或舌下	
成分	**百分比(w/w)/膜**
大麻二酚	20
聚山梨酯 80	0.2
普鲁兰	8
山梨醇	0.5
三氯蔗糖	1
甘草酸单铵	0.1
薄荷粉	0.8
乙醇：水（80:20v/v）足量制成 100	足量

[1052] 过程：

[1053] 在一个密闭的容器中，混合并不断搅拌乙醇中的支链淀粉和山梨糖醇:水以充分溶解。在搅拌下将分散在聚山梨醇酯80中的大麻二酚添加到上述混合物中以使其溶解。加入三氯蔗糖、甘草酸单铵盐和薄荷粉混合物并搅拌直至获得澄清溶液。对密闭容器中的混合物进行超声处理，以去除任何截留的空气，并将混合物储存在填充良好、密闭的不透明容器中。使用上述溶液在成膜机上铺设薄膜(在不超过40℃的温度下干燥)。将干燥后的薄膜切成大小合适的长方形薄膜，以满足所需剂量。将这些口服速溶薄膜存放在深琥珀色的特

殊食品级容器中或Alu-Alu袋中。

[1054] 该薄膜可以通过舌下或舌下的口服途径给药。

[1055] 示例77

[1056]

口腔贴片	
成分	**mg/膜**
大麻二酚	20
苯甲酸钠	0.23
对羟基苯甲酸甲酯	0.24
对羟基苯甲酸丙酯	0.06
着色剂-氧化铁红	0.01
聚氧基35蓖麻油（ChremophoreEL/KolliphorEL）	10
柠檬酸钠	0.5
羟丙基纤维素（HPC）	5
羟乙基纤维素（HEC）	2
羧甲基纤维素钠（Na-CMC）	2
糖精钠	0.19
乙醇：水=80:10v/v	
总计	**40.23**

[1057] 过程：

[1058] 在密闭容器中，混合并不断搅拌乙醇：水中的HPC、HEC和Na-CMC：水以充分溶解。在搅拌下将溶解在聚氧乙烯35蓖麻油中的大麻二酚添加到上述混合物中以使其溶解。加入所有剩余成分并搅拌直至获得均匀溶液。对密闭容器中的混合物进行超声处理，以去除任何截留的空气，并将混合物储存在填充良好、密闭的不透明容器中。使用上述溶液在成膜机上铺设薄膜(在不超过40℃的温度下干燥)。将干燥后的薄膜切成大小合适的长方形薄膜，以满足所需剂量。

[1059] 将这些口服速溶薄膜存放在深琥珀色的特殊食品级容器中或Alu-Alu袋中。

[1060] 该薄膜可以作为口腔粘膜粘附薄膜通过口服途径给药。

[1061] 示例78

[1062]

口服乳剂成分	**百分比 (w/w)**
大麻二酚	20

[1063]

聚氧基 35 蓖麻油（ChremophoreEL/KolliphorEL）	10
糖精钠	2
焦糖色	1
FD&C 黄色 6 号	0.05
薄荷油	0.05
玉米油	10
蔗糖	20
水*QS 达到 100	36.9
总计	**100**
*水=刚煮沸并在密闭容器中冷却。	

[1064] 过程：

[1065] 在密闭容器中，在连续搅拌下将大麻二酚、聚氧乙烯35蓖麻油和薄荷油溶解在玉米油中。将其标记为混合物A。在单独的密闭水箱(容量比混合物A的两倍)中取出的水中，溶解蔗糖、糖精钠、焦糖和色素。将其标记为混合物B。将混合物A与混合物B混合，两者均预热至70±2℃5，在后一个封闭罐中使用高剪切均质机进行处理。这是大麻二酚的口服乳剂，在黑暗或柔和的光线下储存在填充良好、密闭的容器中。这种糖浆可以进一步用类似的水稀释并分配到深琥珀色玻璃瓶或适当的100％不透明(即不透光)的容器中。

[1066] 示例79

[1067]

吸入喷雾或口服喷雾的成分	mgperMillilitre
大麻二酚	20
聚山梨醇酯20	20
无水柠檬酸三钠	2.5
氯化钠	18
水*QS制成1ml	
*水＝刚煮沸并在密闭容器中冷却。	

[1068] 过程：

[1069] 在密闭容器中，在连续搅拌下溶解大麻二酚和聚山梨醇酯20。标记为溶液A。将无水柠檬酸三钠和氯化钠分别溶解在水中，不断搅拌。将其标记为溶液B。在连续搅拌下将溶液B添加到溶液A中。这是要储存在填充良好、密闭容器中的喷雾剂。它可以在适合给药的适当容器中作为鼻吸入剂或口腔喷雾剂给药。

[1070] 示例80

[1071]

吸入胶囊	
成分 mg/胶囊	mg/胶囊

[1072]

CANNABIDIOL0.2-2 毫克	0.2-2mg
PeterGreven（德国）生产的硬脂酸镁（MgSt）[吸入171 级]88mg	88mg
羟丙基甲基纤维素（HPMC）胶囊（QualiCaps，西班牙）3 号	

[1073] 过程:

[1074] 针对总量为40g粉末(赋形剂和药物)分批处理。两种赋形剂分别与大麻二酚一起进行如下处理:

[1075] (1)在高压力下混合,即高剪切混合。

[1076] 混合大麻二酚和赋形剂,即乳糖或硬脂酸镁,在高剪切混合器-ColletteMicroGral2L(GEAPharmaSystems,瑞士)中,在10-15±2℃的室温下以1200rpm的速度搅拌10分钟,环境相对湿度=NMT20%和柔和的光线。

[1077] (2)在低压力下混合,即低剪切混合。混合大麻二酚和赋形剂,即乳糖或硬脂酸镁,在低剪切搅拌器-Turbula®T2F混合器2L(WillyA.BachofenAG,瑞士)中,在10-15±2℃的室温下以25rpm的速度搅拌10分钟,相对湿度为环境=NMT20%和柔和的光线。将每种情况下的最终粉末手动填充到3号羟丙基甲基纤维素(HPMC)胶囊(QualiCaps,西班牙)中,每粒胶囊含有200mcg至2mg的大麻二酚。所选择的胶囊是有色且不透明的。将最终填充的胶囊储存在棕色不透明HDPE容器中,并带有干燥剂袋(1克)并配有CRC盖。将其储存在NMT25±2℃的温度下。

[1078] 示例81

[1079]

阴道凝胶的成分	**mg/2gm**
大麻二酚	20
聚氧基 35 蓖麻油（ChremophoreEL/KolliphorEL）	10
抗坏血酸	5
甘油或丙二醇	10
羟丙基甲基纤维素（HPMCE50）	0.3
二水合柠檬酸三钠	0.0036
水足量达到 100	1965.7
总计	**2000**

[1080] 过程:

[1081] 在密闭容器中,在持续搅拌下将大麻二酚溶解在聚氧乙烯35蓖麻油中。加入甘油或丙二醇并继续搅拌。将其标记为混合物A。在从单独的密闭罐中取出的水中,溶解HPMCE50、抗坏血酸和二水合柠檬酸三钠。将其标记为混合B。在连续但温和的搅拌下将混合B添加到混合A15分钟,以避免任何气泡夹带。这是大麻二酚的阴道凝胶,储存在一个填充良好、密闭的容器中。它可以填充到适当的凝胶分配容器和/或整体小袋中

[1082] 示例82

[1083]

滴眼液成分	毫克每毫升
大麻二酚	20
聚山梨醇酯 20	20
苯扎氯铵	0.1
乙二胺四乙酸二钠	18
羧甲基纤维素钠（Na-CMC）	5
柠檬酸一水合物	0.5
氢氧化钠*	足量
盐酸*	足量
水**足量制成 1ml	
*水=刚煮沸并在密闭容器中冷却。	

[1084] 过程：

[1085] 在密闭容器中，在连续搅拌下溶解大麻二酚和聚山梨醇酯20。标记为溶液A。将羧甲基纤维素钠、柠檬酸一水合物、乙二胺四乙酸二钠和苯扎氯铵分别溶解在水中并不断搅拌。将其标记为溶液B。在连续搅拌下将溶液B添加到溶液A。使用氢氧化钠或盐酸将pH值调节至7-7.2。上述溶液应储存在一个填充良好、密闭的容器中，置于黑暗中或避光的深琥珀色玻璃容器中。它可以在适合给药的适当容器中作为滴眼剂给药。

[1086] 示例83

[1087]

栓剂	
成分	**毫克/栓剂**
大麻二酚	20
硬脂肪	1920
乙醇*	50
总计	**1940**
*加工时蒸发，不存在于最终产品中	

[1088] 过程：

[1089] 在密闭容器中，将溶解在乙醇中的大麻二酚分散到保持在80℃的熔融硬脂中，持续搅拌30分钟。停止加热并继续搅拌。将熔化的物质倒入大小和形状合适的栓剂模具中。将获得的栓剂装入白色不透明泡罩包装中。

[1090] 本说明书中引用的所有出版物均作为参考并入。

[1091] 参考文献

[1092] 1.格里桑蒂洛杉矶(2018年).糖尿病和心律失常:病理生理学、机制和治疗结果.生理学前沿9:1669.

[1093] 2.Napolitano C、Bloise R和Priori SG(2006年).长QT综合征和短QT综合征:如何做出正确诊断以及参加体育活动的资格.心血管医学杂志(黑格斯敦,马里兰州)7:250-256.

[1094] 3.Shimizu W和Antzelevitch C(1999).长QT间期的细胞基础、复极化的透壁离散和长QT间期综合征中的尖端扭转型室速.心电学杂志32增刊:177-184.

[1095] 4.Yu P,Hu L,Xie J,Chen S,Huang L,Xu Z,et al.(2018年).心脏Nav1.5的O-GlcNAcylation有助于糖尿病心脏心律失常的发展.国际心脏病学杂志260:74-81.

[1096] 5.DeMarco K R和Clancy C E(2016).心脏钠通道:结构到功能.膜的当前主题;78:287-311.

[1097] 6.耶伦G(1998).电压门控离子通道的运动部件.生物物理学季刊.31(3):239-295.

[1098] 7.Kleber A G,Rudy Y(2004).心脉冲传播和相关心律失常的基本机制.生理评论.84(2):431-488.

[1099] 8.Chen-Izu Y等人(2015年).Na+通道功能、调节、结构、运输和隔离.生理学杂志.593(6):1347-1360.

[1100] 9.Herren A W、Bers D M、Grandi E(2013).心脏钠通道的翻译后修饰:CaMKII依赖性磷酸化对获得性心律失常的贡献.美国生理学杂志.心脏和循环生理学.305(4):H431-H445.

[1101] 10.Rook MB等人(2012).心脏钠通道Nav1.5表达的生物学.心血管研究.93(1):12-23.

[1102] 11.巴尔瑟JR(1999).心脏钠通道的结构和功能.心血管研究42:327-338.

[1103] 12.Ruan Y,Liu N,&Priori SG(2009).钠通道突变和心律失常.自然评论心脏病学6:337-348.

[1104] 13.Thomas BF、Gilliam AF、Burch DF、Roche MJ和Seltzman HH(1998年).大麻素激动剂和拮抗剂的比较受体结合分析.药理学和实验治疗学杂志285:285-292.

[1105] 14.Ghovanloo MR、Shuart NG、Mezeyova J、Dean RA、Ruben PC和Goodchild SJ(2018年).大麻二酚对电压依赖性钠电流的抑制作用.生物化学杂志293:16546-16558.

[1106] 15.Cunha JM、Carlini EA、Pereira AE、Ramos OL、Pimentel C、Gagliardi R等.(1980年).对健康志愿者和癫痫患者长期服用大麻二酚.药理学21:175-185.

[1107] 16.Izzo AA、Borrelli F、Capasso R、Di Marzo V和Mechoulam R(2009).非精神性植物大麻素:一种古老草药的新治疗机会.药理科学趋势30:515-527.

[1108] 17.Rajesh M、Mukhopadhyay P、Batkai S、Patel V、Saito K、Matsumoto S等人.(2010).大麻二酚可减轻糖尿病性心肌病中的心脏功能障碍、氧化应激、纤维化以及炎症和细胞死亡信号通路.美国心脏病学会杂志56:2115-2125.

[1109] 18.克里斯托弗A.埃亨(2013).什么激活失活?普通生理学杂志142(2):97-100.

[1110] 19.Wang,Q.,J.Shen,I.Splawski,D.Atkinson,Z.Li,J.L.Robinson,A.J.莫斯,J.A.托宾和M.T.基廷(1995).SCN5A突变与遗传性心律失常、长QT综合征相关.细胞.80:805-811.

[1111] 20.Valdivia,C.R.,W.W.Chu,J.Pu,J.D.Foell,R.A.Haworth,M.R.Wolff,T.J.坎普和J.C.Makielski(2005).犬心力衰竭模型和人类心脏衰竭的心肌细胞中晚期钠电流增加.分子和细胞心脏病学杂志三十八:475—483.

[1112] 21.Yang,Y.,Y.Wang,S.Li,Z.Xu,H.Li,L.Ma,J.Fan,D.Bu,B.Liu,Z.Fan等.(2004年).原发性红热痛患者的SCN9A突变,编码钠通道α亚基.医学遗传学杂志.41:171-174.

[1113] 22.Fertleman,C.R.,M.D.Baker,K.A.Parker,S.Moffatt,F.V.Elmslie、

B.Abrahamsen、J.Ostman、N.Klugbauer、J.N.伍德,R.M.加德纳和M.里斯.(2006年).阵发性极度疼痛障碍中的SCN9A突变:等位基因变异是不同通道缺陷和表型的基础.神经元.52:767-774.

[1114] 23.Ptácek,L.J.,A.L.George Jr.,R.C.格里格斯,R.Tawil,R.G.Kallen、R.L.Barchi、M.Robertson和M.F.莱珀特.(1991).鉴定导致高钾血症周期性麻痹的基因突变.细胞.67:1021-1027.

[1115] 24.罗哈斯,C.V.,J.Z.王,L.S.施瓦茨,EP霍夫曼,B.R.Powell和R.H.Brown Jr.(1991).高钾性周期性麻痹中骨骼肌Na+通道α亚基的Met-to-Val突变.自然.354:387-389.

[1116] 25.McClatchey,A.I.,P.Van den Bergh,M.A.Pericak-Vance,W.Raskind,C.Verellen,D.McKenna-Yasek,K.Rao,J.L.Haines,T.Bird,R.H.Brown Jr.等.(1992).先天性副肌强直骨骼肌钠通道基因III-IV胞质环区的温度敏感突变.细胞.68:769-774.

[1117] 26.Kahlig,K.M.,T.H.Rhodes,M.Pusch,T.Freilinger,J.M.Pereira-Monteiro,M.D.Ferrari,A.M.van den Maagdenberg、M.Dichgans和A.L.George Jr.(2008年).家族性偏瘫性偏头痛的不同钠通道缺陷.美国国家科学院院刊.105:9799-9804.

[1118] 27.Weiss,洛杉矶,A.Escayg,J.A.Kearney,M.Trudeau,B.T.MacDonald、M.Mori、J.Reichert、J.D.Buxbaum和M.H.迈斯勒.(2003年).家族性自闭症中的钠通道SCN1A、SCN2A和SCN3A.分子精神病学.八:186-194.

[1119] 28.Han,S.,C.Tai,R.E.Westenbroek,F.H.Yu,C.S.Cheah,G.B.Potter,J.L.Rubenstein,T.Scheuer,H.O.de la Iglesia和W.A.Catterall.(2012a).Scn1a+/-小鼠的自闭症样行为和通过增强的GABA介导的神经传递进行拯救.自然.489:385-390.

[1120] 29.Han,S.,F.H.Yu,M.D.Schwartz,J.D.Linton,M.M.Bosma、J.B.Hurley、W.A.Catterall和H.O.德拉伊格莱西亚.(2012b).Na(V)1.1通道对于视交叉上核的细胞间通讯和正常的昼夜节律至关重要.美国国家科学院院刊.109:E368-E377.

[1121] 30.Craner,M.J.,J.Newcombe,J.A.布莱克,C.Hartle,M.L.库兹纳和S.G.韦克斯曼.2004.多发性硬化症中神经元的分子变化:改变Nav1.2和Nav1.6钠通道和Na+/Ca2+交换器的轴突表达.美国国家科学院院刊.101:8168-8173.

[1122] Viskupicova J、Blaskovic D、Galiniak S、Soszynski M、Bartosz G、Horakova L等.(2015年).高葡萄糖浓度对体外人红细胞的影响.氧化还原生物学5:381-387.

[1123] 31.Liu Y,Sun L,Ma Y,Wei B,Gao M,&Shang L(2019).高葡萄糖和布比卡因诱导的细胞毒性是通过PERKATF4CHOP和IRE1TRAF2信号通路增强的细胞凋亡和受损的自噬介导的.分子医学报道20:2832-2842.

[1124] 32.Chen M,Zheng H,Wei T,Wang D,Xia H,Zhao L,et al.(2016年).通过增加谷氨酸产生和减少甲基代谢,高葡萄糖诱导的PC12细胞死亡.2016年:4125731.

[1125] 33.Fouda MA和Abdel-Rahman AA(2017).内皮素通过减轻氧化应激来保护免受高葡萄糖诱导的神经毒性.药理学和实验治疗学杂志361:130-139.

[1126] 34.Fouda MA、El-Sayed SS和Abdel-Rahman AA(2018年).延髓腹外侧半胱硫醚-γ裂解酶活性的恢复是莫索尼定诱发的糖尿病大鼠神经保护和交感神经抑制的基础.药理学和实验治疗学杂志364:170-178.

[1127] 35.Liu M、Gu L、Sulkin MS、Liu H、Jeong EM、Greener I等.(2013).线粒体功能

障碍导致心肌病心脏钠通道下调.分子和细胞心脏病学杂志54:25-34.

[1128] 36.Nakajima T、Davies SS、Matafonova E、Potet F、Amarnath V、Tallman KA等.(2010).选择性γ-酮醛清除剂可保护Nav1.5免受氧化剂诱导的失活.分子和细胞心脏病学杂志48:352-359.

[1129] 37.Korystov YN、Emel'yanov MO、Korystova AF、Levitman MK和Shaposhnikova VV(2009年).使用二氯荧光素测定法测定大鼠主动脉中的活性氧和氮.自由基研究43:149-155.

[1130] 38.Nuss HB、Tomaselli GF和Marban E(1995).心脏钠通道(hH1)本质上对利多卡因的阻滞比骨骼肌(mu 1)通道更敏感.普通生理学杂志106:1193-1209.

[1131] 39.王毅、米杰、卢凯、卢毅和王凯(2015).抗心律失常药美西律和利多卡因对Nav1.5和Nav1.7通道的门控特性和使用依赖性阻断比较.PloS一10:e0128653.

[1132] 40.Ghovanloo MR、Abdelsayed M和Ruben PC(2016年).胺碘酮和N-去乙基胺碘酮对心脏电压门控钠通道的影响.药理学前沿7:39.

[1133] 41.Wang Q、Shen J、Splawski I、Atkinson D、Li Z、Robinson JL等.(1995年).SCN5A突变与遗传性心律失常、长QT综合征相关.单元格80:805-811.

[1134] 42.El-Remessy AB、Abou-Mohamed G、Caldwell RW和Caldwell RB(2003).内皮细胞中高葡萄糖诱导的酪氨酸硝化:eNOS解偶联和醛糖还原酶活化的作用.调查性眼科学和视觉科学44:3135-3143.

[1135] 43.Sharifi AM、Eslami H、Larijani B和Davoodi J(2009).caspase-8、-9和-3参与高糖诱导的PC12细胞凋亡.神经科学信件459:47-51.

[1136] 44.O'Hara T、Virag L、Varro A和Rudy Y(2011年).模拟未患病的人心脏心室动作电位:模型制定和实验验证.PLoS计算生物学7:e1002061.

[1137] 45.Curtis MJ、Alexander S、Cirino G、Docherty JR、George CH、Giembycz MA等.(2018年).实验设计和分析及其报告II:作者和同行评审员的更新和简化指南.英国药理学杂志175:987-993.

[1138] 46.Devinsky,O.等人.大麻二酚用于Dravet综合征耐药性癫痫发作的试验.N.英格兰.J.医学.376,2011-2020(2017).

[1139] 47.Ghovanloo,M.-R.等.大麻二酚对电压依赖性钠电流的抑制作用.J.生物学.化学.293,16546-16558(2018).

[1140] 48.De Petrocellis,L.等人.大麻素和富含大麻素的大麻提取物对TRP通道和内源性大麻素代谢酶的影响.兄弟.J.药理学.163,1479-1494(2011).

[1141] 49.Patel,R.R.,Barbosa,C.,Brustovetsky,T.,Brustovetsky,N.&Cummins,T.R.异常癫痫相关突变Nav1.6钠通道活性可以用大麻二酚靶向.大脑139,2164-2181(2016).

[1142] 50.Ghovanloo,M.-R.,Aimar,K.,Ghadiry-Tavi,R.,Yu,A.&Ruben,P.C.钠通道失活的生理学和病理生理学.当前.最佳.会员78,479-509(2016).

[1143] 51.Estacion,M.,Gasser,A.,Dib-Hajj,S.D.&Waxman,S.G.与癫痫相关的钠通道突变增加Nav1.3的斜坡和持续电流,并诱导海马神经元过度兴奋.经验.神经元.224,362-368(2010).

[1144] 52.Cannon,S.C.骨骼肌和大脑通道病的病理机制.安努.神经科学牧师.29,387-

415(2006).

[1145] 53.Lee,S.、Goodchild,S.J.和Ahern,C.A.细菌钠通道的局部麻醉抑制.J.Gen.生理学.第139页,第507-516页(2012年).

[1146] 54.Gamal El-Din,T.M.,Lenaeus,M.J.,Zheng,N.&Catterall,W.A.Fenestrations控制电压门控钠通道的静息状态阻滞.过程.国家石油公司.学院派.科学.115,13111-13116(2018).

[1147] 55.Pan,X.等人.与β1复合的人电压门控钠通道Nav1.4的结构.科学(80-.).362,eaau2486(2018).

[1148] 56.Lehmann-Horn,F.、Jurkat-Rott,K.&Rüdel,R.肌肉通道病的诊断和治疗-乌尔姆肌肉中心指南.肌肉学报27,98-113(2008).

[1149] 57.Ghovanloo,M.-R.,Abdelsayed,M.,Peters,C.H.&Ruben,P.C.A Mixed Periodic Paralysis&Myotonia Mutant,P1158S,赋予骨骼肌电压门控钠通道的pH敏感性.科学.众议员8,6304(2018).

[1150] 58.Lehmann-Horn,F.&Rudel,R.遗传性非营养不良性肌强直和周期性麻痹.Curr.Opin.Neurol.8,402-410(1995).

[1151] 59.Tan,S.V.等人.精细的运动测试可以帮助基于dna的肌肉通道病诊断.安.神经元.69,328-340(2011).

[1152] 60.Emery,A.E.H.遗传性神经肌肉疾病的人口频率——世界调查.神经肌肉.无序.1,19-29(1991).

[1153] 61.Vicart,S.、Sternberg,D.、Fontaine,B.&Meola,G.人体骨骼肌钠离子通道病.神经科学26,194-202(2005).

[1154] 62.姜D.等人.周期性麻痹中孔电流门控的结构基础.自然557,590-594(2018).

[1155] 63.Wu,F.等人.低钾性周期性麻痹的钠通道敲入突变体(NaV1.4-R669H)小鼠模型.J.临床.投资.121,4082-4094(2011).

[1156] 64.Tombola,F.,Pathak,M.M.和Isacoff,E.Y.钾通道中的电压感应精氨酸渗透并封闭阳离子选择性孔.神经元45,379-388(2005).

[1157] 65.Desaphy,J.-F.等.状态依赖性阻断解释了hNav1.4通道和强直突变体的不同氟卡尼敏感性.J.生理学.554,321-34(2004).

[1158] 66.Lundbæk,J.A.等人.通过双层弹性调节钠通道功能.J.Gen.生理学.123,599-621(2004).

[1159] 67.Lafleur,M.,Fine,B.,Sternin,E.,Cullis,P.R.&Bloom,M.通过2H核磁共振平滑脂质双层的定向顺序分布.生物物理学.J.56,1037-1041(1989).

[1160] 68.Ingólfsson,H.I.,Lea Sanford,R.,Kapoor,R.&Andersen,O.S.Gramicidin-based荧光分析;用于确定改变脂质双层特性的小分子潜力.J.可见.经验.(2010).doi:10.3791/2131

[1161] 69.Kuo,C.C.&Bean,B.P.苯妥英与大鼠海马神经元中失活的钠通道的缓慢结合.摩尔.药效学.46,716-725(1994).

[1162] 70.Bean,B.P.,Cohen,C.J.&Tsien,R.W.利多卡因阻断心脏钠通道.J.Gen.生理学.81,613-642(1983).

[1163] 71.Nuss,H.B.,Tomaselli,G.F.&Marban,E.心脏钠通道(hH1)本质上对利多卡因的阻断比骨骼肌(μ1)通道更敏感.生理学杂志106,1193-209.(1995年).

[1164] 72.Cannon,S.C.骨骼肌兴奋性通道病.比较生理学.5,761-790(2015).

[1165] 73.Ghovanloo,M.R.,Peters,C.H.&Ruben,P.C.酸中毒对神经元电压门控钠通道的影响:Nav1.1和nav1.3.第12、367-377频道(2018年).

[1166] 74.Cannon,S.C.,Brown,R.H.&Corey,D.P.钠通道不完全失活引起的肌强直和瘫痪的理论重建.生物物理学.J.65,270-88(1993).

[1167] 75.Khan,A.A.、Shekh-Ahmad,T.、Khalil,A.、Walker,M.C.&Ali,A.B.大麻二酚通过恢复颞叶癫痫模型中的海马中间神经元功能发挥抗癫痫作用.兄弟.J.药理学.175,2097-2115(2018).

[1168] 76.Alfonsi,E.等人.普罗帕酮对先天性副肌强直的疗效.神经病学68,1080-1081(2007).

[1169] 77.特里普,J.等人.CLCN1和SCN4A的串联分析极大地增强了非营养不良性肌强直家族的突变检测.欧元.J.哼.热内.16,921-929(2008).

[1170] 78.BULBRING,E.对大鼠分离的膈神经隔膜制剂的观察.兄弟.J.药理学.化疗.1,38-61(1946).

[1171] 79.Jurkat-Rott、Karin&Holzherr、Boris&Fauler、Michael&Lehmann-Horn、Frank.(2010).骨骼肌的钠离子通道病是由功能的获得或丧失引起的.Pflügers档案:欧洲生理学杂志.460.239-48.10.1007/s00424-010-0814-4.

[1172] 80.Nachimuthu S,Assar MD,Schussler JM.药物引起的QT间期延长:机制和临床管理.Ther Adv Drug Saf.2012;3(5):241-253.doi:10.1177/2042098612454283.

[1173] 81.Gauret等人(2020)Hydroxychloroquine and阿奇霉素作为COVID-19的治疗:开放标签非随机临床试验的结果.国际抗菌剂杂志.2020年3月20日在线提供,105949.

[1174] 82.Retallack H、Di Lullo E、Arias C、Knopp KA、Laurie MT、Sandoval-Espinosa C等.寨卡病毒在发育中的人脑中的细胞嗜性和阿奇霉素的抑制作用.Proc Natl Acad Sci美国2016年12月13日;113(50):14408-14413.电子版2016年11月29日.

[1175] 83.马德里PB、Panchal RG、Warren TK、Shurtleff AC、Endsley AN、Green CE、Kolokoltsov A等.用于药物再利用的埃博拉病毒抑制剂的评价.ACS感染疾病.2015年7月10日;1(7):317-26.

[1176] 84.Bosseboeuf E、Aubry M、Nhan T、de Pina、JJ、Rolain JM、Raoult D等.阿奇霉素抑制寨卡病毒的复制.J抗病毒药物抗逆转录病毒药物.2018年10(1):6-11.doi:10.4172/1948-5964.1000173.

[1177] 85.Chun-Yu Chen,M.D.,Feng-Lin Wang,M.D.和Chih-Chuan Lin,M.D.慢性羟氯喹使用与QT延长和难治性室性心律失常有关.临床毒理学,44:173-175,2006.

[1178] 86.美国卫生系统药剂师协会对COVID-19相关治疗证据的评估,2020年3月21日更新.

[1179] 87.弗朗谢利·沃洛;法布里西亚·彼得罗尼略;Beatriz Sonai、Cristiane Ritter等人.评估血清细胞因子水平和大麻二酚治疗在哮喘动物模型中的作用.炎症的中介.2015年卷,文章ID 538670,5页.

[1180] 88.Senthil Nachimuthu、Manish D.Assar和Jeffrey M.Schussler.药物引起的QT间期延长:机制和临床管理.药物安全的治疗进展.(2012)3(5)241-253.

[1181] 89.迈克尔·J·A·克曼,M.D.,P H.D.长QT综合征:心脏的离子通道疾病.Mayo CUn Proc 1998;73:250·269.

[1182] 90.R.G.Pertwee,"三种植物大麻素的多样化CB1和CB2受体药理学:delta9-四氢大麻酚、大麻二酚和delta9-四氢大麻素",英国药理学杂志,第153卷,第2期,第199-215页,2008年.

[1183] 91.Bacharier LB,Guilbert TW,Mauger DT,Boehmer S,Beigelman A,Fitzpatrick AM,等人.有此类疾病史的学龄前儿童早期给予阿奇霉素和预防严重的下呼吸道疾病:一项随机临床试验.贾马.2015年11月17日;314(19):2034-2044.

[1184] 92.Jules C.Hancox,博士.阿奇霉素、心血管风险、QTc间期延长、尖端扭转型室速和监管问题:基于病例报告研究的叙述性综述.传染病的治疗进展.(2013)1(5)155-165.

[1185] 93.Fouda MA,Ghovanloo MR,Ruben PC.大麻二酚在心脏电压门控钠通道中防止高葡萄糖诱导的氧化应激和细胞毒性.Br J Pharmacol.2020年2月19日.

[1186] 94.Huang,C.等人.中国武汉市2019新型冠状病毒感染患者的临床特征.柳叶刀395,497-506(2020).

[1187] 95.Abdelsayed M、Peters CH和Ruben PC(2015年).混合综合征心脏钠通道突变体的差异热敏性.生理学杂志593:4201-4223.

[1188] 96.Abdelsayed M、Ruprai M和Ruben PC(2018年).Ranolazine对E1784K的功效因温度和钙而改变.科学报告8:3643.

[1189] 97.Adamo L、Rocha-Resende C、Prabhu SD和Mann DL(2020年).重新评估炎症在心力衰竭中的作用.Nat Rev Cardiol 17:269-285.

[1190] 98.Akin EJ、Higerd GP、Mis MA、Tanaka BS、Adi T、Liu S等.(2019).构建感觉轴突:Na(V)1.7通道的传递和分布以及炎症介质的作用.科学进阶5:eaax4755-eaax4755.

[1191] 99.Aromolaran AS、Chahine M和Boutjdir M(2018年).激酶对心脏电压门控钠通道的调节:蛋白激酶A和C的作用.实验药理学手册246:161-184.

[1192] 100.Astman N、Gutnick MJ和Fleidervish IA(1998).蛋白激酶C的激活通过调节小鼠新皮质切片中持续的Na+电流来增加神经元的兴奋性.神经生理学杂志80:1547-1551.

[1193] 101.巴恩斯议员(2006).Sativex:治疗多发性硬化症和神经性疼痛症状的临床疗效和耐受性.药物治疗专家意见7:607-615.

[1194] 102.Bockus LB和Humphries KM(2015年).cAMP依赖性蛋白激酶(PKA)信号传导在糖尿病心脏中受损.290:29250-29258.

[1195] 103.Climént-Palmer M和Spiegelhalter D(2019年).激素替代疗法和患乳腺癌的风险:女性应该担心多少?后生殖健康25:175-178.

[1196] 104.Cunha JM、Carlini EA、Pereira AE、Ramos OL、Pimentel C、Gagliardi R等.(1980年).对健康志愿者和癫痫患者长期服用大麻二酚.药理学21:175-185.

[1197] 105.Devinsky O、Cross JH、Laux L、Marsh E、Miller I、Nabbout R等.(2017).大麻二酚用于Dravet综合征耐药性癫痫发作的试验.新英格兰医学杂志376:2011-2020.

[1198] 106.艾森胡特M和华莱士H(2011年).炎症中的离子通道.Pflugers档案:欧洲生理

学杂志461:401-421.

[1199] 107.El-Lakany MA、Fouda MA、El-Gowelli HM、El-Gowilly SM和El-Mas MM(2018年).性腺激素受体是雌性大鼠抵抗内毒素血症炎症和心血管并发症的基础.欧洲药理学杂志823:41-48.

[1200] 108.El-Lakany MA、Fouda MA、El-Gowelli HM和El-Mas MM(2020年).卵巢切除术引起大鼠内毒素血症的炎症和心血管效应:激素补充剂的不同益处.毒理学和应用药理学393:114928.

[1201] 109.Fouda MA、Leffler KE和Abdel-Rahman AA(2020).对糖尿病引起的心脏自主神经失调的雌激素依赖性超敏反应:下丘脑神经炎症的作用.生命科学250:117598.

[1202] 110.Franceschetti S、Taverna S、Sancini G、Panzica F、Lombardi R和Avanzini G(2000).Na+电流的蛋白激酶C依赖性调节增加了大鼠新皮质锥体神经元的兴奋性.生理学杂志528Pt 2:291-304.

[1203] 111.Ghovanloo MR、Abdelsayed M和Ruben PC(2016年).胺碘酮和N-去乙基胺碘酮对心脏电压门控钠通道的影响.药理学前沿7:39.

[1204] 112.Ghovanloo MR、Shuart NG、Mezeyova J、Dean RA、Ruben PC和Goodchild SJ(2018年).大麻二酚对电压依赖性钠电流的抑制作用.生物化学杂志293:16546-16558.

[1205] 113.戈尔丁AL(2003).钠通道失活的机制.神经生物学的当前观点13:284-290.

[1206] 114.洛杉矶格里桑蒂(2018).糖尿病和心律失常:病理生理学、机制和治疗结果.生理学前沿9:1669.

[1207] 115.Gu Q、Kwong K和Lee LY(2003年).迷走神经感觉神经元中PGE2增强了化学刺激诱发的Ca2+瞬态:cAMP/PKA信号通路的作用.神经生理学杂志89:1985-1993.

[1208] 116.Hallaq H、Wang DW、Kunic JD、George AL,Jr.、Wells KS和Murray KT(2012年).蛋白激酶C的激活改变了心脏Na+通道的细胞内分布和流动性.美国生理学杂志心脏和循环生理学302:H782-789.

[1209] 117.Iorga A、Cunningham CM、Moazeni S、Ruffenach G、Umar S和Eghbali M(2017年).雌激素和雌激素受体在心血管疾病中的保护作用以及雌激素治疗的争议性使用.性别差异生物学8:33.

[1210] 118.Iqbal SM和Lemmens-Gruber R(2019).心脏电压门控钠通道的磷酸化:具有多个维度的潜在参与者.生理学学报(牛津,英国)225:e13210.

[1211] 119.Izzo AA、Borrelli F、Capasso R、Di Marzo V和Mechoulam R(2009).非精神性植物大麻素:一种古老草药的新治疗机会.药理科学趋势30:515-527.

[1212] 120.卡琳M(2005).炎症激活蛋白激酶作为药物开发的靶标.美国胸科学会会刊2:386-390;讨论394-385.

[1213] 121.Koya D和King GL(1998年).蛋白激酶C激活和糖尿病并发症的发展.糖尿病47:859-866.

[1214] 122.Lazzerini PE、Capecchi PL和Laghi-Pasini F(2015).长QT综合征:炎症和免疫的新兴作用.心血管医学前沿2:26.

[1215] 123.Matheus AS、Tannus LR、Cobas RA、Palma CC、Negrato CA和Gomes MB(2013年).糖尿病对心血管疾病的影响:更新.国际高血压杂志2013:653789.

[1216] 124.Mize AL、Shapiro RA和Dorsa DM(2003).雌激素受体介导的氧化应激神经保护需要激活丝裂原活化蛋白激酶途径.内分泌学144:306-312.

[1217] 125.MöllerC和Netzer R(2006).雌二醇对心脏离子通道电流的影响.欧洲药理学杂志532:44-49.

[1218] 126.Moxley G、Stern AG、Carlson P、Estrada E、Han J和Benson LL(2004年).脂多糖刺激肿瘤坏死因子产生和分泌的绝经前性别二态性.风湿病学杂志31:686-694.

[1219] 127.Murphy AJ、Guyre PM和Pioli PA(2010年).雌二醇通过协调调节原代人巨噬细胞中的let-7a和miR-125b来抑制NF-kappa B的活化.免疫学杂志(巴尔的摩,马里兰州:1950)184:5029-5037.

[1220] 128.Nachimuthu S、Assar MD和Schussler JM(2012年).药物引起的QT间期延长:机制和临床管理.药物安全性的治疗进展3:241-253.

[1221] 129.尼科尔斯JM和卡普兰BLF(2020年).大麻二酚调节的免疫反应.大麻大麻素水库5:12-31.

[1222] 130.O'Hara T、Virag L、Varro A和Rudy Y(2011).模拟未患病的人心脏心室动作电位:模型制定和实验验证.PLoS计算生物学7:e1002061.

[1223] 131.Odening KE和Koren G(2014).性激素如何改变长QT综合征的心律失常发生?性激素对致心律失常底物和触发活动的影响.心律11:2107-2115.

[1224] 132.Ono K、Fozzard HA和Hanck DA(1993).cAMP依赖性调节心脏钠通道电流动力学的机制.流通研究72:807-815.

[1225] 133.Pistrosch F、Natali A和Hanefeld M(2011年).高血糖是心血管危险因素吗?糖尿病护理34增刊2:S128-131.

[1226] 134.Ruan Y,Liu N,&Priori SG(2009).钠通道突变和心律失常.自然评论心脏病学6:337-348.

[1227] 135.Seltzer ES、Watters AK和MacKenzie D,Jr.(2020年).大麻二酚(CBD)作为一种有前途的抗癌药物.癌症12(11)E3203.

[1228] 136.Shimizu W和Antzelevitch C(1999).长QT间期的细胞基础、复极化的透壁离散和长QT间期综合征中的尖端扭转型室速.心电学杂志32增刊:177-184.

[1229] 137.Shryock JC、Song Y、Rajamani S、Antzelevitch C和Belardinelli L(2013年).心肌细胞中晚期INa增加的致心律失常后果.心血管研究99:600-611.

[1230] 138.Tateyama M、Rivolta I、Clancy CE和Kass RS(2003).疾病相关突变可以改变蛋白激酶A对心脏钠通道门控的调节.生物化学杂志278:46718-46726.

[1231] 139.Tsalamandris S、Antonopoulos AS、Oikonomou E、Papamikroulis GA、Vogiatzi G、Papaioannou S等.(2019).炎症在糖尿病中的作用:当前概念和未来展望.欧洲心脏病学14:50-59.

[1232] 140.Ukpabi OJ和Onwubere BJ(2017).患有心脏自主神经病变的黑人糖尿病患者的QTc延长.非洲健康科学17:1092-1100.

[1233] 141.Viviani B、Corsini E、Binaglia M、Lucchi L、Galli CL和Marinovich M(2002年).雌激素在胶质细胞中的抗炎活性受PKC锚定蛋白RACK-1的调节.神经化学杂志83:1180-1187.

[1234] 142.王Q、曹J、胡F、卢R、王J、丁H,等.(2013).雌二醇对小鼠背根神经节神经元电压门控钠通道的影响.大脑研究1512:1-8.

[1235] 143.Wang Q、Shen J、Splawski I、Atkinson D、Li Z、Robinson JL等.(1995年).SCN5A突变与遗传性心律失常、长QT综合征相关.单元格80:805-811.

[1236] 145.Wang Y、Garro M和Kuehl-Kovarik MC(2010年).雌二醇减弱分离的促性腺激素释放激素神经元中的多种河豚毒素敏感钠电流.大脑研究1345:137-145.

[1237] 146.Ward CA、Bazzazi H、Clark RB、Nygren A和Giles WR(2006).迁移的中性粒细胞对大鼠心室肌细胞中Na(+)和K(+)电流的作用.生物物理学与分子生物学进展90:249-269.

[1238] 147.West JW、Patton DE、Scheuer T、Wang Y、Goldin AL和Catterall WA(1992年).快速Na(+)通道失活所需的疏水性氨基酸残基簇.美国国家科学院院刊89:10910-10914.

[1239] 148.Whitsel EA、Boyko EJ、Rautaharju PM、Raghunathan TE、Lin D、Pearce RM等.(2005年).心电图QT间期延长和糖尿病患者原发性心脏骤停的风险.糖尿病护理28:2045-2047.

[1240] 149.Xu Y,Lin J,Wang S,Xiong J,&Zhu Q(2014).联合雌激素替代疗法对绝经后糖尿病妇女代谢控制的影响.高雄医学杂志30:350-361.

[1241] 150.Warner B.,Hoffmann P.(2002).研究氯氮平引起尖端扭转型室速的可能性.药物不良反应.毒理学.修订版21,189-203.

[1242] 151.Zequn Z、Yujia W、Dingding Q、Jiangfang L.在COVID-19中超说明书使用氯喹、羟氯喹、阿奇霉素和洛匹那韦/利托那韦可能会通过靶向hERG通道来延长QT间期.欧洲药理学杂志.2021;893:173813.doi:10.1016/j.ejphar.2020.173813.

[1243] 152.Kuryshev YA、Bruening-Wright A、Brown AM、Kirsch GE.伴随美沙酮和地西泮治疗增加心脏风险:心脏离子通道中的药效学相互作用.J心血管药理学.2010年10月;56(4):420-30.

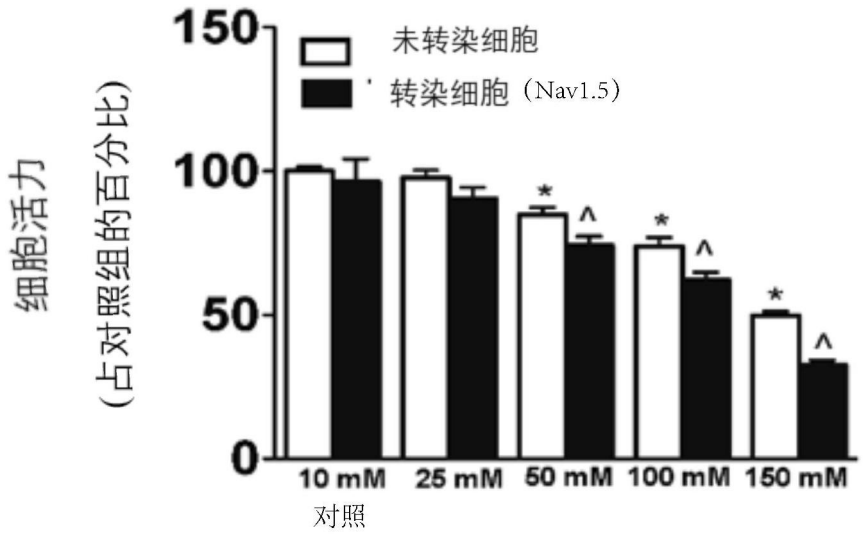

150
100
50
0
细胞活力
(占对照组的百分比)
未转染细胞
转染细胞（Nav1.5）
*
^
10 mM
25 mM
50 mM
100 mM
150 mM
对照

图1A

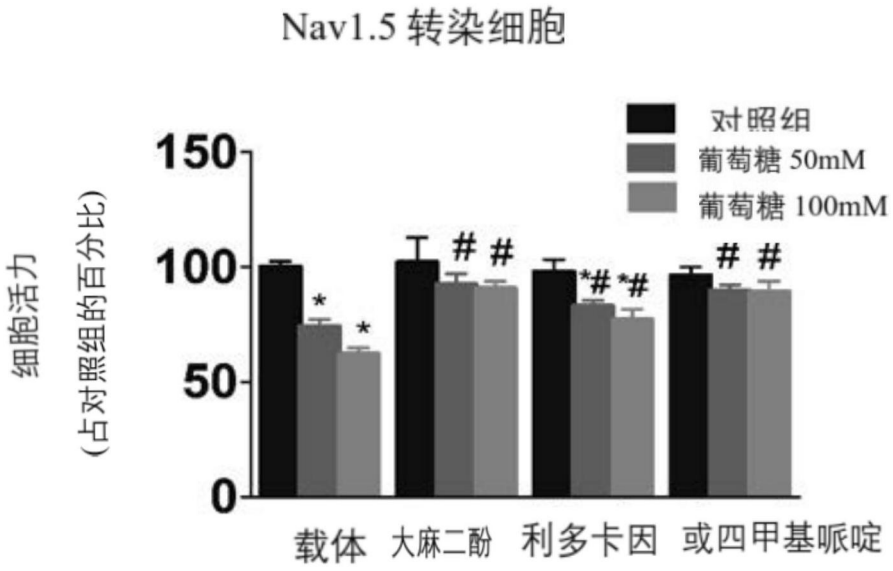

Nav1.5 转染细胞
对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM
150
100
50
0
细胞活力
(占对照组的百分比)
*
#
载体
大麻二酚
利多卡因
或四甲基哌啶

图1B

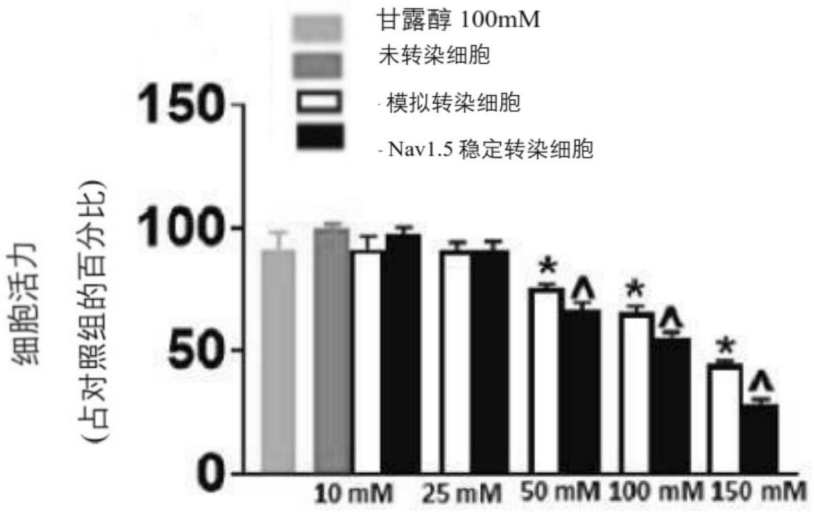


图1C

转染细胞（Nav1.5）

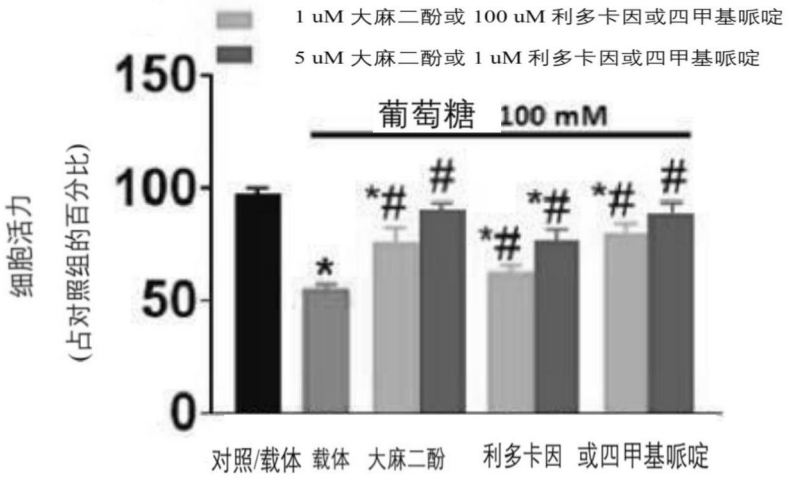


图1D

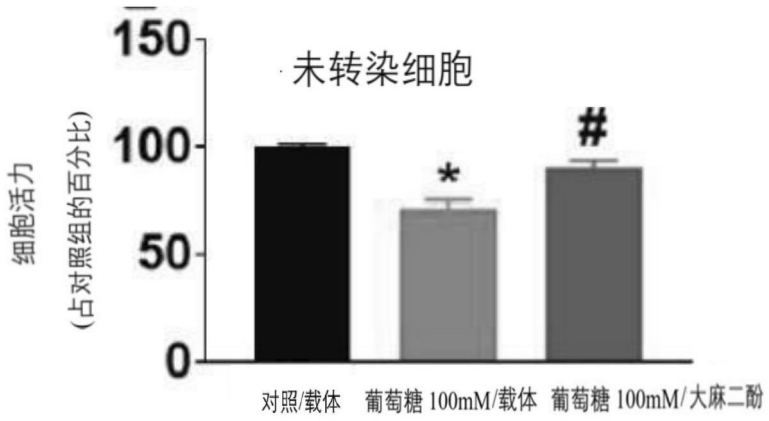

未转染细胞
细胞活力
(占对照组的百分比)
150
100
50
0
*
#
对照/载体
葡萄糖 100mM/载体
葡萄糖 100mM/大麻二酚

图1E

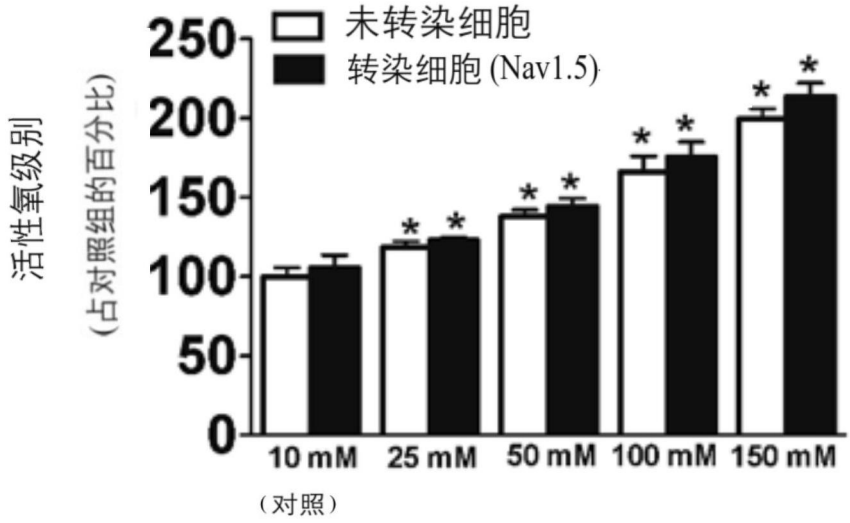

未转染细胞
转染细胞 (Nav1.5)
活性氧级别
(占对照组的百分比)
250
200
150
100
50
0
10 mM
25 mM
50 mM
100 mM
150 mM
(对照)

图2A

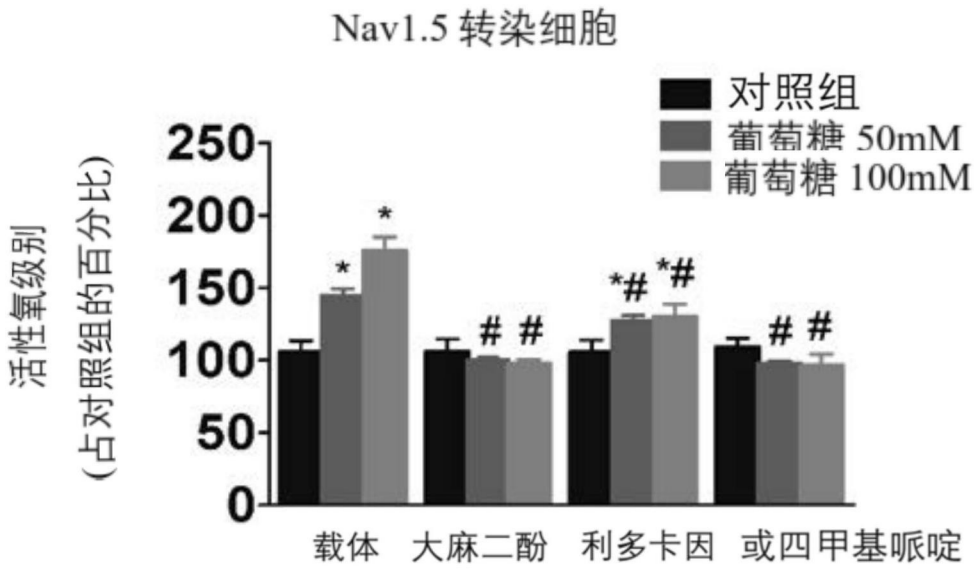

Nav1.5 转染细胞
对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM
活性氧级别
(占对照组的百分比)
250
200
150
100
50
0
载体
大麻二酚
利多卡因
或四甲基哌啶

图2B

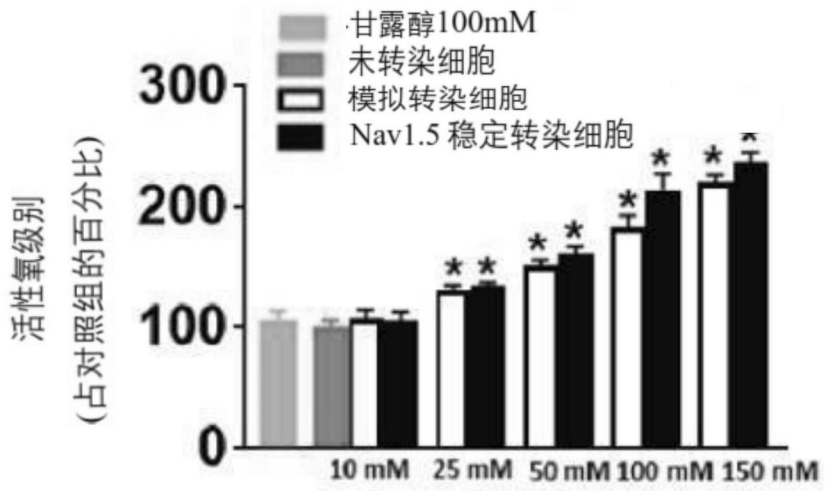

甘露醇100mM
未转染细胞
模拟转染细胞
Nav1.5 稳定转染细胞
活性氧级别
(占对照组的百分比)
300
200
100
0
10 mM
25 mM
50 mM
100 mM
150 mM

图2C

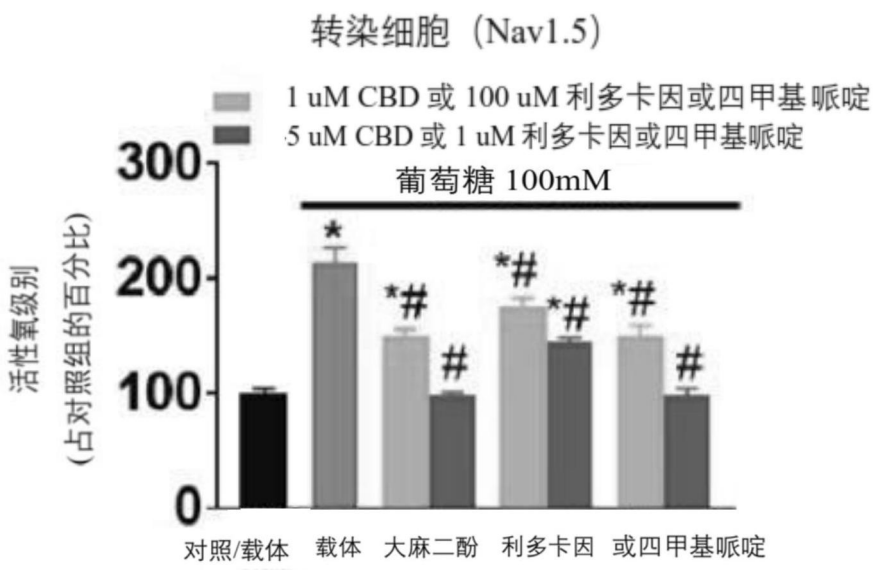

转染细胞（Nav1.5）
1 uM CBD 或 100 uM 利多卡因或四甲基哌啶
5 uM CBD 或 1 uM 利多卡因或四甲基哌啶
葡萄糖 100mM
活性氧级别
(占对照组的百分比)
300
200
100
0
对照/载体
载体
大麻二酚
利多卡因
或四甲基哌啶

图2D

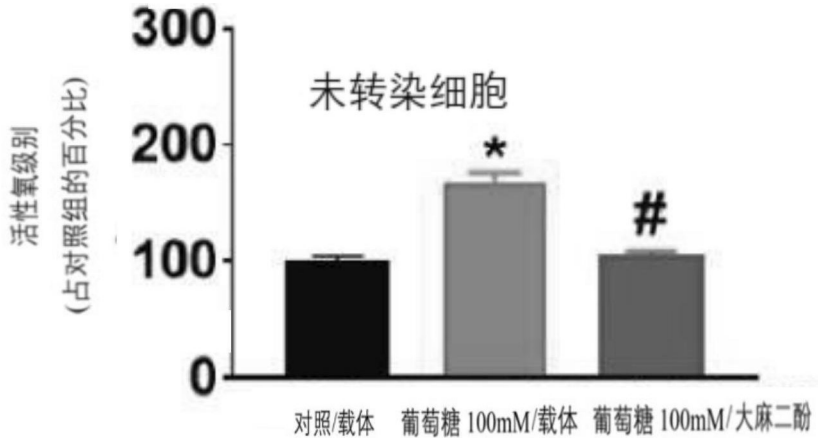

未转染细胞
活性氧级别
(占对照组的百分比)
300
200
100
0
对照/载体
葡萄糖 100mM/载体
葡萄糖 100mM/大麻二酚

图2E

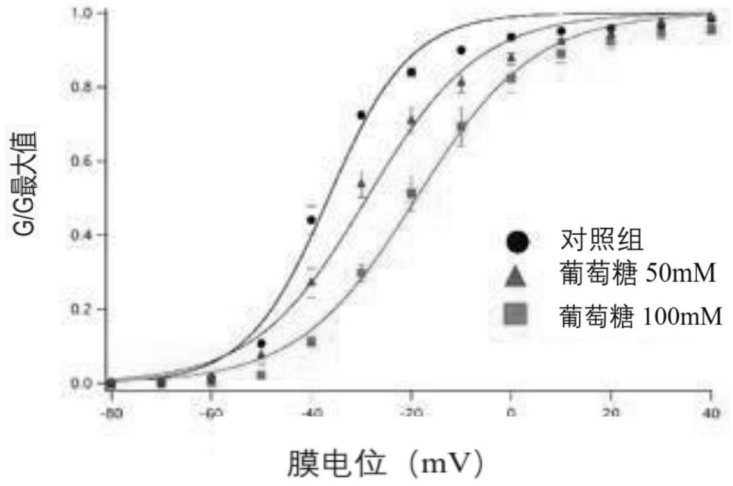

G/G最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-80
-60
-40
-20
0
20
40
膜电位（mV）
对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM

图3A

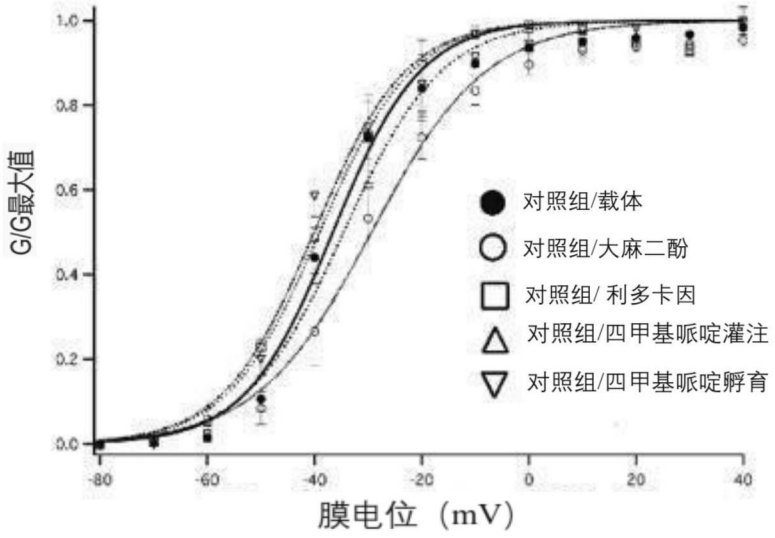

G/G最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-80
-60
-40
-20
0
20
40
膜电位（mV）
对照组/载体
对照组/大麻二酚
对照组/ 利多卡因
对照组/四甲基哌啶灌注
对照组/四甲基哌啶孵育

图3B

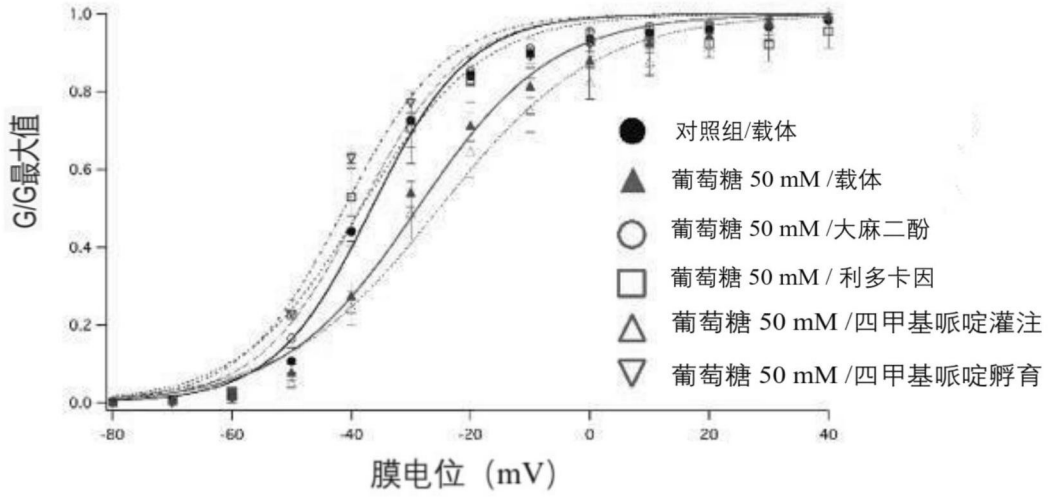

G/G最大值
膜电位（mV）
对照组/载体
葡萄糖 50 mM /载体
葡萄糖 50 mM /大麻二酚
葡萄糖 50 mM / 利多卡因
葡萄糖 50 mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 50 mM /四甲基哌啶孵育

图3C

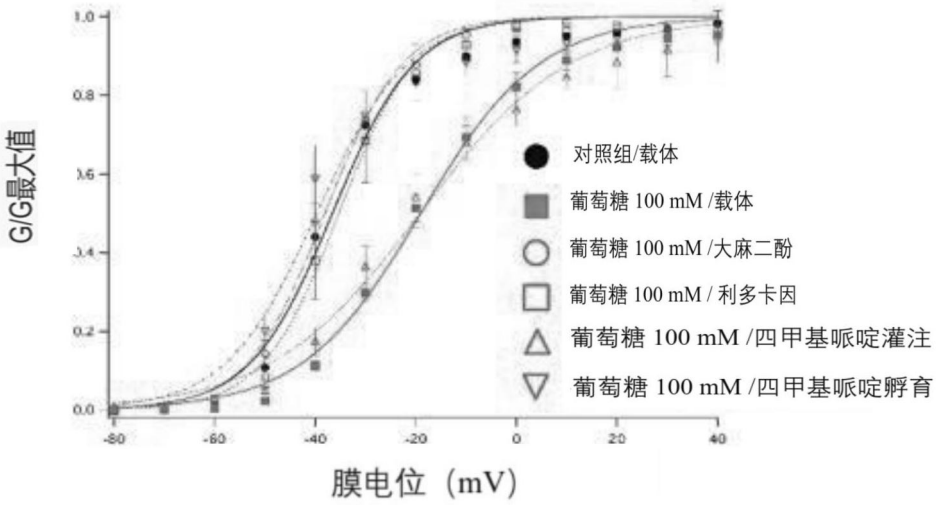

G/G最大值
膜电位（mV）
对照组/载体
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM /大麻二酚
葡萄糖 100 mM / 利多卡因
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶孵育

图3D

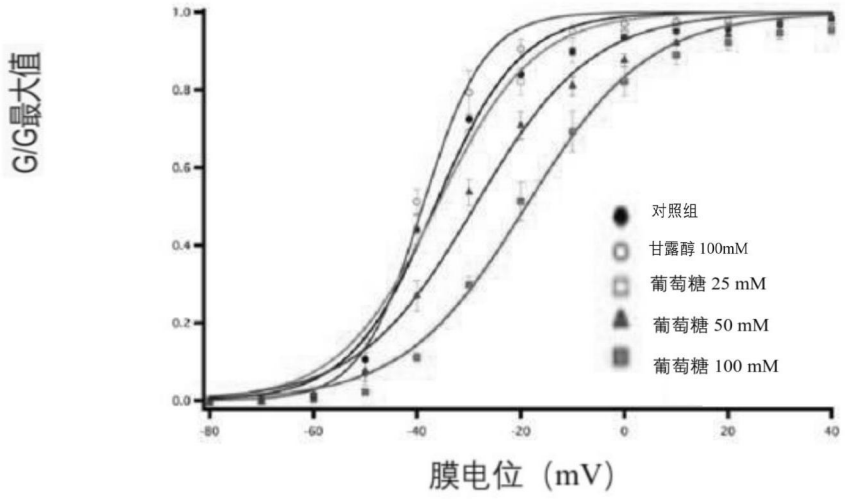

G/G最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-80
-60
-40
-20
0
20
40
膜电位（mV）
对照组
甘露醇 100mM
葡萄糖 25 mM
葡萄糖 50 mM
葡萄糖 100 mM

图3E

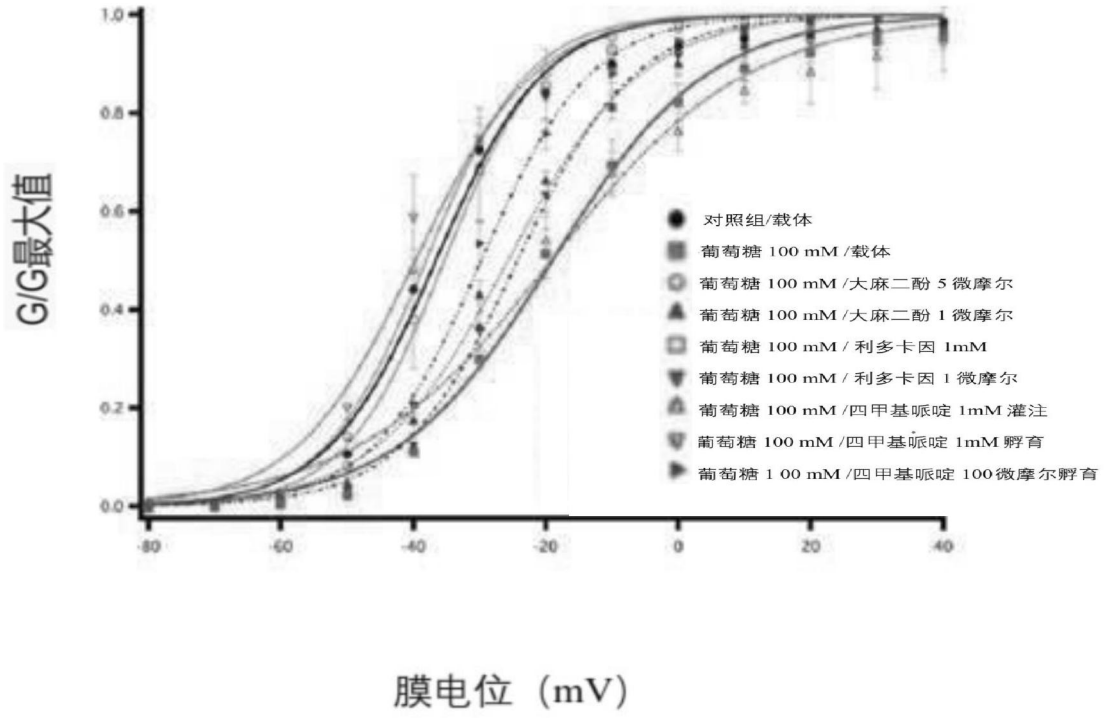

G/G最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-80
-60
-40
-20
0
20
40
膜电位（mV）
对照组/载体
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 5 微摩尔
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 1 微摩尔
葡萄糖 100 mM / 利多卡因 1mM
葡萄糖 100 mM / 利多卡因 1 微摩尔
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM 灌注
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM 孵育
葡萄糖 1 00 mM /四甲基哌啶 100微摩尔孵育

图3F

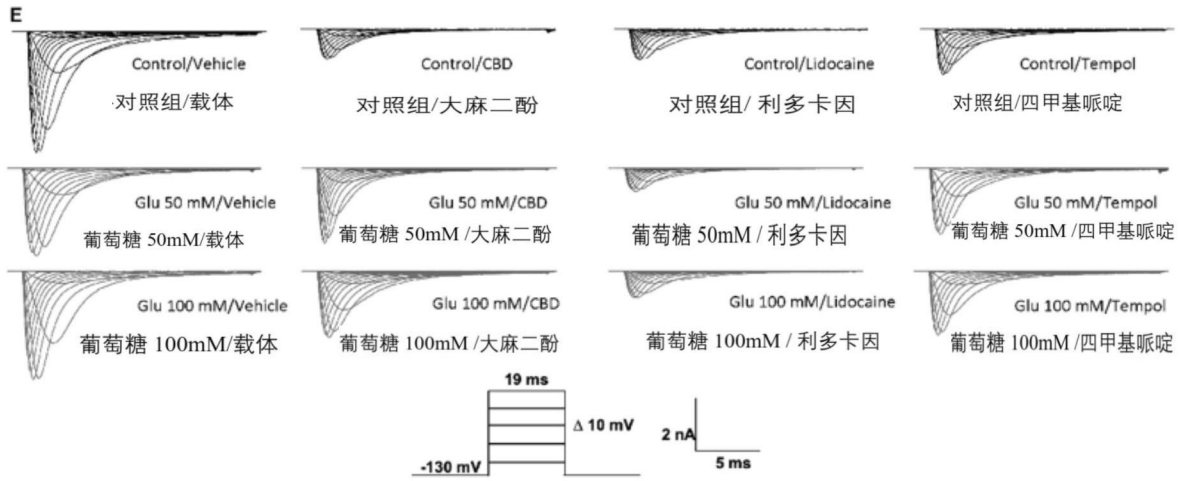

E
Control/Vehicle
对照组/载体
Control/CBD
对照组/大麻二酚
Control/Lidocaine
对照组/ 利多卡因
Control/Tempol
对照组/四甲基哌啶
Glu 50 mM/Vehicle
葡萄糖 50mM/载体
Glu 50 mM/CBD
葡萄糖 50mM /大麻二酚
Glu 50 mM/Lidocaine
葡萄糖 50mM / 利多卡因
Glu 50 mM/Tempol
葡萄糖 50mM /四甲基哌啶
Glu 100 mM/Vehicle
葡萄糖 100mM/载体
Glu 100 mM/CBD
葡萄糖 100mM /大麻二酚
Glu 100 mM/Lidocaine
葡萄糖 100mM / 利多卡因
Glu 100 mM/Tempol
葡萄糖 100mM /四甲基哌啶
19 ms
Δ 10 mV
2 nA
-130 mV
5 ms

图3G

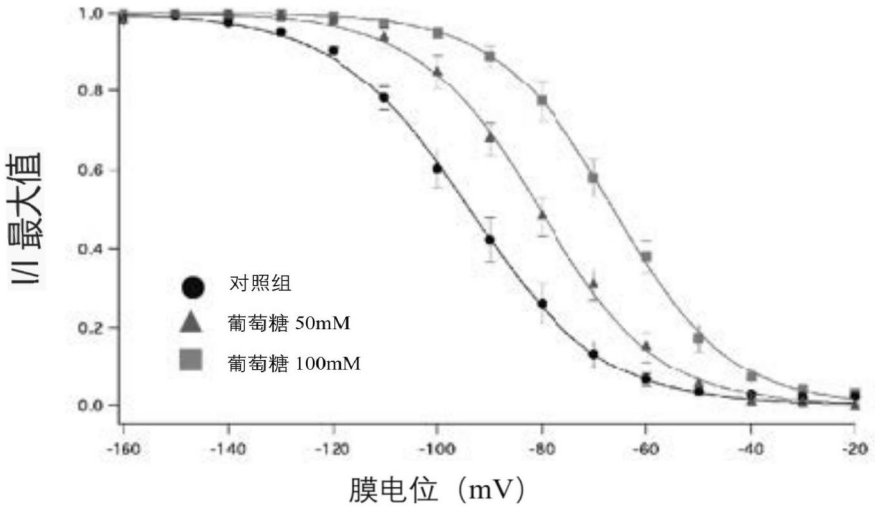

I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）
对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM

图4A

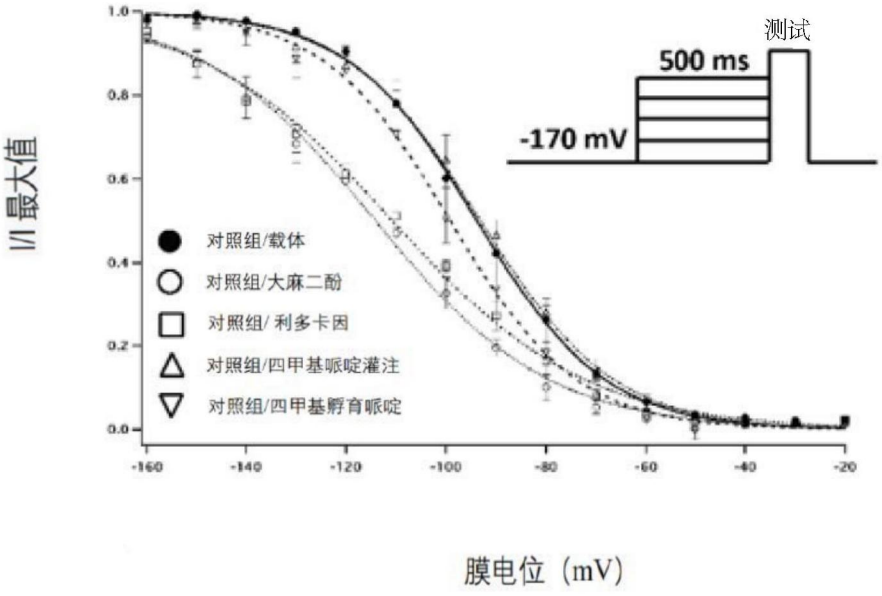

测试
500 ms
-170 mV
I/I 最大值
对照组/载体
对照组/大麻二酚
对照组/ 利多卡因
对照组/四甲基哌啶灌注
对照组/四甲基孵育哌啶
膜电位（mV）

图4B

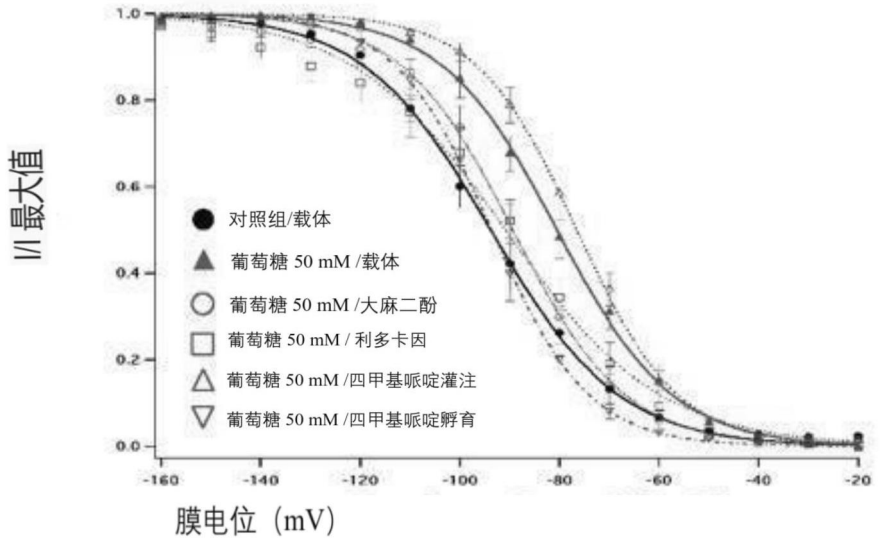

I/I 最大值
对照组/载体
葡萄糖 50 mM /载体
葡萄糖 50 mM /大麻二酚
葡萄糖 50 mM / 利多卡因
葡萄糖 50 mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 50 mM /四甲基哌啶孵育
膜电位（mV）

图4C

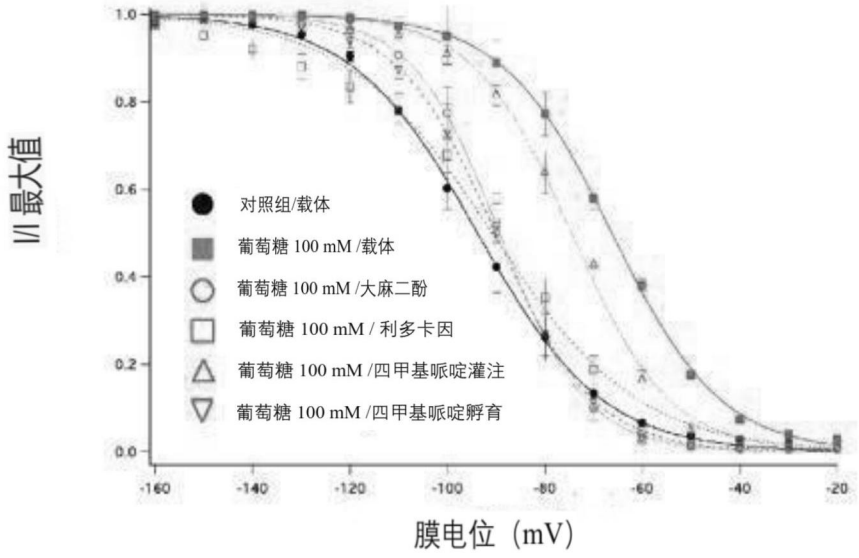

I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）
对照组/载体
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM /大麻二酚
葡萄糖 100 mM / 利多卡因
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶孵育

图4D

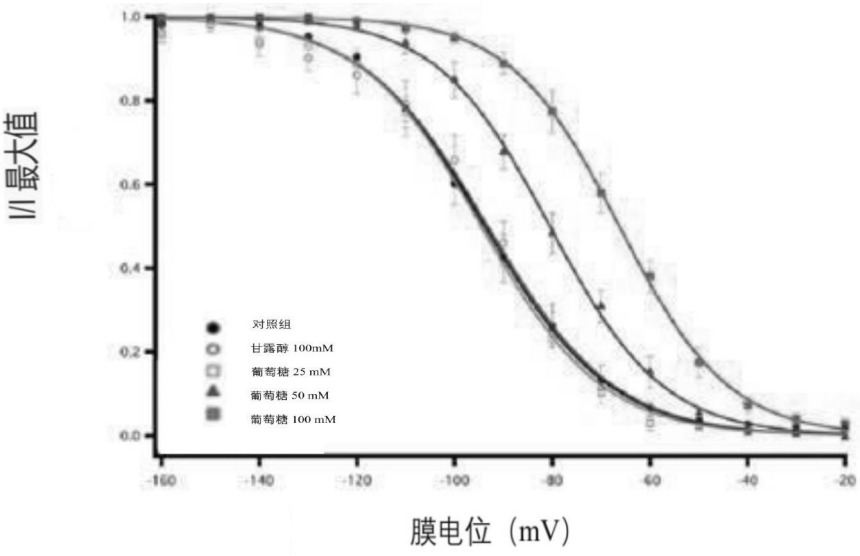

I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）
对照组
甘露醇 100mM
葡萄糖 25 mM
葡萄糖 50 mM
葡萄糖 100 mM

图4E

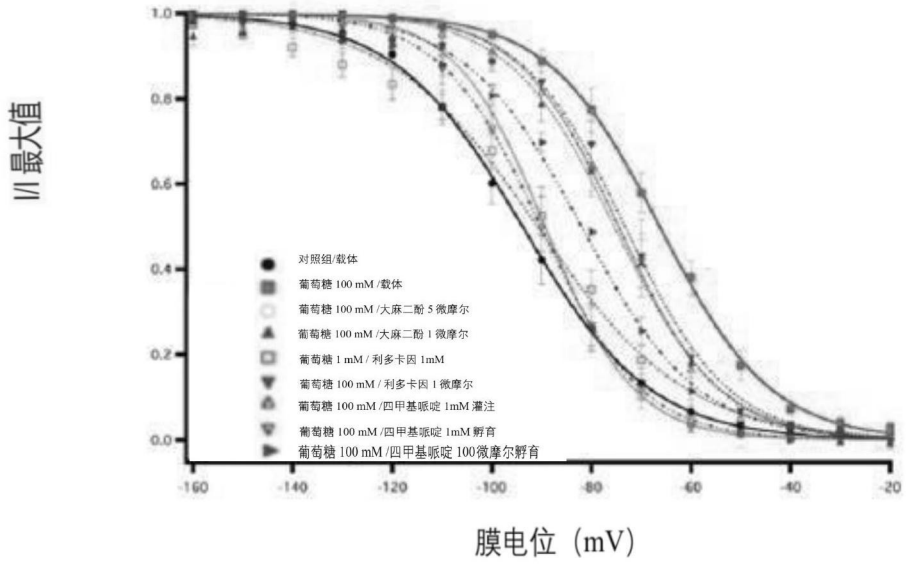

I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
对照组/载体
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 5 微摩尔
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 1 微摩尔
葡萄糖 1 mM / 利多卡因 1mM
葡萄糖 100 mM / 利多卡因 1 微摩尔
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM 灌注
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM 孵育
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 100微摩尔孵育
膜电位（mV）

图4F

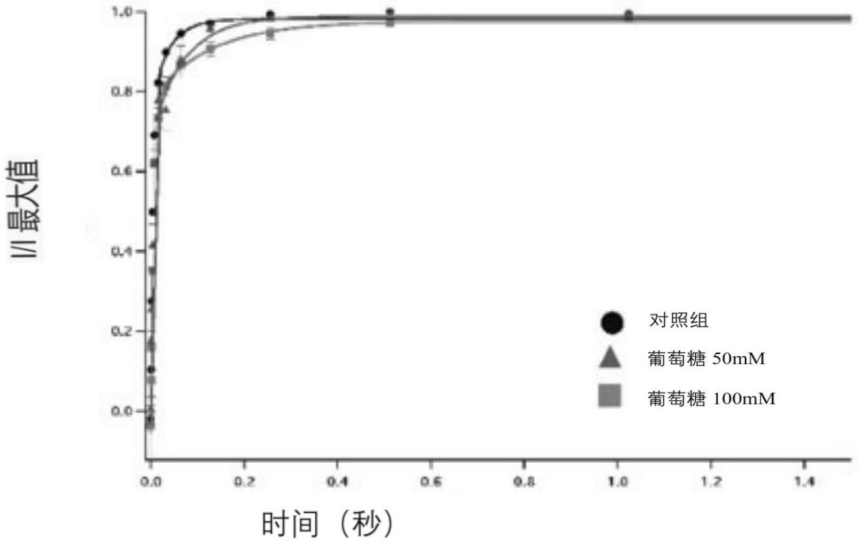

I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM
时间（秒）

图5A

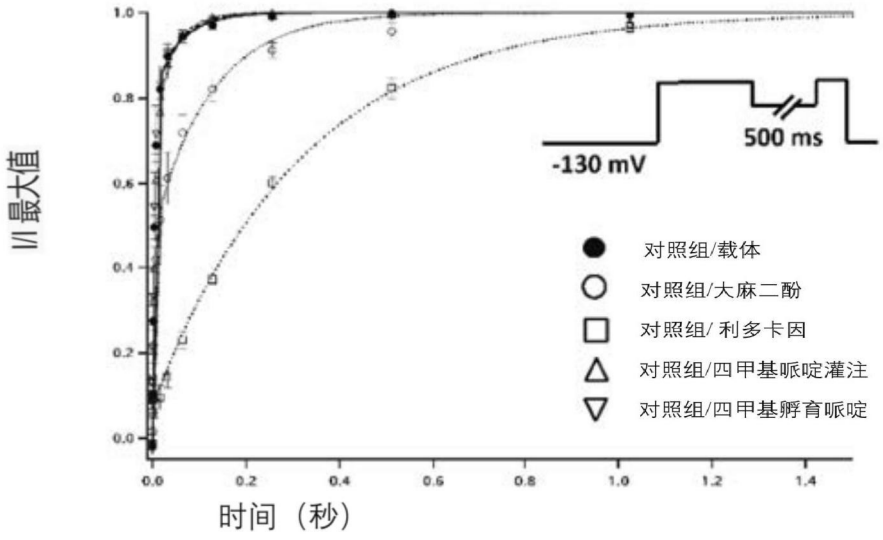

I/I 最大值
时间（秒）
500 ms
-130 mV
对照组/载体
对照组/大麻二酚
对照组/ 利多卡因
对照组/四甲基哌啶灌注
对照组/四甲基孵育哌啶

图5B

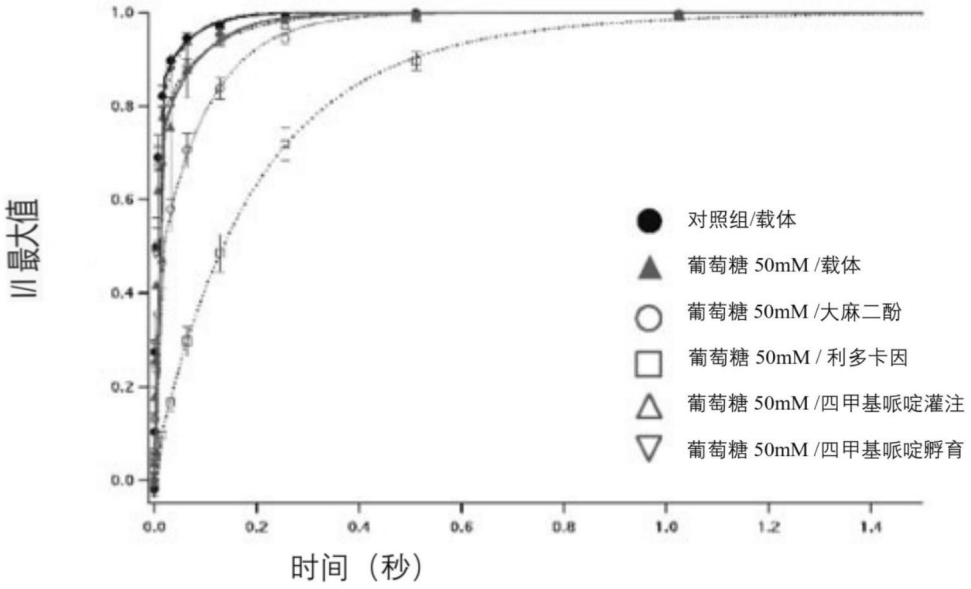

I/I 最大值
时间（秒）
对照组/载体
葡萄糖 50mM /载体
葡萄糖 50mM /大麻二酚
葡萄糖 50mM / 利多卡因
葡萄糖 50mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 50mM /四甲基哌啶孵育

图5C

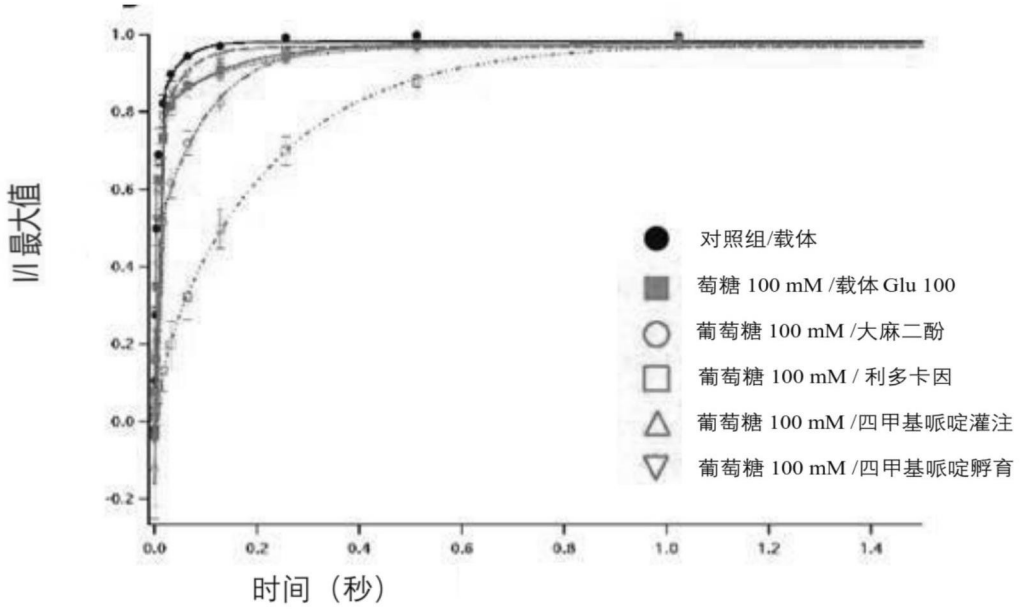

I/I最大值
时间（秒）
对照组/载体
葡萄糖 100 mM /载体 Glu 100
葡萄糖 100 mM /大麻二酚
葡萄糖 100 mM / 利多卡因
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶孵育

图5D

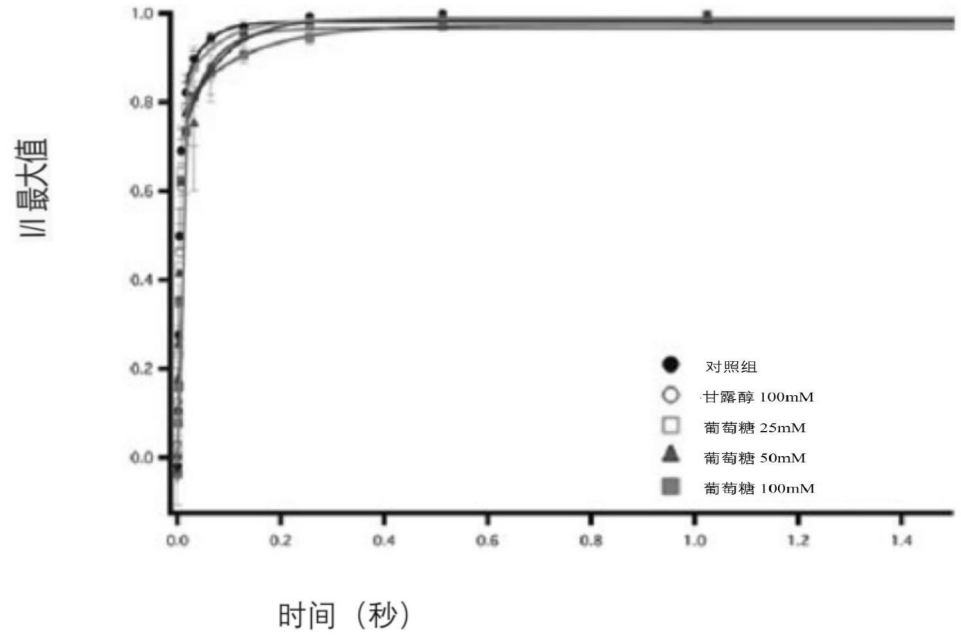

I/I最大值
时间（秒）
对照组
甘露醇 100mM
葡萄糖 25mM
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM

图5E

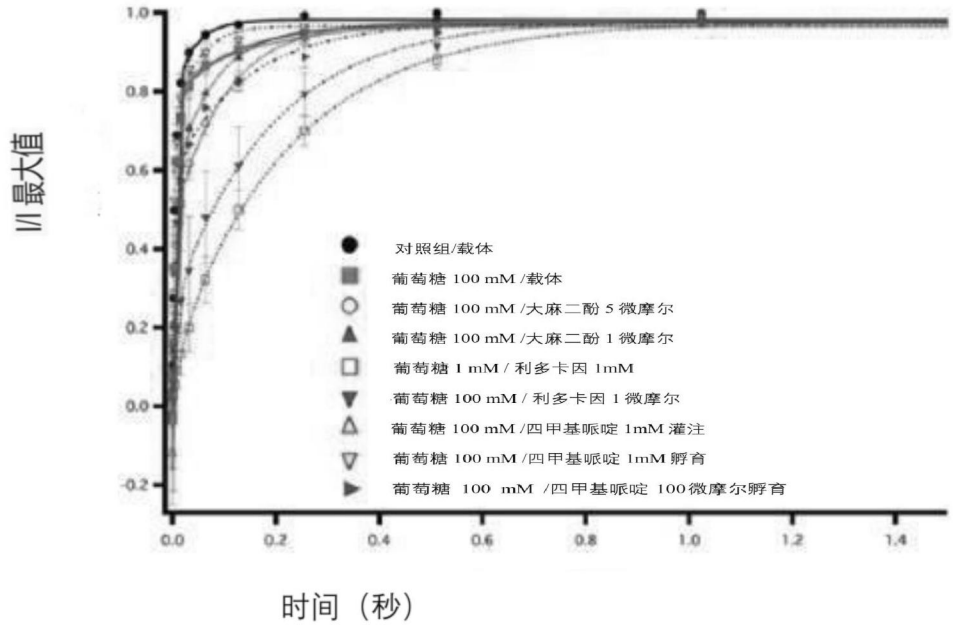

I/I 最大值
时间（秒）
对照组/载体
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 5 微摩尔
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 1 微摩尔
葡萄糖 1 mM / 利多卡因 1mM
葡萄糖 100 mM / 利多卡因 1 微摩尔
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM 灌注
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM 孵育
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 100微摩尔孵育

图5F

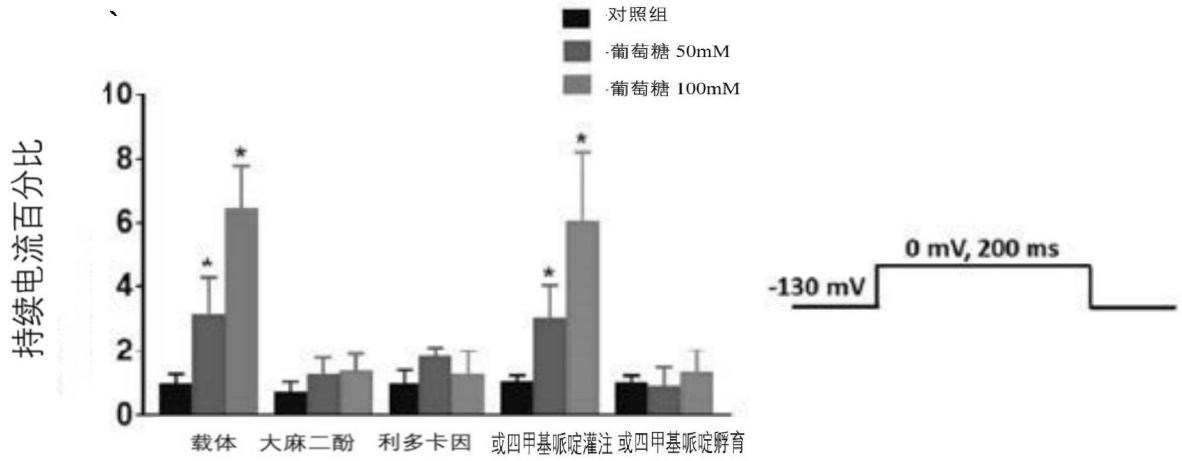

对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM
持续电流百分比
载体
大麻二酚
利多卡因
或四甲基哌啶灌注
或四甲基哌啶孵育
0 mV, 200 ms
-130 mV

图6A

电流幅度
对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM
电流幅度
葡萄糖 50mM/载体
葡萄糖 50mM /大麻二酚
葡萄糖 50mM / 利多卡因
葡萄糖 50mM /四甲基哌啶
电流幅度
葡萄糖 100mM/载体
葡萄糖 100mM /大麻二酚
葡萄糖 100mM / 利多卡因
葡萄糖 100mM /四甲基哌啶

图6B

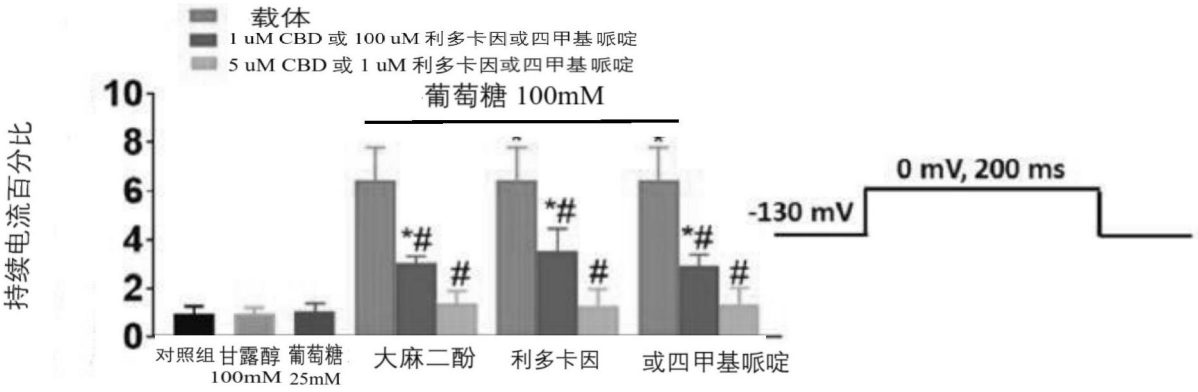

载体
1 uM CBD 或 100 uM 利多卡因或四甲基哌啶
5 uM CBD 或 1 uM 利多卡因或四甲基哌啶
葡萄糖 100mM
持续电流百分比
10
8
6
4
2
0
*#
#
0 mV, 200 ms
-130 mV
对照组
甘露醇 100mM
葡萄糖 25mM
大麻二酚
利多卡因
或四甲基哌啶

图6C

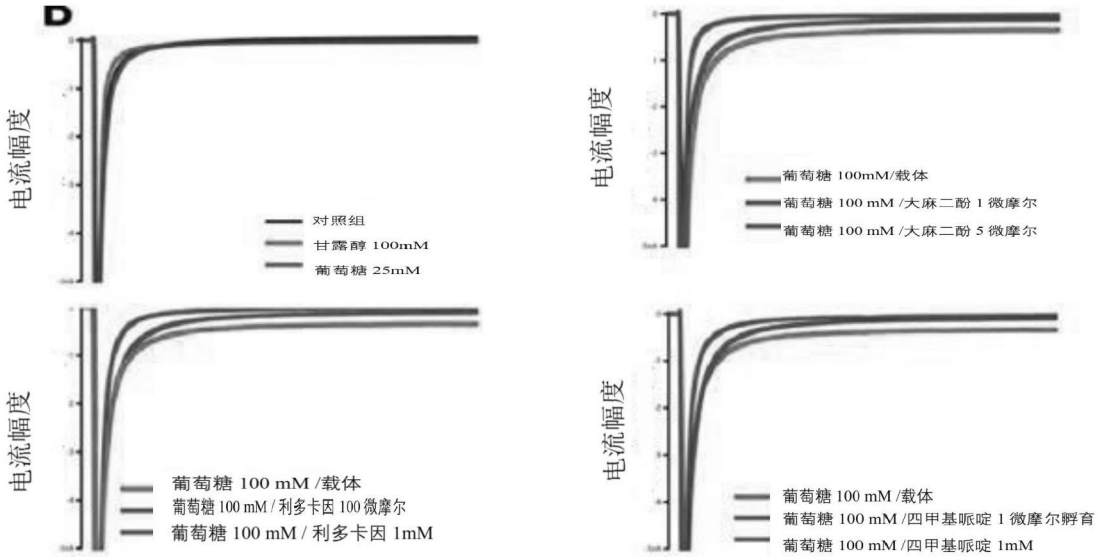

D
电流幅度
对照组
甘露醇 100mM
葡萄糖 25mM
葡萄糖 100mM/载体
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 1 微摩尔
葡萄糖 100 mM /大麻二酚 5 微摩尔
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM / 利多卡因 100 微摩尔
葡萄糖 100 mM / 利多卡因 1mM
葡萄糖 100 mM /载体
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1 微摩尔孵育
葡萄糖 100 mM /四甲基哌啶 1mM

图6D

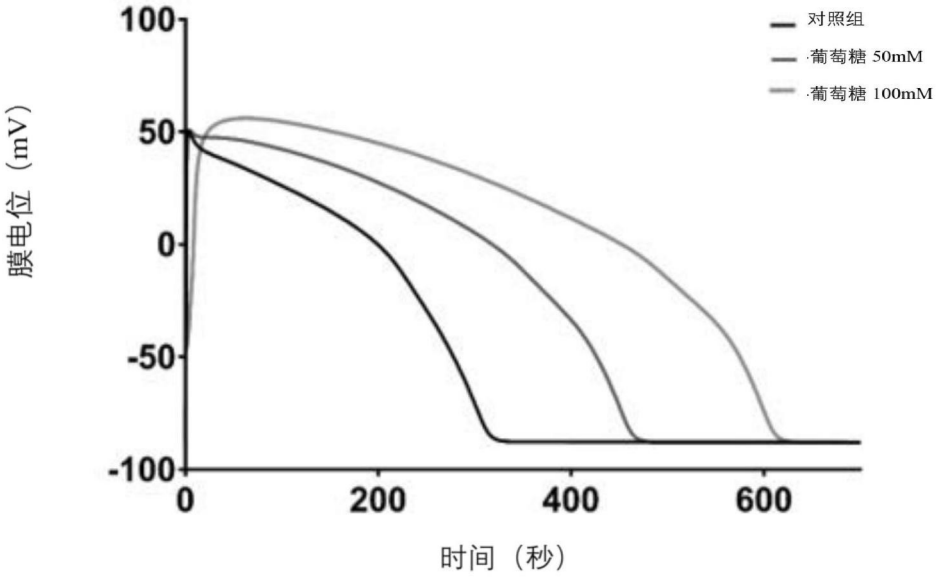

对照组
葡萄糖 50mM
葡萄糖 100mM
膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0
200
400
600
时间（秒）

图7A

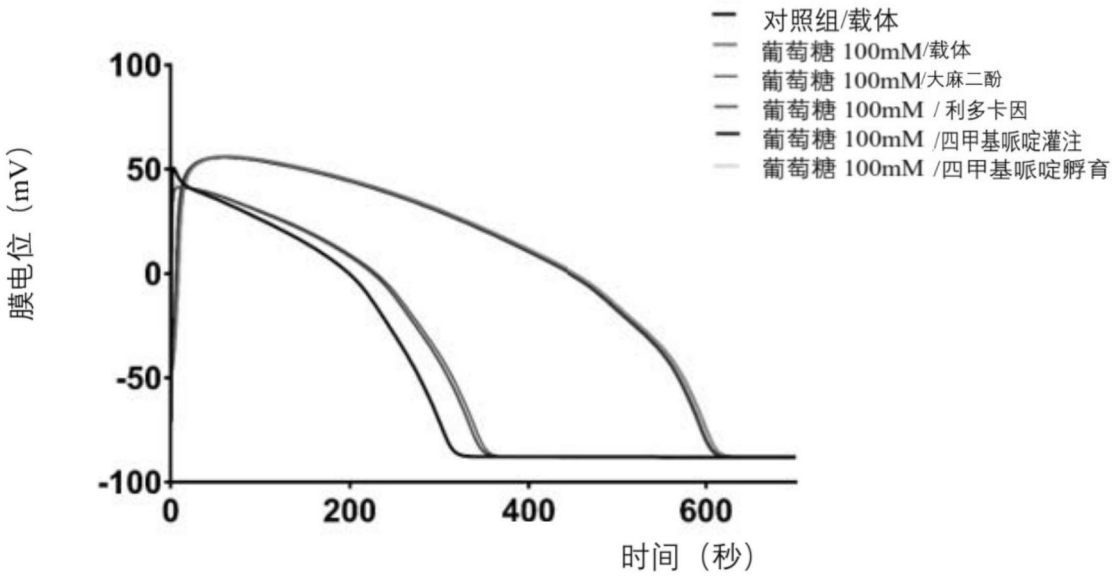

对照组/载体
葡萄糖 100mM/载体
葡萄糖 100mM/大麻二酚
葡萄糖 100mM / 利多卡因
葡萄糖 100mM /四甲基哌啶灌注
葡萄糖 100mM /四甲基哌啶孵育
膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0
200
400
600
时间（秒）

图7B

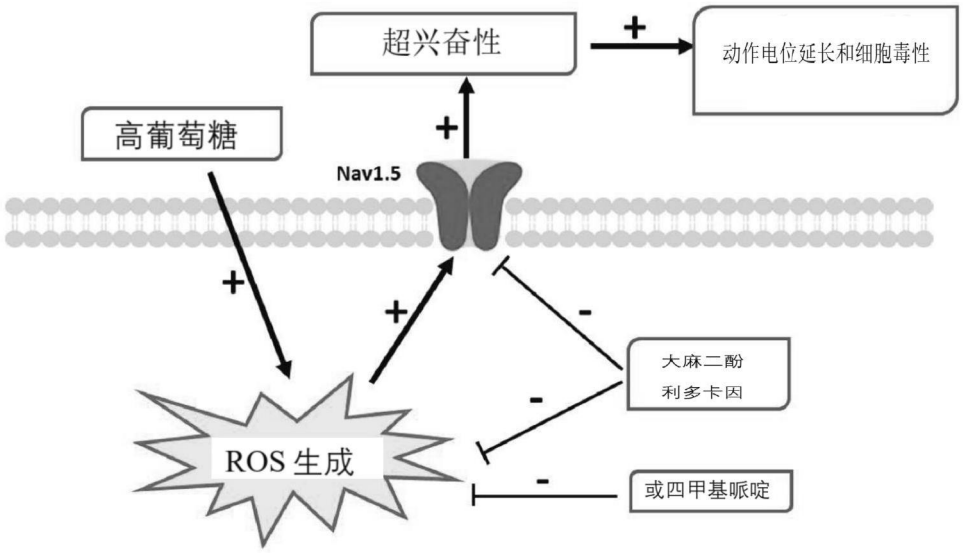


图8

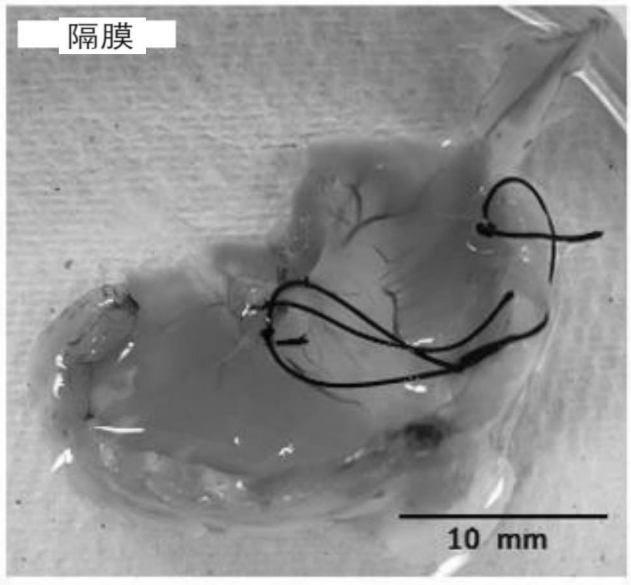


图9A

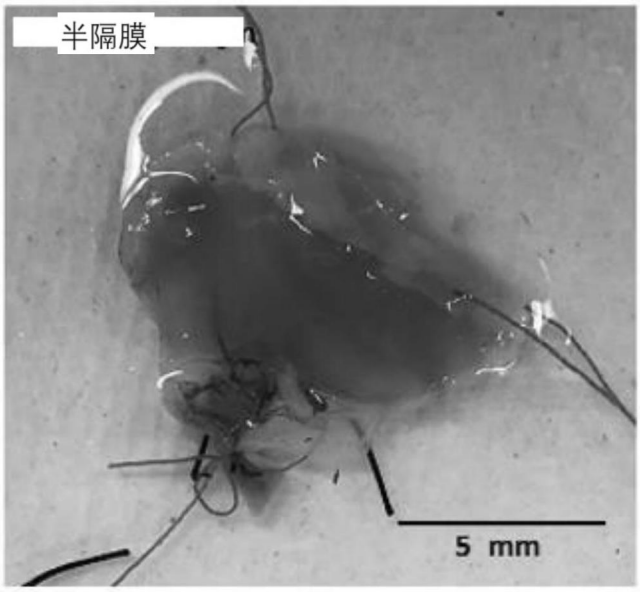

半隔膜
5 mm

图9B

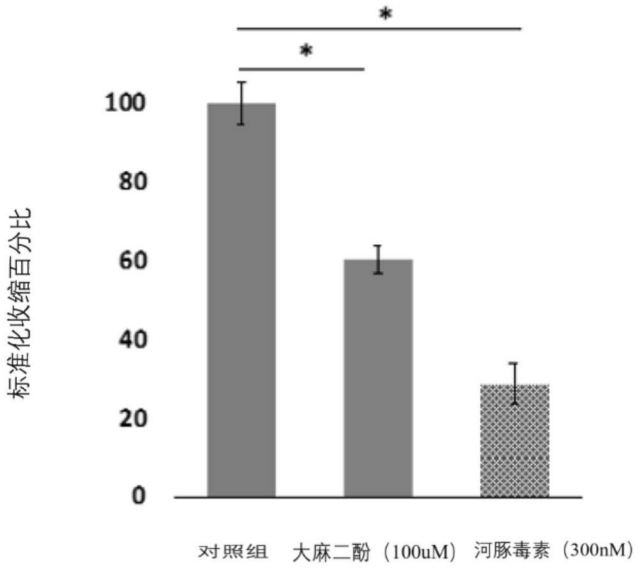

*
*
100
80
60
40
20
0
标准化收缩百分比
对照组
大麻二酚（100uM）
河豚毒素（300nM）

图9C

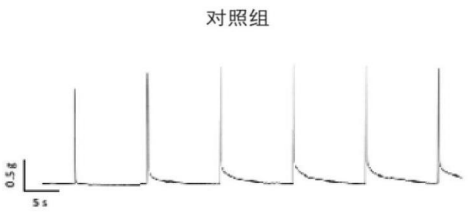

对照组
0.5g
5s

图9D

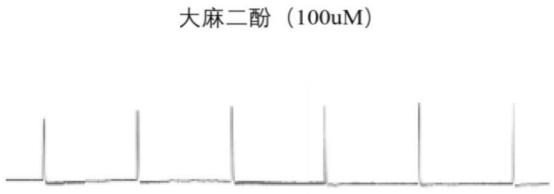

大麻二酚（100uM）

图9E

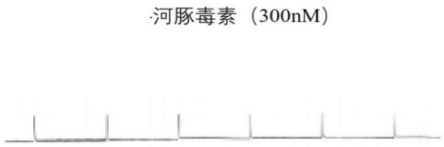

河豚毒素（300nM）

图9F

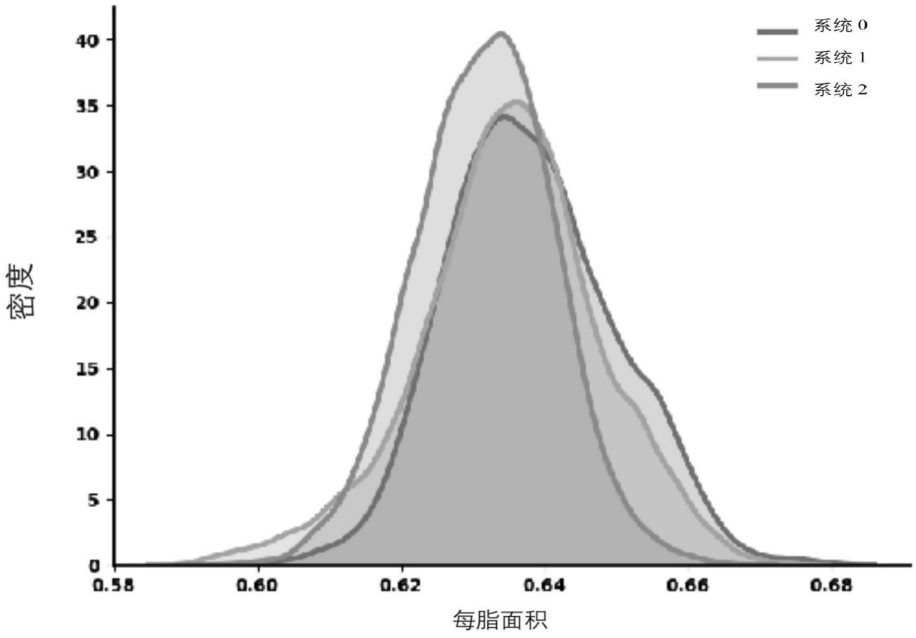

系统 0
系统 1
系统 2
密度
每脂面积
0
5
10
15
20
25
30
35
40
0.58
0.60
0.62
0.64
0.66
0.68

图10A

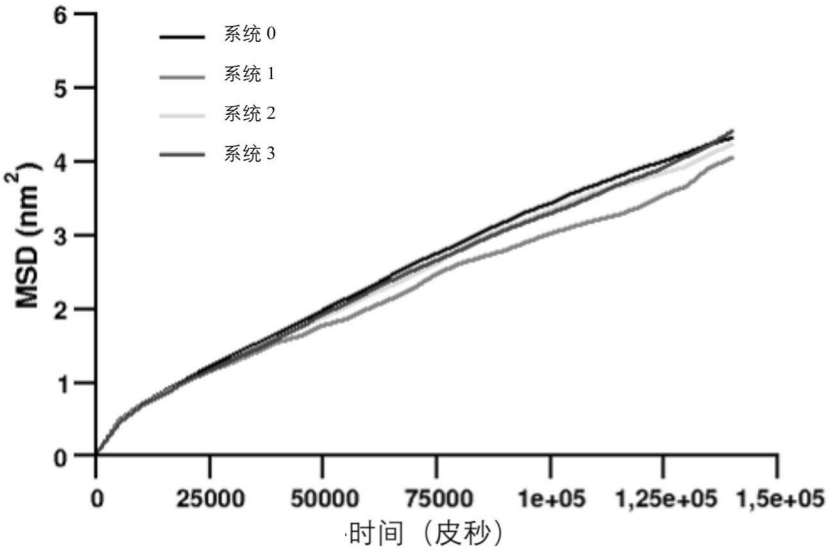

系统 0
系统 1
系统 2
系统 3
MSD (nm^2)
0
1
2
3
4
5
6
0
25000
50000
75000
1e+05
1,25e+05
1,5e+05
时间（皮秒）

图10B

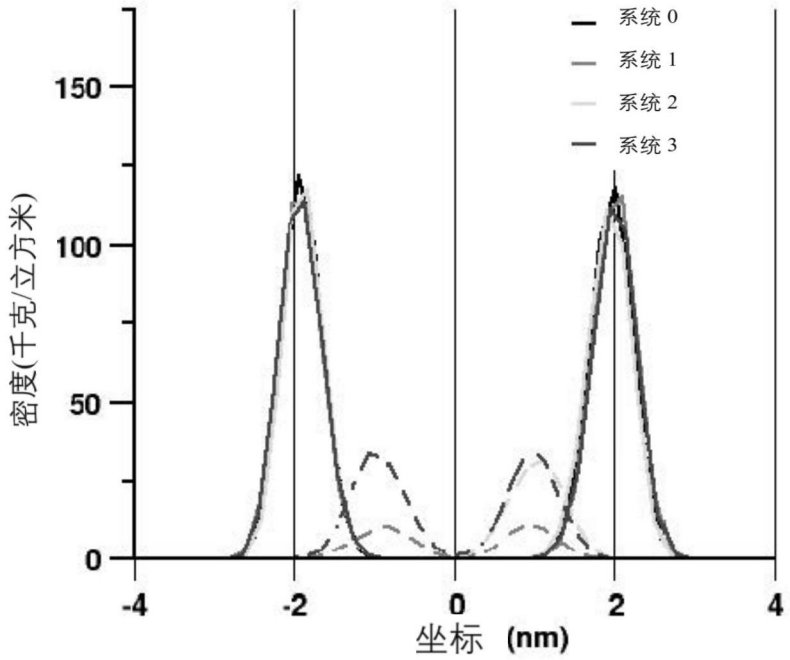

系统 0
系统 1
系统 2
系统 3
密度(千克/立方米)
0
50
100
150
-4
-2
0
2
4
坐标 (nm)

图10C

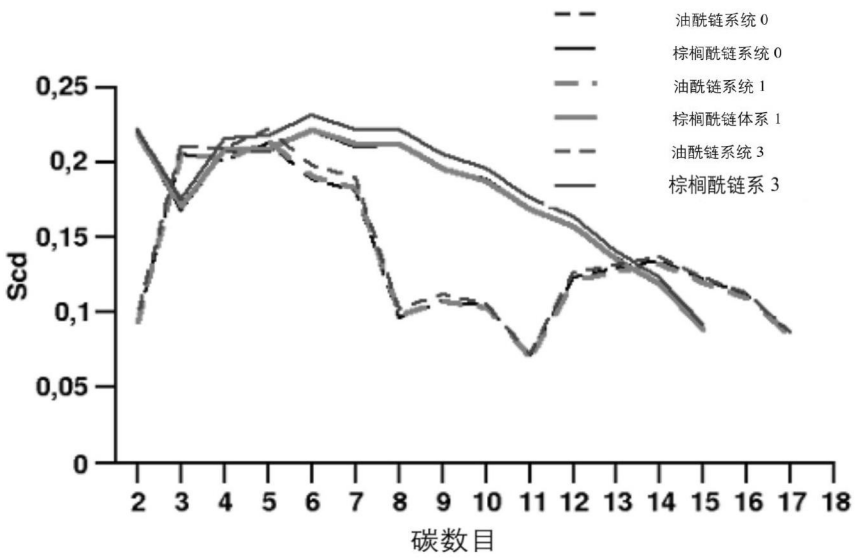

油酰链系统 0
棕榈酰链系统 0
油酰链系统 1
棕榈酰链体系 1
油酰链系统 3
棕榈酰链系 3
Scd
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
碳数目

图10D

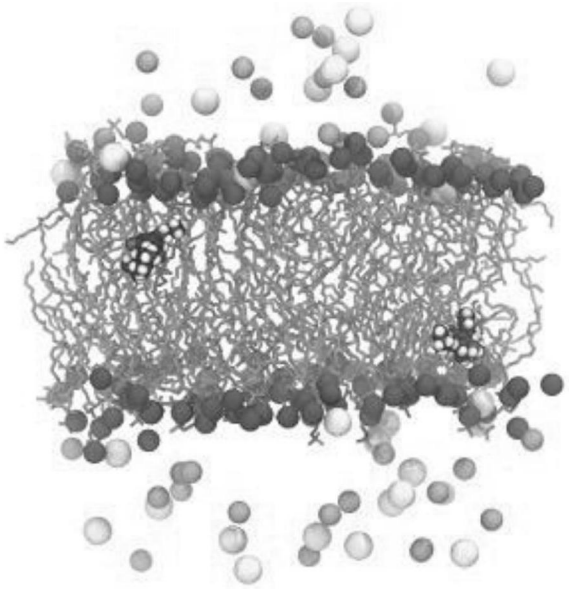


图10E

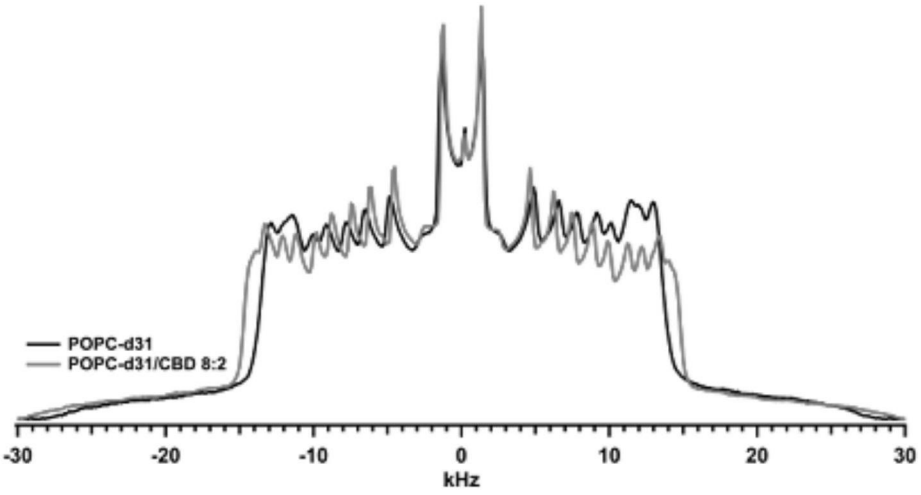

POPC-d31
POPC-d31/CBD 8:2
-30
-20
-10
0
10
20
30
kHz

图10F

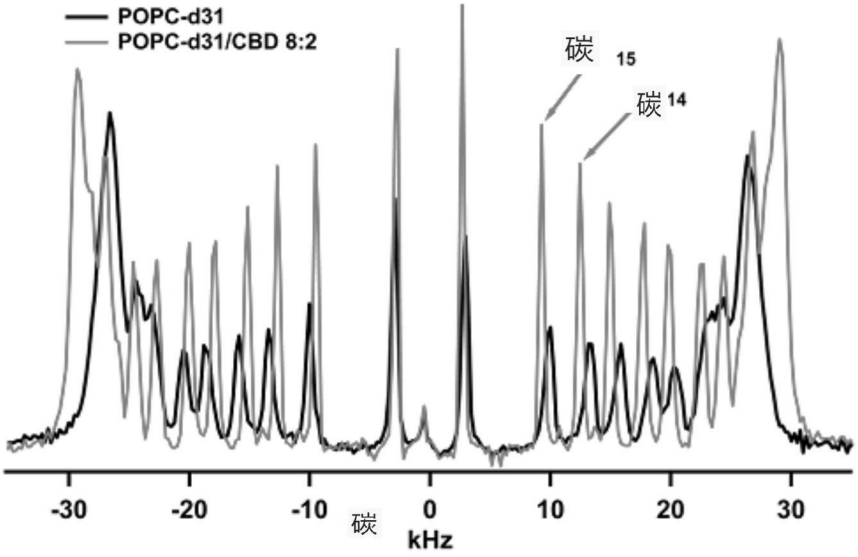

POPC-d31
POPC-d31/CBD 8:2
碳 15
碳 14
-30
-20
-10
碳
0
10
20
30
kHz

图10G

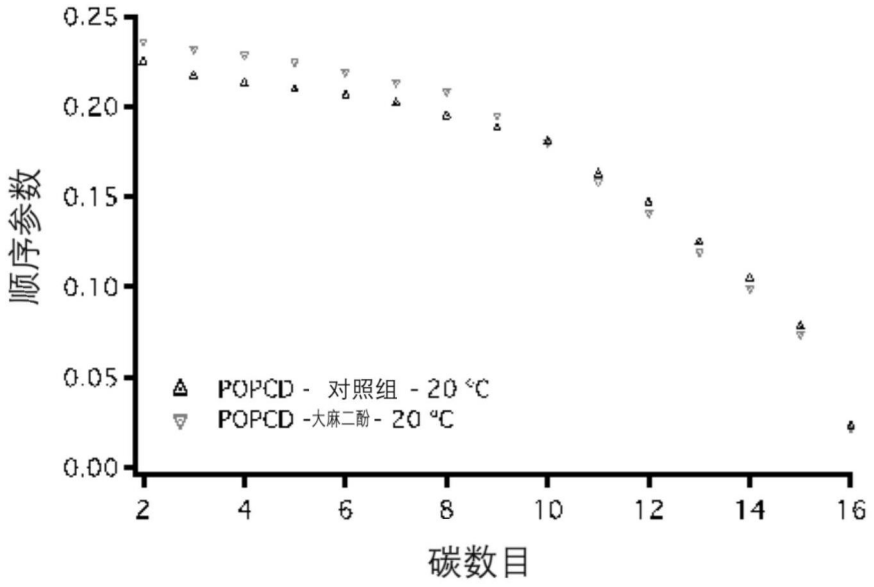

0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
顺序参数
POPCD - 对照组 - 20 °C
POPCD -大麻二酚- 20 °C
2
4
6
8
10
12
14
16
碳数目

图10H

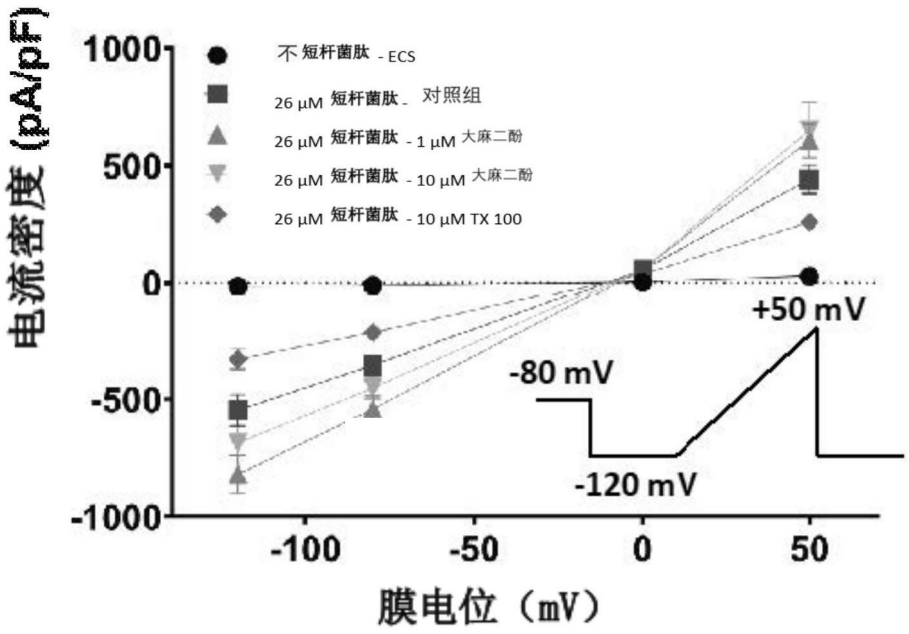

1000
500
0
-500
-1000
电流密度 (pA/pF)
不 短杆菌肽 - ECS
26 μM 短杆菌肽 - 对照组
26 μM 短杆菌肽 - 1 μM 大麻二酚
26 μM 短杆菌肽 - 10 μM 大麻二酚
26 μM 短杆菌肽 - 10 μM TX 100
+50 mV
-80 mV
-120 mV
-100
-50
0
50
膜电位（mV）

图11A

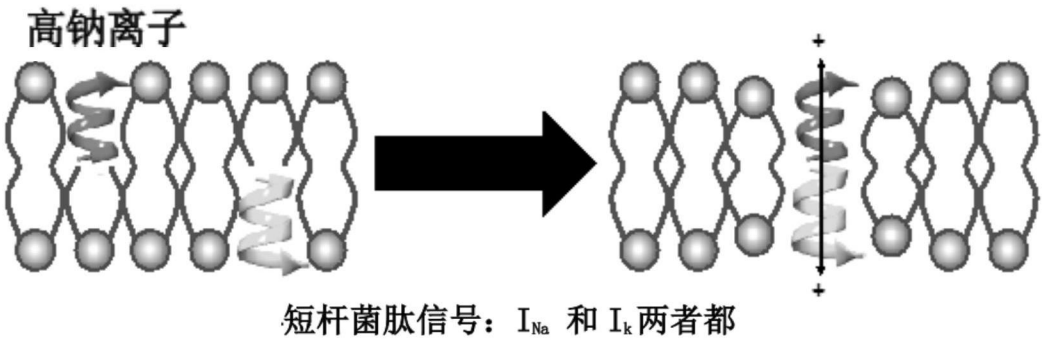


图11B

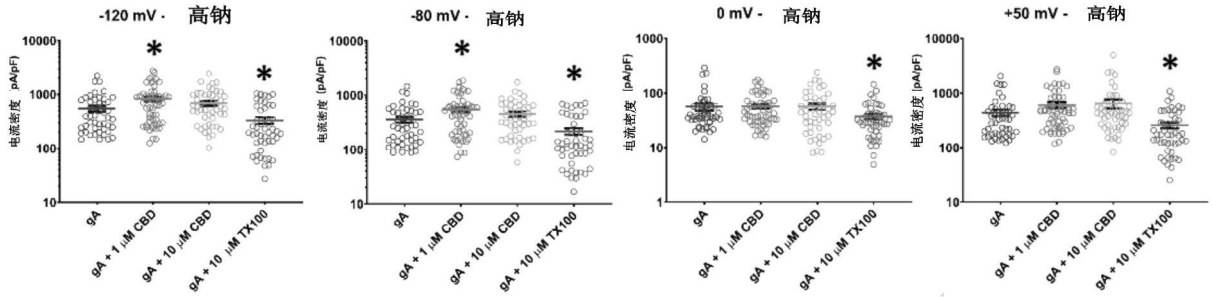


图11C

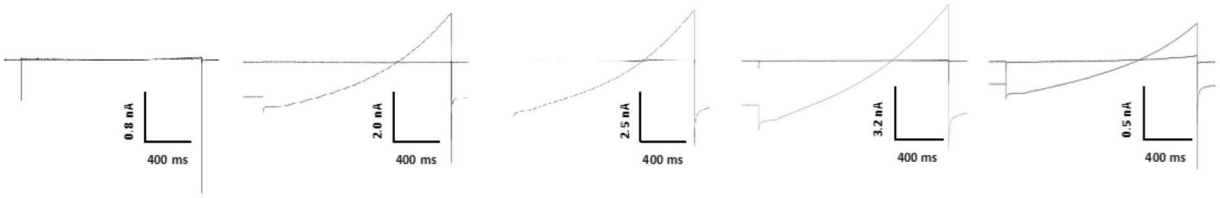


图11D

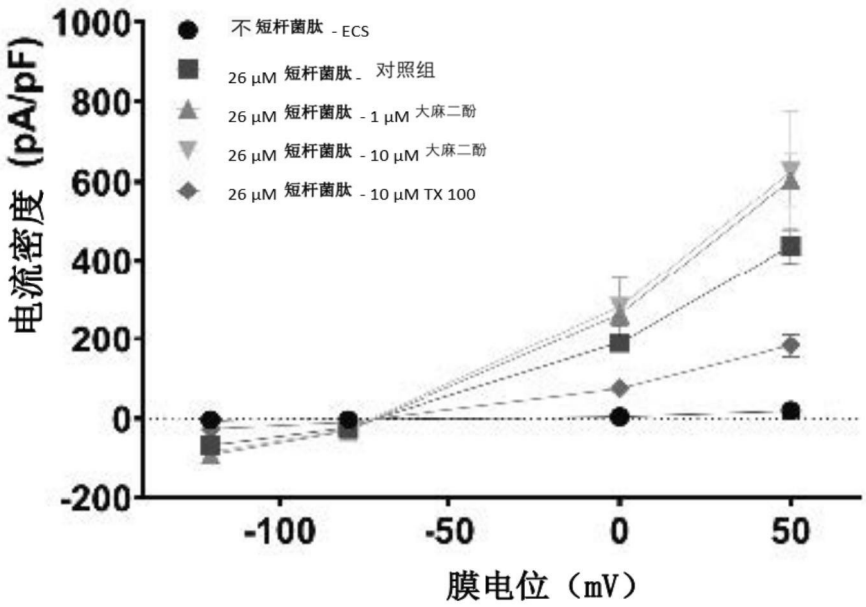


图11E

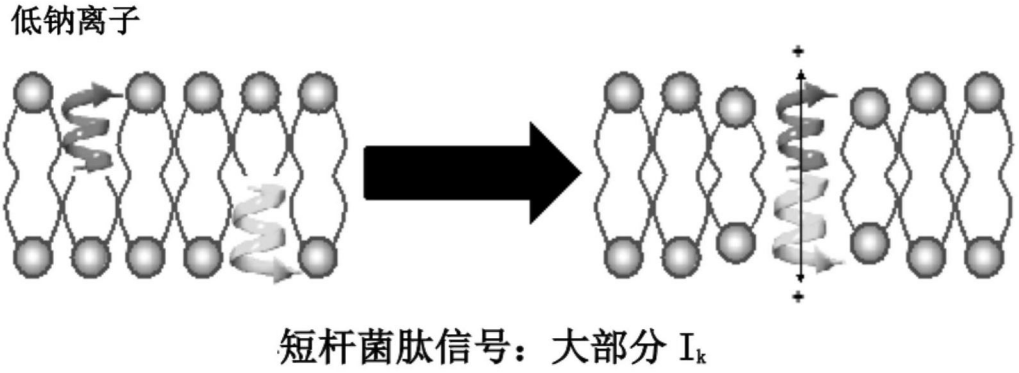


图11F

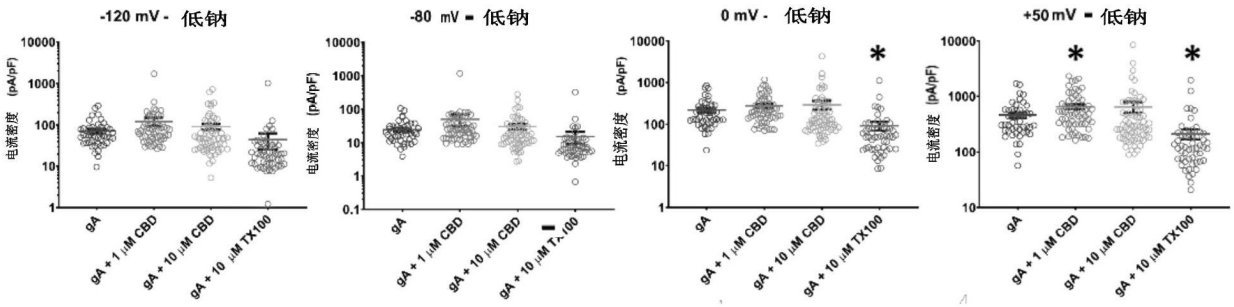


图11G

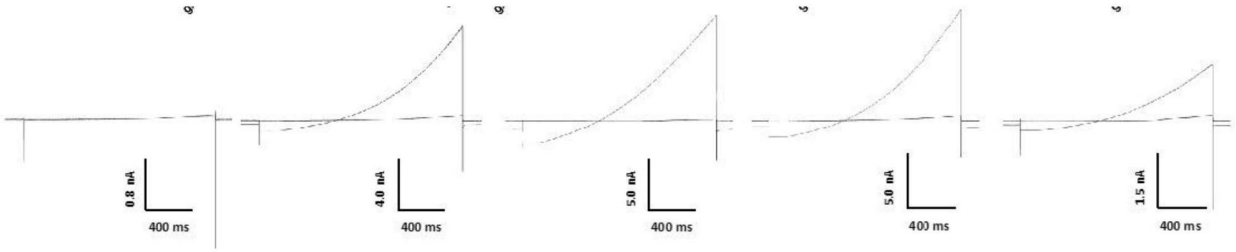


图11H

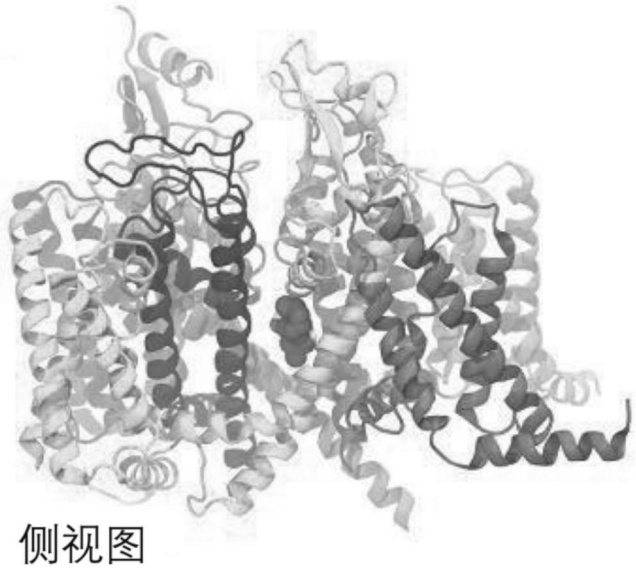


图12A

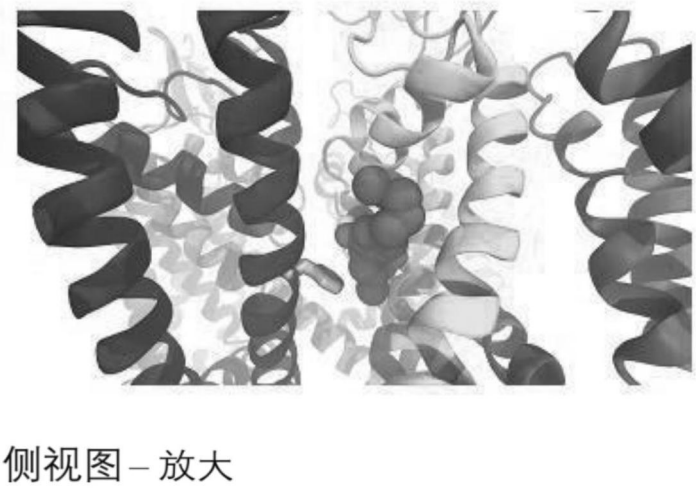


图12B

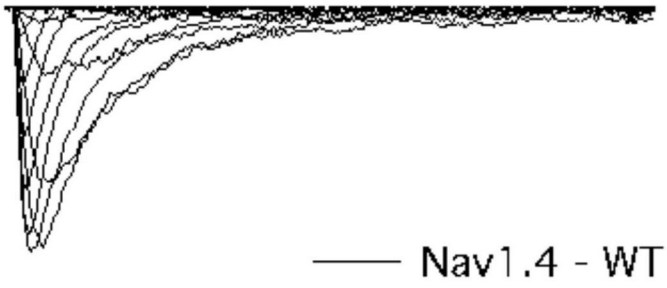


图12C

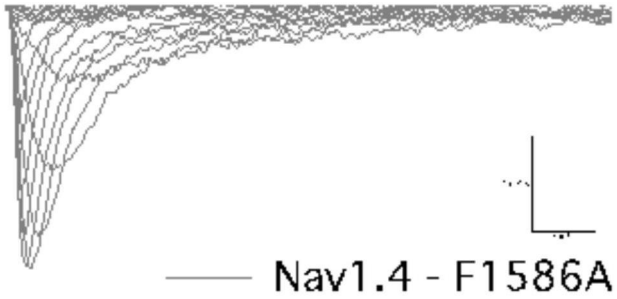


图12D

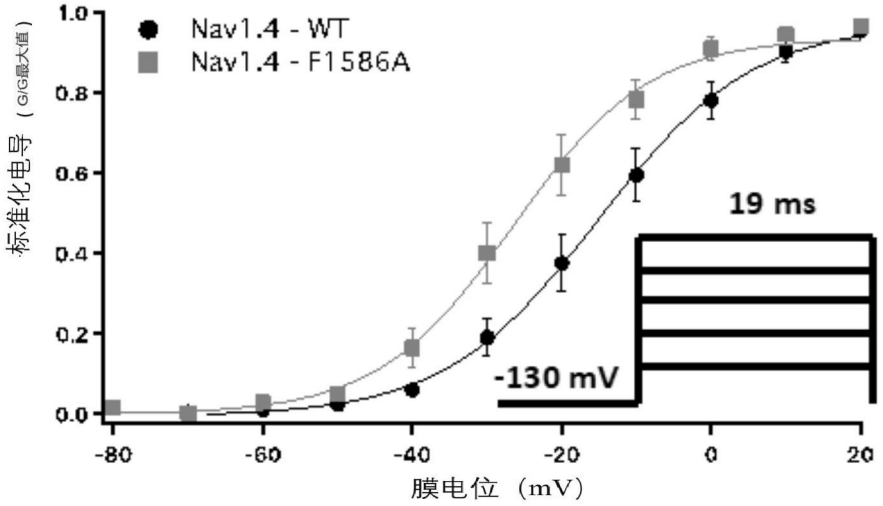


图12E

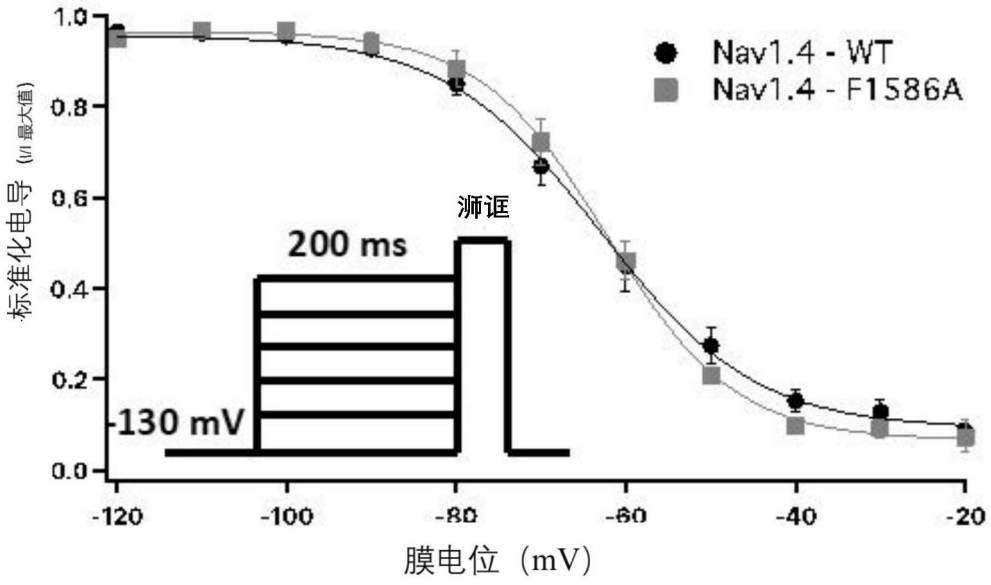

Nav1.4 - WT
Nav1.4 - F1586A
标准化电导 (/I 最大值)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-120
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）
200 ms
-130 mV
狮诓

图12F

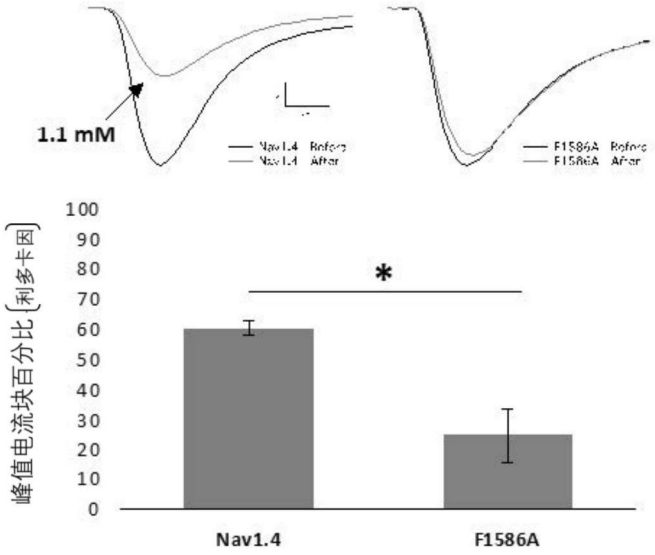

1.1 mM
峰值电流块百分比[利多卡因]
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
*
Nav1.4
F1586A

图12G

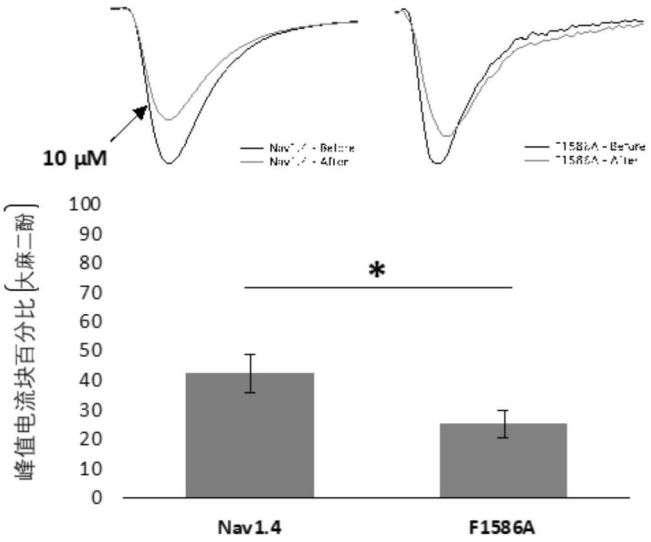

10 μM
峰值电流块百分比[大麻二酚]
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
*
Nav1.4
F1586A

图12H

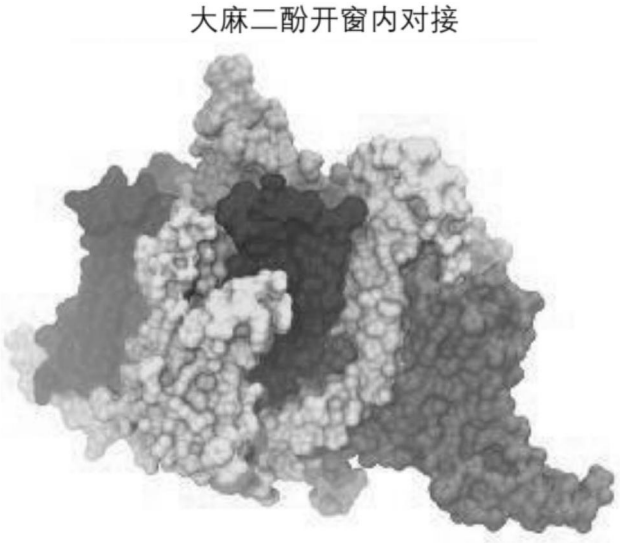

大麻二酚开窗内对接

图13A

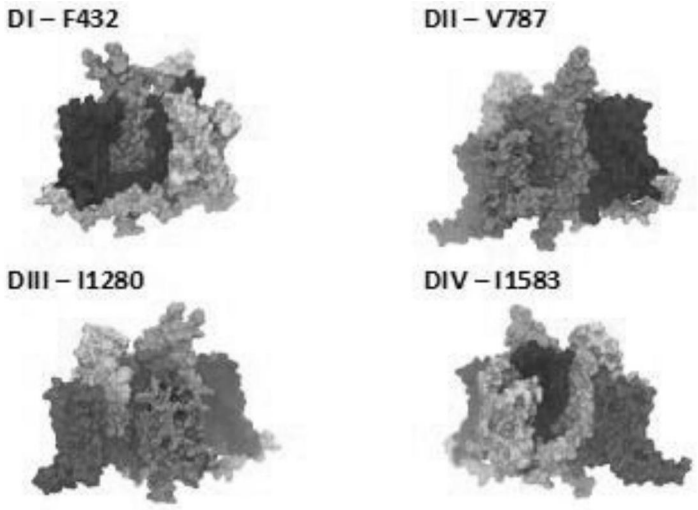


图13B

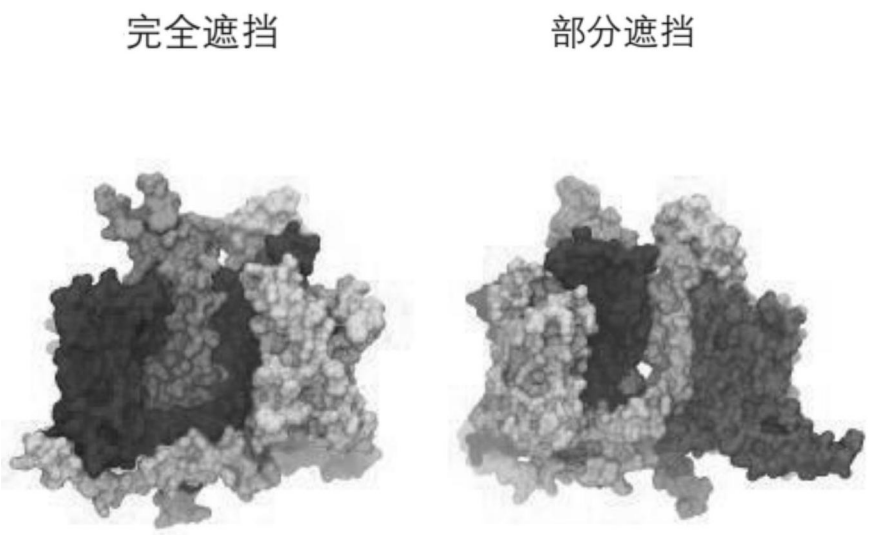


图13C

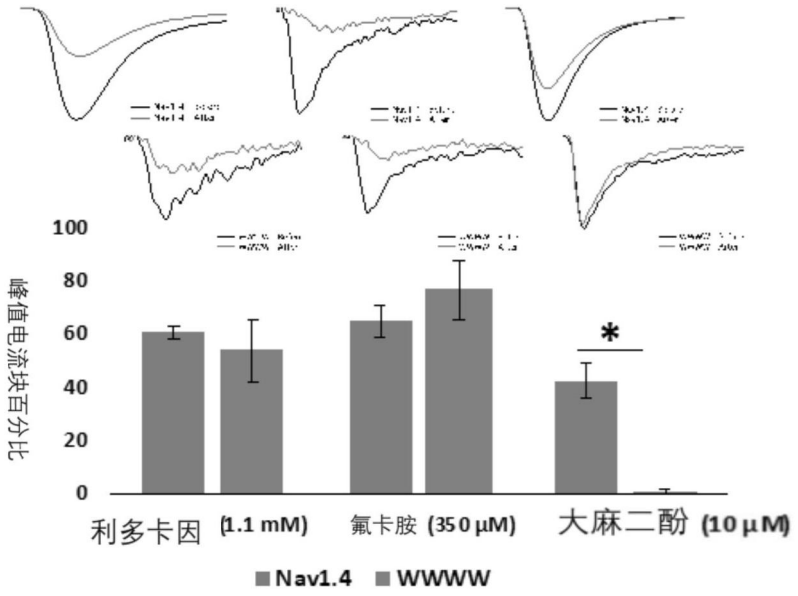

100
80
60
40
20
0
峰值电流块百分比
*
利多卡因 (1.1 mM)
氟卡胺 (350 μM)
大麻二酚 (10 μM)
Nav1.4
WWWW

图13D

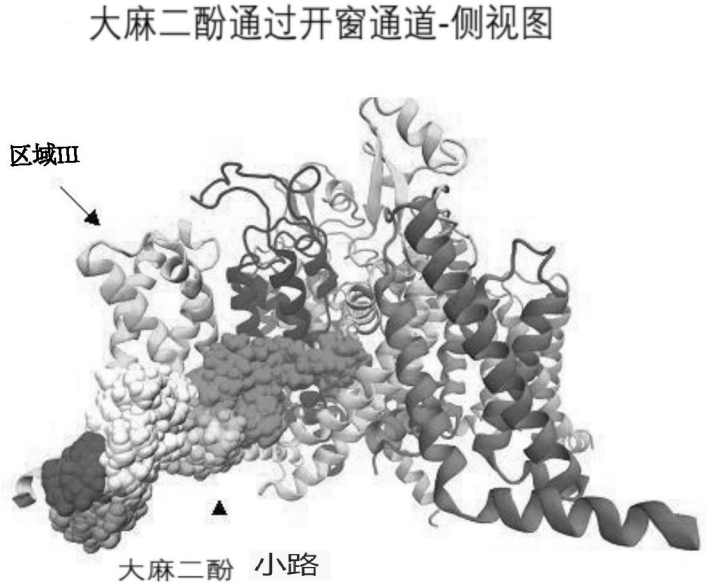

大麻二酚通过开窗通道-侧视图
区域III
大麻二酚
小路

图13E

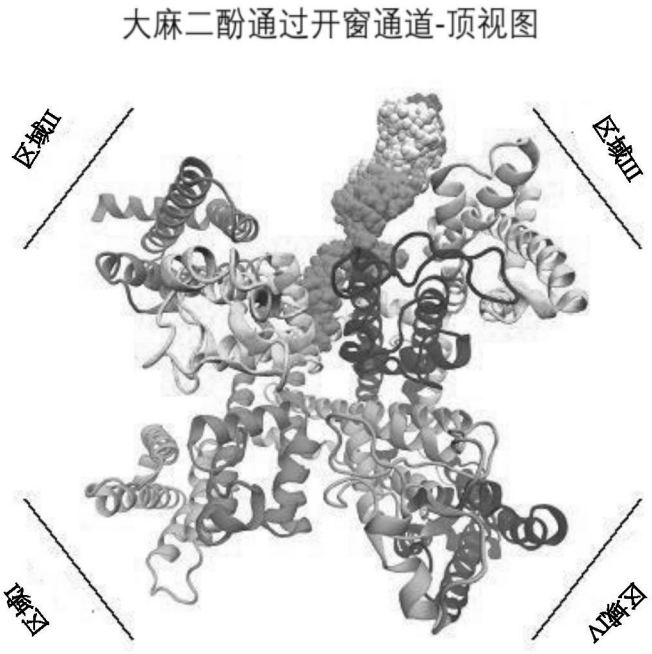


图13F

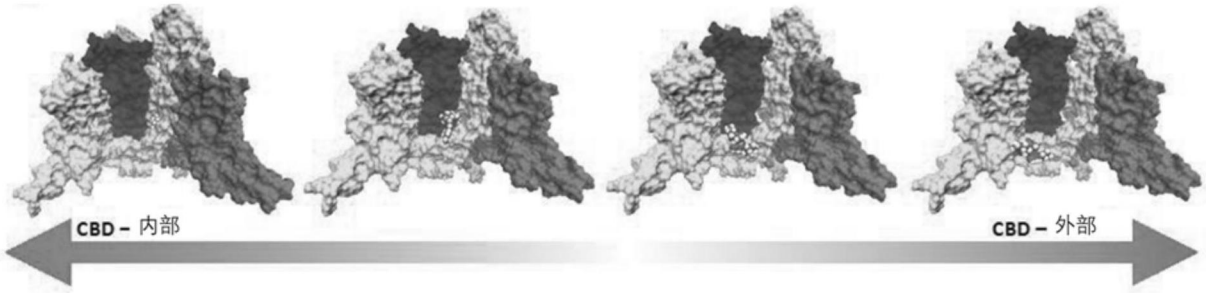


图13G

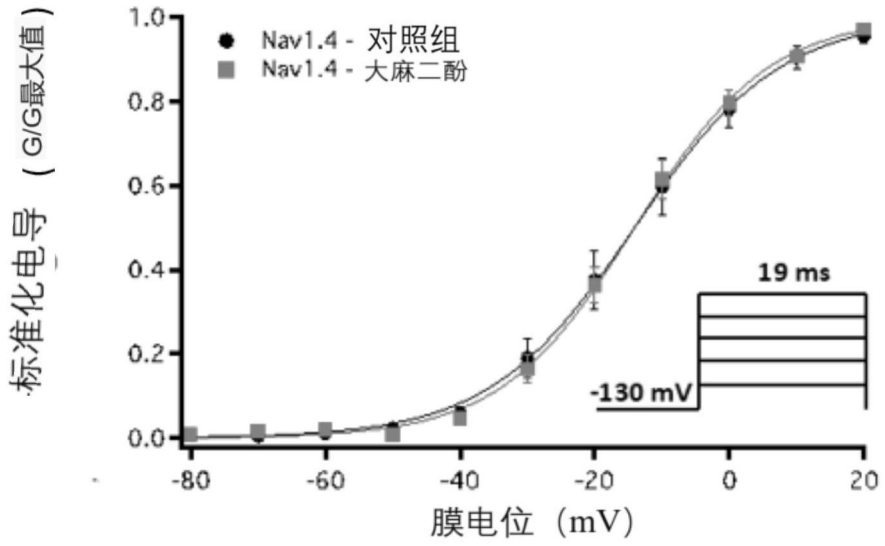

Nav1.4 - 对照组
Nav1.4 - 大麻二酚
19 ms
-130 mV
标准化电导（G/G最大值）
膜电位（mV）

图14A

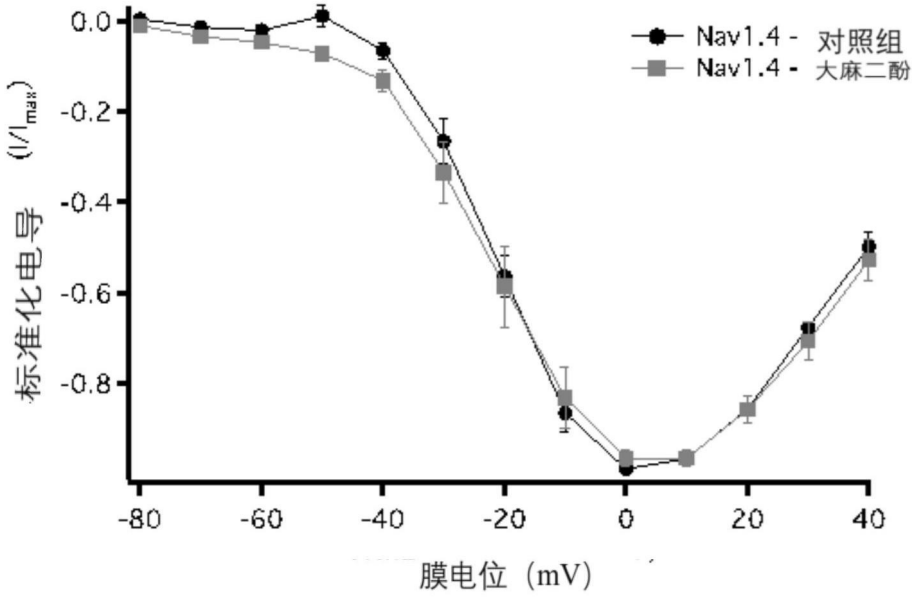

Nav1.4 - 对照组
Nav1.4 - 大麻二酚
标准化电导 (I/I max)
膜电位（mV）

图14B

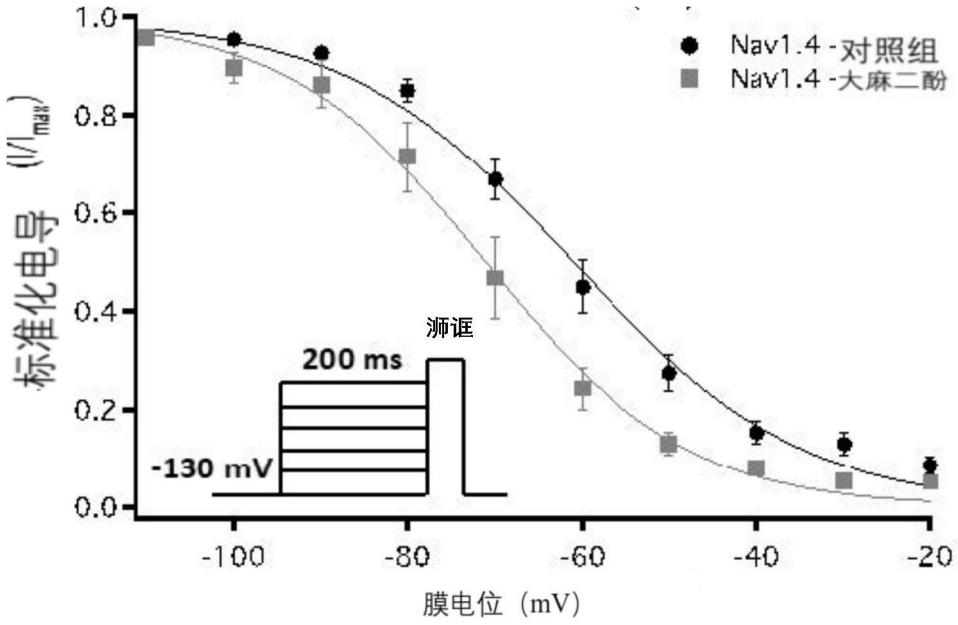

Nav1.4 -对照组
Nav1.4 -大麻二酚
标准化电导 (I/I$_{max}$)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）
200 ms
-130 mV

图14C

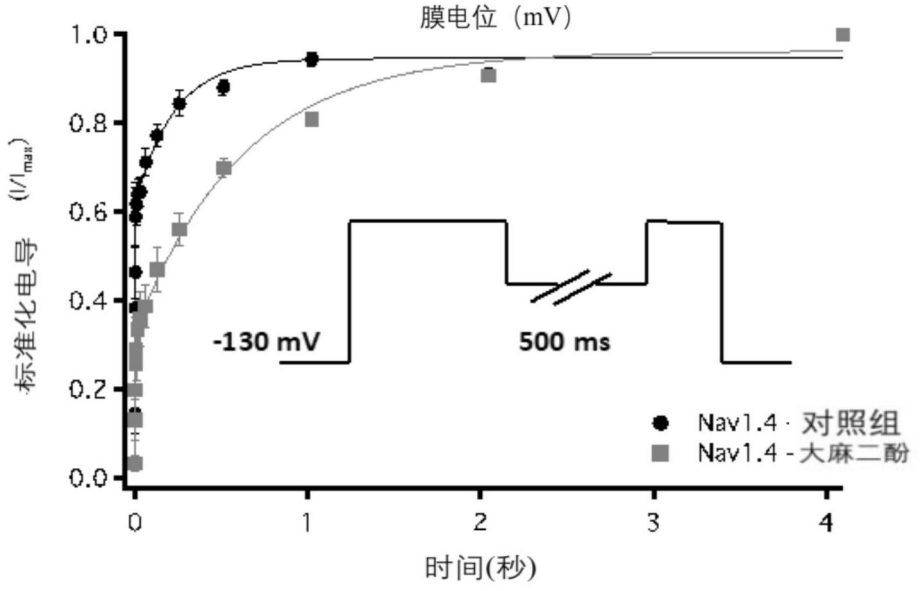

膜电位（mV）
标准化电导 (I/I$_{max}$)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
2
3
4
时间(秒)
-130 mV
500 ms
Nav1.4 · 对照组
Nav1.4 - 大麻二酚

图14D

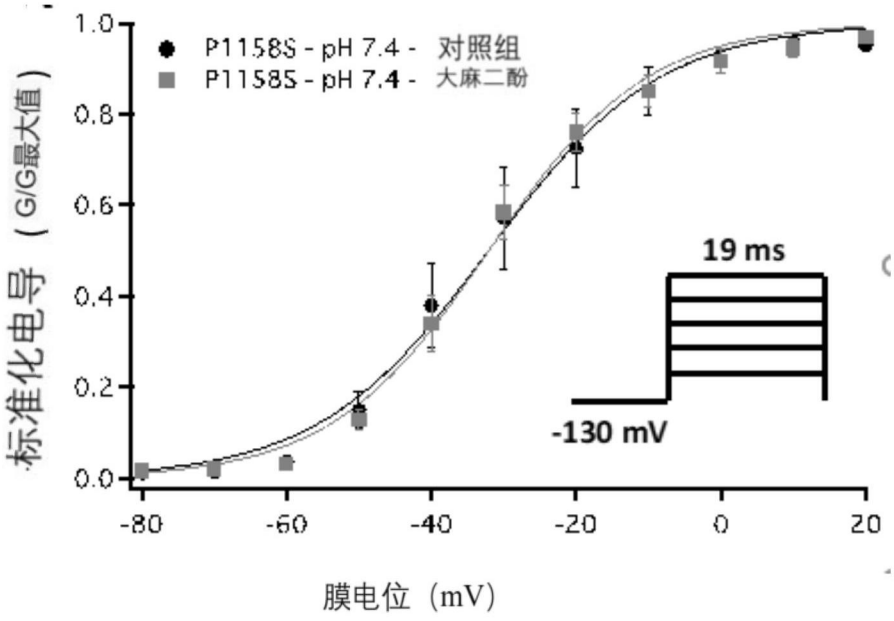

P1158S - pH 7.4 - 对照组
P1158S - pH 7.4 - 大麻二酚
19 ms
-130 mV
标准化电导（G/G最大值）
膜电位（mV）

图15A

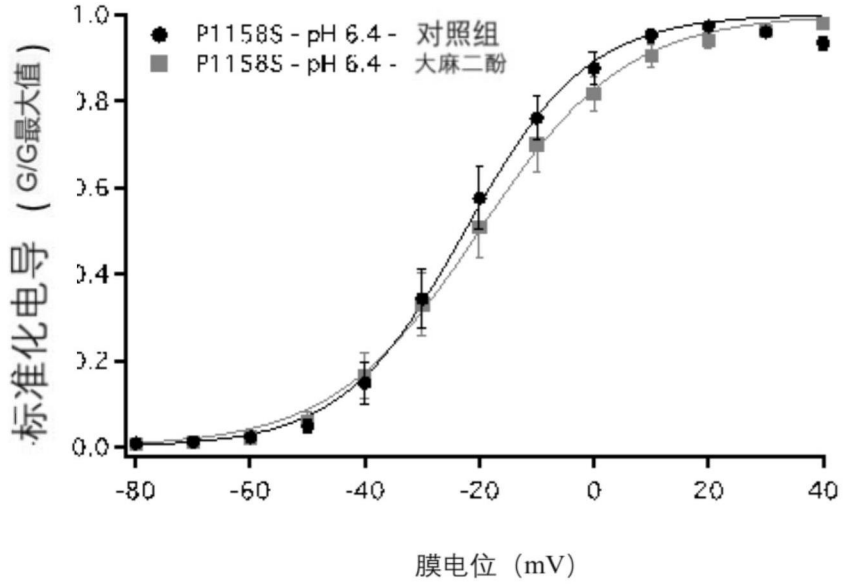

P1158S - pH 6.4 - 对照组
P1158S - pH 6.4 - 大麻二酚
标准化电导（G/G最大值）
膜电位（mV）

图15B

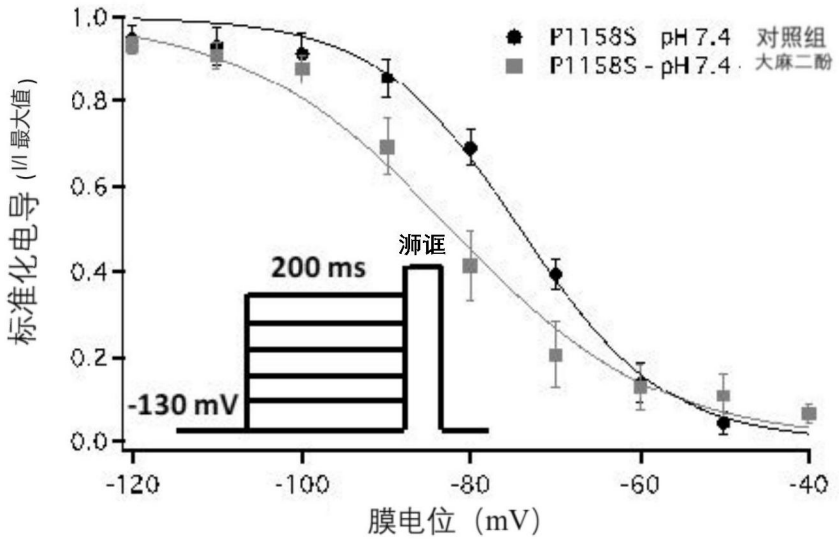

P1158S pH 7.4 对照组
P1158S - pH 7.4 大麻二酚
标准化电导 (I/I最大值)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
200 ms
狮诓
-130 mV
-120
-100
-80
-60
-40
膜电位 (mV)

图15C

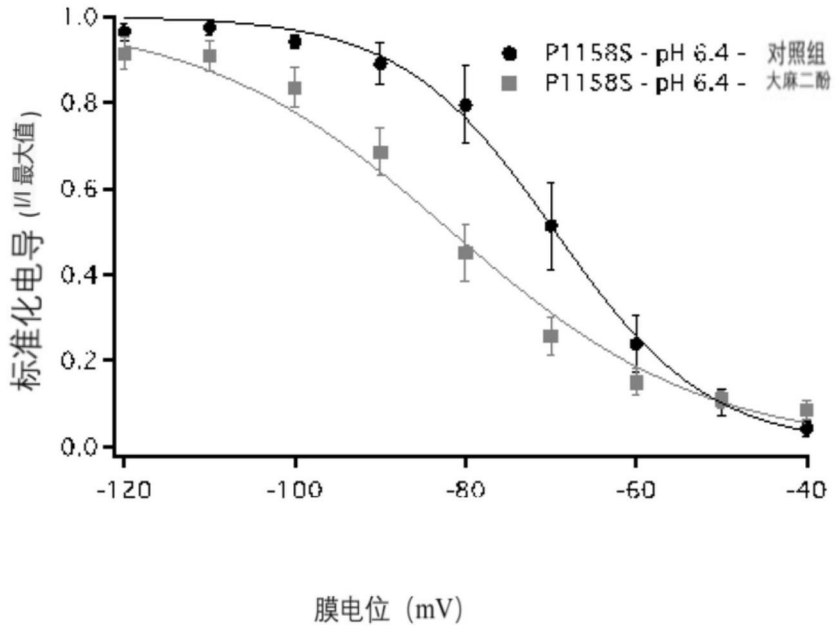

P1158S - pH 6.4 - 对照组
P1158S - pH 6.4 - 大麻二酚
标准化电导 (I/I最大值)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-120
-100
-80
-60
-40
膜电位 (mV)

图15D

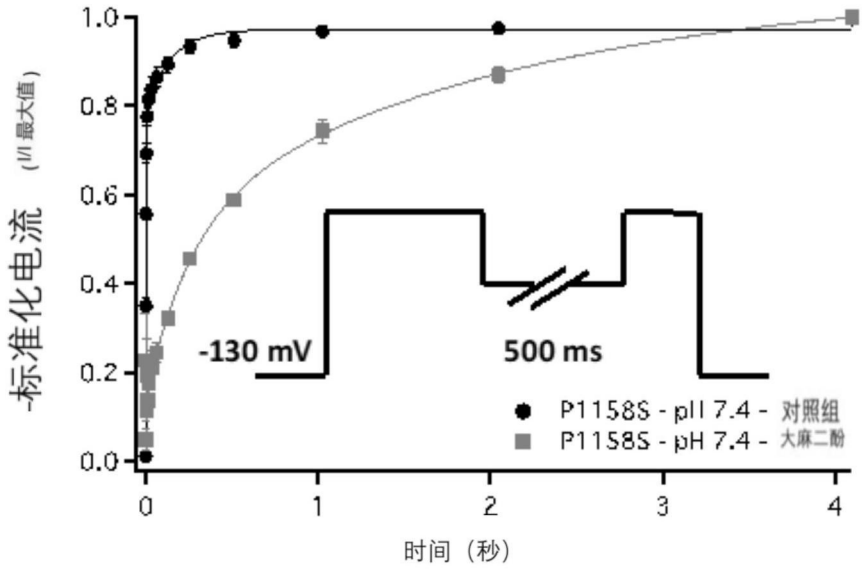

1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-标准化电流 (I/I 最大值)
-130 mV
500 ms
P1158S - pH 7.4 - 对照组
P1158S - pH 7.4 - 大麻二酚
0
1
2
3
4
时间（秒）

图15E

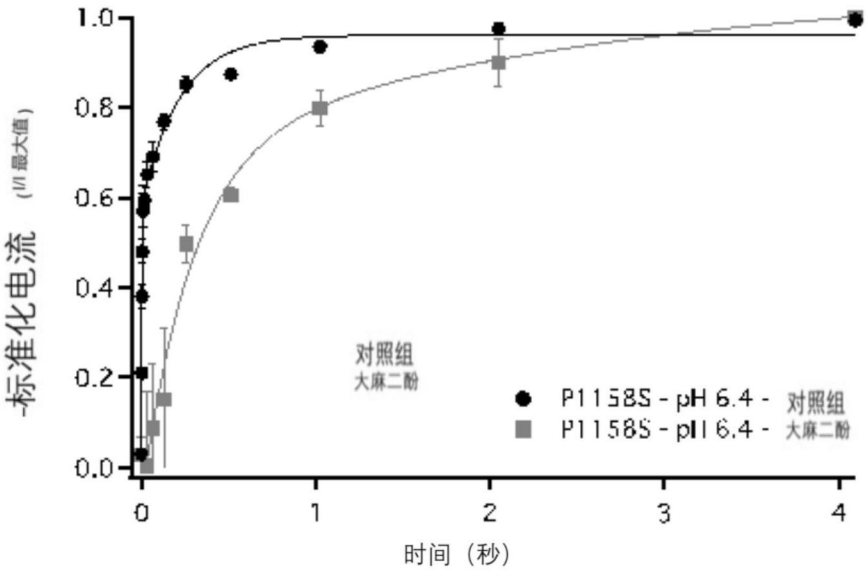

1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-标准化电流 (I/I 最大值)
对照组
大麻二酚
P1158S - pH 6.4 - 对照组
P1158S - pH 6.4 - 大麻二酚
0
1
2
3
4
时间（秒）

图15F

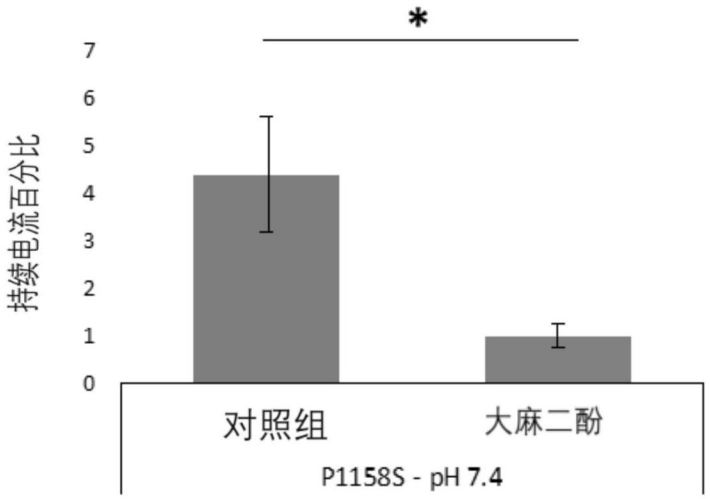

*
7
6
5
4
3
2
1
0
持续电流百分比
对照组
大麻二酚
P1158S - pH 7.4

图15G

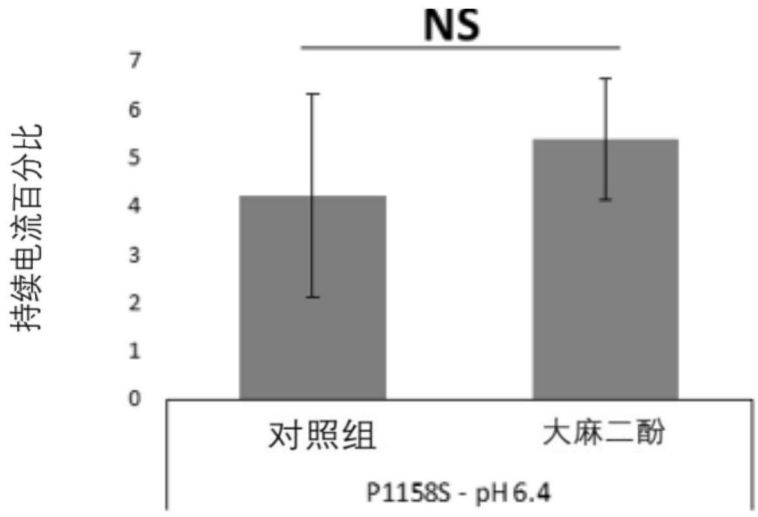

NS
7
6
5
4
3
2
1
0
持续电流百分比
对照组
大麻二酚
P1158S - pH 6.4

图15H

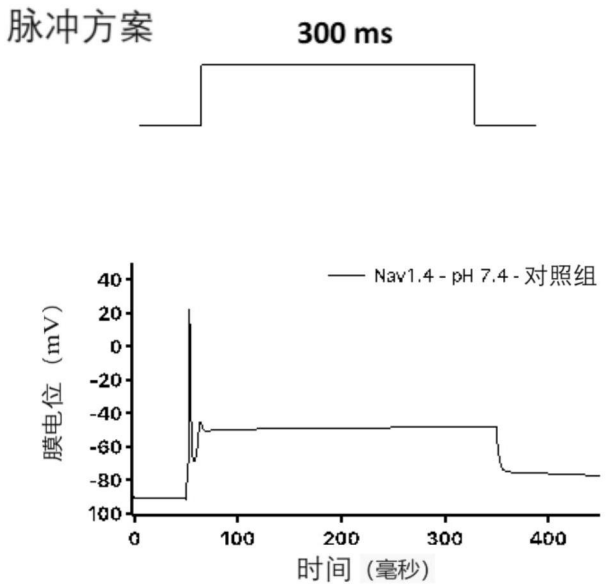

脉冲方案
300 ms
Nav1.4 - pH 7.4 - 对照组
膜电位（mV）
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
100
200
300
400
时间（毫秒）

图16A

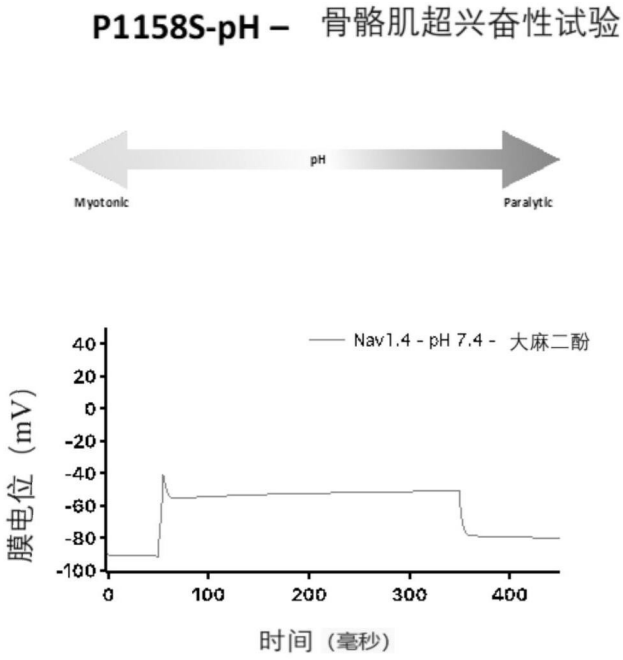

P1158S-pH –
骨骼肌超兴奋性试验
pH
Myotonic
Paralytic
Nav1.4 - pH 7.4 - 大麻二酚
膜电位（mV）
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
100
200
300
400
时间（毫秒）

图16B

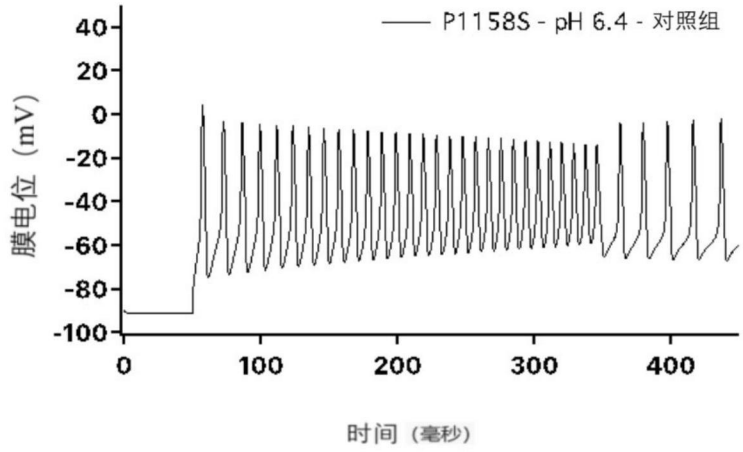

P1158S - pH 6.4 - 对照组
膜电位（mV）
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
100
200
300
400
时间（毫秒）

图16C

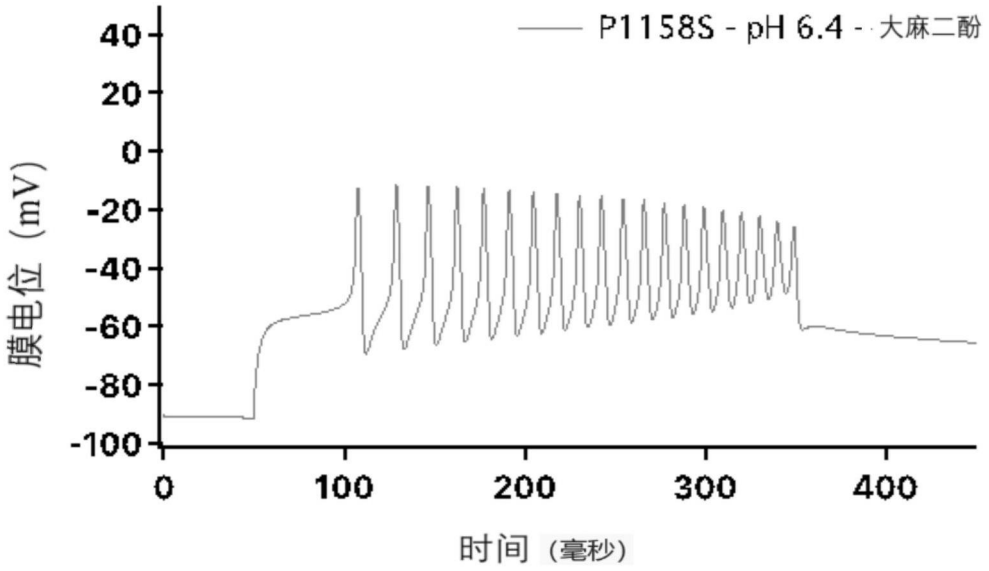

P1158S - pH 6.4 - 大麻二酚
膜电位（mV）
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
100
200
300
400
时间（毫秒）

图16D

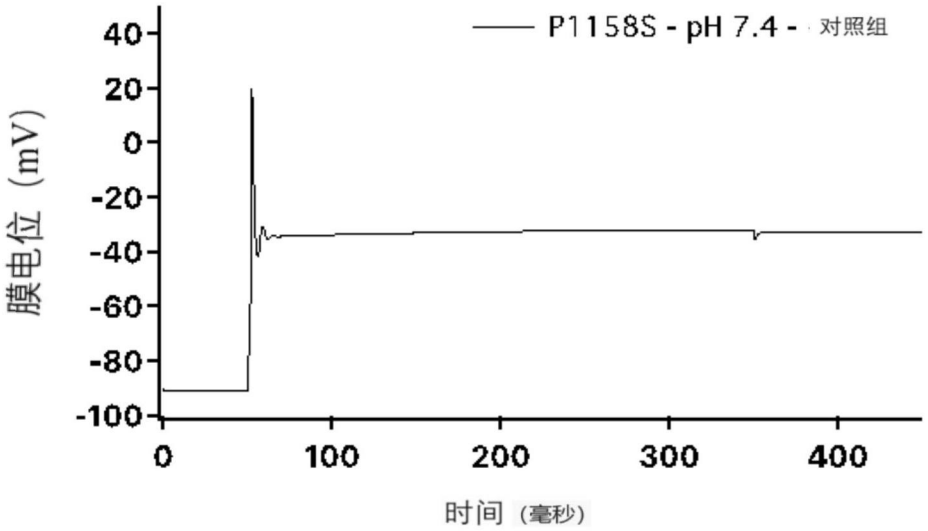

P1158S - pH 7.4 - 对照组
膜电位（mV）
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
100
200
300
400
时间（毫秒）

图16E

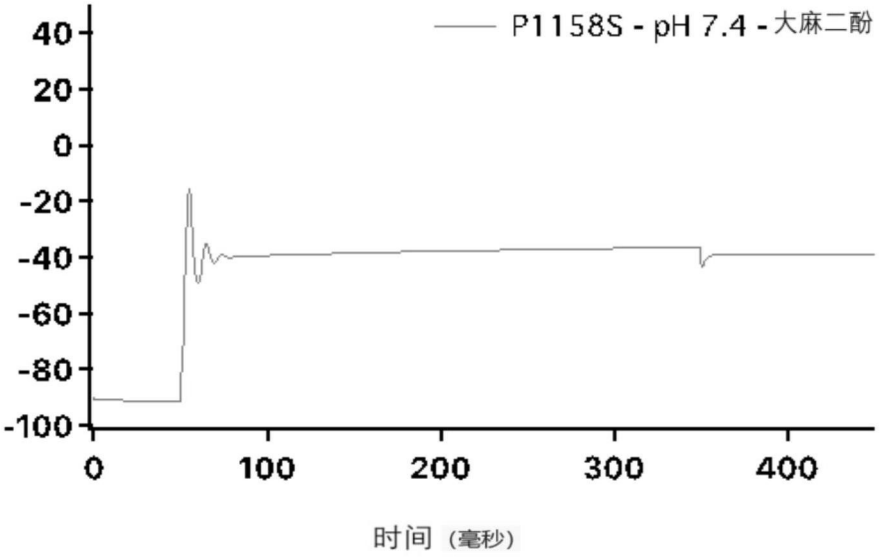

P1158S - pH 7.4 - 大麻二酚
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
100
200
300
400
时间（毫秒）

图16F

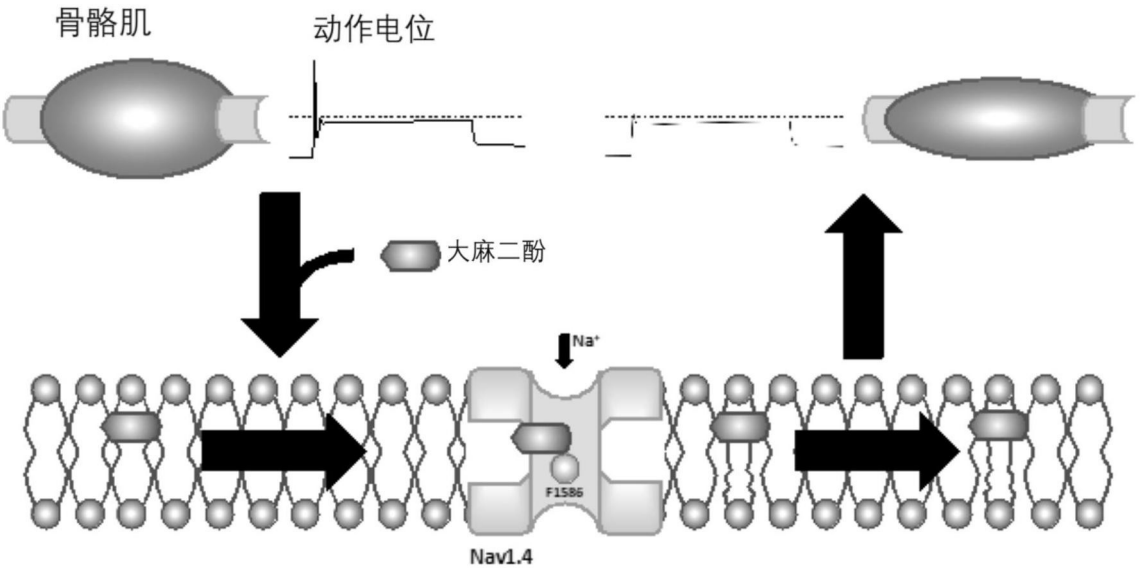

骨骼肌
动作电位
大麻二酚
Na+
F1586
Nav1.4

图17

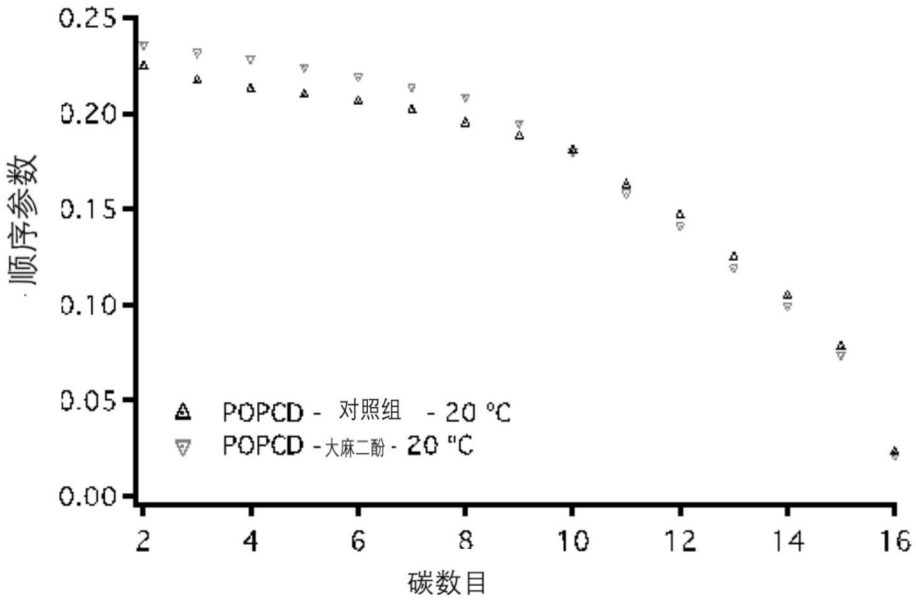

0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
顺序参数
2
4
6
8
10
12
14
16
碳数目
POPCD - 对照组 - 20 °C
POPCD - 大麻二酚 - 20 °C

图18A(S1)

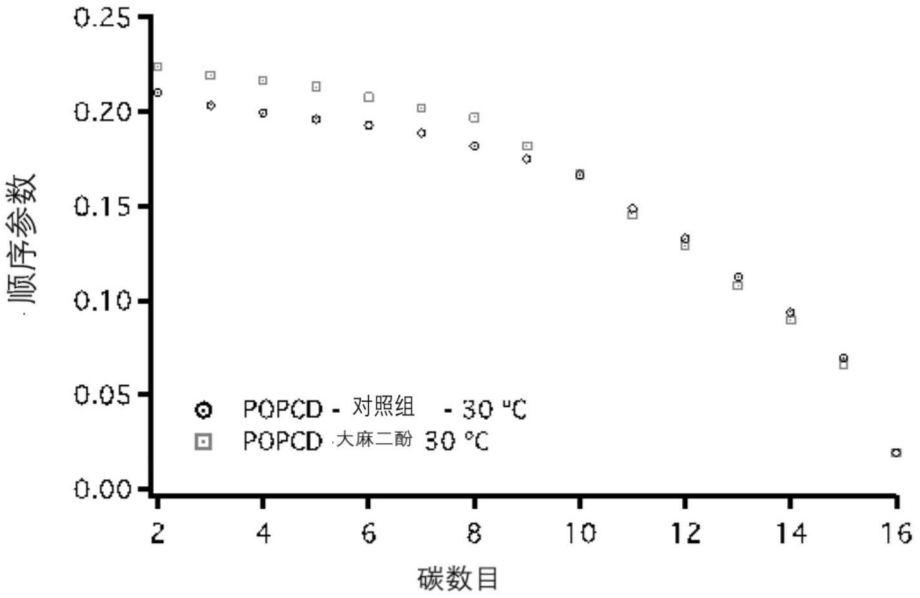


图18B(S1)

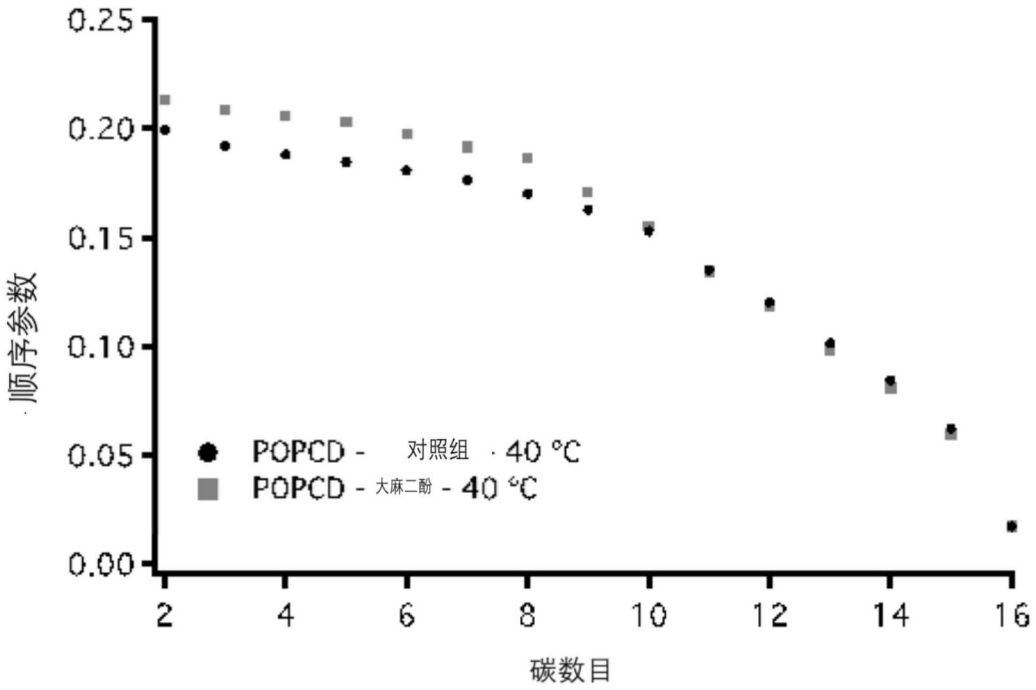


图18C(S1)

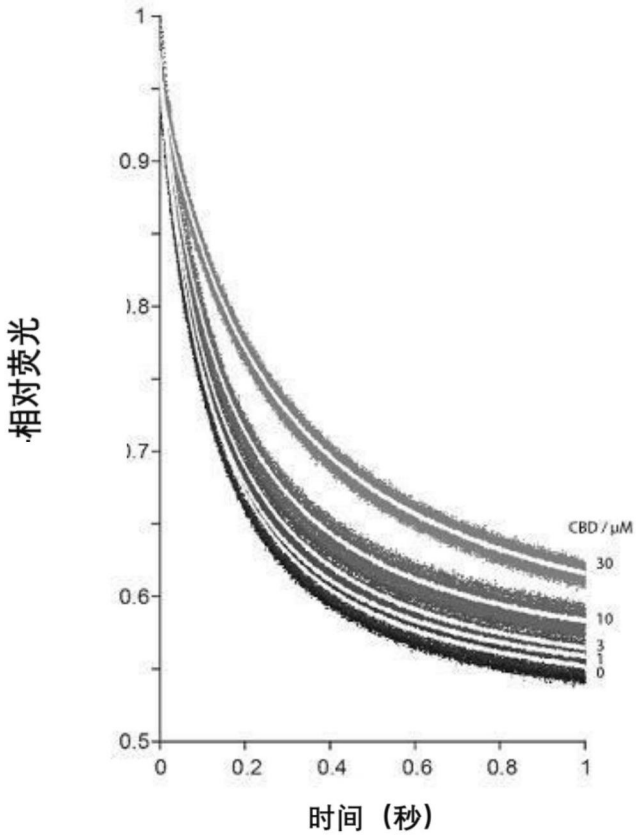


图19A(S2)

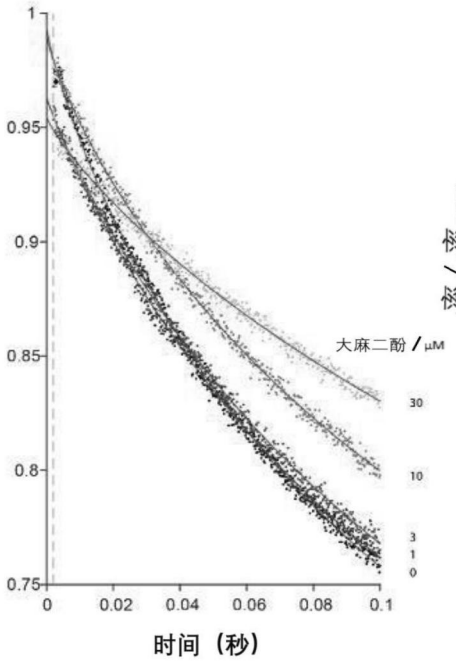


图 19B (S2)

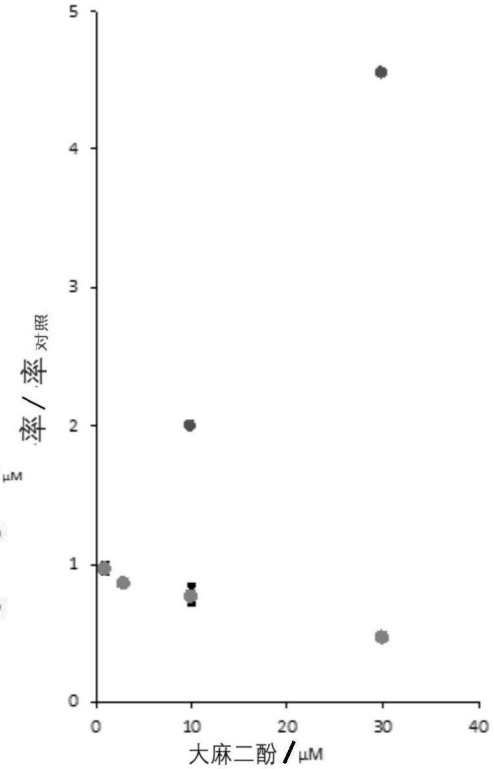


图 19C (S2)

利多卡因

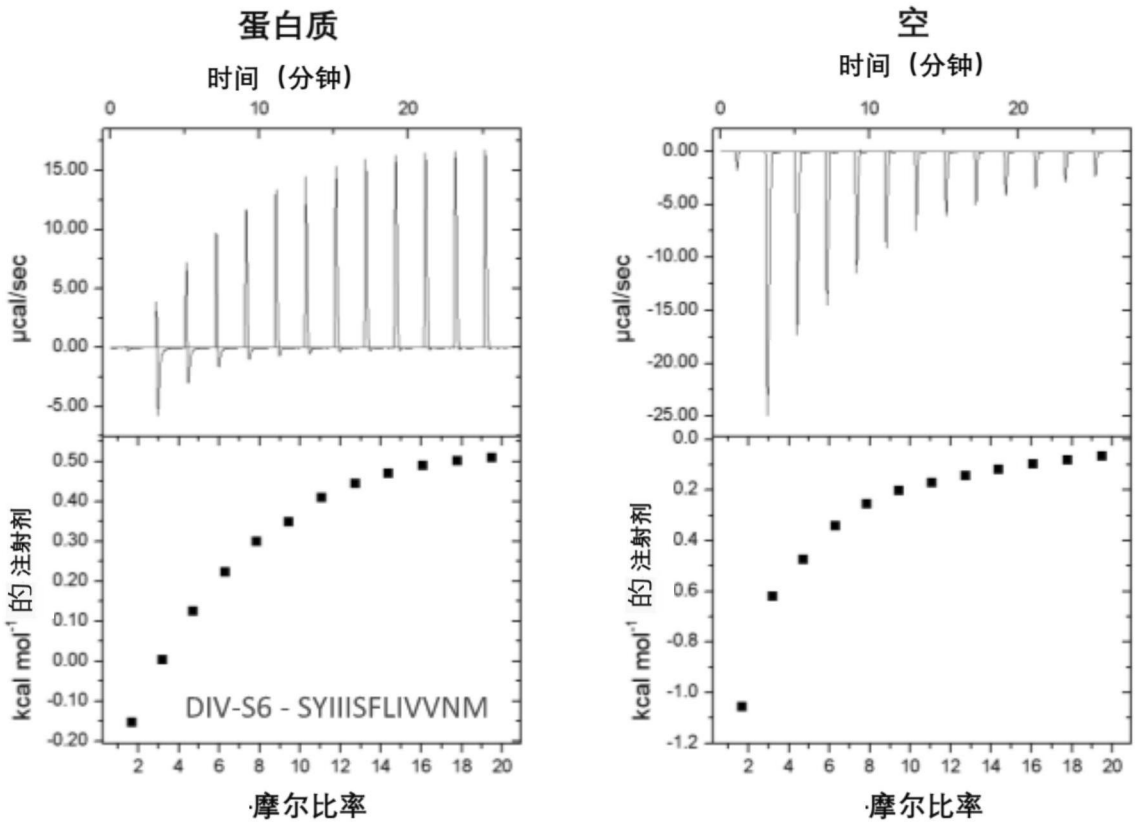

蛋白质
时间（分钟）
µcal/sec
kcal mol⁻¹ 的 注射剂
DIV-S6 - SYIIISFLIVVNM
摩尔比率
空
时间（分钟）
µcal/sec
kcal mol⁻¹ 的 注射剂
摩尔比率

图20A

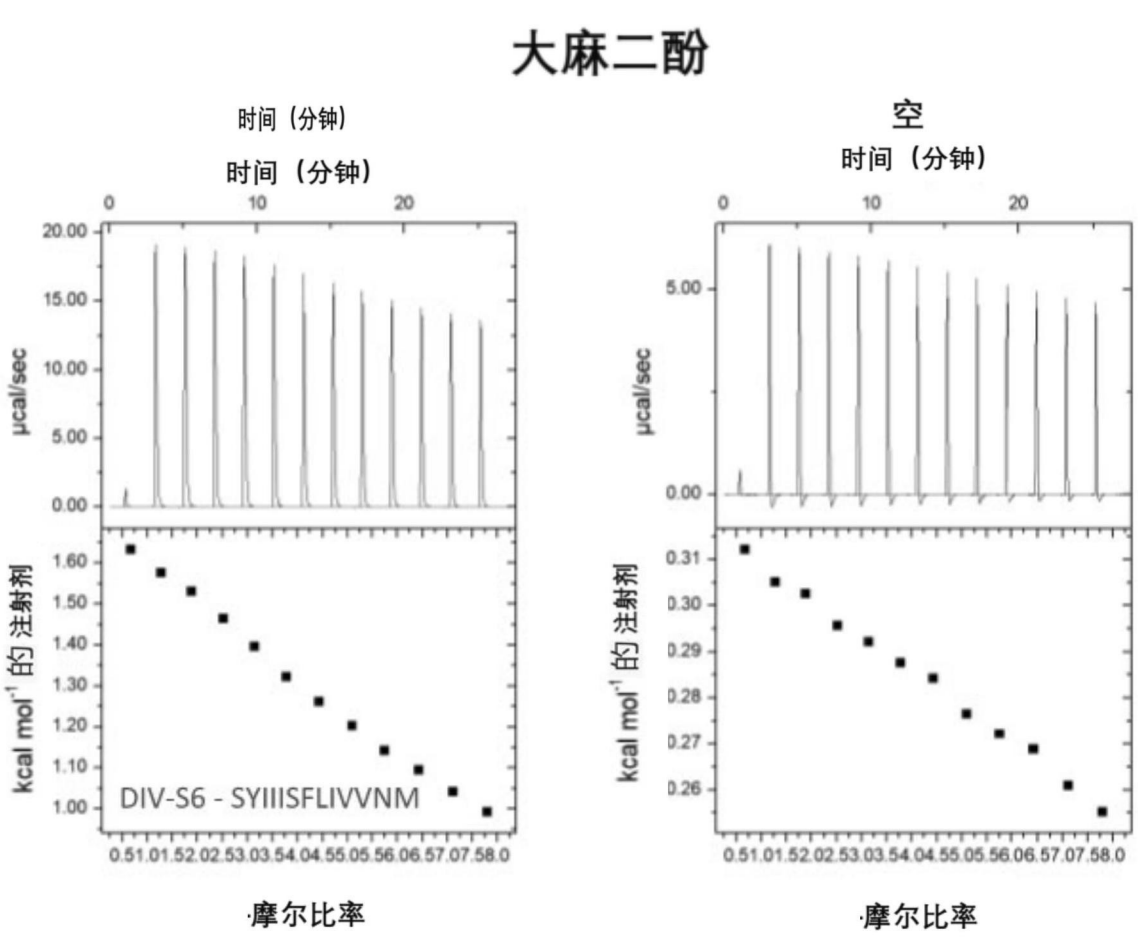

大麻二酚
时间（分钟）
时间（分钟）
μcal/sec
kcal mol⁻¹ 的注射剂
DIV-S6 - SYIIISFLIVVNM
摩尔比率
空
时间（分钟）
μcal/sec
kcal mol⁻¹ 的注射剂
摩尔比率

图20B

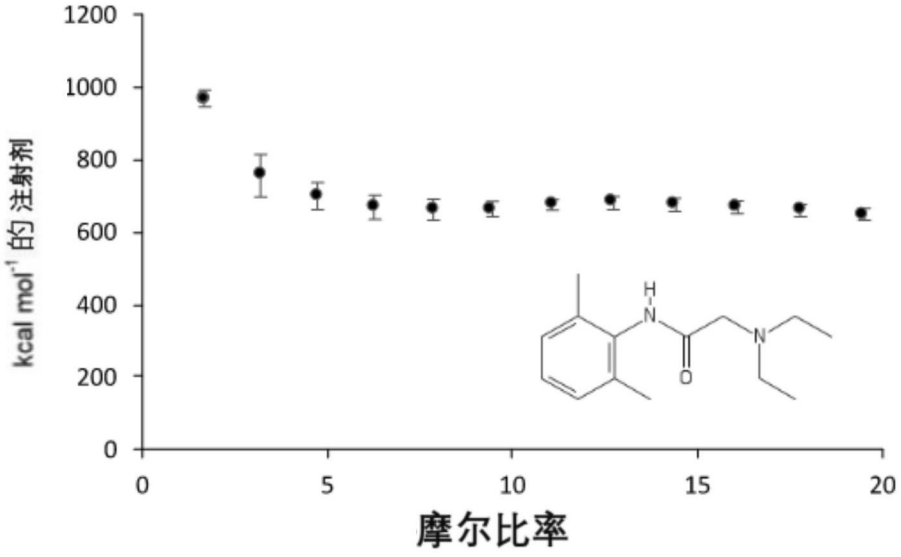

kcal mol⁻¹ 的注射剂
摩尔比率

图20C

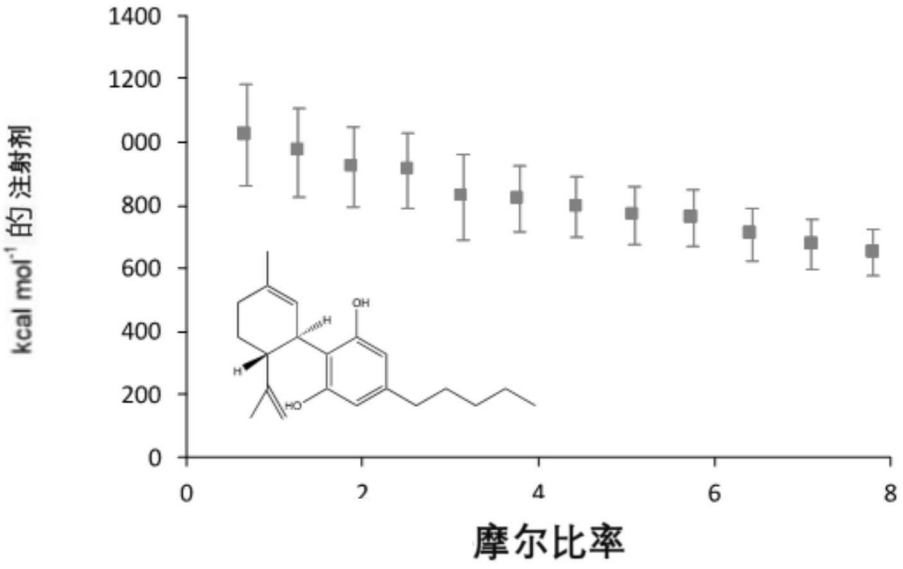

1400
1200
000
800
600
400
200
0
0
2
4
6
8
kcal mol-1 的注射剂
摩尔比率
OH
H
HO

图20D

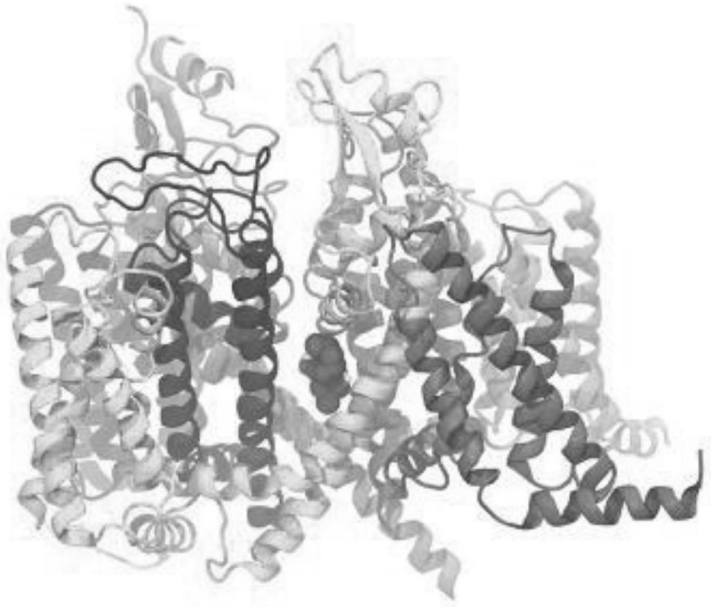


图21A

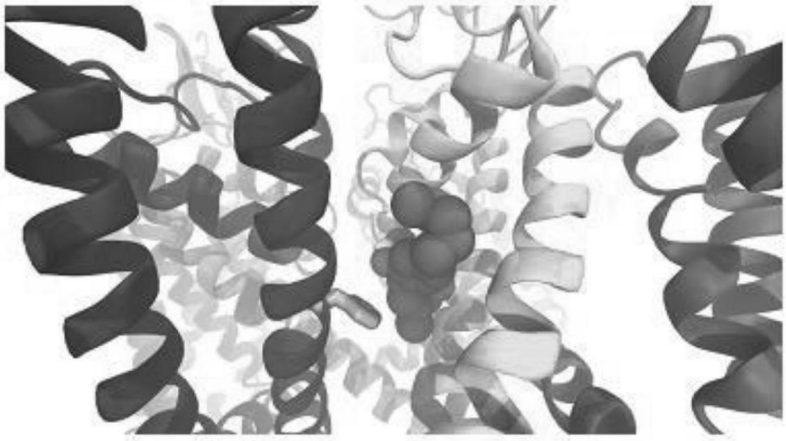


图21B

图21C

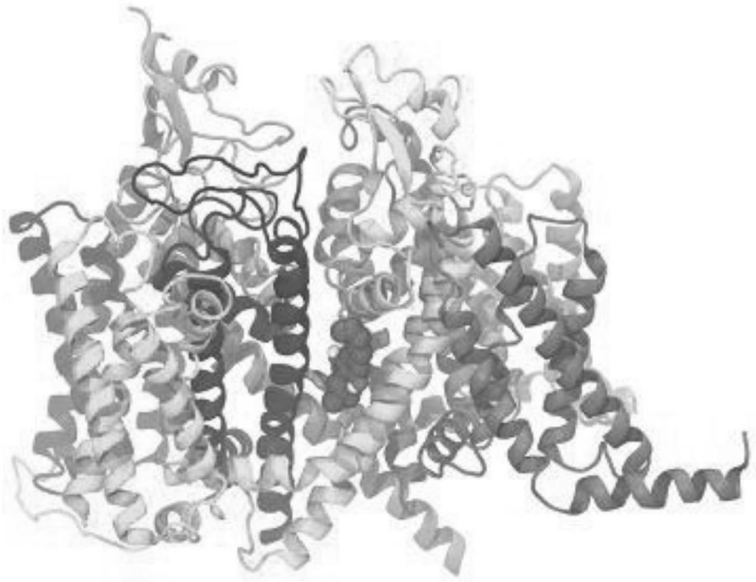


图21D

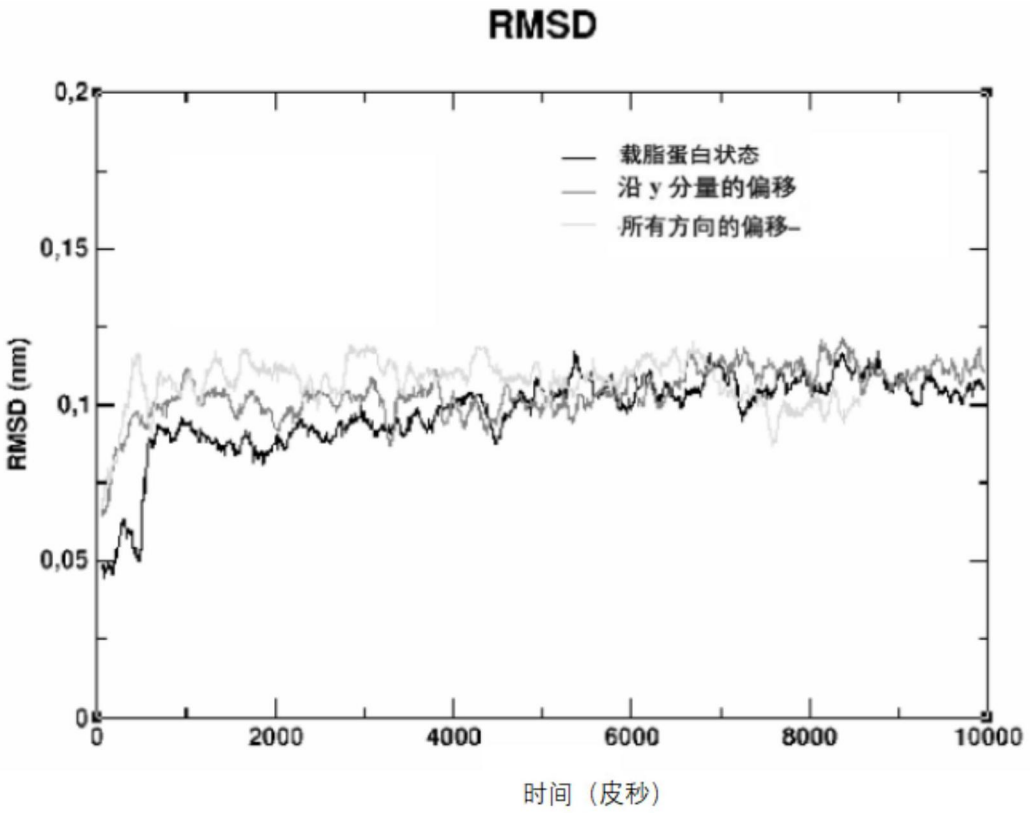

RMSD
载脂蛋白状态
沿 y 分量的偏移
所有方向的偏移
RMSD (nm)
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
2000
4000
6000
8000
10000
时间（皮秒）

图21E

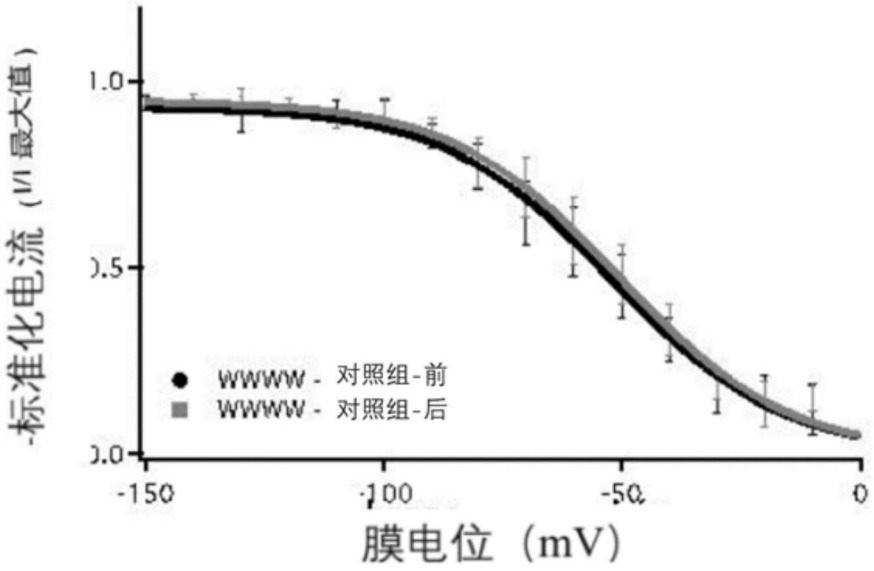

标准化电流（I/I 最大值）
1.0
0.5
0.0
-150
-100
-50
0
膜电位（mV）
WWWW - 对照组-前
WWWW - 对照组-后

图22A

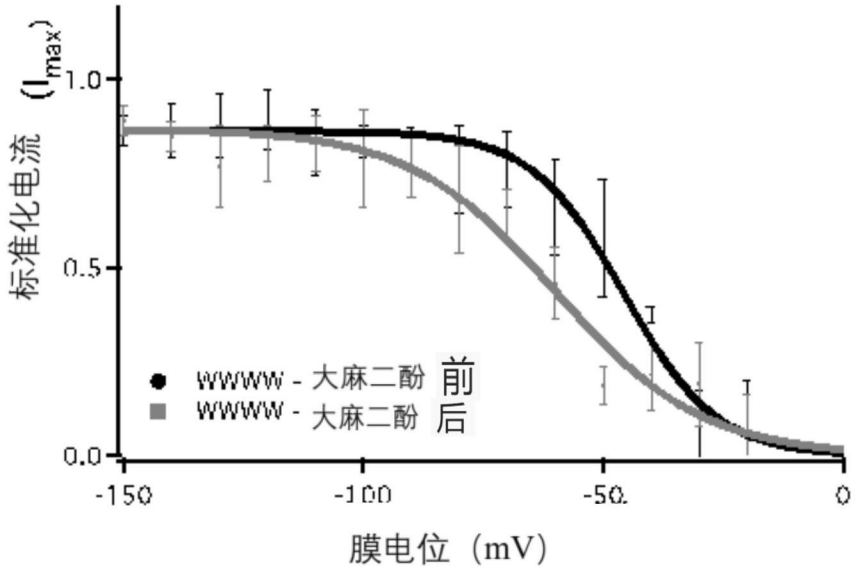

标准化电流 (I_{max})
1.0
0.5
0.0
-150
-100
-50
0
膜电位（mV）
WWWW - 大麻二酚 前
WWWW - 大麻二酚 后

图22B

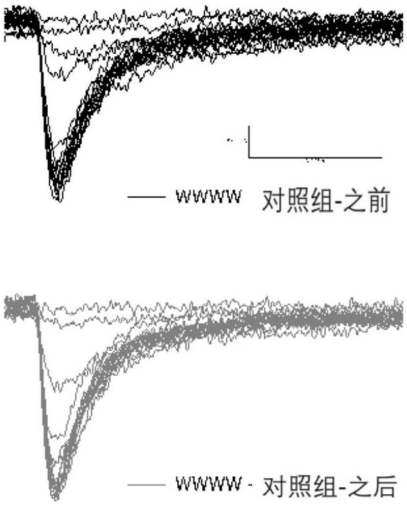


图22C

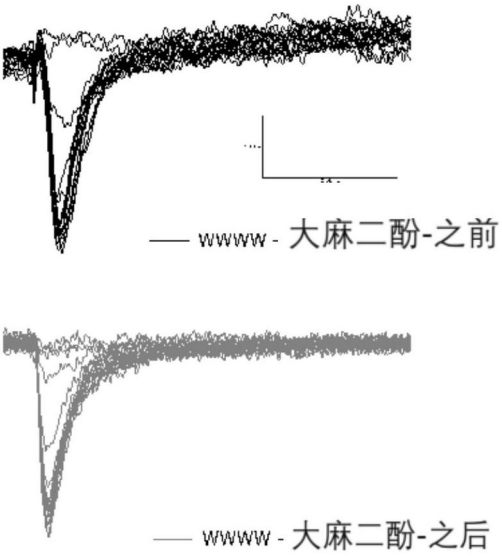


图22D

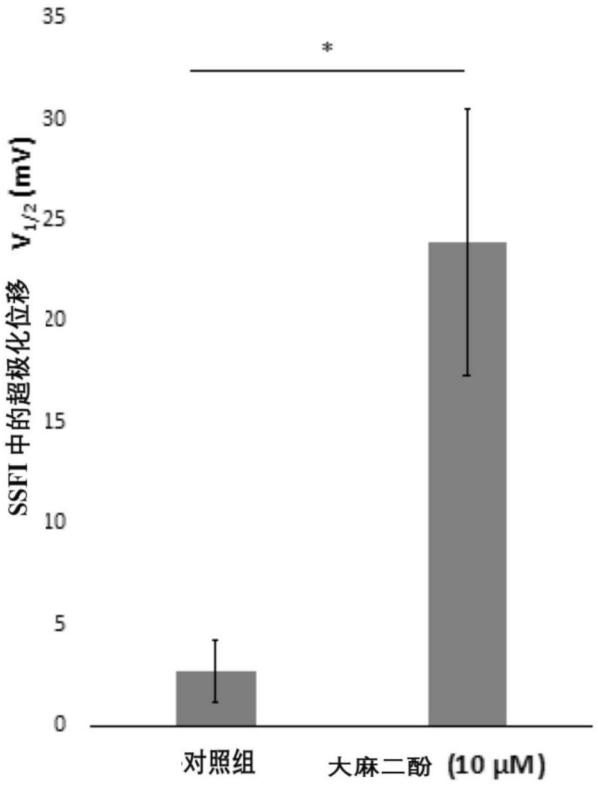

35
30
25
20
15
10
5
0
*
SSFI 中的超极化位移 $V_{1/2}$ (mV)
对照组
大麻二酚 (10 μM)

图22E

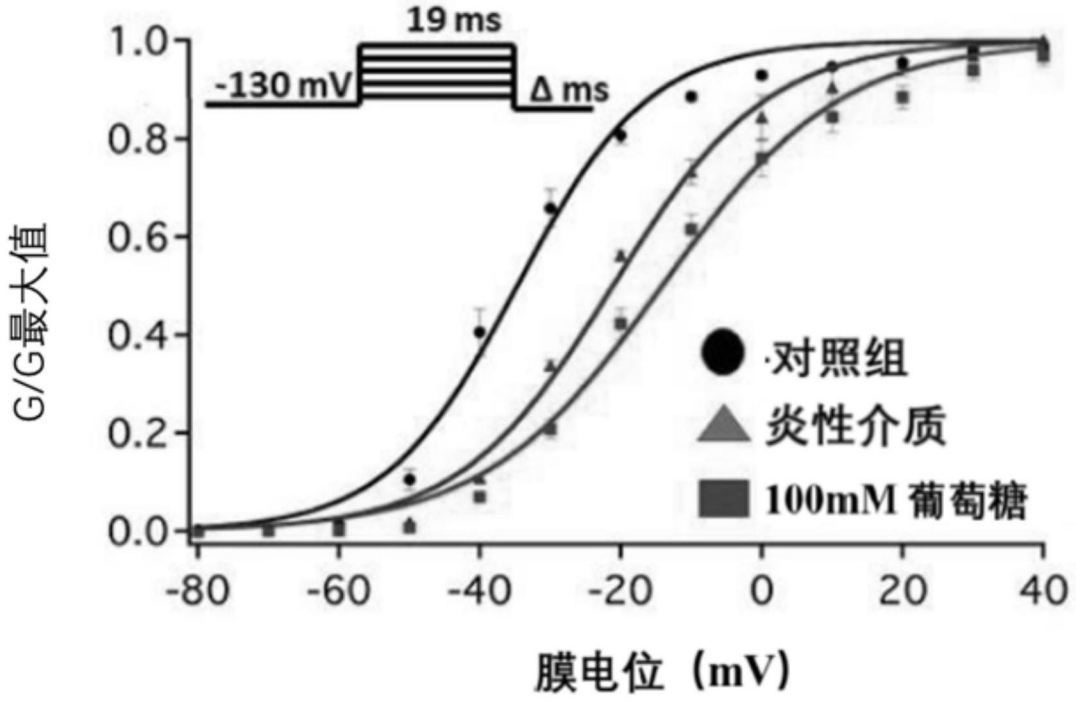

19 ms
-130 mV
Δ ms
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
G/G最大值
-80
-60
-40
-20
0
20
40
膜电位（mV）
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23A

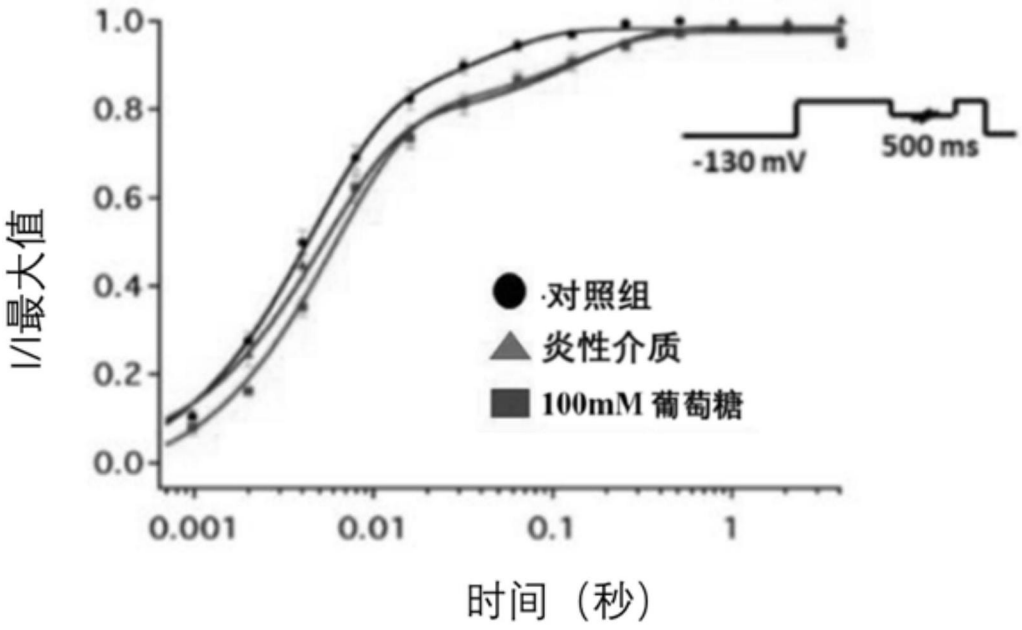

1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I最大值
0.001
0.01
0.1
1
时间（秒）
-130 mV
500 ms
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23B

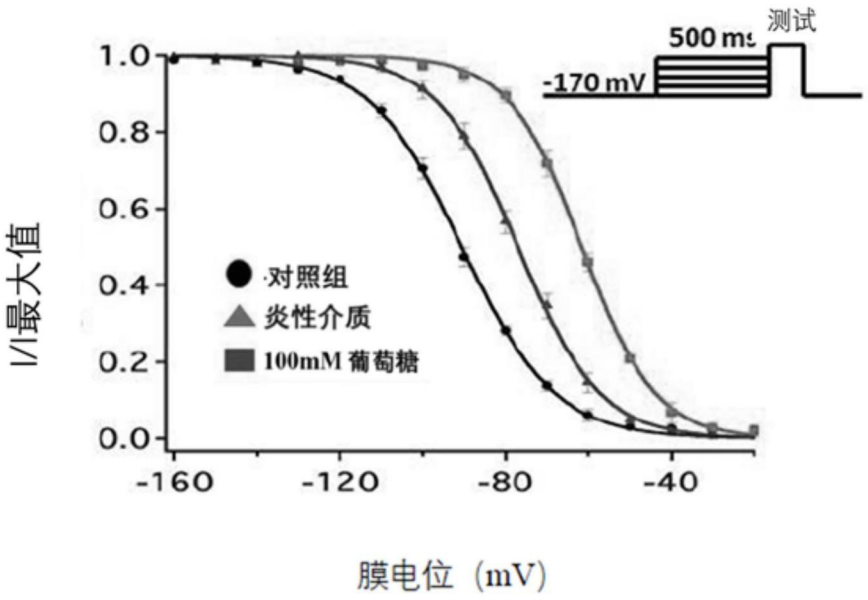

测试
500 ms
-170 mV
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I最大值
-160
-120
-80
-40
膜电位（mV）
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23C

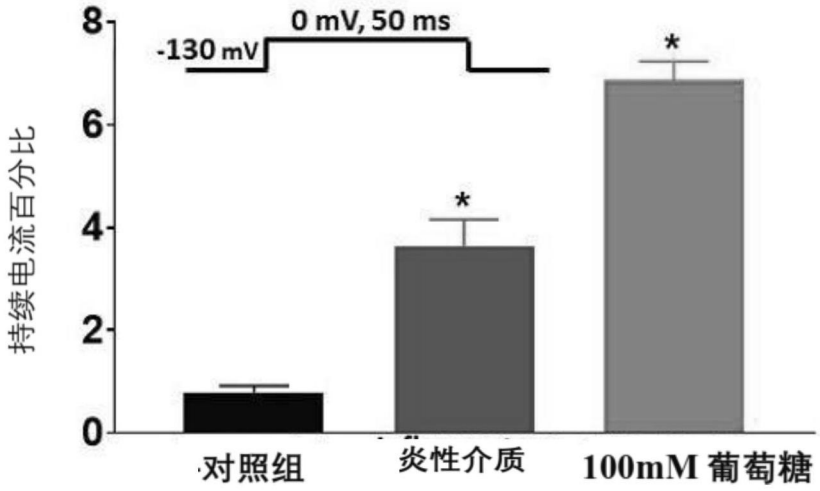

0 mV, 50 ms
-130 mV
持续电流百分比
8
6
4
2
0
*
*
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23D

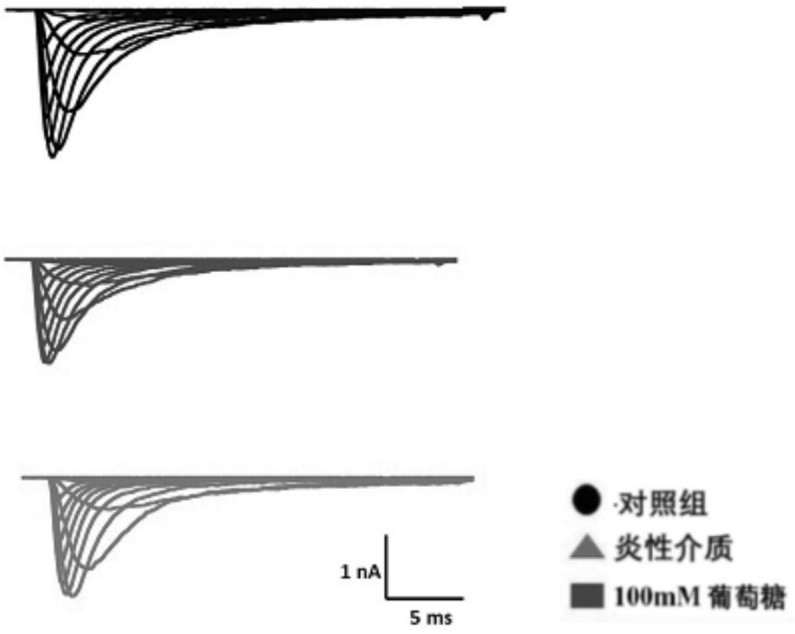

1 nA
5 ms
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23E

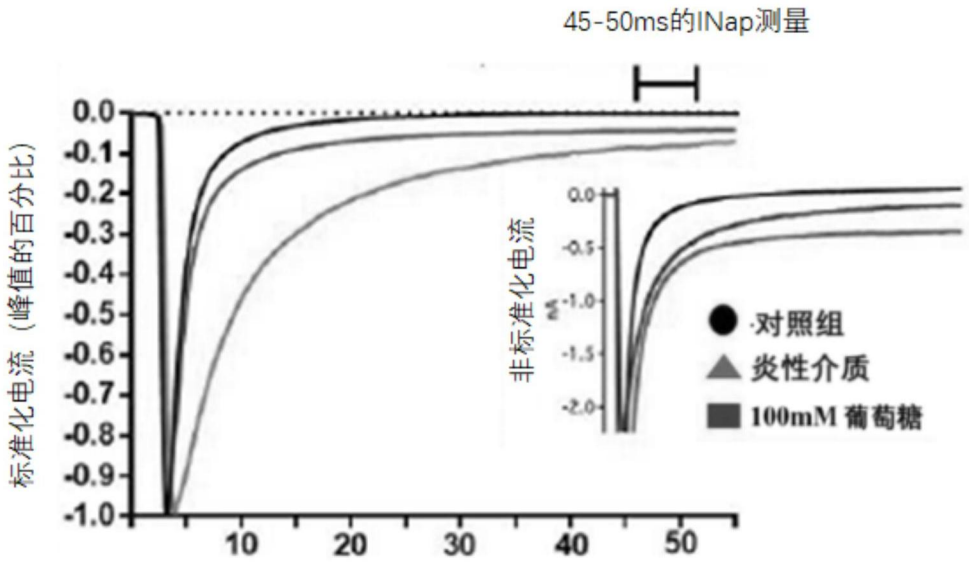

45-50ms的INap测量
标准化电流（峰值的百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
10
20
30
40
50
非标准化电流
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23F

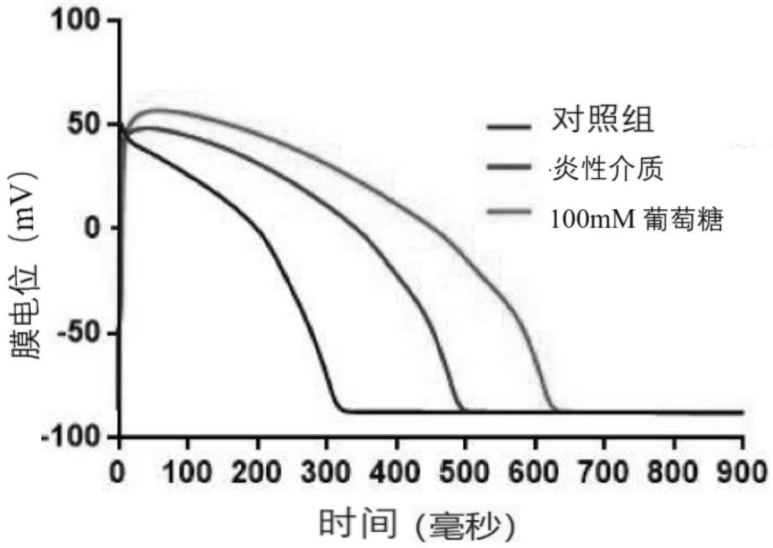

膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
时间（毫秒）
对照组
炎性介质
100mM 葡萄糖

图23G

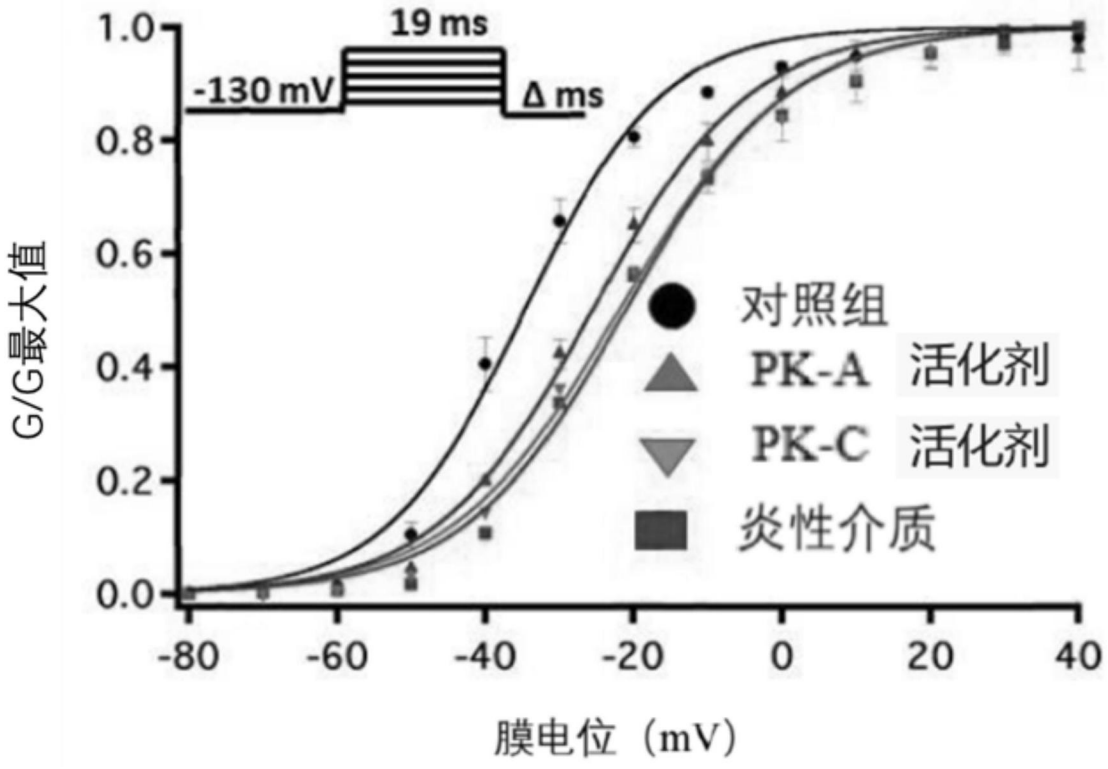

19 ms
-130 mV
Δ ms
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
G/G最大值
对照组
PK-A 活化剂
PK-C 活化剂
炎性介质
-80
-60
-40
-20
0
20
40
膜电位（mV）

图24A

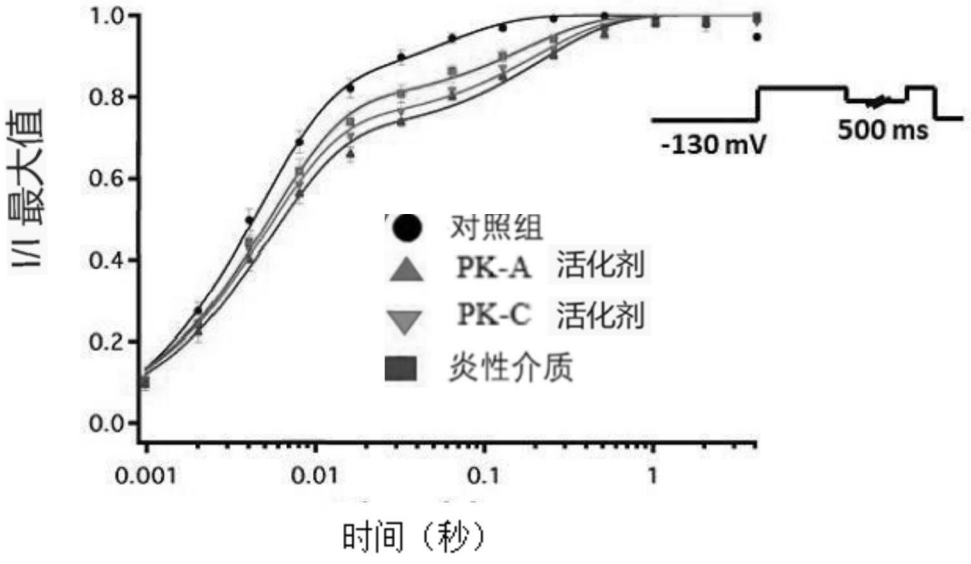

1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I 最大值
-130 mV
500 ms
对照组
PK-A 活化剂
PK-C 活化剂
炎性介质
0.001
0.01
0.1
1
时间（秒）

图24B

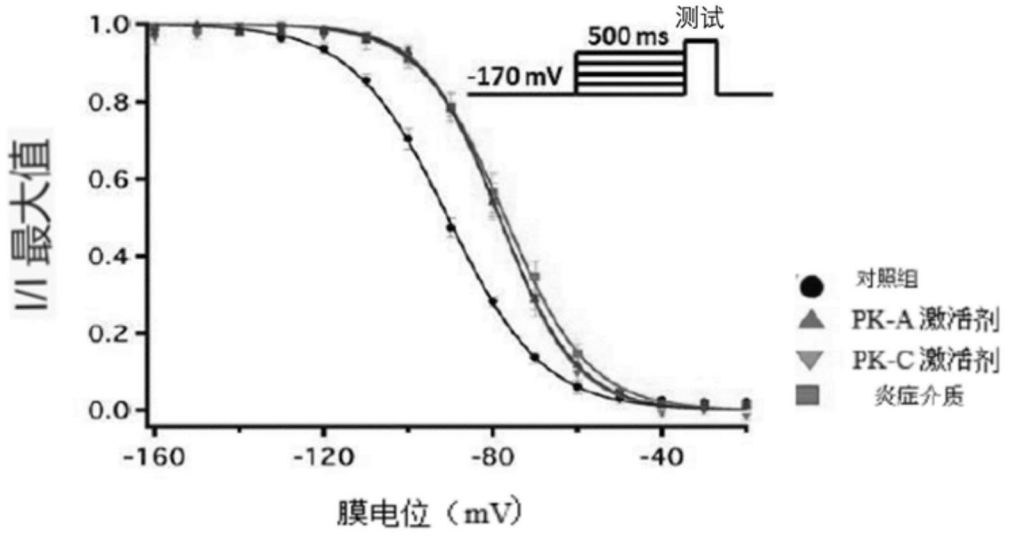

测试
500 ms
-170 mV
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I 最大值
-160
-120
-80
-40
膜电位（mV）
对照组
PK-A 激活剂
PK-C 激活剂
炎症介质

图24C

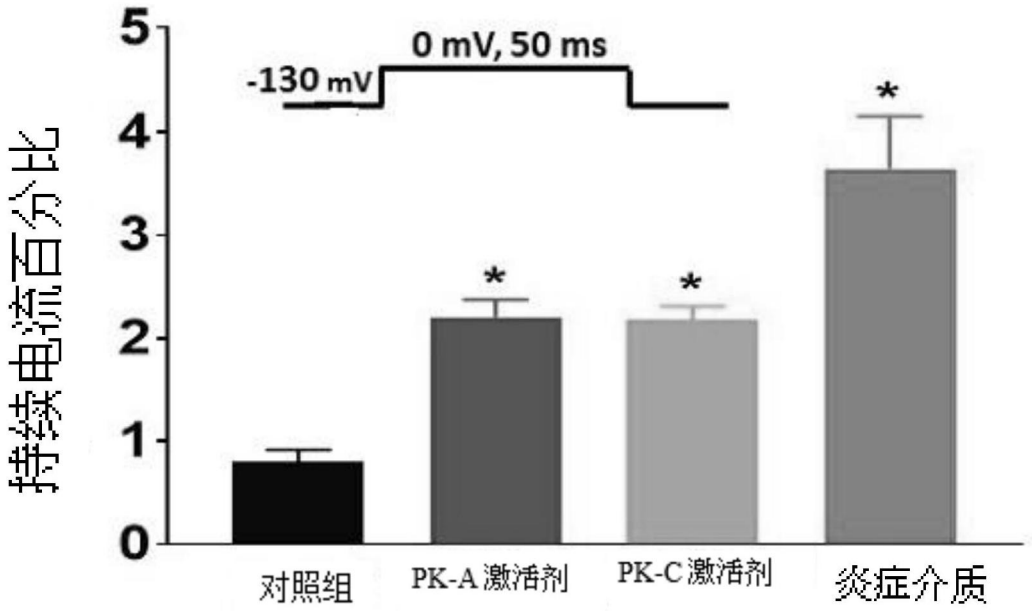

0 mV, 50 ms
-130 mV
持续电流百分比
5
4
3
2
1
0
*
*
*
对照组
PK-A 激活剂
PK-C 激活剂
炎症介质

图24D

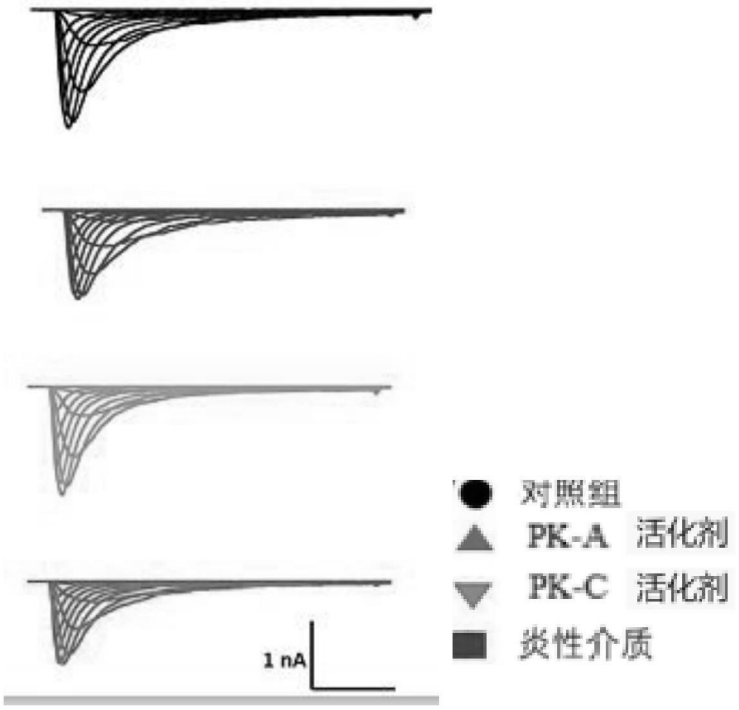

1 nA
对照组
PK-A 活化剂
PK-C 活化剂
炎性介质

图24E

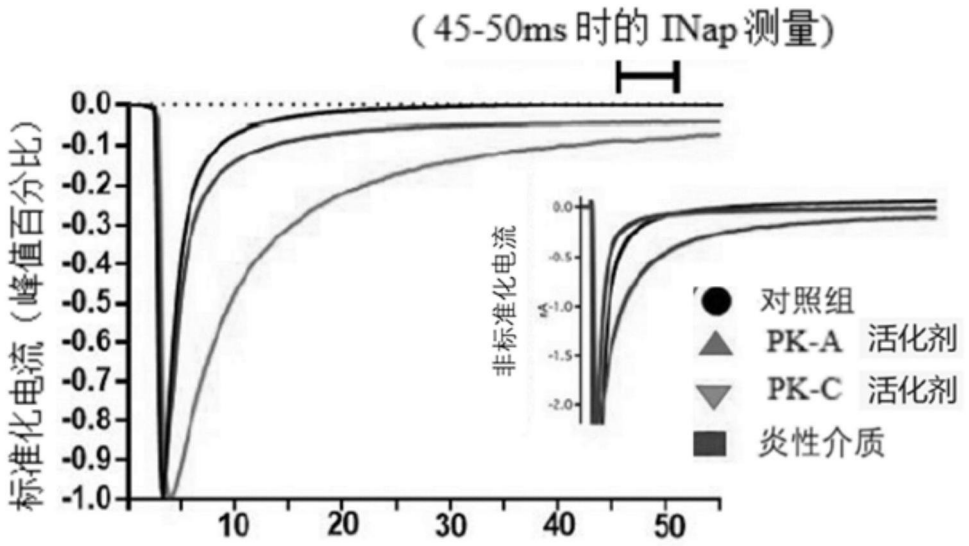

(45-50ms 时的 INap 测量)
标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
10
20
30
40
50
非标准化电流
对照组
PK-A 活化剂
PK-C 活化剂
炎性介质

图24F

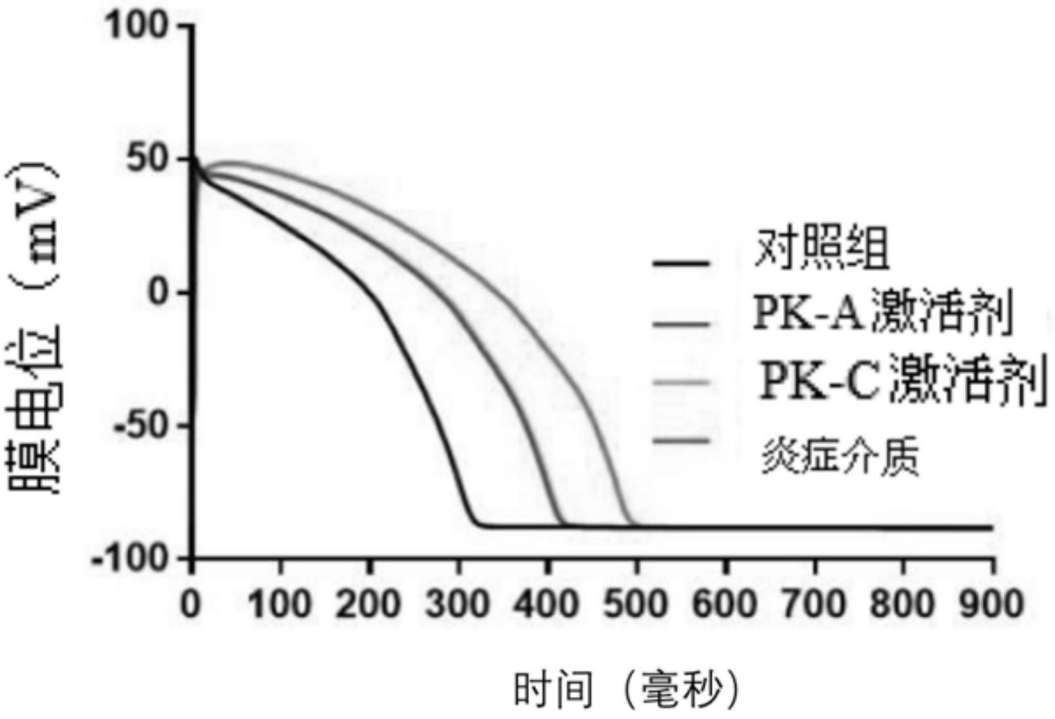

100
50
0
-50
-100
膜电位（mV）
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900
时间（毫秒）
对照组
PK-A激活剂
PK-C激活剂
炎症介质

图24G

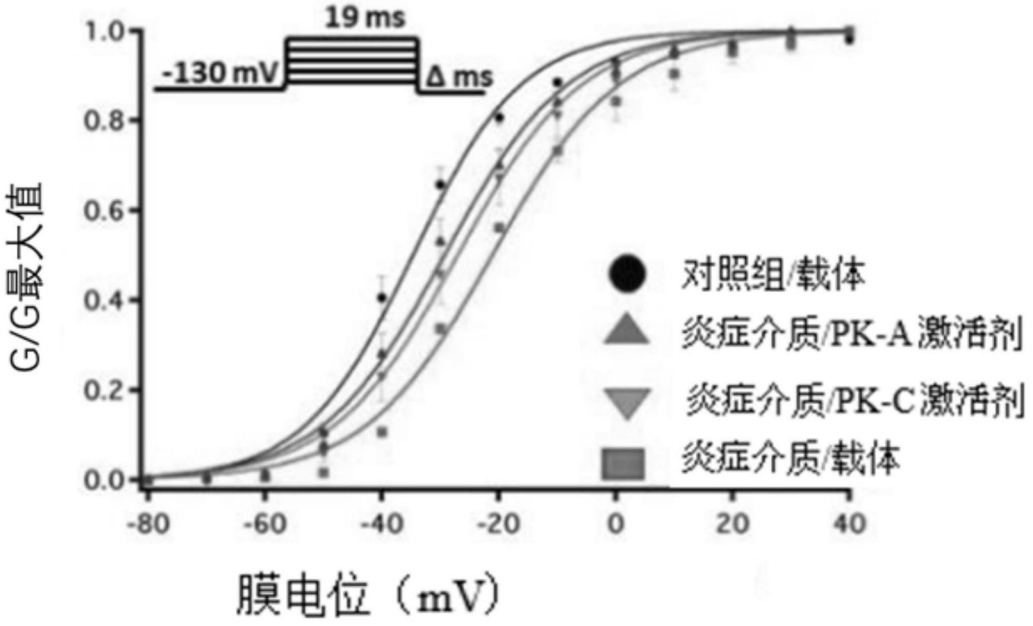

19 ms
-130 mV
Δ ms
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
G/G最大值
-80 -60 -40 -20 0 20 40
膜电位（mV）
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25A

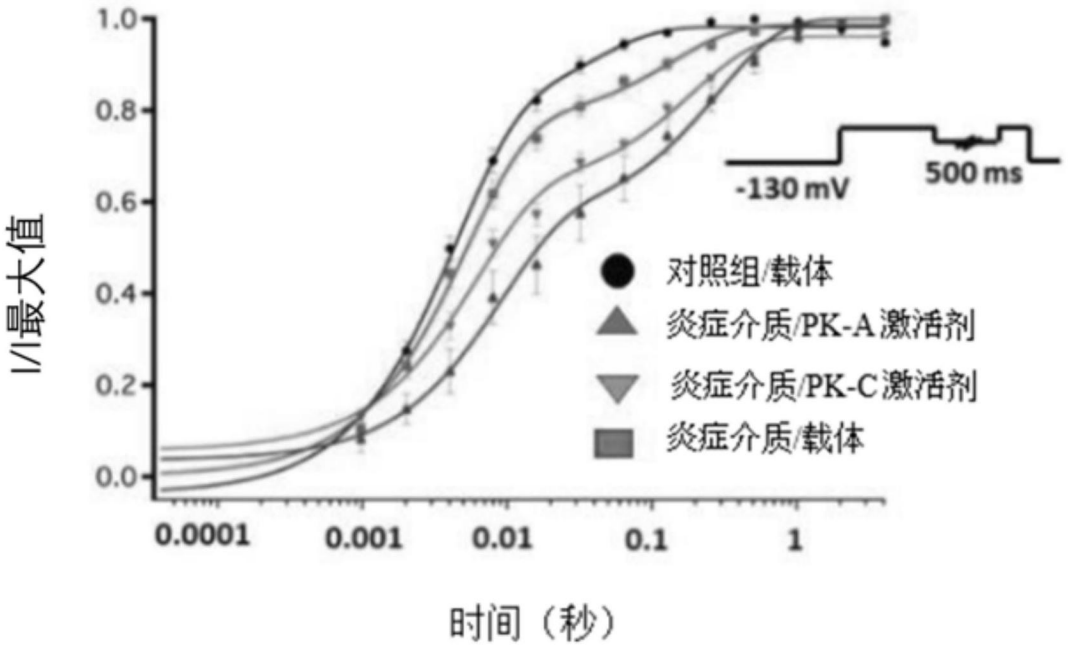

1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I最大值
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
时间（秒）
-130 mV
500 ms
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25B

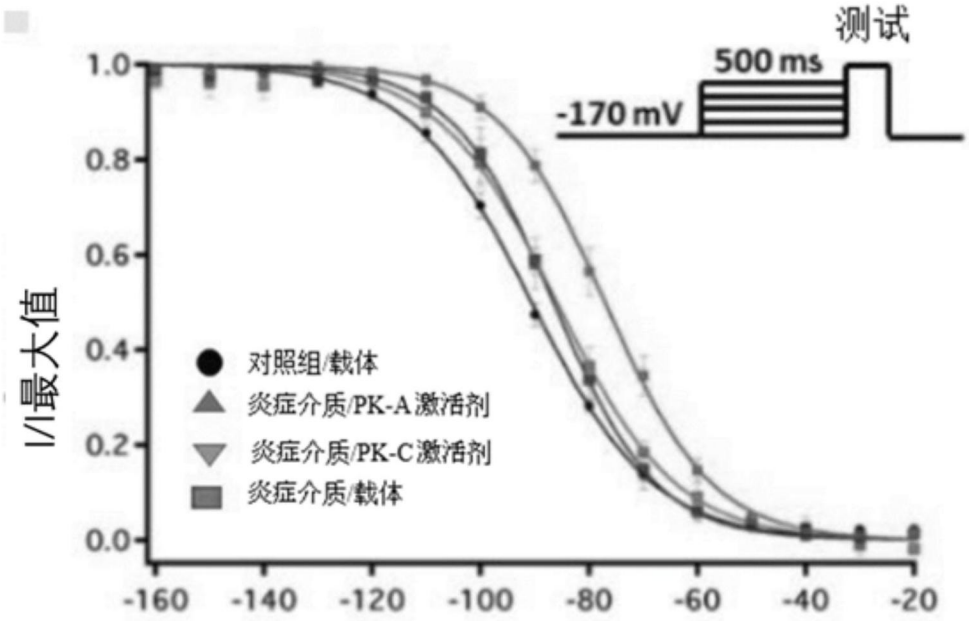

测试
500 ms
-170 mV
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I最大值
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25C

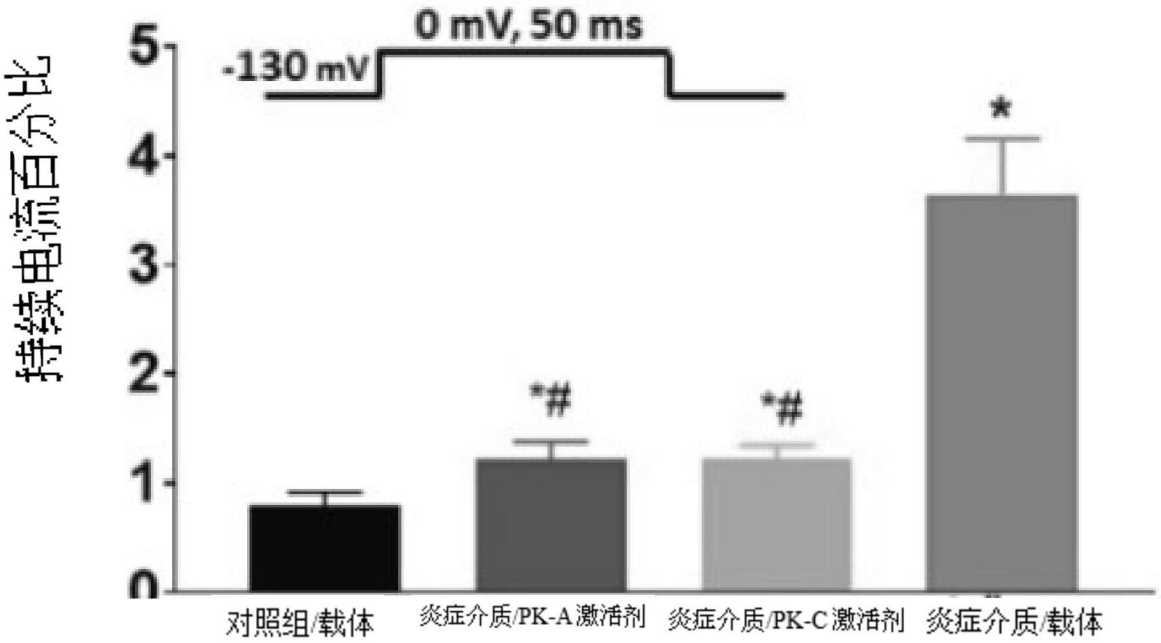

0 mV, 50 ms
-130 mV
持续电流百分比
5
4
3
2
1
0
*#
*#
*
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25D

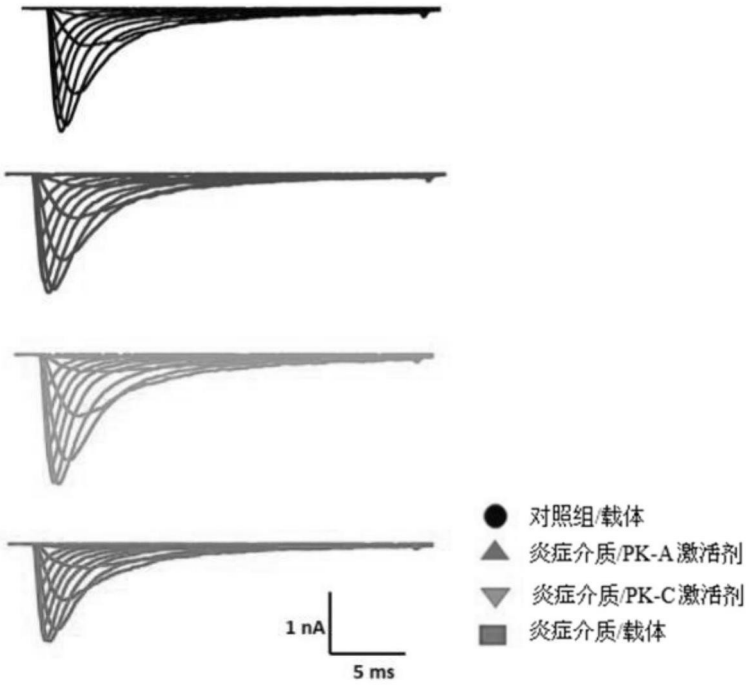

1 nA
5 ms
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25E

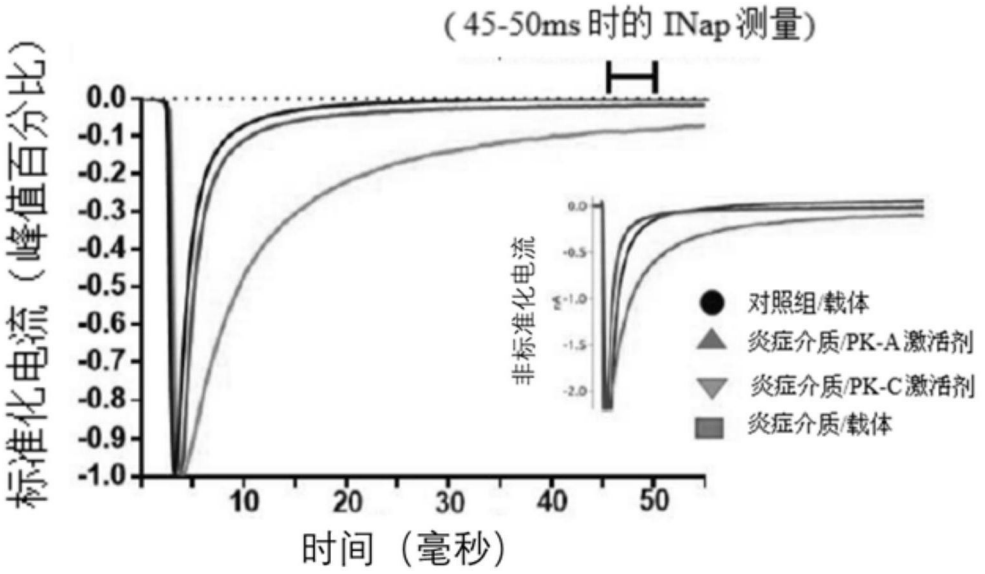

(45-50ms时的 INap 测量)
标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
10
20
30
40
50
时间（毫秒）
非标准化电流
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25F

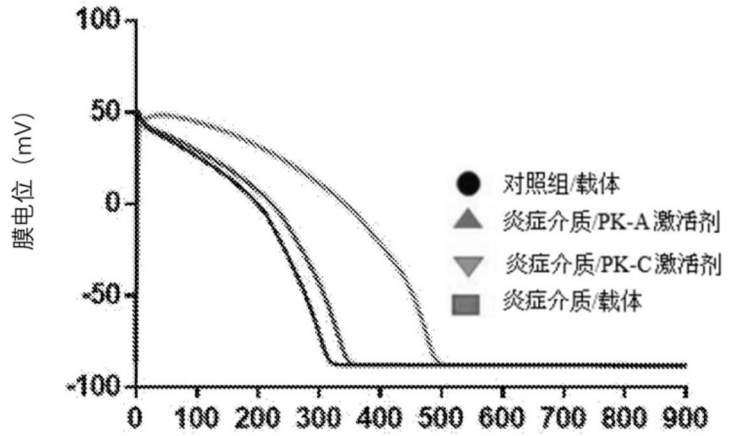

膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
对照组/载体
炎症介质/PK-A激活剂
炎症介质/PK-C激活剂
炎症介质/载体

图25G

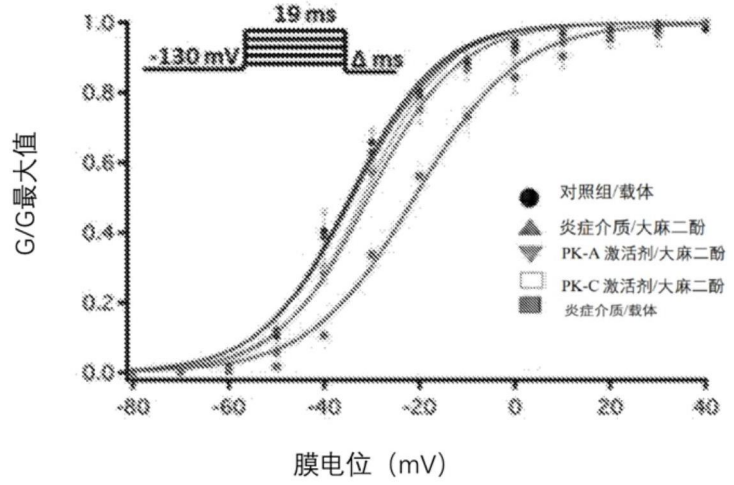

19 ms
-130 mV
Δ ms
G/G最大值
膜电位（mV）
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A 激活剂/大麻二酚
PK-C 激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体

图26A

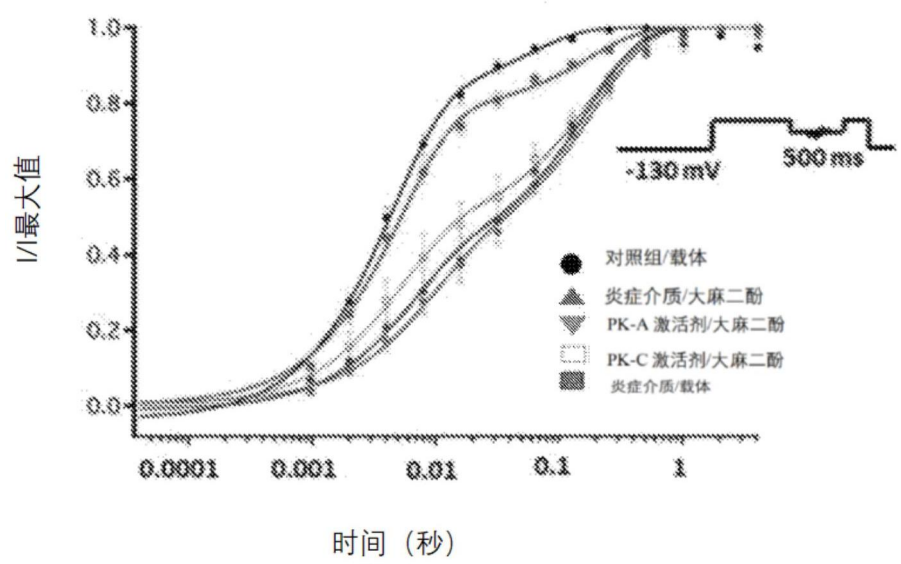

I/I最大值
-130 mV
500 ms
时间（秒）
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A 激活剂/大麻二酚
PK-C 激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体

图26B

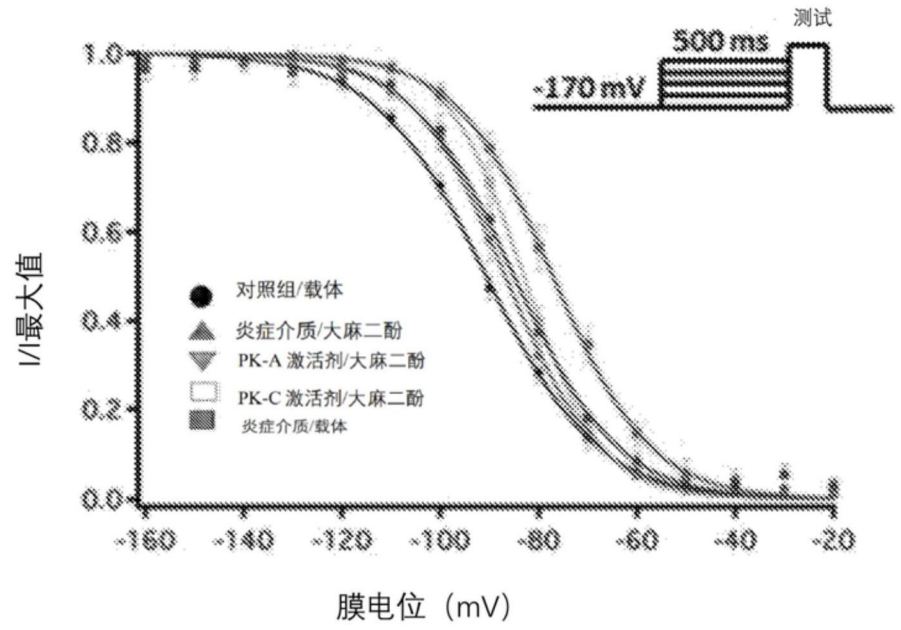

测试
500 ms
-170 mV
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
I/I最大值
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A 激活剂/大麻二酚
PK-C 激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）

图26C

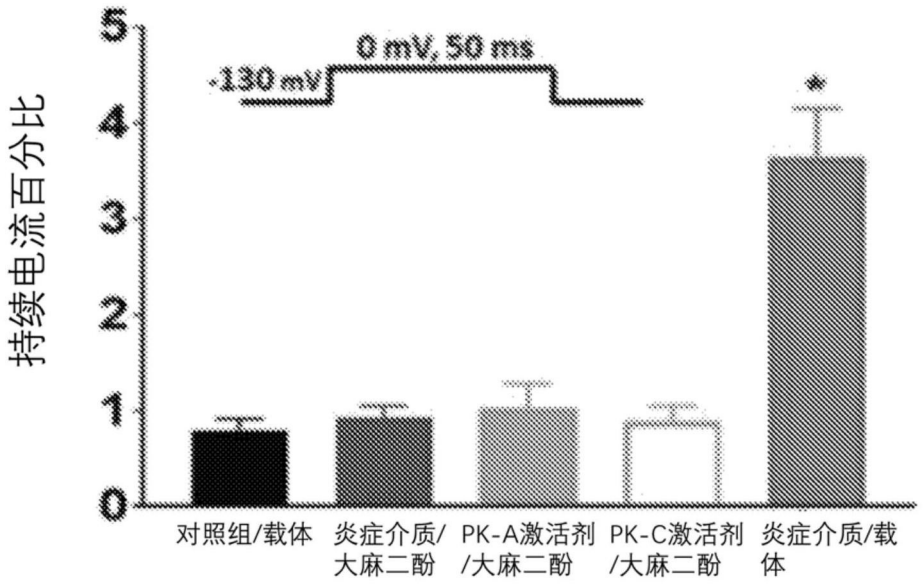

0 mV, 50 ms
-130 mV
持续电流百分比
5
4
3
2
1
0
*
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A激活剂/大麻二酚
PK-C激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体

图26D

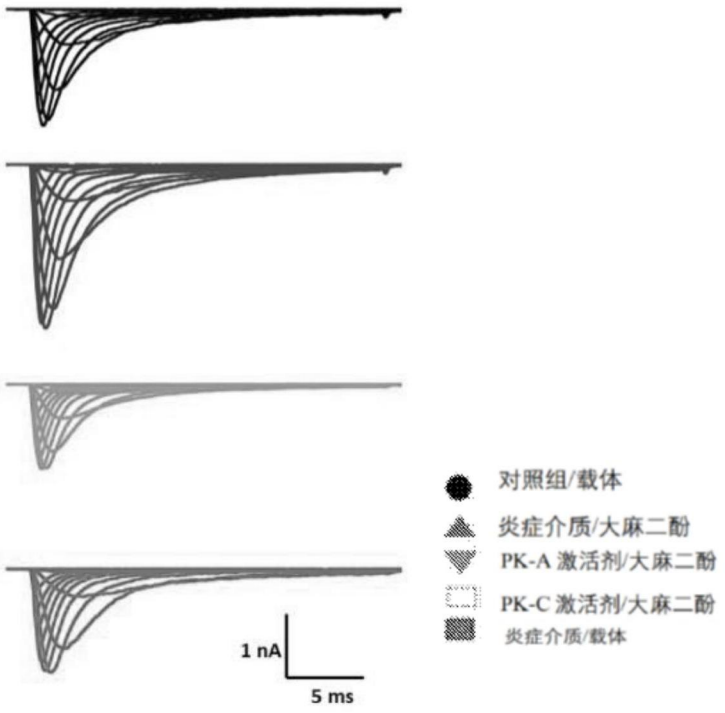

1 nA
5 ms
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A 激活剂/大麻二酚
PK-C 激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体

图26E

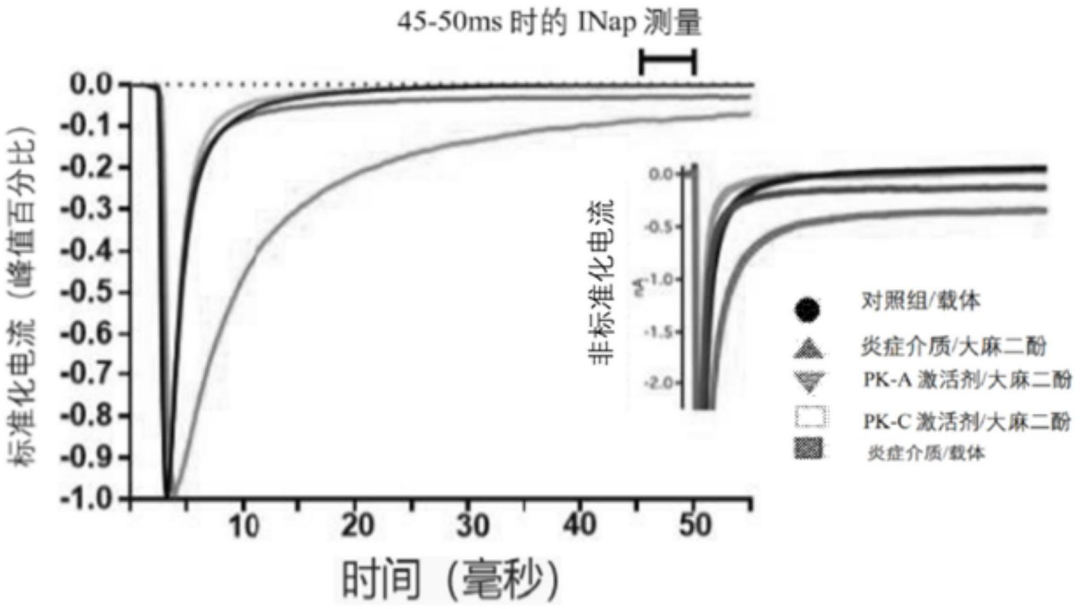

45-50ms 时的 INap 测量
标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
10
20
30
40
50
时间（毫秒）
非标准化电流
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A 激活剂/大麻二酚
PK-C 激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体

图26F

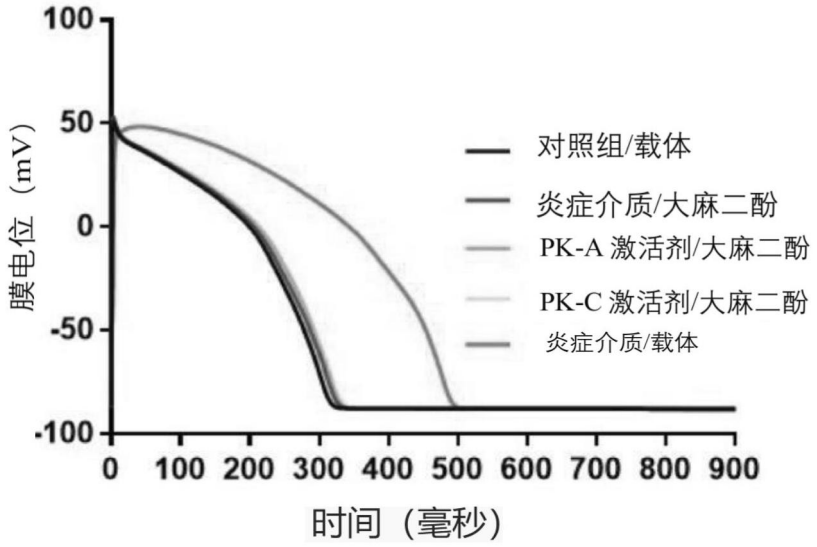

100
50
0
-50
-100
膜电位（mV）
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900
时间（毫秒）
对照组/载体
炎症介质/大麻二酚
PK-A 激活剂/大麻二酚
PK-C 激活剂/大麻二酚
炎症介质/载体

图26G

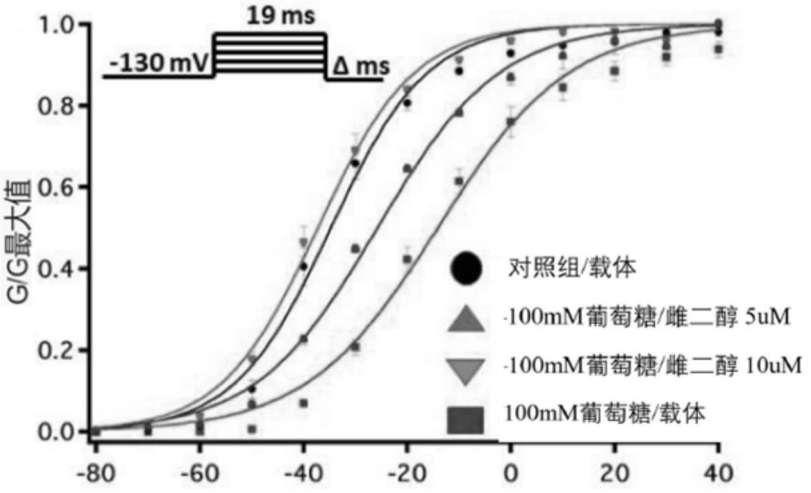

19 ms
-130 mV
Δ ms
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
G/G最大值
-80 -60 -40 -20 0 20 40
对照组/载体
100mM葡萄糖/雌二醇 5uM
100mM葡萄糖/雌二醇 10uM
100mM葡萄糖/载体

图27A

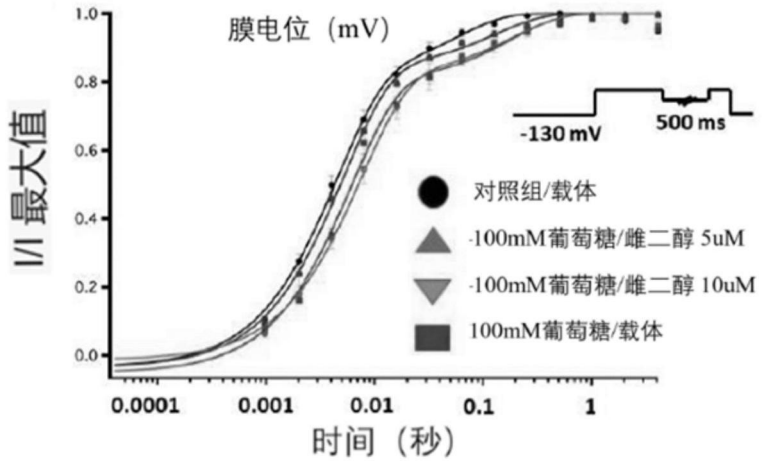

膜电位（mV）
-130 mV
500 ms
对照组/载体
100mM葡萄糖/雌二醇 5uM
100mM葡萄糖/雌二醇 10uM
100mM葡萄糖/载体
I/I 最大值
时间（秒）
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1

图27B

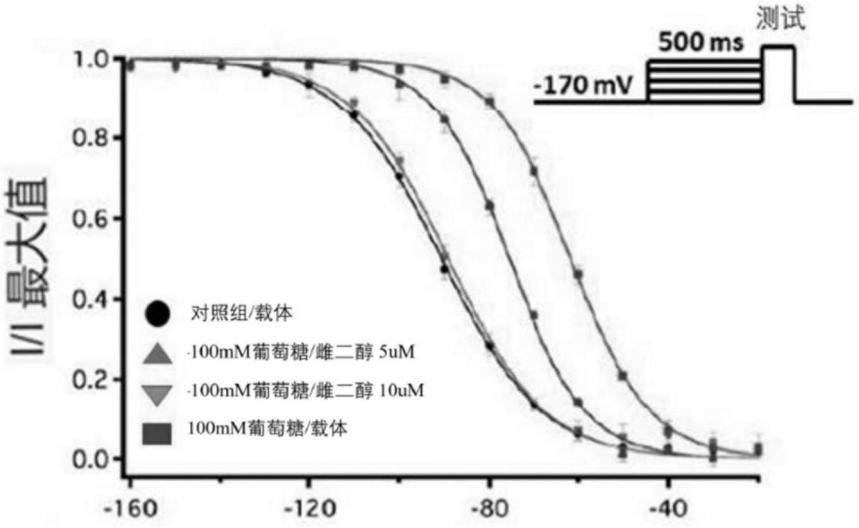

测试
500 ms
-170 mV
对照组/载体
100mM葡萄糖/雌二醇 5uM
100mM葡萄糖/雌二醇 10uM
100mM葡萄糖/载体
I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-120
-80
-40

图27C

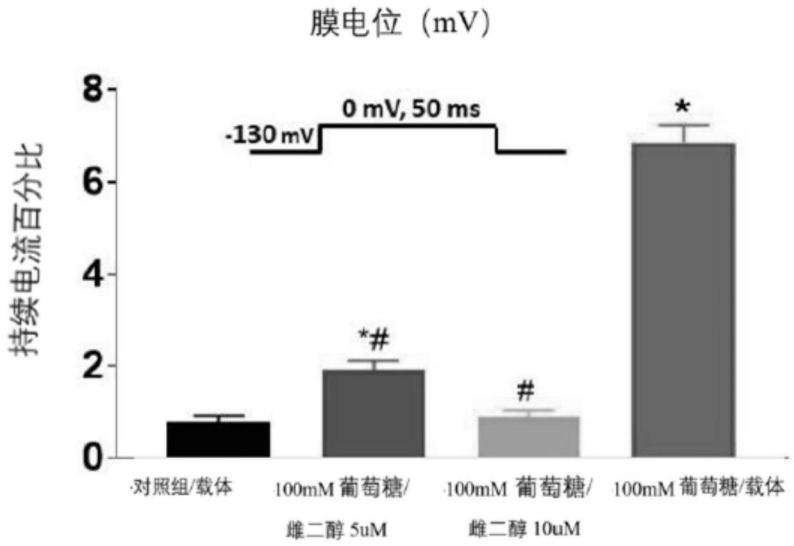

膜电位（mV）
持续电流百分比
8
6
4
2
0
-130 mV
0 mV, 50 ms
*
*#
#
对照组/载体
100mM 葡萄糖/
雌二醇 5uM
100mM 葡萄糖/
雌二醇 10uM
100mM 葡萄糖/载体

图27D

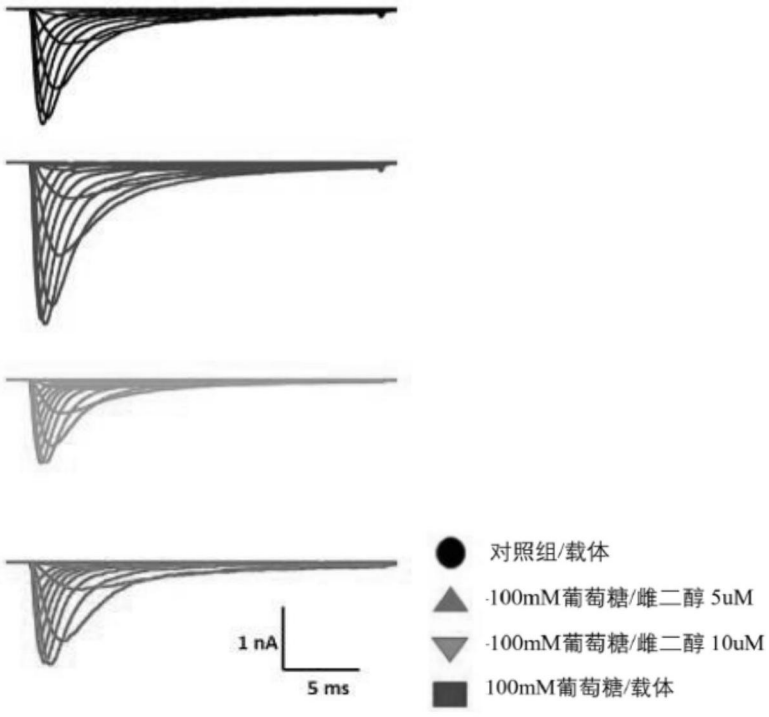

1 nA
5 ms
对照组/载体
100mM葡萄糖/雌二醇 5uM
100mM葡萄糖/雌二醇 10uM
100mM葡萄糖/载体

图27E

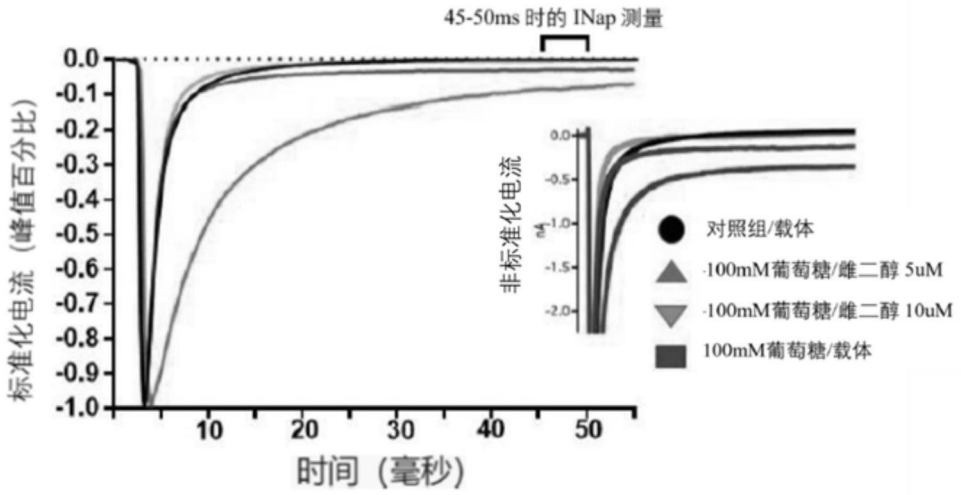

45-50ms 时的 INap 测量
标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
10
20
30
40
50
时间（毫秒）
非标准化电流
对照组/载体
100mM葡萄糖/雌二醇 5uM
100mM葡萄糖/雌二醇 10uM
100mM葡萄糖/载体

图27F

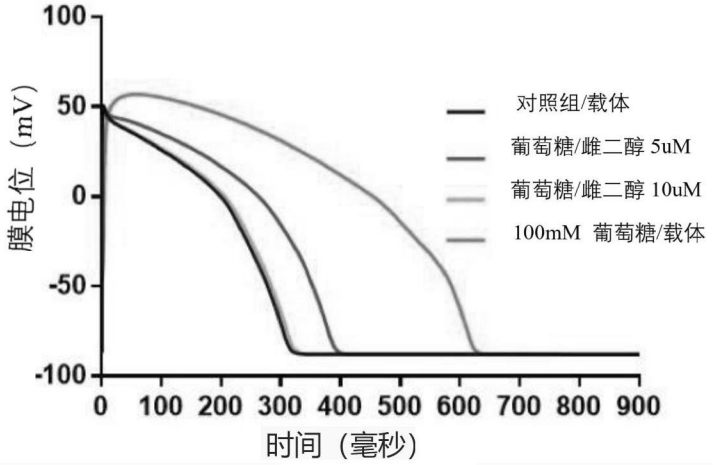

膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
时间（毫秒）
对照组/载体
葡萄糖/雌二醇 5uM
葡萄糖/雌二醇 10uM
100mM 葡萄糖/载体

图27G

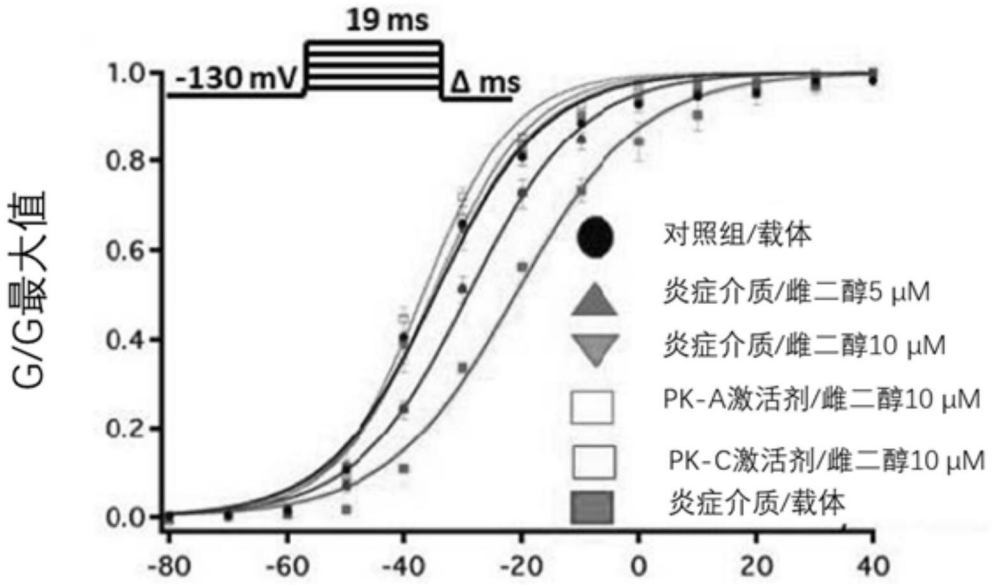

19 ms
-130 mV
Δ ms
G/G最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-80
-60
-40
-20
0
20
40
对照组/载体
炎症介质/雌二醇5 μM
炎症介质/雌二醇10 μM
PK-A激活剂/雌二醇10 μM
PK-C激活剂/雌二醇10 μM
炎症介质/载体

图28A

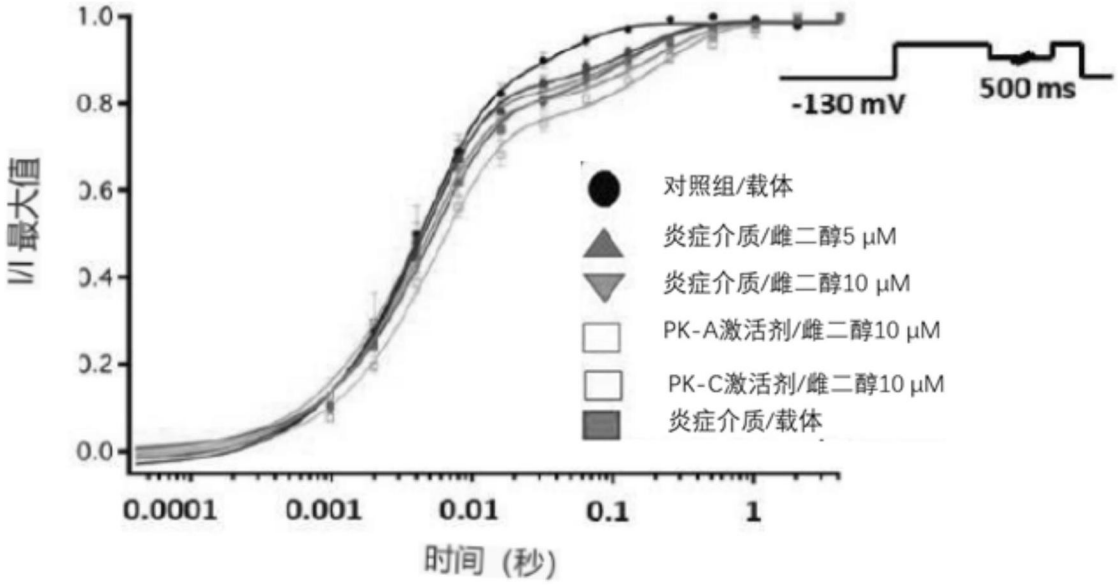

I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
时间 (秒)
-130 mV
500 ms
对照组/载体
炎症介质/雌二醇5 μM
炎症介质/雌二醇10 μM
PK-A激活剂/雌二醇10 μM
PK-C激活剂/雌二醇10 μM
炎症介质/载体

图28B

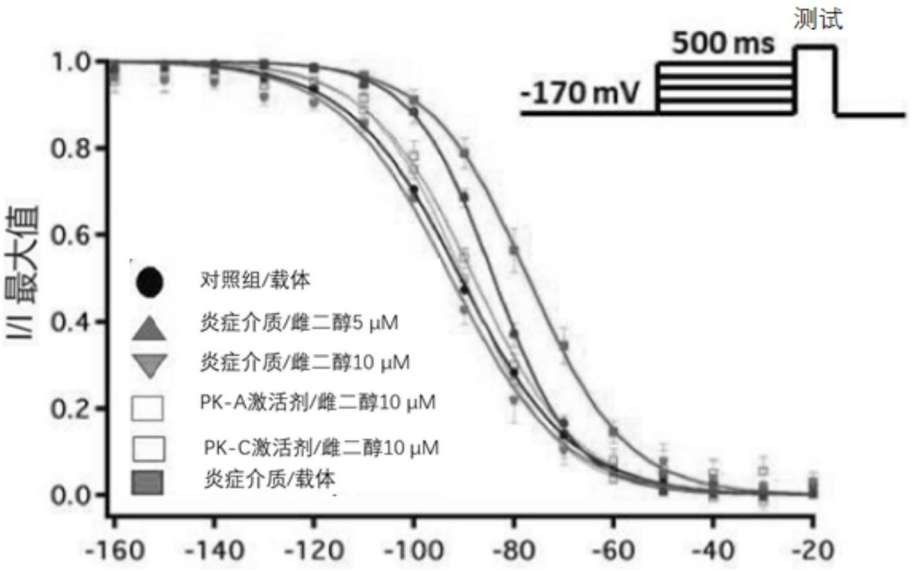

测试
500 ms
-170 mV
I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
对照组/载体
炎症介质/雌二醇5 μM
炎症介质/雌二醇10 μM
PK-A激活剂/雌二醇10 μM
PK-C激活剂/雌二醇10 μM
炎症介质/载体

图28C

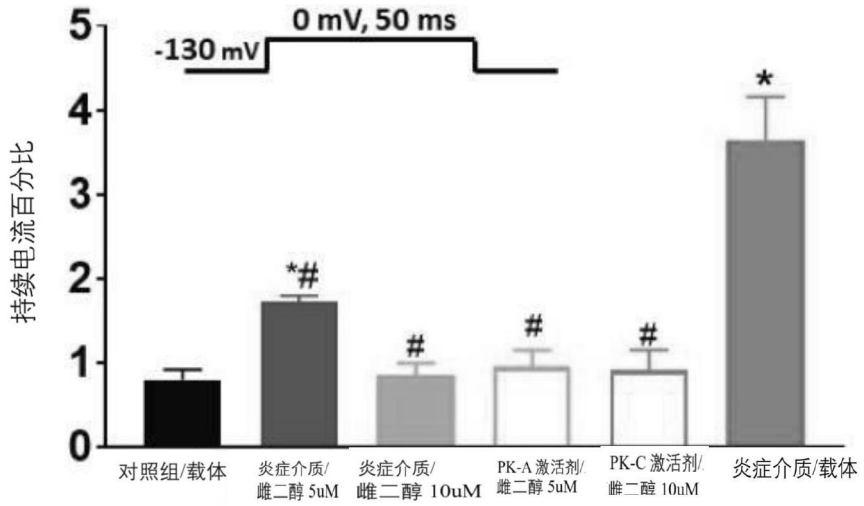

0 mV, 50 ms
-130 mV
持续电流百分比
5
4
3
2
1
0
*#
#
#
#
*
对照组/载体
炎症介质/雌二醇 5uM
炎症介质/雌二醇 10uM
PK-A 激活剂/雌二醇 5uM
PK-C 激活剂/雌二醇 10uM
炎症介质/载体

图28D

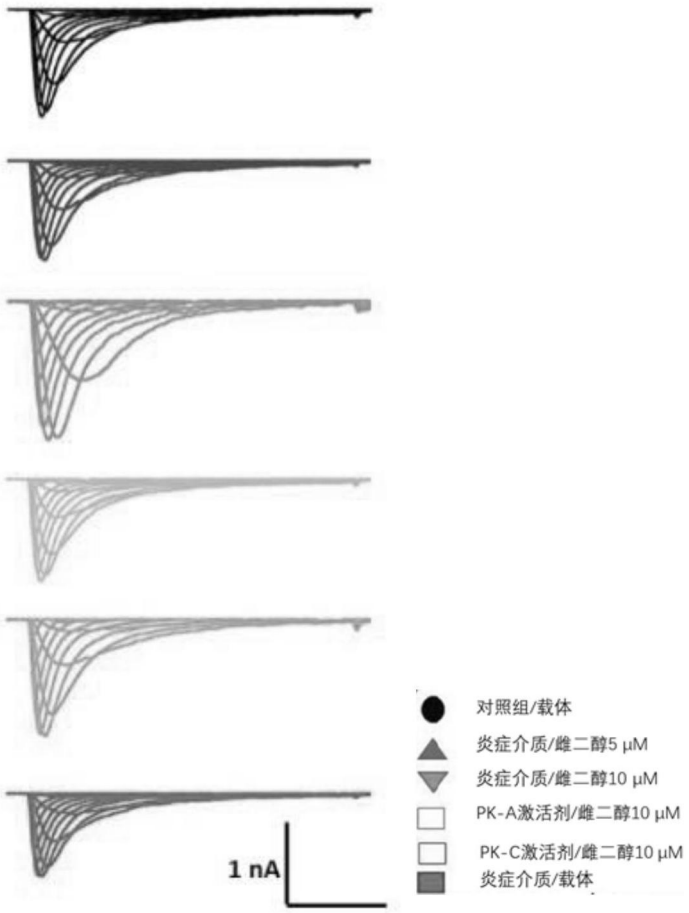

1 nA
对照组/载体
炎症介质/雌二醇5 μM
炎症介质/雌二醇10 μM
PK-A激活剂/雌二醇10 μM
PK-C激活剂/雌二醇10 μM
炎症介质/载体

图28E

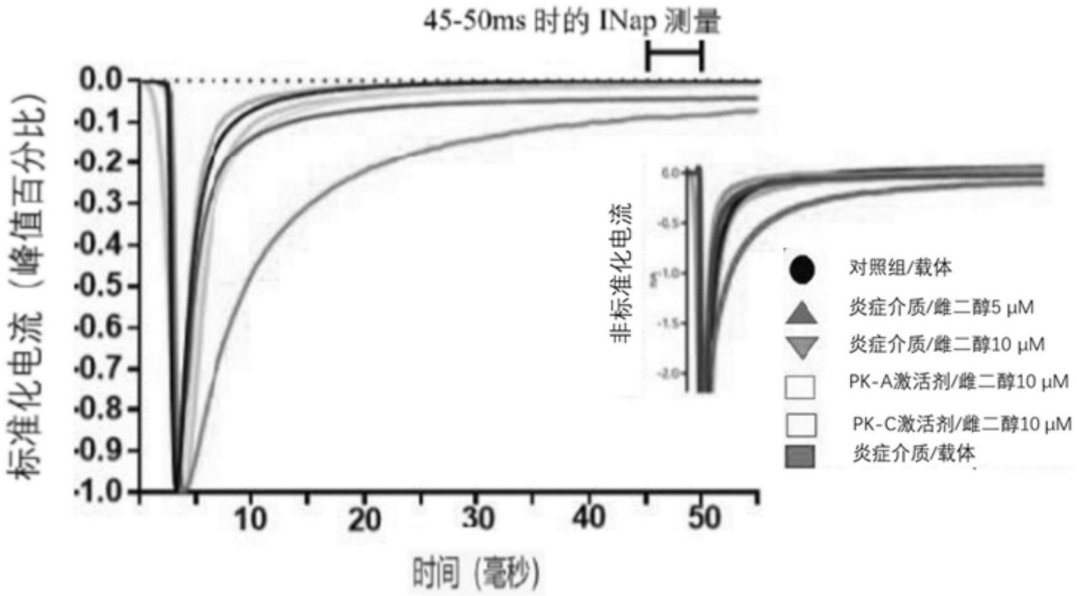

45-50ms 时的 INap 测量
标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
10
20
30
40
50
时间（毫秒）
非标准化电流
对照组/载体
炎症介质/雌二醇5 μM
炎症介质/雌二醇10 μM
PK-A激活剂/雌二醇10 μM
PK-C激活剂/雌二醇10 μM
炎症介质/载体

图28F

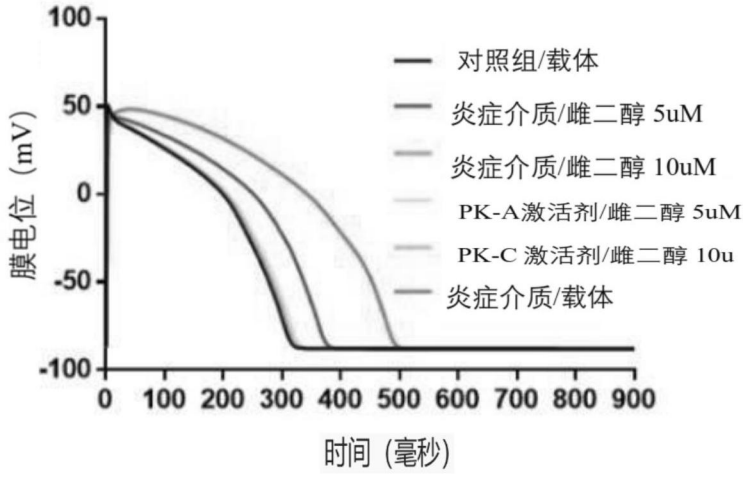

100
50
0
-50
-100
膜电位（mV）
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900
时间（毫秒）
对照组/载体
炎症介质/雌二醇 5uM
炎症介质/雌二醇 10uM
PK-A激活剂/雌二醇 5uM
PK-C 激活剂/雌二醇 10u
炎症介质/载体

图28G

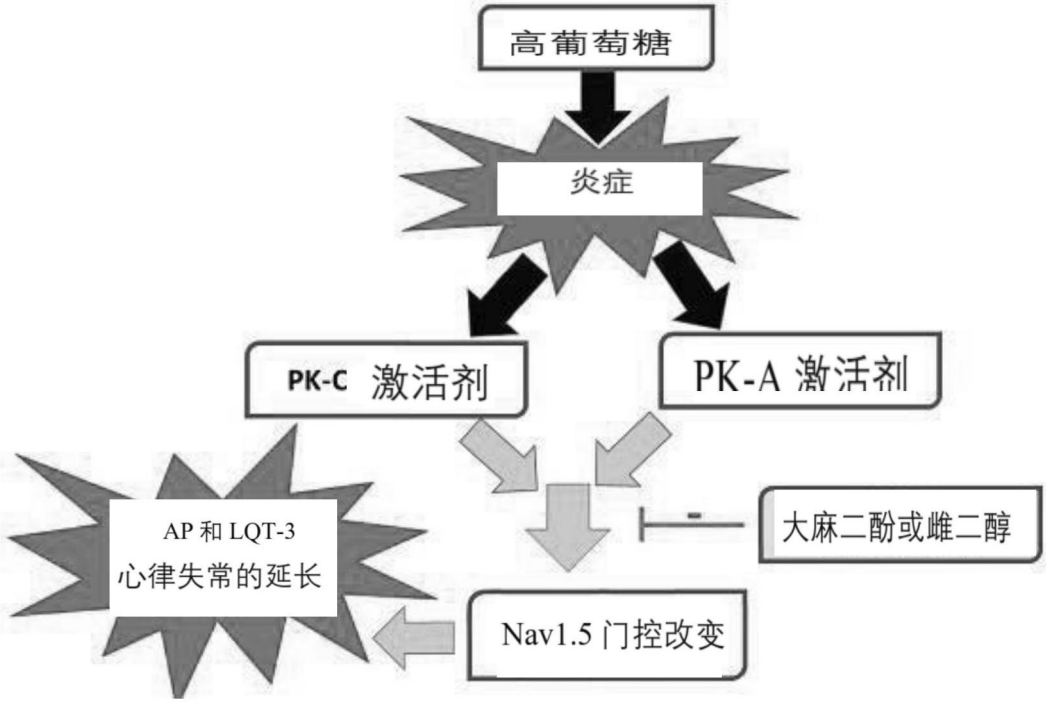

高葡萄糖
炎症
PK-C 激活剂
PK-A 激活剂
AP 和 LQT-3
心律失常的延长
大麻二酚或雌二醇
Nav1.5 门控改变

图29

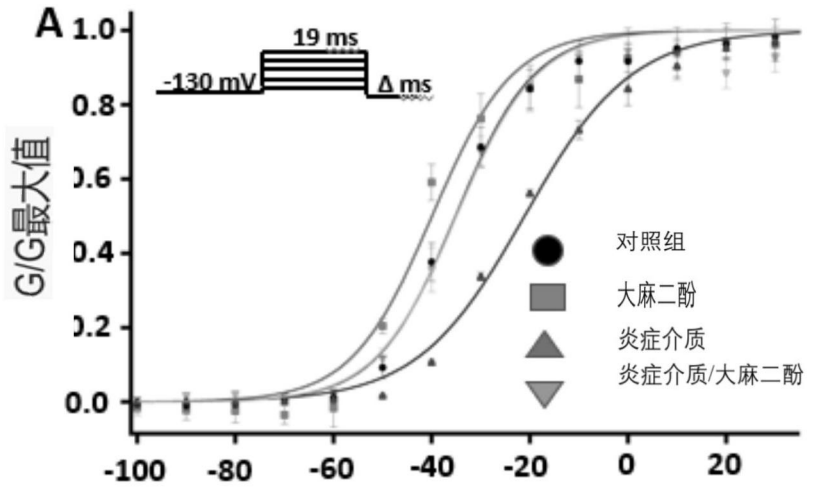

A
19 ms
-130 mV
Δ ms
G/G最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-100
-80
-60
-40
-20
0
20
对照组
大麻二酚
炎症介质
炎症介质/大麻二酚

图30A

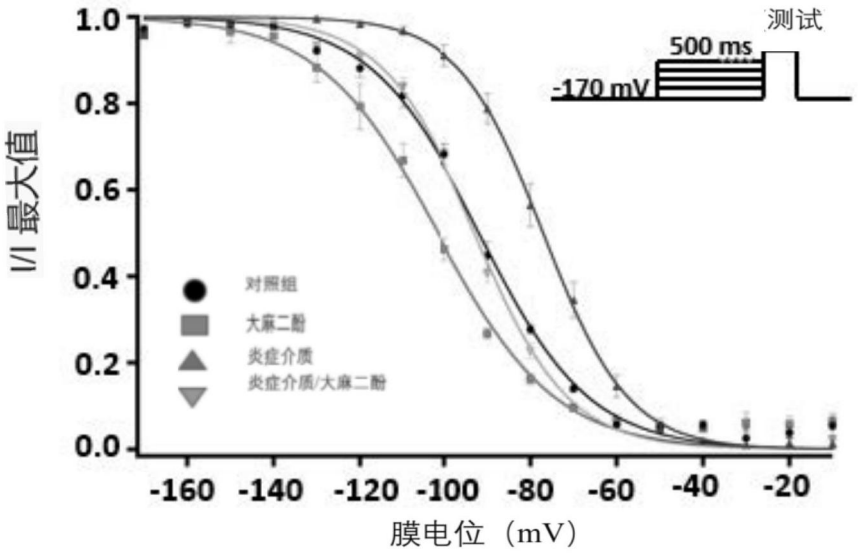

测试
500 ms
-170 mV
I/I 最大值
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-160
-140
-120
-100
-80
-60
-40
-20
膜电位（mV）
对照组
大麻二酚
炎症介质
炎症介质/大麻二酚

图30B

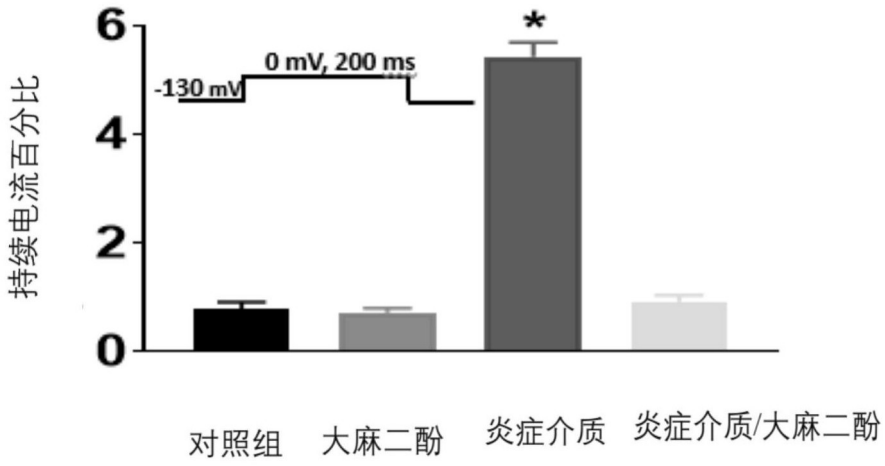

持续电流百分比
6
4
2
0
0 mV, 200 ms
-130 mV
*
对照组
大麻二酚
炎症介质
炎症介质/大麻二酚

图30C

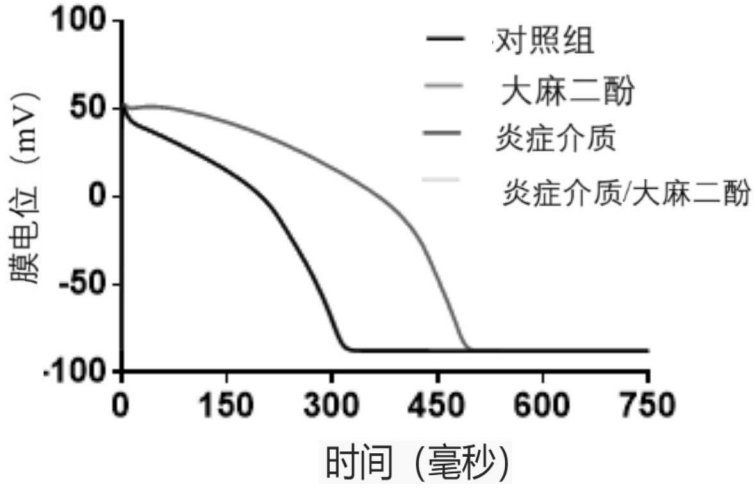

膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0
150
300
450
600
750
时间（毫秒）
对照组
大麻二酚
炎症介质
炎症介质/大麻二酚

图30D

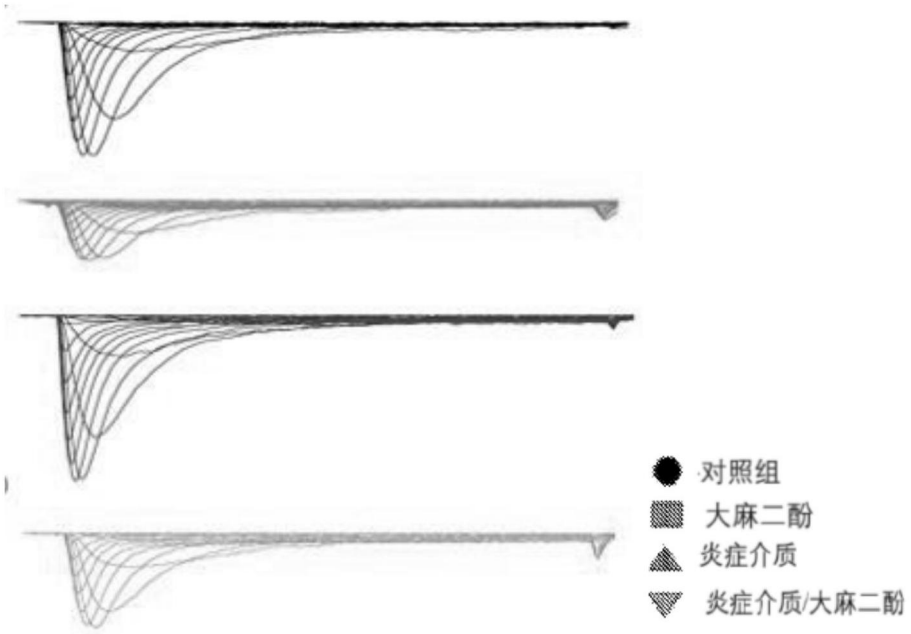

对照组
大麻二酚
炎症介质
炎症介质/大麻二酚

图30E

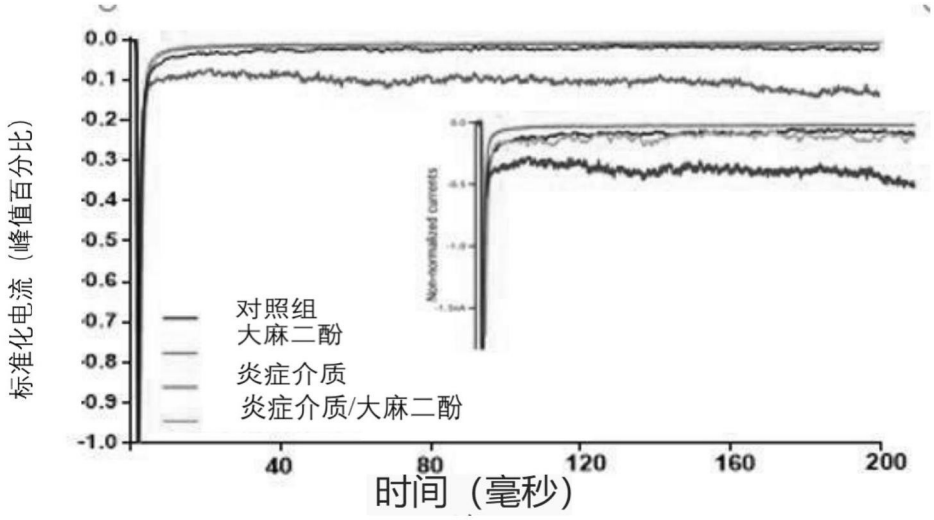

标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
-0.8
-0.9
-1.0
对照组
大麻二酚
炎症介质
炎症介质/大麻二酚
40
80
120
160
200
时间（毫秒）

图30F

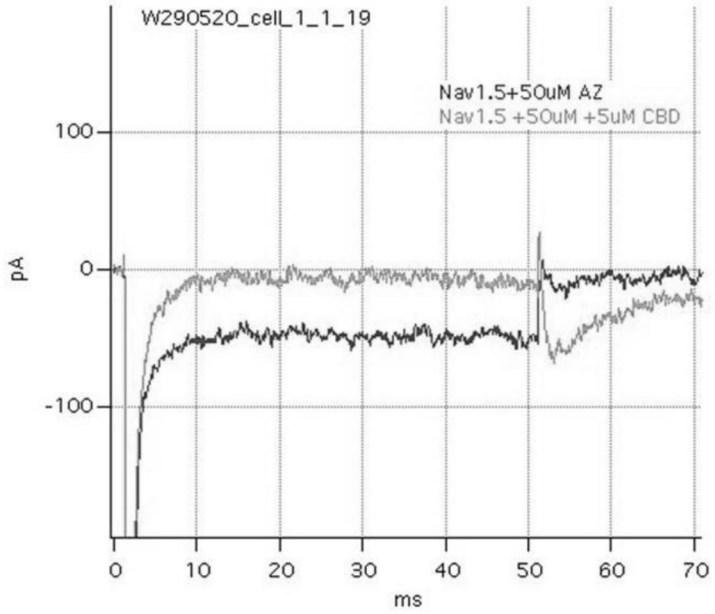

W290520_cell_1_1_19
Nav1.5+50uM AZ
Nav1.5 +50uM +5uM CBD
100
0
-100
pA
0
10
20
30
40
50
60
70
ms

图31A

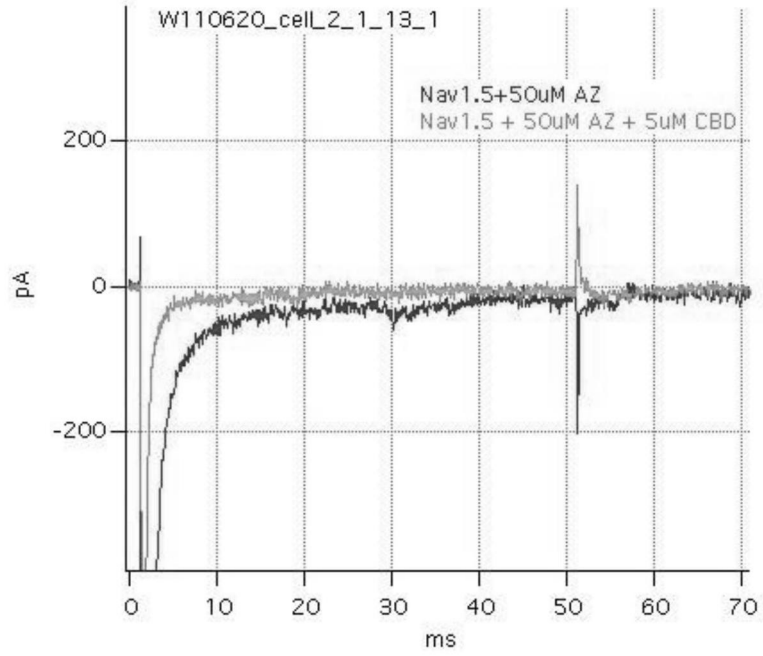

W110620_cell_2_1_13_1
Nav1.5+50uM AZ
Nav1.5 + 50uM AZ + 5uM CBD
200
0
-200
pA
0
10
20
30
40
50
60
70
ms

图31B

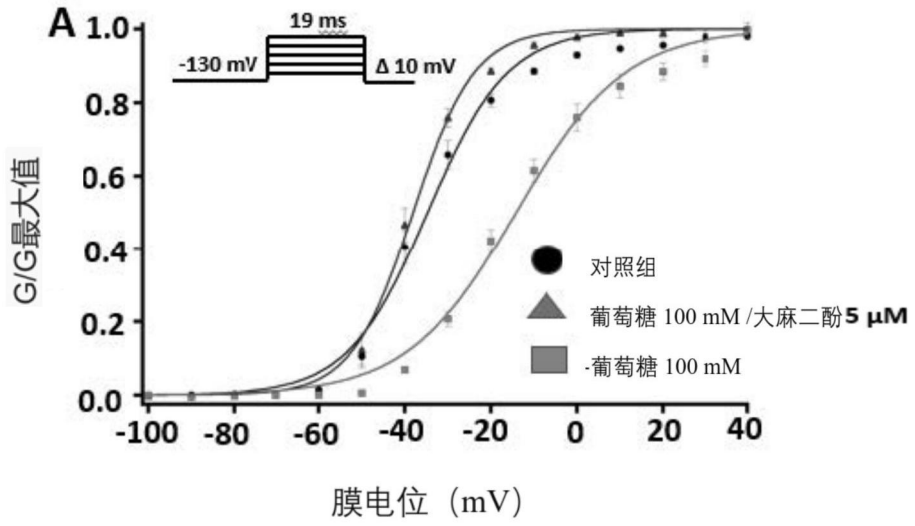

A
19 ms
-130 mV
Δ 10 mV
G/G最大值
对照组
葡萄糖 100 mM /大麻二酚5 μM
-葡萄糖 100 mM
膜电位（mV）

图32A

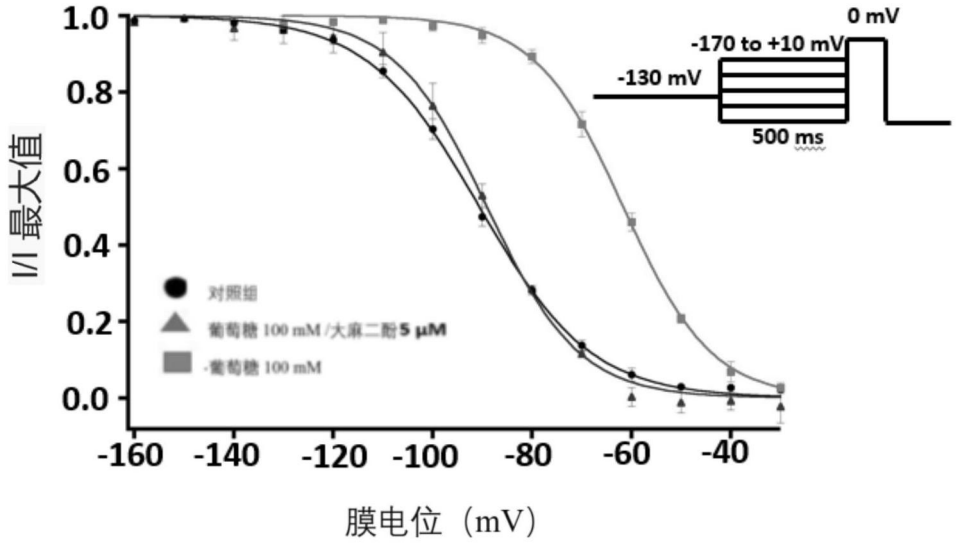

0 mV
-170 to +10 mV
-130 mV
500 ms
I/I 最大值
对照组
葡萄糖 100 mM /大麻二酚5 μM
-葡萄糖 100 mM
膜电位（mV）

图32B

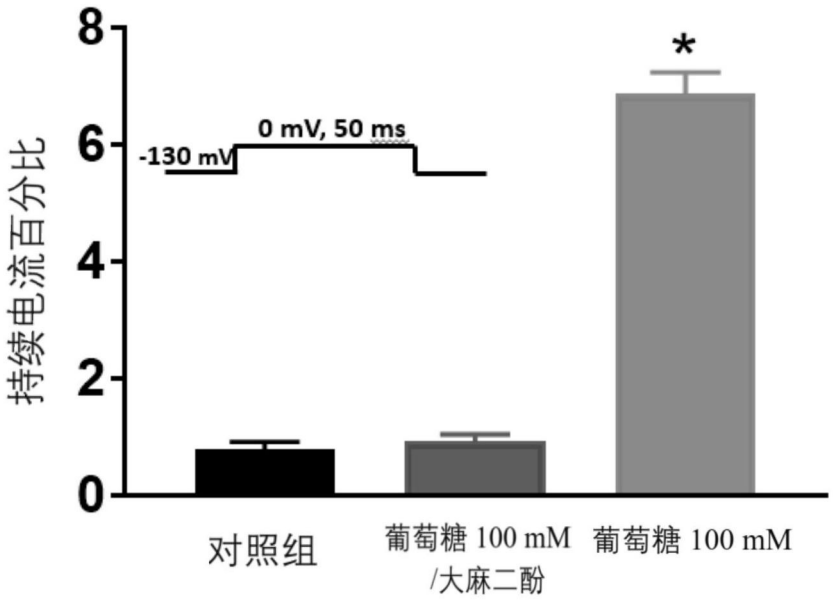

持续电流百分比
8
6
4
2
0
0 mV, 50 ms
-130 mV
*
对照组
葡萄糖 100 mM /大麻二酚
葡萄糖 100 mM

图32C

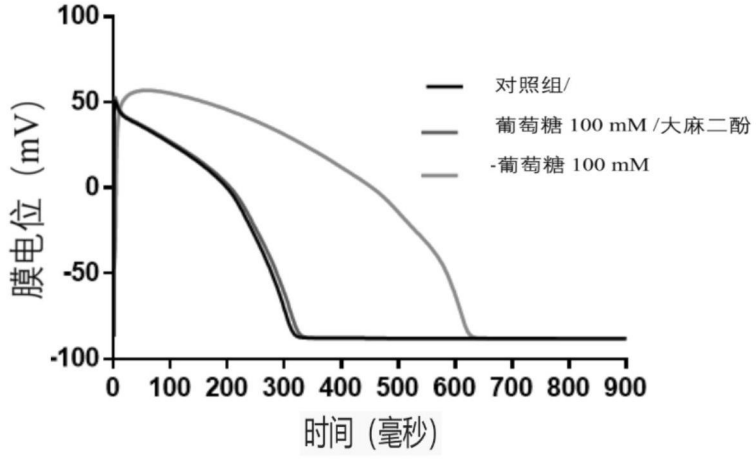

膜电位（mV）
100
50
0
-50
-100
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900
时间 (毫秒)
对照组/
葡萄糖 100 mM /大麻二酚
-葡萄糖 100 mM

图32D

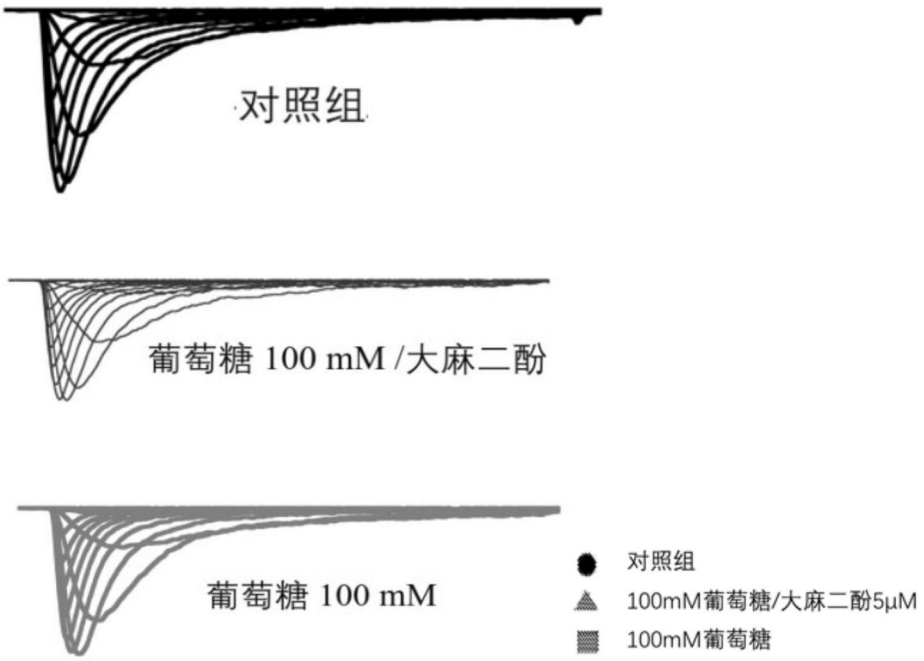

对照组
葡萄糖 100 mM /大麻二酚
葡萄糖 100 mM
对照组
100mM葡萄糖/大麻二酚5μM
100mM葡萄糖

图32E

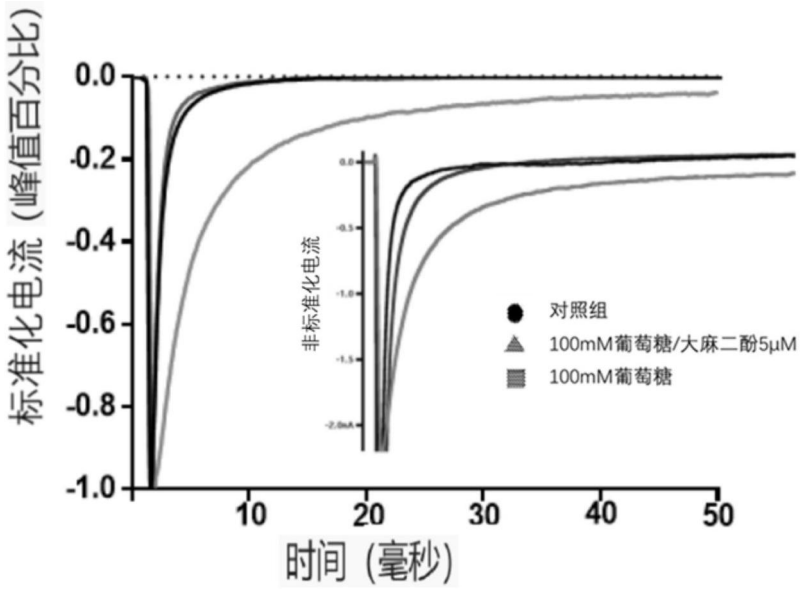

标准化电流（峰值百分比）
0.0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
-1.0
10
20
30
40
50
时间（毫秒）
非标准化电流
对照组
100mM葡萄糖/大麻二酚5μM
100mM葡萄糖

图32F