



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102088977 A

(43) 申请公布日 2011. 06. 08

(21) 申请号 200980113431. 6

A61K 9/08 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 02. 10

A61K 31/16 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 41/00 (2006. 01)

61/065, 952 2008. 02. 15 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 10. 15

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/000834 2009. 02. 10

(87) PCT申请的公布数据

W02009/105165 EN 2009. 08. 27

(71) 申请人 哈佛学院董事会

地址 美国马萨诸塞州

申请人 美国政府退伍军人事务部

(72) 发明人 H·塔特

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 过晓东

(51) Int. Cl.

A61K 31/44 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 15 页

(54) 发明名称

用于心脏手术的心麻痹液

(57) 摘要

本发明涉及改进的心麻痹液。本发明提供能够产生一种易可逆的,快速电气化学捕获的,并伴有最小组织缺血性的心麻痹液和其组合物。心麻痹液及其组合物被用作停止,保护和/或保存器官,特别是在进行心内直视手术,移植,心血管诊断或治疗干预过程中,停搏,保护和/或保存心脏。

1. 一种心麻痹液, 包含生理盐水, 进一步含有下列组合物中的至少一种, 其中, 该组合物选自一种钙离子通道的阻断剂, 一种血管舒张素, 维持细胞内酸性的缓冲试剂, 抗氧化剂, 和抗生素所组成的组中。

2. 一种心麻痹液, 包含生理盐水和钙离子阻断剂。

3. 权利要求 2 中的心麻痹液, 其中, 所说的钙离子阻断剂是拉西地平。

4. 一种心麻痹液, 含有生理盐水和一种血管舒张素。

5. 权利要求 4 中的心麻痹液, 其中, 所说的血管舒张素是花生四烯乙醇胺。

6. 一种心麻痹液, 包含生理盐水和一种维持细胞内酸性的缓冲试剂。

7. 权利要求 6 中的心麻痹液, 其中, 所说的维持胞内酸性的缓冲液是 β -丙氨酸。

8. 一种心麻痹液, 含有生理盐水和一种抗氧化剂。

9. 权利要求 8 中的心麻痹液, 其中, 所说的抗氧化剂为牛磺酸。

10. 一种心麻痹液, 含有生理盐水和一种抗生素。

11. 权利要求 10 中的心麻痹液, 其中, 所说的抗生素是二甲胺四环素。

12. 权利要求 1 中的心麻痹液, 进一步含有氯化钾。

13. 权利要求 1 中的心麻痹液, 进一步含有氯化镁。

14. 权利要求 1 中的心麻痹液, 进一步含有 D-葡萄糖。

15. 权利要求 1 中的心麻痹液, 其中, 所说的组合物包括:

0.01-3.00L 蒸馏水

0.1-0.5gm/L 氯化钙

0.1-0.5gm/L 氯化钾

0.01-0.25gm/L 磷酸钾

0.05-0.5gm/L 氯化镁

0.05-0.5gm/L 硫酸镁

5-10gm/L 氯化钠

0.25-0.75gm/L 碳酸氢钠

0.01 ~ 0.1gm/L 磷酸钠

0.25-2.5gm/L 腺苷

1-5gm/L 谷胱甘肽

0.01-0.5gm/L 抗坏血酸

0.5 ~ 2.5gm/L L-精氨酸

0.1-1gm/L L-牛磺酸

0.1-1gm/L β -丙氨酸

L-组氨酸

1-5gm/L L-肌肽

0.1-0.5gm/L 一水肌酸

16. 权利要求 1 中的心麻痹液, 其中, 所说的溶液不含有胰岛素。

17. 包含权利要求 1 中心麻痹液的试剂盒。

18. 权利要求 1 中的心麻痹液, 其中, 所说的溶液包含纳米尺寸范围的水簇。

19. 权利要求 15 中的心麻痹液, 其中, 所说的溶液包含纳米尺寸范围的水簇。

20. 权利要求 19 中的心麻痹液,其中,所说的溶液包含 1-10 μm 尺寸的水簇。
21. 权利要求 15 中的心麻痹液,其中,所说的组合物进一步包含 0.5-2.5gm/L 的 D- 葡萄糖。
22. 权利要求 15 中的心麻痹液,其中,所说的组合物进一步包含 0.0001-0.005gm/L 的花生四烯乙醇胺。
23. 权利要求 15 中的心麻痹液,其中,所说的组合物进一步包含 0.1-1gm/L 的二甲胺四环素
24. 权利要求 15 中的心麻痹液,其中,所说的组合物进一步包含 0.00001-0.001gm/L 的拉西地平。

用于心脏手术的心麻痹液

[0001] 相关申请

[0002] 此申请要求 2008 年 2 月 15 日提交的美国专利申请第 61/065,952 号的优先权,该专利通过引证在此全部并入本文。

技术领域

[0003] 本发明是有关被用于停止,保护和 / 或保存器官的组合物,特别是在进行心内直视手术,移植,心血管诊断或治疗干预过程中,停搏,保护和 / 或保存心脏。

背景技术

[0004] 目前使用的心麻痹液可能导致心肌顿抑,室性心律失常,缺血性损伤,内皮细胞肿胀,血管损伤和细胞死亡。因此,有必要发展一种能够产生易可逆的,快速电气化学捕获的,并且伴有最小组织缺血性的心麻痹液。

发明内容

[0005] 本发明涉及改进的心麻痹液。

[0006] 本发明提供能够产生一种易可逆的,快速电气化学捕获的,并伴有最小组织缺血性的心麻痹液和其组合物。心麻痹液及其组合物被用作停止,保护和 / 或保存器官,特别是在进行心内直视手术,移植,心血管诊断或治疗干预过程中,停搏,保护和 / 或保存心脏。心麻痹液及其组合物包括生理盐水和下列组合物中的任意一种或多种:产生 ATP 的一种酶作用底物,一种钙通道阻滞剂,一种血管舒张素,一种维持细胞内酸性的缓冲溶液,一种抗氧化剂,和 / 或一种抗生素。

[0007] 本发明提供了一种含有生理盐水和 β -丙氨酸的心麻痹液。可选择性地,心麻痹液包含生理盐水, β -丙氨酸,和一种或多种下列成分,其中包括:花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,拉西地平,氯化钾,氯化镁,和 D-葡萄糖。

[0008] 本发明还提供了一种包含生理盐水, β -丙氨酸,花生四烯乙醇胺,拉西地平,牛磺酸,和二甲胺四环素的心麻痹液。本发明还提供了一种包含生理盐水, β -丙氨酸和花生四烯乙醇胺的心麻痹液。在其他的实施方案中,本发明提供了包含生理盐水, β -丙氨酸和二甲胺四环素的心麻痹液。在其他的实施方案中,本发明提供了包含生理盐水, β -丙氨酸和拉西地平的心麻痹液。

[0009] 根据外科医生的判断,溶液中可能含有或不含有花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平。

[0010] 本发明提供了一种心麻痹液,其中包含生理盐水,并且进一步含有至少一种,至少两种,至少三种,至少四种或至少五种组合物,该组合物包括一种钙通道阻滞剂,一种血管舒张素,一种维持细胞内酸性的缓冲溶液,一种抗氧化剂,和 / 或一种抗生素。

[0011] 在一种实施方案中,本发明提供一种含有生理盐水和钙离子通道阻断剂的心麻痹液。可选择性地,该钙离子通道阻断剂可以是拉西地平。

[0012] 本发明还提供了一种含有生理盐水和血管舒张素的心麻痹液。在一种实施方案中,血管舒张素是花生四烯乙醇胺。

[0013] 本发明也提供了一种含有生理盐水和一种维持胞内酸性的缓冲试剂的心麻痹液。优先选择地,该维持胞内酸性的缓冲试剂是 β -丙氨酸。

[0014] 在其他实施方案中,本发明提供了一种含有生理盐水和一种抗氧化剂的心麻痹液。可选择性地,该抗氧化剂可以是牛磺酸。

[0015] 本发明也提供了一种含有生理盐水和一种抗生素的心麻痹液。优先选择地,该抗生素是二甲胺四环素。

[0016] 本发明的心麻痹液可选择性的包含氯化钾,氯化镁,和 / 或 D- 葡萄糖。

[0017] 在一种实施方案中,本发明的心麻痹液含有:

[0018] 0.01-3.00L 双蒸水

[0019] 0.1-0.5gm/L 氯化钙

[0020] 0.1-0.5gm/L 氯化钾

[0021] 0.01-0.25gm/L 磷酸钾(一元的)

[0022] 0.05-0.5gm/L 氯化镁(六水合物)

[0023] 0.05-0.5gm/L 硫酸镁(七水合物)

[0024] 5-10gm/L 氯化钠

[0025] 0.25-0.75gm/L 碳酸氢钠

[0026] 0.01-0.1gm/L 磷酸钠(二元的;七水合物)

[0027] 0.5-2.5gm/L D- 葡萄糖

[0028] 0.25-2.5gm/L 腺苷

[0029] 1-5gm/L 谷胱甘肽(还原型)

[0030] 0.01-0.5gm/L 维生素 C

[0031] 0.5-2.5gm/L L- 精氨酸

[0032] 0.1-1gm/L L- 牛磺酸

[0033] 0.1-1gm/L β - 丙氨酸

[0034] L- 组氨酸

[0035] 1-5gm/L L- 肌肽

[0036] 0.1-0.5gm/L 一水肌酸

[0037] 0.0001-0.005gm/L 花生四烯乙醇胺

[0038] 0.1-1gm/L 二甲胺四环素

[0039] 0.00001-0.001gm/L 拉西地平

[0040] 三-羟甲基甲胺(THAM)被用于调节 pH。优选的,本发明的心麻痹液不含胰岛素。同时,本发明还提供了试剂盒,其中,包括了在此描述的心麻痹液。

[0041] 在一种实施方案中,本发明的心麻痹液包含大小为纳米级的水分子团簇。可选择地,本发明的溶液为纳米级别的,这将增加通过细胞膜的效率。纳米尺寸是指粒径减少到亚微米范围内,最终的颗粒大小通常是 1-10 μm 。颗粒尺寸的减小将显著增加溶液通过细胞膜的效率。在一种实施方案中,效率的增加使至少 20%,至少 25%,至少 50%,至少 75%,或者至少 100%的溶液通过细胞膜。

[0042] 在该描述的方法中使用之前,本发明为本发明的溶液提供了纳米尺寸。另外,在加入溶液的其它化合物/试剂前,本发明提供了纳米尺寸的水。在另一实施方案中,在混合前,本发明分别提供了纳米尺寸的水和纳米尺寸的每种化合物/试剂的溶液。

[0043] 在一种实施方案中,组合物包含纳米尺寸范围的水分子束或者水分子簇。可选择地,水分子束或者水分子簇尺寸为 1-10 nm, 1-25 nm, 25-50 nm, 50-75 nm, 75-100 nm, 100-200 nm, 200-500 nm, 或者 500-999 nm。

[0044] 在一种实施方案中,本发明提供的溶液能顺行性给药。另外,该麻痹液也能通过逆行性给药。

[0045] 在另一种实施方案中,在此介绍的溶液在使用前可以与血液混合,以形成血液心麻痹液。可选择性的,血液与溶液的比例为 5 : 1, 4 : 1, 3 : 1, 2 : 1, 或者 1 : 1。或者,血液与溶液的比例可以是 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 或者 1 : 5。

[0046] 在一种实施方案中,本发明的成分可以是粉末状的,在使用前进行配置。优选地,成分配制成水溶液。所引用的出版物通过引证在此并入本文。无论是上述的一般说明和下面的详细说明和实例,仅仅是具有典型意义和具有解释性,不是发明限制性要求。

[0047] 本发明的具体实施方案

[0048] 在美国,每年有超过 80 万的心脏直视手术,在欧洲有大约 1,000,000。在心血管外科手术和心脏瓣膜手术(俗称心脏直视手术),它通常需要通过诱导心脏麻痹或者“心脏停搏”以阻止心脏的泵活动。心麻痹液能够以最小损害心脏心肌细胞的方式中止心脏的搏动。心脏搏动的停止,以便外科医生的操作。在心脏直视手术中,心脏可能被停止搏动长达 3 个小时。在长达 40 年的时间里,高钾心麻痹液(钾浓度超过 15-20mM)作为心肌停止和保护的基础。目前,大部分使用的溶液含有高浓度的钾,其中,包括圣汤姆斯医院的 2 号医院溶液,该溶液一般含有 110mM NaCl, 16mM KCl, 16mM MgCl₂, 1.2mM CaCl₂ 和 10mM NaHCO₃, pH 7.8。尽管高钾型溶液提供了可接受的临床结果,但是最新的研究表明,累进的钾离子将导致去极化作用,这将造成离子的和新陈代谢的不平衡,这可能与心肌顿抑、室性心律失常,缺血性损伤,内皮细胞肿胀,血管损伤,细胞死亡和在再灌注期泵功能的丧失相关。在某些情况下,高钾诱导缺血而造成平滑肌和内皮功能损害的情况已见报道。

[0049] 在目前进行的几乎所有重大的心脏手术中,心脏的血液供应是局部或者全部中断的,因此,时间依赖性的心肌缺血的发作阶段的严重程度将主要决定了病人手术后的效果。在心脏手术期间,为了避免严重的和不可逆转的心肌缺血损伤,要对术中的心肌保护技术进行汇总,其中包括在延长的整体血液流量中断的整个时期内,对心脏进行心麻痹液给药。尽管在心肌保护领域具有大量的实验经验,但是对围术期心肌损伤保护的不足,仍然是心脏手术后,导致早期和晚期死亡的主要原因。在线实时检测心肌组织的 pH 值将为心肌组织缺血的测定提供可靠信息。在心脏手术中,对近 700 个病人的心肌 pH 值的不断测量揭示,在心脏外科手术过程中,不同病人的心肌组织酸中毒程度具有显著的不同(Tantillo MB and Khun SF, 1993, In Piper HM, Preusse CJ(eds): Ischemia-reperfusion in Cardiac Surgery. Netherlands, Kluwer Academic Publishers; Khuri SF et al, 1983, J Thorac Cardiovasc Surg. 86 :667-78)。

[0050] 研究表明,在许多体系中,酸中毒是导致细胞凋亡的主要原因(Webster KA et al, J Clin Invest, 104 :239-252)。酸中毒可能是实际的信号,即启动在缺氧条件下的心肌

细胞的凋亡。由于凋亡造成的心肌细胞死亡常伴随源于缺血性和非缺血性的心脏疾病。然而,对于起始原件和在缺血性心脏疾病以及充血性心力衰竭的情况下,细胞凋亡的机制的了解比较少。循环性神经体液因子,例如,心房利钠肽,肿瘤坏死因子- α ,血管紧张素 II,去甲肾上腺素和内皮素,在慢性充血性心力衰竭的病人中,这些因子含量升高,它们可能与细胞凋亡相关。机械因素,例如壁压力和伸展,可能也与细胞凋亡相关。有力证据证明缺血再灌注产生的氧自由基与细胞凋亡有直接的关系。其他研究表明,细胞内的酸中毒与一些类型的细胞凋亡相关,虽然两者之间的关系并不清楚。所有缺血的情况包括代谢废物清除的减少,因此,酸中毒是缺血性组织的共同特征。在缺血性心肌组织中,细胞外酸的累积将影响其他离子通道的活性,尤其对 $[Ca^{2+}]_i$, $[pH]_i$, 和对伸缩性造成较大影响。

[0051] 心麻痹液的常规用途

[0052] 体外循环 (CPB) 是一个高度复杂的生命支持系统,是在心血管手术中通过手工构建的。在心血管外科手术过程中,该系统执行心脏 (血液循环) 和肺部 (气体交换) 的功能。因为血液是抗凝的,并通过右心房静脉排出,接着通过体外的回路排出,血液被氧化、过滤、冷却或加热,并通过静脉插管的方式回到全身的循环系统中。因此,尽管心脏和肺部功能暂时被中断,重要器官和身体组织被灌注,它们仍然保持活力。在大多数体外循环步骤中,升主动脉就是交叉夹紧,从而排除体外回路中的冠状动脉。为了停止心脏搏动,在手术过程中,使用高钾心麻痹液暂时在心脏舒张状态下麻痹心脏。该溶液与血液混合,并灌注到冠状动脉循环中,以诱导和维持心脏在手术过程中的停搏。这是在体外循环心脏泵期间,处理心脏的可选方案之一。有各种可用的心麻痹液,它含有过量的细胞外钾离子,该过量钾离子将消除心肌细胞膜的钾离子的跨膜梯度,从而抑制细胞膜的复极化。因此,在没有电信号或者机械活性的条件下,在舒张期停跳时,心脏仍保持停搏。通过细胞内正常的代谢活动,这种失活状态在大约 15 到 20 分钟后将被逆转。除非使用心麻痹液,才能维持心脏停搏直到手术结束。然而,因为心脏在手术过程中保持非正常的停搏状态,在这期间发生的生物化学和生理学过程以及组织发育最终都会影响到心脏的恢复,以及病人长期的恢复结果。然而临床和研究证据表明,目前使用的心麻痹液都不能够保护心脏免受由于缺血再灌注和酸中毒所诱导的细胞凋亡和 / 或坏死损伤。本发明的麻痹液的突出效能就是能在较长的时期内保护器官的生化和生理功能,以及移植器官的生存能力,所以,推测本发明的心麻痹液能够作为保护心脏、心脏停搏和 CBP 泵的预充液使用。结果显示该推测是正确的,因为,本发明的麻痹液能够保护心脏组织,心脏的冠状动脉血管内皮细胞和心肌细胞免受由于缺血再灌注和酸中毒诱导的凋亡损伤。

[0053] 心肌细胞和血管内皮细胞的保护

[0054] 本发明的溶液是一种生理盐水溶液,它包含作为还原剂的抗坏血酸和谷胱甘肽,自由基清除剂以及作为 eNOS 酶活底物的 L- 精氨酸。作为抗氧化剂的抗坏血酸能够清除活性氧簇,因此保护在细胞膜上的谷胱甘肽和 α - 维生素 E 的活性。抗坏血酸也能通过清除超氧阴离子而保护内皮源的一氧化氮生物活性,而增加 eNOS 酶活,这可能是由于预防了四氢生物蝶呤和 eNOS 辅助因子的氧化。抗坏血酸能够减少血小板活化和白细胞粘连,以及通过抗坏血酸介导的胶原蛋白合成而减少内皮细胞层的渗透性。同样的,抗坏血酸减少平滑肌细胞增殖,增加前列腺素的生成以及减少脂质的过氧化。相同的,谷胱甘肽作为细胞的还原剂和抗氧化剂,能够清除反应性氧簇。谷胱甘肽能够增加 L- 精氨酸向内皮细胞的传递,

以及增加 eNOS 的活性, NO 的生成和冠状动脉血管扩张。谷胱甘肽也能够增加具有生物活性的 S- 亚硝基谷胱甘肽的生成, S- 亚硝基谷胱甘肽能够生成 NO, 它还能够增加硝酸甘油的血管扩张作用。在抗氧化治疗中, L- 精氨酸的作用还没有很好的说明, 但是它作为 NO 合成酶底物的作用是众所周知的。口服 L- 精氨酸表明能够减少中粒细胞 - 内皮细胞在炎症血管中的相互作用。因此, 抗坏血酸, 谷胱甘肽和 L- 精氨酸的多方面的作用, 能够保护心肌细胞和冠状血管的结构和功能, 从而减轻缺血再灌注和酸中毒所诱导的细胞凋亡。在一种实施方案中, 本发明的心麻痹液与血液以 4 : 1 的比例混合 (4 份血液 : 1 份心麻痹液), 该混合液能够防止和 / 或逆转酸中毒 / 缺血和再灌注所引起的对心肌细胞和冠状血管所造成的不利影响。在心脏手术中, 心肌灌注在相对安全的情况下, 可以短暂中断 (15 到 20 分钟)。这是由于心脏肌肉细胞具有的独特的能力, 即能利用无氧代谢通路产能。因为储存的腺苷三磷酸 (ATP) 对于维持心脏收缩是不足的, 通过无氧代谢产生的高能磷酸盐能够维持细胞活力。如果为了暂时麻痹心脏而再灌注轻度低温 (25°C) 的心麻痹液, 是不被允许的, 因为在手术期间, 在不定的时期内, 收缩或心室颤动将持续发生, 这样将消耗掉储存的能量。因此, 在主动脉横断钳闭术后, 给药心麻痹液能够保存 ATP 的储藏以及减少由于心脏停搏引起的心肌内酸中毒和二氧化碳的产生。多次剂量的心麻痹液将帮助维持能够保持组织所需的并且保护其安全的最少量 ATP 储存, 并且能够通过不断的能量补充和代谢物的清除而保持更多有效的无氧代谢。由于心麻痹液的作用, 被麻痹的心脏保持无活力, 因此没有通过冠状静脉或窦冠脉动脉而产生的流量, 因此, 手术过程将变得很顺利, 因为除了因为降低体温而减少的代谢活动, 更提供了稳定的外科手术环境。另外, 由于连续的主动脉根部排气, 在给药心麻痹液之后, 应该没有冠状动脉血流量发生, 是因为它可能冲洗掉了麻痹液从而使心脏电的或者机械活力得以恢复。如今在市场上有各种各样的心麻痹液, 例如, 梅尔罗斯溶液, 富含氨基酸的溶液, 其包括单钠 L- 谷氨酸盐 (MSG) 和单钠 L- 天冬氨酸盐 (MSA), 含有 5% 葡萄糖, 50% 葡萄糖, Tham 和柠檬酸磷酸盐葡萄糖 (CPD) 的手术麻痹液, Plegisol 溶液, 圣托马斯溶液, Bretschneider 溶液, Buckberg 溶液和血停搏液。

[0055] 然而, 这些溶液中没有一种能够保护心肌细胞和冠状动脉内皮细胞免受由于缺血再灌注所造成的损伤, 并且完全保护 anastomised 移植的功能。

[0056] 再灌注

[0057] 手术完成后, 在除去主动脉横断钳闭术后, 进行心麻痹液再灌注的早期时间是一段关键时期, 特别是在急性心肌缺血的心肌血运重建术之后。为了防止心肌损伤, 在复氧和在早期灌注期过度压力积聚的过程中, 要仔细的使物理, 生化和生理过程正常化。

[0058] 本发明的心麻痹液具有多项优点。该溶液能够向心肌细胞和冠状血管提供自由基清除剂, 还原剂和二甲胺四环素。这些化合物能够对抗过氧化反应, 自由基损害 (损伤) 和引起的细胞凋亡, 例如, 在主动脉阻断和缺血组织的在灌注停止后, 由于钙超载和线粒体孔转变所造成的细胞凋亡。

[0059] 心麻痹液

[0060] 本发明提供了改进的心麻痹液及其组合物, 它能够产生易可逆性, 和伴有最小组织缺血性的快速电气化学捕获。心麻痹液和其组合物被用于停止, 保护和 / 或保存器官, 尤其是在心脏直视手术中, 心血管诊断或治疗干预中, 停搏, 保存和 / 或保存心脏。心麻痹液和其组合物包括一种生理盐水和可选择的下列组合物的一种或多种: 产生 ATP 的底物, 钙

离子通道阻断剂,扩张血管药物,一种抗氧化剂和抗生素和 / 或维持胞内酸性的缓冲液。

[0061] 在一种实施方案中,心麻痹液和组合物包含一种生理盐水和产生 ATP 的底物。可选择的,产生 ATP 的底物是磷酸肌酸,肌酸乙酯,二肌酸苹果酸,肌酸葡萄糖,果糖,蔗糖,核糖,己糖或戊糖。另外,产生 ATP 的底物可以是乳清酸肌酸,肌酸,腺苷,或葡聚糖 / 葡萄糖。

[0062] 在其他具体实施方案中,心麻痹液和其组合物含有生理盐水和维持胞内酸性的缓冲液。在一种具体实施方案中,维持细胞内酸性的缓冲液可以是组氨酸,谷氨酸,色氨酸,赖氨酸,或 L- 牛磺酸。也可以由碳酸氢钠,三羟甲基氨基甲烷 (THAM),L- 肌肽 (细胞内酸性) 和 β - 丙氨酸作为酸度缓冲液。L- 肉碱有利于减少心肌乳酸的生成,因此减少酸性。另外,维持细胞内酸性的试剂也可以是通过促进细胞内肌肽合成的肌酸乳清酸。肌酸一水合物通过增加能量的产生和减少乳酸堆积而维持胞内酸性。

[0063] 或者,心麻痹液和其组合物含有生理盐水和一种能够清除活性氧簇的试剂。在一种实施方案中,清除活性氧簇的试剂可以是二硫苏糖醇 (DTT), β - 巯基乙醇,乙酰半胱氨酸,硫辛酸,牛磺酸,白藜芦醇,叶黄素,硒,蛋氨酸,或维生素 / 维生素 E。

[0064] 心麻痹液和其组合物能防止缺血损伤。此功能是由抗坏血酸,谷胱甘肽 (还原剂),肉碱 (防止长链酰基辅酶 A 的积累,它的积累将导致自由基 - 缺血 - 再灌注损伤),肌肽和 α 硫辛酸来调节的,其中,这些物质可以是自由基清除剂 (羟自由基,单线态氧,过氧自由基和超氧化物)。

[0065] 心麻痹液和其组合物包含 β - 丙氨酸。 β - 丙氨酸是一种氨基酸,它是一种激动剂,其活性仅次于同源配基甘氨酸,它是土的宁敏感的抑制性甘氨酸受体 (GlyRs) 的配基 (激动剂活性顺序:甘氨酸 > β - 丙氨酸 > 牛磺酸 > L- 丙氨酸, L- 丝氨酸 > 脯氨酸)。 β - 丙氨酸维持胞内的酸性和 pH 值,从而改进肌肉收缩和增加有氧阈值。

[0066] 脊椎动物肌肉中的非 - 碳酸氢盐的胞内缓冲能力主要通过蛋白质中的组氨酸残基中的咪唑基团、一些鱼类中的 L- 组氨酸、和含有二肽,例如,肌肽,蕨麻二肽和鲸肌肽 (蛇肉碱) 的组氨酸基团来支持 (Abe H, 2000 Biochemistry (Mosc*) . 65(7) :757-65)。结果证明了肌酸和 β - 丙氨酸在运动员进行强度训练的条件下的功效 (Hoffman J et al.. 2006 Int J Sport Nutr Exerc Metab. 16(4) :430-46)。

[0067] 心麻痹液和其组合物含有 L- 牛磺酸。L- 牛磺酸是一种含硫的 β 氨基酸,它与多种生理现象相关,包括心跳的调节,渗透调节,膜稳定,有氧代谢的保存,乳酸性酸中毒的预防,抑制神经传导,在纹状体 / 海马中的长时程增强,中粒细胞 / 巨噬细胞呼吸缺口的反馈抑制,脂肪组织的调节,和钙稳态。牛磺酸也能作为一种抗氧化剂,它是甘氨酸受体的内源激动剂。在心麻痹液和其组合物中可接受的牛磺酸的浓度为 1-10mM。

[0068] 含硫氨基酸的牛磺酸是哺乳动物脑中的一种抑制性神经调节因子,也是调节细胞体积的关键物质。钙离子对细胞外牛磺酸浓度的影响对于研究牛磺酸释放的调节机制具有特殊的意义。研究数据表明降低的钙离子内流和通过电压敏感性钙离子通道增加非特异性钠离子内流都将影响在不含钙离子的条件下,转运调节的牛磺酸释放的调节 (Molchanova SM et al., 2005 Neurochem Int, 47(5) :343-9)。此外,牛磺酸也是过氧亚硝酸盐 (ONOO⁻) 的抗氧化剂,能够减少脂质的过氧化反应从而通过恢复肝脏质膜上的钠钾 ATP 酶的活性,而对它们发挥作用 (Kocak-Toker N, et al, 2005 World J Gastroenterol. 11(23) : 3554-7)。

[0069] 心麻痹液和其组合物也可含有拉西地平。拉西地平是一种血管舒张素和钙离子通道阻断剂,它通过一氧化氮 / 内皮素系统而作用于心脏和血管,在心麻痹液中拉西地平可接受的浓度为 1pM-1mM。相比之下,其他钙离子通道的阻断剂,例如,戊脉安和尼群地平的有效作用浓度为 10 μ M-1mM。拉西地平对血管具有扩大的影响,表现出钙离子传过细胞的运动,这将减少心跳速率,结果导致降低的血压。拉西地平导致普遍颈动脉 IMT 的显著减少(内膜-中层-厚度),以及在相对短期内(6 个月),患有冠状动脉疾病(CAD)的病患者的炎症标志物减少(Bae JH et al,2005 Int J Cardiol.101(3):377-83)。氨氯地平及拉西地平减少了体液控制和交感神经自主神经系统的活性的影响(Zaliunas R et al,2005 Int J Cardiol.101(3):347-53)。亲油性 1,4-dihidropyridine(DHP),治疗剂量的拉西地平也能减少在动物模型中的动脉粥样硬化斑块的形成。它具有有效的和持久的抗高血压特性和在动物模型或伴有严重和多种危险因素影响的人中,对抗动脉粥样硬化损伤的发展,而保护动脉壁(Crespi F,2005 Curr Vase Pharmacol,3(2):195-205)。

[0070] 心麻痹液和其组合物可选择性的包括花生四烯乙醇胺,一种血管舒张素。花生四烯乙醇胺(C22H37O2N),又名 arachidonoyl ethanolamide, arachidonoyl ethanolamine, 或 AEA,是一种内源性大麻神经传递质,它是在动物和人类器官中,尤其在脑中被发现。在心麻痹液中的花生四烯乙醇胺的可接受的浓度范围是 1nM-1mM。结果表明,在导水管周围灰质中的 sn-2 花生四烯酸甘油(2-AG)和花生四烯乙醇胺(两种内源的大麻的化学成分)的共同释放可能调节了阿片独立应激诱导的痛觉丧失(Hohmann AG et al,2005 Nature,435(7045):1108-12)。其他结果得出如下假设,即,在延长构象的一个膜叶之内,通过横向扩散,花生四烯乙醇胺接近它的结合位点,并与通过由大麻受体 CBI 的螺旋 3 和 6 形成的疏水的扩展槽相互作用,而其末端碳与螺旋 6 上的关键半胱氨酸残基紧挨,结果导致了受体的激活(Tian X et al,2005 J Biol Chem,280(33):29788-95。使用全细胞膜片钳记录的结果表明,糖皮质激素引起快速的,抑制突触谷氨酸和 γ -氨基丁酸(GABA)释放到下丘脑视上核和室旁核的大细胞神经元中,抑制谷氨酸的释放和通过激活假定的膜受体而促进 GABA 的释放。地塞米松治疗下丘脑切片的生化分析显示糖皮质激素诱导了内生性大麻素花生四烯乙醇胺(AEA)和 2-花生四烯酸甘油(2-AG)水平的快速增加(Di S et al,2005 Endocrinology.146(10):4292-301)。此外,近期的研究结果表明,内生性大麻 2-AG 增加了大鼠的肝脏缺血再灌注损伤,而花生四烯乙醇胺不会增加其损伤(Kurabayashi M, et al,2005 J Invest Surg,18(1):25-31)。研究表明,在闭合性颅脑损伤后(CHI),2-AG 表现出神经保护作用,至少部分通过 CBI 受体介导的机制,该机制包括细胞内炎症信号通路的抑制(Panikashvili D et al,2005 J Cereb Blood Flow Metab,25(4):477-84)。

[0071] 因此,拉西地平和花生四烯乙醇胺是通过激活在血管内皮细胞,神经元和其他细胞中的 eNOS/nNOS,并通过大麻受体 CBI(和 CB2;CBI 拮抗剂 SR141716A),而发挥功效。NO 通过抑制去甲肾上腺素从神经中的释放,而与交感神经系统相互作用,这将导致 vasodilation。

[0072] 心麻痹液和其组合物可选择性的包含二甲胺四环素。二甲胺四环素是一种抑菌抗生素,它是广谱抗生素四环素中的一种。由于它的长半衰期,它通常在血清中的水平是其他大部分四环素(在 24-48 小时内,150mg 的二甲胺四环素的活性含量水平是 250mg 四环素的 16 倍)的 2-4 倍。抗生素的剂量通常高达 200mg/天。在心麻痹液中的二甲胺四环素为亚

抗生素剂量。二甲胺四环素抑制了线粒体的通透性转换 (mPT) 介导的细胞色素 C 从线粒体的释放。在横跨钳闭过程中,在心麻痹液中加入二甲胺四环素能够保护心脏免受由于酸中毒所诱导的细胞凋亡。

[0073] 在线粒体分离悬浮液中,二甲胺四环素不能够阻止超氧化物诱导的膨胀作用,但是能够有效阻止由钙离子诱导的线粒体膨胀。后者的作用可能通过线粒体跨膜电位的分散和线粒体钙离子吸收的阻断,而被调节 (Fernandez-Gomez FJ et al., 2005 Neuroscience, 133(4) :959-67)。结果表明,系统给药第二代四环素衍生物,二甲胺四环素,将延缓视神经切断后视网膜神经节细胞 (RGCs) 的死亡,该机制可能是与小胶质细胞的激活抑制相关。在视神经切断后,二甲胺四环素的神经保护效能要优于四环素 (Baptiste DC et al., 2005 Neuroscience, 134(2) :575-82)。有证据表明,二甲胺四环素可能通过抑制 $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, 和 NO 的表达及释放而发挥胶质细胞的抗炎作用 (Wang AL et al., 2005 Neurochem Int, 47(1-2) :152-8)。

[0074] 心麻痹液可选择性的含有氯化钾。心麻痹液中的钾离子浓度在可选择的范围内 (0.298gm/L+/-24-90mM),可根据外科医生的判断进行调整,而不用改变心麻痹液的稀释或者其他成分的浓度。另外,钾离子和 / 或其他浓度是变化的,而心麻痹液的稀释度和流向病人心脏的心麻痹液的总流量是独立变化的。心麻痹液中变化的钾离子浓度允许输液师在手术中以最少量钾离子加入病人血液中。在一种实施方案中,高初始浓度的钾离子能够快速停搏心脏,较低浓度的钾离子浓度能够维持心脏停搏。在整个手术过程中,可以调节钾离子的量以补偿病人血液中钾离子水平的增加。或者,如果在手术过程中需要心脏活动重新发生,心麻痹液中的钾离子浓度可以调整。

[0075] 或者,心麻痹液含有 D- 葡萄糖。在心麻痹液中 D- 葡萄糖的存在由外科医生决定。在一种实施方案中,如果病人患有糖尿病,在心麻痹液中不能含有 D- 葡萄糖。另外,如果病人没有糖尿病,D- 葡萄糖可以包含在心麻痹液中。D- 葡萄糖作为一种血管扩张剂和睡眠诱导剂。

[0076] 心麻痹液及其组合物被用于停止,保护和 / 或保存器官,尤其是在心脏直视手术,心血管诊断或治疗干预过程中,停止,保护和 / 或保存心脏。在一种实施方案中,组合物包含氯化钙,磷酸钾,硫酸镁,氯化钠,碳酸氢钠,磷酸钠,腺苷,谷胱甘肽,抗坏血酸, L- 精氨酸, L- 牛磺酸, L- 组氨酸,左旋肌肽,肌酸和 β - 丙氨酸。或者,心麻痹液含有一个或多个氯化钾,氯化镁, D- 葡萄糖,花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素和拉西地平。

[0077] 溶液的 pH 值调整到大约 6.8 到 8.0 ;或者大约 7.2 到 7.6。较优选的,使用 THAM (氨丁三醇 ;磷酸三羟甲基氨基甲烷),将 pH 值调整到大约 7.4,并保存于 4°C。渗透压维持在 290-300mOsm。最好,组合物包括下列化合物和浓度 :

[0078]

蒸馏水	1.00 L
氯化钙 (1.3mM)	0.191gm/L
氯化钾 (4.0mM)	0.298gm/L+ / - 24-90 mM
磷酸钾 (一元的, 0.5mM)	0.068gm/L
氯化镁 (六水合物, 0.5mM)	0.101gm/L+ / - 10-20 mM 氯化镁
硫酸镁 (七水合物, 0.5mM)	0.123gm/L
氯化钠 (130mM)	7.597gm/L
碳酸氢钠 (5.0mM)	0.420gm/L
磷酸钠 (二元; 七水合物; 0.19mM)	0.050gm/L
D-葡萄糖 (7mM)	1.260gm/L*
腺苷 (2mM)	0.534gm/L
谷胱甘肽 (还原型; 10.0mM)	3.073gm/L
[0079] 抗坏血酸 (1mM)	0.176gm/L
L-精氨酸 (5mM)	1.073gm/L
左旋牛磺酸 (5mM)	0.625gm/L
β -丙氨酸 (5mM)	0.500gm/L
L-组氨酸 (5mM)	
左旋肌肽 (10mM)	2.260gm/L
一水肌酸 (2mM)	0.298gm/L
花生四烯乙醇胺 (0.01mM)	0.003gm/L*
二甲胺四环素 (1.0mM)	0.457gm/L*
拉西地平	0.0005gm/L*
[0080] “*”表示 D-葡萄糖, 花生四烯乙醇胺, 二甲胺四环素, 和 / 或拉西地平可根据外科	

医生的判断和病人的需要存在或不存在于心麻痹液中。灌注师,外科医生,和 / 或护士,可根据他们的判断和病人的需要调整钾离子和镁离子的浓度。

[0081] 首选的心麻痹液包含化合物的量,可在下列范围内,以达到理想的组合物的比例:

蒸馏水	0.01 -3.00 L
氯化钙 (1.3mM)	0.1-0.5gm/L
氯化钾 (4.0mM)	0.1-0.5gm/L+ / - 24-90 mM
磷酸钾	
(一元, 0.5mM)	0.01-0.25gm/L
氯化镁	
(六水合物, 0.5mM)	0.05-0.5gm/L+ / - 10-20 Mm 氯化镁
硫酸镁	
(七水合物, 0.5mM)	0.05-0.5gm/L
氯化钠 (130mM)	5-10gm/L
碳酸氢钠 (5.0mM)	0.25-0.75gm/L
[0082] 磷酸钠	
(二元; 七水合物; 0.19mM)	0.01~0.1gm/L
D -葡萄糖 (7mM)	0.5~2.5gm/L*
腺苷 (2mM)	0.25-2.5gm/L
谷胱甘肽 (还原型; 10.0mM)	1-5gm/L
抗坏血酸 (1mM)	0.01-0.5gm/L
L -精氨酸 (5mM)	0.5~2.5gm/L
左旋牛磺酸 (5mM)	0.1-1gm/L
β -丙氨酸 (5mM)	0.1-1gm/L L -组氨酸 (5mM)
左旋肌肽 (10mM)	1-5gm/L
一水肌酸 (2mM)	0.1-0.5gm/L
花生四烯乙醇胺 (0.01mM)	0.0001-0.005gm/L*

[0083]	二甲胺四环素 (LO mM)	0.1-1gm/L*
	拉西地平	0.00001-0.001gm/L*

[0084] “*”表示 D- 葡萄糖,花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平可根据外科医生的判断和病人的需要存在或不存在于心麻痹液中。溶液的 pH 值调整到大约 6.8 到 8.0 ; 或者大约 7.2 到 7.6。较优选的,使用 THAM 将 pH 值调整到大约 7.4,并保存于 4℃。渗透压维持在 290-300mOsm。

[0085] 花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平,可根据外科医生的判断包含于或不包含在溶液中。灌注师,外科医生,和 / 或护士,可根据他们的判断和病人的需要调整钾离子和镁离子的浓度。

[0086] 心麻痹液中的组合物可以被包装成试剂盒,试剂盒里包括下列成分 / 数量或者它的倍数,即,放大到溶液量的 2,3,5,10,20 倍。示范试剂盒包括:

	蒸馏水	0.01 -3.00 L
	氯化钙 (1.3mM)	0.1-0.5gm/L
	氯化钾 (4.0mM)	0.1~0.5gm/L + / - 24 -90mM
	钾磷酸盐	
	(一元, 0.5mM)	0.01-0.25gm/L
[0087]	氯化镁	
	(六水合物, 0.5mM)	0.05-0.5gm/L + / - 10-20 mM 氯化镁
	硫酸镁 (七水合物, 0.5mM)	0.05-0.5gm/L
	氯化钠 (130mM)	5-10gm/L
	碳酸氢钠 (5.0mM)	0.25-0.75gm/L

磷酸钠

(二元; 七水合物; 0.19mM) 0.01 ~ 0.1gm/L

D-葡萄糖 (7mM) 0.5 ~ 2.5gm/L *

腺苷 (2mM) 0.25-2.5gm/L

谷胱甘肽 (还原性的; 10.0mM) 1-5gm/L

抗坏血酸 (1mM) 0.01-0.5gm/L

L-精氨酸 (5mM) 0.5 ~ 2.5gm/L

[0088] 左旋牛磺酸 (5mM) 0.1-1gm/L

 β -丙氨酸 (5mM) 0.1-1gm/L

L-组氨酸 (5mM)

左旋肌肽 (10mM) 1-5gm/L

一水肌酸 (2mM) 0.1-0.5gm/L

花生四烯乙醇胺 (0.01mM) 0.0001-0.005gm/L *

二甲胺四环素 (1.0mM) 0.1-1gm/L *

拉西地平 0.00001-0.001gm/L *

[0089] “*”表示 D-葡萄糖,花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平可根据外科医生的判断和病人的需要存在或不存在于心麻痹液中。溶液的 pH 值调整到大约 6.8 到 8.0 ; 或者大约 7.2 到 7.6。较优选的,使用 THAM 将 pH 值调整到大约 7.4,并保存于 4℃。渗透压维持在 290-300mOsm。

[0090] 花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平,可根据外科医生的判断包含于或不包含在溶液中。灌注师,外科医生,和 / 或护士,可根据他们的判断和病人的需要调整钾离子和镁离子的浓度。

[0091] 这些成分与使用说明书一起包装,并溶于 0.01-2.0L 的蒸馏水中。出售的该试剂盒可能不含有无菌水。例如,该试剂盒包括:

蒸馏水	1.00 L
氯化钙 (1.3mM)	0.191gm/L
氯化钾 (4.0mM)	0.298gm/L+ / - 24-90 mM
磷酸钾	
(一元, 0.5mM)	0.068gm/L
氯化镁	
(六水合物, 0.5mM)	0.101gm/L+ / - 10-20 mM 氯化镁
硫酸镁	
(七水合物, 0.5mM)	0.123gm/L
氯化钠 (130mM)	7.597gm/L
[0092] 碳酸氢钠 (5.0mM)	0.420gm/L
磷酸钠	
(二元;七水合物; 0.19mM)	0.050gm/L
D -葡萄糖 (7mM)	1.260gm/L*
腺苷 (2mM)	0.534gm/L
谷胱甘肽 (还原型的; 10.0mM)	3.073gm/L
抗坏血酸 (1mM)	0.176gm/L
L -精氨酸 (5mM)	1.073gm/L
左旋牛磺酸 (5mM)	0.625gm/L
β -丙氨酸 (5mM)	0.500gm/L
L -组氨酸 (5mM)	

	左旋肌肽 (10mM)	2.260gm/L
	一水肌酸 (2mM)	0.298gm/L
[0093]	花生四烯乙醇胺 (0.01mM)	0.003gm/L*
	二甲胺四环素 (1.0mM)	0.457gm/L*
	拉西地平	0.0005gm/L*

[0094] “*”表示 D- 葡萄糖,花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平可根据外科医生的判断和病人的需要存在或不存在于心麻痹液中。溶液的 pH 值调整到大约 6.8 到 8.0 ; 或者大约 7.2 到 7.6。较优选的,使用 THAM 将 pH 值调整到大约 7.4,并保存于 4℃。渗透压维持在 290-300mOsm。

[0095] 花生四烯乙醇胺,二甲胺四环素,和 / 或拉西地平,可根据外科医生的判断包含于或不包含在溶液中。灌注师,外科医生,和 / 或护士,可根据他们的判断和病人的需要调整钾离子和镁离子的浓度。

[0096] 或者,溶液是纳米尺寸的,纳米尺寸的溶液可以增加通过在此领域熟知的任何方法,透过细胞膜的效力,该方法包括在美国专利号为 6,521,248 和 7,198,254 中描述的方法,该专利通过引证在此全部并入本文。纳米尺寸是指减少颗粒的尺寸到亚-微米范围,最终颗粒大小通常为 1-10 μm 。粒子尺寸的减少将显著增加溶液透过细胞膜的效力。在一种实施方案中,溶液透过细胞膜的效力提高至少 20%,至少 25%,至少 50%,至少 75%或者至少 100%。

[0097] 先于在此描述的方法前,本发明为本发明的溶液提供了纳米尺寸。另外,在加入溶液的其它化合物 / 试剂前,本发明提供了纳米尺寸的水。在另一实施方案中,在混合前,本发明分别提供了纳米尺寸的水和纳米尺寸的溶液的每种化合物 / 试剂。

[0098] 在一种实施方案中,组合物包含纳米级尺寸的水包或水簇。或者,水包或水簇是 1-10 μm , 1-25 μm , 25-50 μm , 50-75 μm , 75-100 μm , 100-200 μm , 200-500 μm , 或者 500-999 μm 。

[0099] 在一种实施方案中,本发明提供的溶液可以顺行性给药。另外,溶液也可以逆行性给药。在另外实施方案中,在使用前,溶液可以与血液混合以便形成血麻痹液。另外,血液:溶液比例为 5 : 1, 4 : 1, 3 : 1, 2 : 1 或者 1 : 1。另外,血液:溶液比例为 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 或者 1 : 5。