

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4949558号
(P4949558)

(45) 発行日 平成24年6月13日(2012. 6. 13)

(24) 登録日 平成24年3月16日 (2012.3.16)

(51) Int. Cl.

AO1N 1/02 (2006.01)

F |

AO 1 N 1/02

請求項の数 15 (全 45 頁)

(21) 出願番号	特願2000-606063 (P2000-606063)
(86) (22) 出願日	平成12年3月22日 (2000. 3. 22)
(65) 公表番号	特表2002-539224 (P2002-539224A)
(43) 公表日	平成14年11月19日 (2002. 11. 19)
(86) 國際出願番号	PCT/AU2000/000226
(87) 國際公開番号	W02000/056145
(87) 國際公開日	平成12年9月28日 (2000. 9. 28)
審査請求日	平成19年3月22日 (2007. 3. 22)
(31) 優先権主張番号	PP 9414
(32) 優先日	平成11年3月23日 (1999. 3. 23)
(33) 優先権主張國	オーストラリア (AU)
(31) 優先権主張番号	PQ 4199
(32) 優先日	平成11年11月23日 (1999. 11. 23)
(33) 優先権主張國	オーストラリア (AU)

(73) 特許権者 511237748
ハイバーネーション・セラピューティクス
・グローバル・リミテッド
Hibernation Therape
utics Global Limite
d
アイルランド共和国、カウンティ・ウィックアウ、キルケード、カム・ロッジ・マネイジメント・センター (番地なし)
Cam Lodge Managemen
t Centre, Kilquade,
County Wickow, Rep
ublic of Ireland
(74) 代理人 100108855

(54) 【発明の名称】 臓器の停止、保護、及び保存

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

有効量の(i)カリウムチャンネル開口剤またはアゴニスト、およびアデノシン受容体アゴニストから選択される少なくとも一の化合物、(ii)局所麻酔剤、並びに(iii)10 mMまでのカリウム濃度を有する、薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュvant、および/または賦形剤を含む、臓器の停止、保護および/または保存のための組成物。

【請求項 2】

L型)、ピモザイド(LおよびT型)、ルテニウムレッド、リアノジン(SRチャンネル)、タイカトキシン、ベラパミル・HC1(L型)、メトキシ-ベラパミル・HC1(L型)、YS-035・HC1(L型) N[2(3,4-ジメトキシフェニル)エチル]-3,4-ジメトキシ N-メチルベンゼンエタンアミン・HC1)、並びにAV遮断薬から選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記カリウムチャンネル開口剤またはアゴニスト、またはアデノシン受容体アゴニストがアデノシンである、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】

前記アデノシン受容体アゴニストが、N⁶-シクロペンチルアデノシン(CPA)、N-エチルカルボキサミドアデノシン(NECA)、2-[p-(2-カルボキシエチル)フェネチル-アミノ-5'-N-エチルカルボキサミドアデノシン(CGS-21680)、2-クロロアデノシン、N⁶-[2-(3,5-ジメトキシフェニル)-2-(2-メトキシフェニル)エチルアデノシン、2-クロロ-N⁶-シクロペンチルアデノシン(CCPA)、N-(4-アミノベンジル)-9-[5-(メチルカルボニル)-D-ロボフラノシリル]アデニン(AB-MECA)、[[IS-[1a,2b,3b,4a(S*)]]-4-[7-[2-(3-クロロ-2-チエニル)-1-メチル-プロピル]アミノ]-3H-イミダゾール[4,5-b]ピリジル-3-イル]シクロペンタンカルボキサミド(AMP579)、N⁶-(R)-フェニルイソプロピルアデノシン(R-PLA)、アミノフェニルエチルアデノシン(APNEA)、およびシクロヘキシリアデノシン(CHA)から選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項5】

前記局所麻酔剤が、メキシレチン、ジフェニルヒダントイン、プリロカイン、プロカイン、メピバカイン、およびクラス1B抗不整脈剤から選択される、請求項1~4の何れか1項に記載の組成物。

【請求項6】

前記局所麻酔剤がリグノカインである、請求項1に記載の組成物。

【請求項7】

前記組成物が、心停止または心臓保護のための組成物である、請求項1~6の何れか1項に記載の組成物。

30

【請求項8】

前記薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、および/または賦形剤が、6~9のpHを有する緩衝液である、請求項1~7の何れか1項に記載の組成物。

【請求項9】

前記薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、および/または賦形剤が、20mMまでのマグネシウムを有する、請求項1~8の何れか1項に記載の組成物。

【請求項10】

前記マグネシウムの濃度が2.5mMまでである、請求項9に記載の組成物。

【請求項11】

ジピリダモールまたは血餅破裂薬を更に含む、請求項1~10の何れか1項に記載の組成物。

40

【請求項12】

臓器を停止、保護および/または保存するための医薬の製造における、請求項1~11の何れか1項に記載の組成物の使用。

【請求項13】

臓器を停止、保護および/または保存するための薬剤キットであって、

(i) カリウムチャンネル開口剤またはアゴニスト、およびアデノシン受容体アゴニストから選択される少なくとも一の化合物、並びに薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、および/または賦形剤を含む第1の薬剤；および

(ii) 局所麻酔剤、並びに薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、および/

50

または賦形剤を含む第2の薬剤を含み、第1の薬剤および第2の薬剤は、別々に、順次に、または同時に投与され；薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、および／または賦形剤は、10 mMまでのカリウム濃度を有する、薬剤キット。**【請求項14】**前記カリウムチャンネル開口剤またはアゴニスト、およびアデノシン受容体アゴニストがアデノシンである、請求項13に記載の薬剤キット。**【請求項15】**前記局所麻酔剤がリグノカインである、請求項13に記載の薬剤キット。

10

【発明の詳細な説明】**【0001】**

本発明は、臓器、とりわけ、心臓切開手術、心血管診断、又は治療的処置に際して、心臓を停止、保護、及び／又は保存する方法及び薬学的又は獣医組成物に関する。

【0002】

毎年、オーストラリアでは20,000、アメリカでは800,000、ヨーロッパでは約1,000,000を超える心臓切開手術が行われている。心臓切開手術を必要とする者のうち約1.2%は、主として先天性の心臓病が原因の新生児／乳児である。

【0003】

心臓切開手術中に、心臓は3時間に及んで停止され得る。40年以上にわたって、心筋の停止と保護は、高カリウムによる心停止（15～20 mMの過剰）を基礎とするものであった。広く用いられている聖トマス第2病院溶液（一般的には、110 mM NaCl、16 mM KC1、16 mM MgCl₂、1.2 mM CaCl₂、及び10 mM NaHCO₃を含有する）を含む、現在使用されている溶液の大部分は高カリウムを含有し、約7.8のpHを有する。高カリウム溶液は、通常、約-80から-50 mVへの膜の脱分極をもたらす。高カリウム溶液によって得られる臨床的な結果は許容し得るものであるが、最近の証拠は、カリウムによって誘導された進行性の脱分極は、心筋の仮死、心室性不整脈、虚血性傷害、内皮細胞の膨潤、毛細血管の損傷、細胞死、及び再灌流期間中のポンプ機能の喪失と関連しているかもしれないイオンと代謝的な不均衡をもたらすことを示唆している。乳児の心臓は、成人の心臓より、高カリウムに由来する心臓麻痺性の停止による損傷をさらに受けやすい。推測されている主要なイオンの不均衡は、増加したナトリウムの流入と関連しており、これは続いて、Na⁺ / Ca²⁺ 交換輸送体を活性化し、細胞内 Ca²⁺ の上昇をもたらす。続いて、代償的な Na⁺ と Ca²⁺ イオンポンプの活性化が起こり、これが、組織の乳酸塩の上昇と組織の pH の下降を伴いながら、嫌気性の代謝を活性化して ATP を補給する。カリウム停止には、フリーラジカルの発生と酸化的なストレスも関係しており、抗酸化剤の投与によって部分的に回復させ得ることが示唆されている。幾つかのケースでは、高カリウムによって誘導された虚血は、平滑筋及び内皮の機能を損傷すると報告されている。

20

30

30

【0004】

心臓麻痺性停止の際の虚血性損傷を最小限にするために、より多くの数の実験研究では、高カリウムの代わりにカリウムチャンネルの開口剤が用いられるようになっている。ニコランジル（nicorandil）、アブリカリム（aprikalim）、又はピナシジル（pinacidil）を用いた心臓の保護は、過分極状態、活動電位の短縮、及び細胞内への Ca²⁺ の流入の減少をもたらすカリウムチャンネルの開口と関連していると考えられている。しかしながら、1つ不十分な点は、心臓が機能の改善を伴わずに回復するのに、高カリウム心停止溶液を用いた場合と同じかそれ以上の時間を要するという点である。別の制約は、ピナシジルは、水溶液への溶解度が低いために担体が必要であるということである。よく用いられている担体は、動物又はヒトの治療への使用には議論の余地があるジメチルスルホキシド（DMSO）である。

40

【0005】

50

カリウムチャネル開口剤を使用することを唱道した者を含む多くの研究者は、血流が止まり、停止溶液が投与されるとすぐに、虚血が起こり、時間とともに進行性に増加すると考えられている。損傷の可能性を減らすために、本発明者らは、冬眠中のカメ、冬眠中のハチドリ、又は夏眠している砂漠のカエルの組織と類似の可逆的な低代謝状態に心臓を置き得るであろう心停止溶液を求めていた。これらの動物が（ある場合には、90%超）代謝速度を落とすと、それらの組織は、進行性の虚血状態にならずに、供給と需要が合致したダウンレギュレートされた定常状態に留まる。理想的な心停止溶液は、組織の虚血は最小限に抑えつつ、直ちに元に戻すことができる迅速な電気化学的停止を作り出さねばならない。心臓は、組織の乳酸の蓄積が少なく、殆どグリコーゲンを利用せずに、最小限の高エネルギーリン酸、細胞質酸化還元（NAD/NADH）、及び生体エネルギーによるリン酸化（ATP/ADP Pi）比率、並びにATPの自由エネルギー変化を示すはずである。細胞質のpH又は遊離のマグネシウムは、殆ど又は全く変化すべきでなく、細胞内と細胞外の相間の水の移行は最小限であり、ミトコンドリアのような細胞小器官の微細構造に対する大きな損傷が存在すべきではない。理想的な心停止溶液は、心室性不整脈、細胞質カルシウムの過重（overload）、又はその他のポンプの異常を伴わずに、100%の機能的な回復をもたらすべきである。現在のところ、これらの要件を全て充足する心停止溶液は得られていない。本発明者らは、カリウムチャネル開口剤アデノシンと局所麻酔リグノカイン（ lignocaine ）を用いることによって、停止及び回復中に、心臓をよりよく保護できることを発見するに至った。

【0006】

アデノシンの作用には議論の余地がある。アデノシンは、冠状動脈の血流を増大させ、細胞膜を過分極させ、ATP感受性のカリウムチャネルとアデノシン受容体、特にA1受容体を含むアデノシンが関連する経路とを介して、前提条件調整剤（ preconditioning agent ）として作用することが示されていた。アデノシンは、高カリウム性心停止への添加剤として心筋の回復を改善させることも知られている。さらに、アデノシンは、（停止溶液中に存在すると否とにかかわらず）致死的な傷害を抑制するための前処理として使用することができる。ある研究では、アデノシンは、カリウム停止溶液に匹敵し、さらに最近では、アデノシンは、血液心停止において、虚血性傷害の心臓の虚血後の機能不全を防止した。アデノシンは、時々、カリウム心停止への添加剤として加えられる。

【0007】

リグノカインは、速いナトリウムチャネルを遮断し、内向きのナトリウム電流の規模を減少させることによって、抗不整脈特性を有する局所麻酔剤である。これに伴う活動電位の短縮は、Ca²⁺選択的チャネルとNa⁺/Ca²⁺輸送交換を介した細胞内へのカルシウムの流入を直接減らすと考えられている。最近の報告も、リグノカインが、再灌流中の心臓におけるヒドロキシルや一重項酸素のようなフリーラジカルのスカベンジングに関与していることを示している。このスカベンジング機能に付随して、リグノカインは、ホスホリパーゼ活性を阻害し、虚血中の膜の崩壊も最小限に抑えるかもしれない。リグノカインは心筋保護効果も有することが示され、ある研究では、高カリウム溶液よりも優れていることが見出された。しかしながら、我々の実験は、単離された動作しているラットの心臓を用いて、0.5、1.0、及び1.5 mMのリグノカイン単独で非常に様々な機能的な回復を与えたことを示している。

【0008】

本発明のある側面によれば、臓器を停止し、保護し、及び/又は保存する方法であって、有効量の（1）カリウムチャネル開口剤又はアゴニスト及び/又はアデノシン受容体アゴニストと（2）局所麻酔剤とを、それを必要とする患者に投与とすることを含む方法が提供される。

【0009】

本発明の別の側面によれば、臓器を停止し、保護し、及び/又は保存するための医薬の製造における、（1）カリウムチャネル開口剤又はアゴニスト及び/又はアデノシン受容

10

20

30

40

50

体アゴニストと(2)局所麻酔剤の使用が提供される。

【0010】

本発明は、臓器を停止し、保護し、及び/又は保存するのに使用するための(1)カリウムチャンネル開口剤又はアゴニスト及び/又はアデノシン受容体アゴニストと(2)局所麻酔剤も提供する。

【0011】

本発明のさらなる側面によれば、有効量の(1)カリウムチャンネル開口剤又はアゴニスト及び/又はアデノシン受容体アゴニストと(2)局所麻酔剤とを含む薬学的又は獣医組成物が提供される。

【0012】

本発明は、患者の身体中にそのままの状態で存在する臓器を停止し、保護し、及び/又は保存するのに特に有利であるが、単離された臓器を停止し、保護し、及び/又は保存するためにも使用し得ることが理解されるであろう。

【0013】

このため、本発明は、さらに、有効量の(1)カリウムチャンネル開口剤又はアゴニスト及び/又はアデノシン受容体アゴニストと(2)局所麻酔剤とを含む組成物を臓器に加えることを含む、臓器を停止し、保護し、及び/又は保存する方法を提供する。

【0014】

本明細書で使用する「加える(adding)」という用語は、その最も広い意味で用いられ、例えば、浸漬、灌流、又は様々な経路を介したポンプ注入などの、臓器を本発明の組成物へ暴露する任意の方法を指す。

【0015】

本明細書で使用する「臓器」という用語は、その最も広い意味で用いられ、組織及び細胞又はその一部、例えば、細胞株又は細胞小器官の調製物を含む特定の機能を発揮する任意の身体の一部を指す。他の例には、心臓のような循環器、肺のような呼吸器、腎臓又は膀胱のような泌尿器、胃、肝臓、脾臓、又は脾臓のような消化器、陰嚢、精巣、卵巣、又は子宮のような生殖器、脳のような神経性臓器、精子又は卵子のような生殖細胞、皮膚細胞、心臓細胞、すなわち筋細胞、神経細胞、脳細胞、又は腎臓細胞のような体細胞が含まれる。

【0016】

本発明の方法は、とりわけ、心臓移植を含む心臓切開手術中に、心臓を停止し、保護し、及び/又は保存するのに有用である。他の利用法には、心臓発作、血管形成、又は血管造影を含み得る心血管処置の前、間、又は後の心臓の損傷を減らすことが含まれる。例えば、前記組成物は、心臓発作に苦しんでいる、又は心臓発作が進行している患者に投与し、ストレプトキナーゼのような血餅破裂薬(clot-busting drug)の投与時に使用し得る。血餅が溶解するとともに、前記組成物の存在が再灌流傷害のようなさらなる傷害から心臓を保護し得る。前記組成物は、とりわけ、様々な期間にわたって、正常な流れ、栄養素、及び/又は酸素が奪われた心臓の部分における心臓保護剤(cardioprotectant)として有効であり得る。例えば、前記組成物は、予め存在していた、又は心血管処置によって誘導され得る心臓の虚血を治療するために使用し得る。

【0017】

このように、本発明は、有効量の(1)カリウムチャンネル開口剤又はアゴニスト及び/又はアデノシン受容体アゴニストと(2)局所麻酔剤とを含む心停止又は心臓保護組成物も提供する。

【0018】

カリウムチャンネル開口剤又はアゴニストは、ニコランジル、ジアゾキシド、ミノキシジル、ピニカジル、アブリカリム、クロモクリム、NS-1619(1,3-ジヒドロ-1-[2-ヒドロキシ5(トリフルオロメチル)フェニル]5-(トリフルオロメチル)2-H-ベンイミダゾール-オノン)、アムロジピン、Bay K 8644(L型)(1,4-ジヒドロ-26-ジメチル-5-ニトロ-4[2(トリフルオロメチル)フェニル]

10

20

30

40

50

- 3 - ピリジンカルボン酸(メチルエステル))、ベブリジル・H C 1 (L型)、カルセプチン(L型)、 - コノトキシン G V I A (N型)、 - コノトキシン M V I I C (Q型)、シプロヘプタジン・H C 1、ダントロレンナトリウム(C a ²⁺ 放出阻害剤)、ジルチアゼム・H C I (L型)、フィロジピン、フルナリジン・H C 1 (C a ²⁺ / N a ⁺)、フルスピリレン(L型)、H A - 1 0 7 7 · 2 H C 1 (1 - (5 イソキノリニルスルホニル) ホモピペラジン H C 1)、イスラジピン、ロペラミド・H C 1、マノアリド(C a ²⁺ 放出阻害剤)、ニカルジピン・H C 1 (L型)、ニフェジピン(L型)、ニグルジピン・H C 1 (L型)、ニモジピン(L型)、ニトレンジピン(L型)、ピモザイド(L 及び T型)、ルテニウムレッド、リアノジン(S R チャンネル)、タイカトキシン、ベラパミル・H C 1 (L型)、メトキシ - ベラパミル・H C 1 (L型)、Y S - 0 3 10 5 · H C 1 (L型)、N [2 (3 , 4 - ジメトキシフェニル) エチル] - 3 , 4 - ジメトキシ - N - メチルベンゼンエタンアミン・H C 1)、並びにベラパミル及びアデノシンのような A V 遮断薬から選択し得る。カリウムチャンネル開口剤は間接的なカルシウムアンタゴニストなので、このリストは、カルシウムアンタゴニストを含むことが理解されるであろう。

【 0 0 1 9 】

アデノシンは、カリウムチャンネルを開口し、細胞を過分極し、代謝機能を弱め、おそらくは、内皮細胞を保護し、組織の事前調整を増強し、虚血又は損傷から保護することができるので、特に好ましい。アデノシンは、間接的なカルシウムアンタゴニスト、血管拡張因子、抗不整脈剤、抗アドレナリン作用薬、フリーラジカルスカベンジャー、停止薬(a 20 rresting agent)、抗炎症薬(好中球の活性化を弱める)、代謝剤でもあり、一酸化窒素のドナーと考えられる。

【 0 0 2 0 】

好ましい態様では、本発明は、臓器を停止し、保護し、及び / 又は保存する方法であって、有効量のアデノシンと局所麻酔剤とを、それを必要とする患者に投与とすることを含む方法が提供される。

【 0 0 2 1 】

適切なアデノシン受容体アゴニストには、N ⁶ - シクロペンチルアデノシン(C P A)、N - エチルカルボキサミドアデノシン(N E C A)、2 - [p - (2 - カルボキシエチル) フェネチル - アミノ - 5 ' - N - エチルカルボキサミドアデノシン(C G S - 2 1 6 8 0)、2 - クロロアデノシン、N ⁶ - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 2 - (2 - メトキシフェニル) エチルアデノシン、2 - クロロ - N ⁶ - シクロペンチルアデノシン(C C P A)、N - (4 - アミノベンジル) - 9 - [5 - (メチルカルボニル) - - D - ロボフラノシリル] アデニン(A B - M E C A)、([I S - [1 a , 2 b , 3 b , 4 a (S *)]] - 4 - [7 - [[2 - (3 - クロロ - 2 - チエニル) - 1 - メチル - プロピル] アミノ] - 3 H - イミダゾール [4 , 5 - b] ピリジル 3 - イル] シクロペプタンカルボキサミド(A M P 5 7 9)、N ⁶ - (R) - フェニルイソプロピルアデノシン(R - P L A)、アミノフェニルエチルアデノシン 9 A P N E A)、及びシクロヘキシリアデノシン(C H A)が含まれる。

【 0 0 2 2 】

前記局所麻酔剤は、メキシレチン、ジフェニルヒダントインプリカイン、プロカイン、メピバカイン、及びリグノカイン又はその誘導体、例えば、Q X - 3 1 4 のようなクラス 1 B 抗不整脈剤から選択することができる。おそらく速いナトリウムチャンネルを遮断し、代謝機能を弱め、遊離の細胞質カルシウムを低下させ、細胞からの酵素の放出に対して保護し、おそらく内皮細胞を保護し、筋繊維の損傷に対して保護することにより局所麻酔剤として作用することができるので、リグノカインが好ましい。リグノカインは、フリーラジカルスカベンジャー及び抗不整脈剤である。

【 0 0 2 3 】

リグノカインは、速いナトリウムチャンネルを遮断することによって作用するので、本発明の方法及び組成物には、局所麻酔剤に代えて、又は局所麻酔剤とともに他のナトリウム 50

チャンネル遮断薬も使用し得ることが理解されるであろう。適切なナトリウムチャンネル遮断薬の例には、テトロドトキシンのような毒が含まれる。

【0024】

このため、とりわけ好ましい態様では、臓器を停止し、保護し、及び／又は保存する方法であって、有効量のアデノシンとリグノカインとを、それを必要とする患者に投与することを含む方法が提供される。

【0025】

別の好ましい態様では、有効量のアデノシンとリグノカインを含む薬学的又は獣医組成物が提供される。

【0026】

表記を簡易化するために、以下、「カリウムチャンネル開口剤又はアゴニスト及び／又はアデノシン受容体アゴニスト」と「局所麻酔剤」は、「活性成分」と称する。

10

【0027】

本発明の方法は、臓器が、停止され、保護され、及び／又は保存されるのに十分な時間及び条件下で、有効量の活性成分を投与することを含む。活性成分は、別々に、順次に、又は同時に、単回又は複数回投与し得る。

【0028】

前記患者は、ヒト又は家畜（例えば、ヒツジ、ウシ、又はウマ）、実験動物（例えば、マウス、ウサギ、又はモルモット）、又はペット動物（例えば、イヌ又はネコ）のような動物、とりわけ経済的に重要な動物であり得る。

20

【0029】

前記組成物中に存在する活性成分の量は、患者の性質、停止、保護、及び／又は保存すべき臓器の種類、及び予定されている使用法に依存するであろうことが理解されるだろう。心臓切開手術中に心停止を必要とするヒトの患者の場合には、アデノシンの濃度は、好ましくは約0.001～約20mM、より好ましくは約0.01～約10mM、最も好ましくは約0.05～約5mMであり、リグノカインの濃度は、好ましくは約0.001～約20mM、より好ましくは約0.01～約10mMであり、最も好ましくは約0.05～約5mMである。心臓発作又は心血管処置の前、間、又は後に処置を必要とするヒトの患者の場合には、アデノシン及びリグノカインの好ましい濃度は、下表に記載されている。

【0030】

30

注入部位	種類／単位	アデノシン	リグノカイン
静脈内	注入	1. 0.001-10	1. 0.0001-20
	mg/分/kg	2. 0.01-5	2. 0.01-10
		3. 0.01-1	3. 0.5-3
静脈内	丸薬	1. 0.0001-100	1. 0.001-1000
	mg/kg	2. 0.001-10	2. 0.01-100
冠状動脈内	注入	1. 0.0001-100	1. 0.005-50
	mg/分	2. 0.001-1	2. 0.005-5
	(心臓当たり)	3. 0.01-0.5	3. 0.05-2.5
冠状動脈内	丸薬	1. 0.001-1000	1. 0.01-10,000
	μg	2. 0.1-100	2. 1-1000
	(心臓当たり)	3. 1-20	3. 10-200

40

1 = 好ましい

2 = より好ましい

3 = 最も好ましい

【0031】

前記活性成分は、経口、インプラント、直腸、（口又は鼻からの）吸入又はガス注入、局所（口腔又は舌下を含む）、腔、及び非経口（皮下、筋肉内、静脈内、胸骨内、及び皮内を含む）を含む任意の適切な経路から投与し得る。好ましくは、心臓切開手術又は心血管処置法における投与は、前記活性成分を当該患者又は類似の血液型を有する患者の血液と

50

混合することによって為されるであろう。その後、活性成分は、一般的には、大動脈を介して冠状動脈循環に入る。停止は、連続的な、又は断続的な供給によっても達成され得る。例えば、心停止は、ランゲンドルフモード (Langendorff mode) で、大動脈を介した逆行性の連続的又は断続的な何れかの灌流によって起こり得る。しかしながら、好ましい経路は、患者の症状及び年齢、並びに選択した活性成分とともに変化し得ることが理解されるであろう。

【0032】

本発明の組成物は、約15～約37、好ましくは約20～約37において、極めて有効であり、聖トマス第2溶液を用いてこれより長い停止時間を達成するには、温度を例えれば約4まで下げるしかない。

10

【0033】

活性成分の一方又は双方のみを投与することも可能であるが、活性成分の一方又は双方を、1以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、及び／又は賦形剤とともに投与することが好ましい。各担体、希釈剤、アジュバント、及び／又は賦形剤は、前記組成物の他の成分と併存可能で、患者に対して有害でないという意味で薬学的に「許容される」ものでなければならない。前記組成物は、適宜に単位投薬形態で与えられ得、製薬の分野で周知の方法によって調製し得る。このような方法には、前記活性成分を、1以上の補助成分を構成する前記担体と接触させる工程を含む。好ましくは、前記組成物は、前記活性成分を、液状担体、希釈剤、アジュバント、及び／又は賦形剤と均一且つ緊密に混合することによって調製される。

20

【0034】

本発明は、前記活性成分と薬学的又は獣医学的に許容される担体、希釈剤、アジュバント、及び／又は賦形剤を含む薬学的又は獣医組成物にも及ぶ。

【0035】

経口投与に適した本発明の組成物は、各々が所定の量の活性成分を含有するカプセル、薬囊 (sachet)、又は錠剤のような分離した単位として、粉末若しくは顆粒として、水又は水以外の液体中の溶液若しくは懸濁液として、又は水中油液体エマルジョン若しくは油中水液体エマルジョンとして与えられ得る。前記活性成分は、丸薬、舐剤、又はペーストとしても与えられ得る。

【0036】

錠剤は、必要に応じて、1以上の補助成分とともに、圧縮又は成形によって作ることができる。圧縮された錠剤は、必要に応じて、結合剤 (例えば、予めゲル化されたトウモロコシのデンプン、ポリビニルピロリドン、又はヒドロキシプロピルメチルセルロース)、充填剤 (例えば、乳糖、微結晶性セルロース、又はリン酸水素カルシウム)、潤滑剤 (例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、又はシリカ)、不活性な希釈剤、防腐剤、崩壊剤 (例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、シリカ)、不活性な希釈剤、防腐剤、崩壊剤 (例えば、グリコール酸デンプンナトリウム、架橋されたポビドン、架橋されたカルボキシメチルセルロースナトリウム)、界面活性剤又は分散剤を混合させて、粉末又は顆粒のような流動性の活性成分を適切な機械で圧縮することによって調製し得る。成形された錠剤は、不活性な液体希釈剤で湿らせた粉末状化合物の混合物を適切な機械で成形することによって作成し得る。錠剤は、必要に応じて、コートし、又は刻み目を付けてもよく、例えば、所望の放出プロフィールを与るために、様々な比率のヒドロキシルプロピルメチルセルロースを用いて、その中の活性成分が徐放され、又は制御されて放出されるような剤形にしてもよい。錠剤は、必要に応じて、胃以外の消化管の一部で放出されるように、腸溶コーティングを用いて作成してもよい。

30

【0037】

臓器を停止し、保護し、及び／又は保存する前に投与するための液体調製物は、例えば、溶液、シロップ、又は懸濁液の形態を探ってもよく、又は使用前に水若しくは他の適切なビーグルで液状に構成するための乾燥製品として与えてもよい。このような液体調製物は、懸濁剤 (例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体、又は食用硬化脂肪)；乳

40

50

化剤（例えば、レシチン又はアカシア）；非水性ビークル（例えば、アーモンド油、油状エステル、エチルアルコール、又は分画された植物油）；防腐剤（例えば、メチル又はプロピル-p-ヒドロキシベンゾエート又はソルビン酸）、及びエネルギー源（例えば、グルコースのような炭水化物、パルミテートのような脂肪、又はアミノ酸）のような薬学的に許容される添加物とともに、慣用的な手段によって調製し得る。

【0038】

口内への局所投与に適した組成物には、芳香性基剤（flavoured basis）、通常はショ糖とアカシア又はトラガカントガムの中に活性成分を含むトローチ剤；ゼラチンとグリセリン、又はショ糖とアカシアガムのような不活性基剤の中に活性成分を含む芳香製剤；及び適切な液体担体中に活性成分を含む口洗剤が含まれる。

10

【0039】

皮膚への局所適用のためには、前記活性成分は、クリーム、軟膏、ゼリー、溶液、又は懸濁液の形態であり得る。

【0040】

目への局所適用のためには、前記活性成分は、適切な無菌の水性又は非水性ビークル中の溶液又は懸濁液の形態であり得る。添加物、例えば緩衝液、フェニル酢酸又は硝酸水銀又は、塩化ベンズアルコニウム、又はクロロヘキシジンのような殺微生物及び殺真菌剤を含む防腐剤、及びヒプロメロース（hypromellose）のような濃縮剤も含有させ得る。

20

【0041】

前記活性成分は、デポ調製物として調剤してもよい。このような持続性製剤は、インプランテーション（例えば、皮下又は筋肉内）、又は筋肉内注射によって投与され得る。このように、例えば、前記活性成分は、適切なポリマー又は疎水性物質とともに、（例えば、許容される油若しくはイオン交換樹脂中のエマルジョンとして、又は難溶性の誘導体、例えば難溶性の塩として）調合し得る。

【0042】

直腸投与するための組成物は、常温では固体であるが、直腸温では液体するために、直腸で溶けて活性成分を放出する適切な非刺激性賦形剤を用いて、座薬又は滞留浣腸（retention enema）として与え得る。このような賦形剤には、ココアバター又はサリチル塩／エステルが含まれる。

30

【0043】

鼻内及び肺への投与のためには、前記活性成分は、適切な定量若しくは単位投薬装置を介して投与するための溶液若しくは懸濁液として、又は適切な送達装置を用いて投与するための適切な担体を有するパウダーミックスとして調合し得る。

【0044】

腔投与に適した組成物は、活性成分に加えて、本分野において適切であることが知られている担体を含有するペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォーム、又はスプレー製剤として与え得る。

【0045】

非経口投与に適した組成物には、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤、及び組成物を意図した患者と血液と等張にする溶質を含有してもよい水性及び非水性等張無菌注射溶液；並びに懸濁剤及び濃縮剤を含み得る水性及び非水性無菌懸濁液が含まれる。前記組成物は、単位投薬量又は複数投薬量のシールされた容器、例えば、アンプル及びバイアル中に与えられ得、使用の直前に、無菌液体担体、例えば、注射用の水の添加のみを必要とする凍結乾燥（lyophilised）状態で保存し得る。即席の注射溶液及び懸濁液は、前に記載した種類の無菌粉末、顆粒、及び錠剤から調製し得る。

40

【0046】

前記組成物が獣医用であるときには、例えば、本分野で慣用される方法によって調製し得る。このような獣医組成物の例には、

(a) 経口投与、外用、例えば水薬（例えば、水性又は非水性溶液又は懸濁液）；錠剤又

50

は丸薬；食べ物と混ぜるための粉末、顆粒、又はペレット；舌に適用するためのペースト；(b) 例えば無菌溶液又は懸濁液として、例えば皮下、筋肉内、又は静脈内注射することによる、；又は(適切な場合には)、乳首を介して乳房中に懸濁液又は溶液を導入する乳房内注入による非経口投与

(c) 例えば、皮膚に付けるためのクリーム、軟膏、又はスプレーとして局所適用、又は(d) 例えば、ペッサリー、クリーム、又はフォームとして膣内への投与に適合したものが含まれる。

【0047】

特に上記した成分に加えて、本発明の組成物は、この種の組成物に関して本分野で慣用される他の薬剤を含んでもよく、例えば、経口投与に適した組成物は、結合剤、甘味料、濃縮剤、香料、崩壊剤、コーティング剤、防腐剤、潤滑剤、及び/又は時間遅延剤 (time delay agent) のようなさらなる物質を含み得ることを理解しなければならない。

【0048】

適切な甘味料には、ショ糖、乳糖、ブドウ糖、アスパルテーム、又はサッカリンが含まれる。適切な崩壊剤には、コーンスターク、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、キサンタンガム、ベントナイト、アルギン酸、又は寒天が含まれる。適切な香料には、ペパーミントオイル、ウィンターグリーン油、サクランボ、オレンジ、又はラズベリー香料が含まれる。適切なコーティング剤には、アクリル酸及び/又はメタクリル酸及び/又はそれらのエステルのポリマー又はコポリマー、ワックス、脂肪アルコール、ゼイン、セラック、又はグルテンが含まれる。適切な防腐剤には、安息香酸ナトリウム、ビタミンE、-トコフェロール、アスコルビン酸、メチルパラベン、プロピルパラベン、又は重亜硫酸ナトリウムが含まれる。適切な潤滑剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸(steric acid)、オレイン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、又はタルクが含まれる。適切な時間遅延剤には、モノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルが含まれる。

【0049】

好ましい薬学的に許容される担体は、約6～約9、好ましくは約7、より好ましくは約7.4のpH、及び/又は低濃度のカリウム、例えば、約10mM、より好ましくは、約2～約8mM、最も好ましくは約4～約6mMまでのカリウムを有する緩衝液である。適切な緩衝液は、一般的には、10mM グルコース、117mM NaCl、5.9mM KCl、25mM NaHCO₃、1.2mM NaH₂PO₄、1.12mM CaCl₂ (遊離のCa²⁺ = 1.07mM)、及び0.512mM MgCl₂ (遊離のMg²⁺ = 0.5mM) を含有するクレブス-ヘンゼライト、聖トマス第2溶液、一般的には、10mM グルコース、126mM NaCl、5.4mM KCl、1mM CaCl₂、1mM MgCl₂、0.33mM NaH₂PO₄、10mM HEPES (N-[2-ヒドロキシエチル]ピペラジン-N'-[2-エタンスルホン酸]を含有するタイロード溶液、フレムス溶液(Fremes solution)、一般的には、129NaCl、5mM KCl、2mM CaCl₂、及び29mM 乳酸塩を含有するハルトマン溶液、並びにリンガー-ラクテートが含まれる。低カリウムを使用する利点の1つは、本組成物の患者、とりわけ新生児/乳児のような小児患者に対する有害さが低下することである。高カリウムは、カルシウムの蓄積と関連しており、これは、回復中に不規則な心臓の拍動、心臓への損傷、及び細胞の膨潤を伴い得る。新生児/乳児は、心停止中に高カリウムによる障害に対して、成人よりも感受性が高い。欠損の手術後に、新生児/乳児の心臓が正常な状態に戻るまでには多くの日数を要するかもしれない、時には、集中治療又は生命維持装置が必要かもしれない。例えば、約2.5mM程度のような低濃度のマグネシウムを有する担体を使用することも有利であるが、所望であれば、組成物の活性に実質的な影響を与えることなく、例えば約20mM程度のような高濃度のマグネシウムを使用することができることも理解されるであろう。

【0050】

10

20

30

40

50

さらに好ましい態様では、本発明は、アデノシン、リグノカイン、及び約10mMまでのカリウムを含有する薬学的に許容される担体を含む薬学的又は獣医組成物を提供する。

【0051】

さらに好ましい態様では、本発明は、アデノシン、リグノカイン、及びクレブス-ヘンゼライト緩衝液を含む薬学的又は獣医組成物を提供する。

【0052】

前記組成物は、有利には、別々に、順次に、又は同時に投与するために、前記活性成分が別個に入れられたキットの形態で提供し得る。

【0053】

本発明の組成物は、予定される用途に応じて、公知の医薬を含み、及び/又は公知の医薬と組み合わせて使用し得ることが理解されるであろう。例えば、又クレオシド輸送阻害剤、例えば、ジピリダモールのような血液中のアデノシンの分解を実質的に抑制する医薬を、添加物として、本発明の組成物に使用することができる。血中でのアデノシンの半減期は約10秒なので、その分解を実質的に抑制する医薬の存在は、本発明の組成物の効果を最大にするであろう。ジピリダモールは、有利には、約0.1nM~約10mMの濃度で含まれ得、心臓の保護に関して主要な利点を有する。ジピリダモールは、血管収縮を増加させるアデノシンの輸送を阻害することによって、アデノシンの作用を補充し得る。組成物が断続的に投与されるときには、これは特に重要であり得る。

10

【0054】

医薬の他の例には、ストレプトキナーゼのような血餅破裂薬が含まれる。先に論述したように、前記組成物は、ストレプトキナーゼの投与時に、心臓発作に苦しんでいる、又は心臓発作が進行している患者に投与することができる。

20

【0055】

ここで、以下の例を参照しながら、本発明を記載する。これらの例は、いかなる意味においても、限定的に解してはならない。

【0056】

該例では、添付の図面が参照されるであろう。

【0057】

該例では、「AL」は、アデノシンとリグノカインを含有する組成物を指す。

【0058】

30

例1

本例は、連続的な灌流を用いた全体的な虚血期間後の機能的な回復に対するアデノシン(100μM)による心停止の影響を高カリウムの聖トマス病院第2溶液(16mM K⁺)の影響と比較する。

【0059】

37で、pH7.4のクレブス-ヘンゼライト緩衝液を用いて、動作モード(負荷前7.5mmHg;負荷後100mmHg)で、雄の450gのSprague-Dawleyラット(n=19)から得た心臓を30分間灌流した。続いて、(1)濾過したクレブス-ヘンゼライト(10mM グルコース、pH7.6~7.8、37)中に100μMのアデノシンと0.5mMのリグノカインを含有する溶液(n=11)、又は(2)聖トマス第2溶液(0.2ミクロンのフィルター)(n=8)の何れかを用いて、70mmHgの一定圧力で、逆行性モードで心臓を停止させた。30分又は4時間の停止後に、心臓をクレブス-ヘンゼライトpH7.4、37での正常な順行性灌流に戻した。心拍数、冠状動脈の流速、大動脈の流速、大動脈の圧力、及び酸素消費をモニターした。統計的な有意性は、スチューデントのt検定を用いて評価した。

40

【0060】

結果

アデノシンによる心停止を用いて30分間停止させた心臓は、聖トマス第2溶液と比較して、半分の時間で静止状態に達した(30対77秒、p<0.0001)。一定の灌流圧下での停止の間、冠状動脈の血液の流速は、アデノシンによる心停止を用いると、30%

50

大きかった ($p < 0.05$)。AL心臓では、再灌流中の大動脈の圧力、大動脈の流速、及び心臓の拍出量が、より早く回復した。再灌流してから5分後に、心拍数、大動脈の圧力、大動脈の流速、冠状動脈の流速、心臓の拍出量、及び O_2 消費が、AL心臓では高かった(表1)。15、25、及び35分には、100mmHgの灌流ヘッドに対して、より高い大動脈の流速も見られた(図1)。

【 0 0 6 1 】

【表1】

表1
動作しているラットの心臓での30分の平常温(37°C)の連續的な停止後のアデバシンとリグノカインによる心停止と聖トマス第2病院溶液との比較

アデノシンピリグノカイン (n=11)		トマス第2溶液 (n=12)	
電気力学的な停止までの時間(秒) ペラメーター	30±2秒	77±6秒	%
	対照 回復	対照 回復	対照 回復
心拍数(bpm)	292±9	213±8	73%
最大血圧(mmHg)	122±3	126±4	103%
最低血圧(mmHg)	76±1	74±1.3	97%
大動脈の流速(mL/分)	35.6±3	24±4	67%
冠状動脈の流速(mL/分)	16.4±0.7	13.6±0.9	83%
心拍出量(mL/分)	52±3	37.2±4.7	72%
O ₂ 消費(μmol/分/g湿重量)	6.97±0.28	5.39±0.38	77%

対照値は、30分の停止プロトコールの5分前に測定される *有意P<0.05

機能パラメーターに関して、 $100 \mu M$ アデノシンおよび $0.5 mM$ リグノカインによる心停止は、聖トマス病院第2溶液と比較して、停止時間が短くなり、回復プロフィールが高まつた。

【0063】

4時間の心停止に関する結果を、下記表2に示す。

【0064】

【表2-1】

【0065】
【表2-2】

表2
アデノシン/リグノカインによる心停止又は聖トマス病院溶液2を用いた30分の連続的な心停止後のSDラットの心臓の機能的な回復の比較

	n	安定な灌流期間						停止
		心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	大動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	MV02 (μ mol/分/g)	
アデノシン+ リグノカイン による心停止								
	7	292.18	122.38	16.44	35.66	52	6.97	70mmHgで供給 される定常的な 灌流による 30分の心停止
		± 8.82	± 3.58	± 1.07	± 3.33	± 2.73	± 0.28	
	%	100	100	100	100	100	100	
聖トマス 病院溶液2								
	10	2.85	128.08	17.4	31.53	48.93	7.28	
		± 13.48	± 3.14	± 0.74	± 4.09	± 4.15	± 0.3	
	%	100	100	100	100	100	100	

表2(つづき)

5分の再灌流後						
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	大動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (μ mol/分)/g)
アデノシン+	7	212.91	126.09	13.6	23.64	37.24
リグノカイン による心停止	± 7.62	± 4.15	± 0.92	± 4.09	± 4.73	± 0.38
聖トマス病院 溶液2	10	150.36	88.08	10.09	9.96	20.06
	%	± 34.45	± 14.21	± 1.93	± 2.83	± 4.49
	%	53	70	57	32	40
						57

【0066】
【表2-3】

表2(つづき)

15分の再灌流後						
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	大動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (μmol/分/g)
アデノシン+	7	262.18	114.91	12.55	25.07	37.82
リグノカイン による心停止	%	± 10.36	± 4.18	± 1.03	± 3.08	± 3.89
聖トマス病院 溶液2	10	257.09	118.82	15.05	16.18	31.24
	%	± 14.81	± 3.81	± 1.24	± 2.95	± 3.73
	90	94	86	51	64	84

【0067】
【表2-4】

表2(つづき)

25分の再灌流後						
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	大動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)
アデノシン+	7	253.54	118.4	14.08	30.52	44.8
リグノカイン による心停止	%	±28.47	±3.58	±0.75	±2.73	±3
聖トマス病院 溶液2	10	266.91	118.09	15.05	23.11	38.16
	%	±15.16	±3.43	±1.04	±3.94	±4.47
	94	94	86	73	78	91

表2(つづき)

35分の再灌流後						
	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	大動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	MVO ₂ (μmol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7 ± 11.74	118.88 ± 4.62	14.2 ± 0.68	32.13 ± 2.94	46.33 ± 3.43	6.54 ± 0.09
%	97	97	88	90	89	94
聖トマス病院 溶液2	10 ± 14.04	271.27 ± 3.11	120.45 ± 1.37	15.38 ± 4.03	40.74 ± 4.4	6.74 ± 0.48
%	96	96	88	80	89	96

【0069】

例2

例2に記載した方法を用いて成体Wistarラット(350g)を準備した後、以下に論述されているように断続的な灌流に供した。

【0070】

心臓が動作モードからランゲンドルフモードに転じた後に、70mmHgの一定な圧力ヘッド下で、断続的な逆行性の灌流を実施した。安定化後、アデノシン+リグノカインによ

る心停止又は聖トマス病院第2溶液の何れか50mLを用いて心臓を停止させた。続いて、大動脈を交差クランプで締め付け、心臓を20分間停止させた状態で放置した後（30分の断続的停止プロトコールの場合を除く）、クランプを外し、70mmHgの圧力ヘッドから停止溶液を2分供給した。クランプを戻し、この操作を37で、30分、2時間、及び4時間まで続けた。

【0071】

断続的な心停止の付与は、例1の連続的な灌流に比して、臨床で一般的に用いられている方法である。断続的な停止中に、患者の大動脈をクランプし、停止溶液を投与する。2～3分後に、心臓は停止し、心停止の付与を止める。心臓は動かなくなり、手術が可能となる。30分毎に、2～3分の間、再度停止溶液を投与して、心臓を停止状態に保ち、心臓の筋肉を保存及び保護する。これらの時間の間に、心臓の筋肉は、ゆっくりと虚血状態（乳酸塩の産生と筋肉のpHの低下が指標となる）になる。このために、断続的な灌流の供給は、しばしば、断続的な虚血性停止と呼ばれる。結果は、下表3～7及び図2～5に示されている。

10

【0072】

37での30分の虚血性停止

表3と図2は、A-Lが、聖トマス溶液の半分の時間（21秒（n=7）対53秒（n=10））で停止させることを示している。全ての心臓は、再灌流後に、同じレベルまで機能を回復した（グループ間には有意差はない）。

【0073】

20

【表3】

表3

アデノシン/リグノカインによる心停止及び聖トマス病院溶液2によって達成された成体の心臓の30分にわたる断続的な停止*の特性
*（15分間にわたる大動脈のクランピング後の2分の心停止パルス）

	アデノシン/リグノカイン による心停止 (n=7)	聖トマス病院 溶液2 (n=10)	P
停止時間(秒)	21.43 ±3.92	52.78 ±5.65	p<0.01
再灌流後最初の収縮までの時間(秒)	147.14 ±14.95	133.67 ±31.44	ns
100mmHgを回復するまでの時間	302.14 ±21.87	309.44 ±30.15	ns

30

【0074】

【表4-1】

40

表4
アデノシン/リグノカインによる心停止又は聖トマス病院溶液2を用いた30分
の断続的な虚血*後のラットの心臓の機能的な回復の比較

安定な灌流期間						
n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7 ± 11.01	245.38 ± 2.83	128.23 ± 3.64	34.33 ± 3.64	21.64 ± 2.02	58.29 ± 4.63
聖トマス病院 溶液2	10 ± 11.87	276.74 ± 1.30	123.64 ± 2.09	32.78 ± 1.62	19.38 ± 1.62	55.36 ± 2.59
	100	100	100	100	100	34090 ± 1111
						5.97 ± 0.56
						100

15分に与え
た心停止に
よる30分の
虚血性停止

表4(つづき)

5分の再灌流後						
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7	180.48 ± 26.83	132.79 ± 6.65	22.06 ± 4.48	*22.15 ± 2.20	47.59 ± 2.70
	74	104	64	102	82	76
聖トマス病院 溶液2	10	135.94 ± 32.71	81.82 ± 15.94	*13.48 ± 4.69	34.61 ± 2.47	23281 ± 6.96
	49	58	58	70	63	68
						84

*スチューデントのT検定を用いたときに統計学的に有意な差($p<0.05$)

【0077】
【表4-4】

表4(つづき)

15分の再灌流後							
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mmHg/分)	RP積 (μ mol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7	225.31 ± 19.17	126.17 ± 2.88	29.21 ± 3.20	17.14 ± 1.81	48.99 ± 3.76	28228 ± 2015 5.03 ± 0.49
聖トマス病院 溶液2	10	255.88 ± 9.69	121.56 ± 1.32	24.84 ± 2.36	17.00 ± 1.64	45.07 ± 2.47	31131 ± 1267 5.41 ± 0.53
	92	98	85	79	84	90	80
	92	98	76	88	81	91	91

表4(つづき)

30分の再灌流後						
	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7 ± 13.75	124.84 ± 2.61	29.60 ± 2.83	16.49 ± 1.51	49.09 ± 1.95	29403 ± 1234 5.42 ± 0.70
聖トマス病院 溶液2	10 ± 12.29	122.16 ± 1.62	22.26 ± 3.32	17.08 ± 1.20	42.41 ± 3.28	31154 ± 1464 5.26 ± 0.38
	92	99	68	88	77	91 88

【0078】
【表4-5】

表4(つづき)

60分の再灌流後						
n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7	244.97 ±11.48	119.80 ±2.95	22.42 ±3.48	15.52 ±0.49	41.53 ±2.78
	100	93	65	72	71	29269 ±1240
聖トマス病院 溶液2	10	258.16 ±13.88	111.57 ±1.68	17.01 ±3.08	15.46 ±1.21	35.89 ±3.46
	93	95	52	80	65	30392 ±1727
						5.08 ±0.33
						89 85

【0079】

37 での 2 時間の虚血性停止

表5と図3は、A-Lが、聖トマス溶液の半分の時間（33秒（n=7）対81秒（n=8））で停止させることを示している。聖トマスで停止させた8つの心臓のうち4つが回復しなかった。A-L心臓は全て生存した（n=7）。回復した聖トマス心臓（n=4）は、50~90%の大動脈流速、70~120%の心拍数、及び90~100%の最大血

10

20

30

40

50

圧を有していた。A-L心臓は、80%の大動脈流速、95%の心拍数、及び95~100%の最大血圧を回復した。

【0080】

【表5】

表5

アデノシン/リグノカインによる心停止及び聖トマス病院溶液2によって達成された成体ラットの心臓の2時間にわたる虚血性停止*の特性
*(20分の大動脈のクランピング後に繰り返された2分の心停止パルス)

10

	n	アデノシン /リグノカイン による心停止	n	聖トマス病院 溶液2	p
停止時間(秒)	7	33 ±5	8	81 ±8	0.0003
再灌流後 最初の収縮 までの時間(秒)	7	360 ±19	4	260 ±95	NS
100mmHgを 回復し、大動脈の フローが得られる までの時間(秒)	7	541 ±46	4	2400 ±3261	NS
再灌流後に 生存した心臓 のパーセント		100		50	

20

【0081】

30

37での4時間の虚血性停止

表6及び7と図4は、A-Lが、聖トマス溶液の半分の時間(26秒(n=9)対78秒(n=7))で停止させることを示している。聖トマスで停止させた7つの心臓のうち6つが回復しなかった。A-L心臓は全て生存した(n=9)。回復した唯一の聖トマス心臓は、40%の大動脈流速、80%の心拍数、及び90%の最大血圧を有していた。A-L心臓は、70%の大動脈流速、90%の心拍数、及び95~100%の最大血圧を回復した。

【0082】

【表6】

表6

アデノシン／リグノカインによる心停止及び聖トマス病院溶液2によって達成された成体ラットの心臓の4時間にわたる虚血性停止*の特性
*(20分の大動脈のクランピング後に繰り返された2分の心停止パルス)

	アデノシン ／リグノカイン による心停止	聖トマス病院 溶液2	p	
停止時間(秒)	26.44 ± 2.77 (n=9)	77.86 ± 10 (n=7)	<0.001	10
再灌流後 最初の収縮 までの時間(秒)	401.67 28.48 (n=9)	390.00 (n=1)		
100mmHgを 回復し、大動脈の フローが得られる までの時間(秒)	549.22 40.68 (n=9)	480.00 (n=1)		20
再灌流後に 生存した心臓 のパーセント	100 (n=9)	14 (n=1)	<0.0001	

【 0 0 8 3 】

【表 7 - 1】

30

【0084】
【表7-2】

表7
アデノシン/リグノカインによる心停止又は聖トマス病院溶液2を用いた
4時間の断続的な虚血性停止後のラットの心臓の機能回復の比較

安定な灌流期間							
n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)	MV02 (μ mol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン/ による心停止	9 ± 12.91	118.44 ± 3.50	36.47 ± 1.65	16.28 ± 1.03	53.88 ± 1.73	32338 ± 1084	6.71 ± 0.45
聖トマス病院 溶液2 (n=1)	7 270	259.21 117.00	121.57 ± 2.42	41.23 ± 4.18	16.03 ± 1.26	57.26 ± 5.30	31508 ± 1672 7.28

20分ごとに
与えられた
2分の心停止

による4時間
の虚血性停止

表7(つづき)

15分の再灌流後						
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	RP積 (mmHg/分) (μmol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	9	229.89 ± 16.10	110.89 ± 1.86	19.81 ± 3.56	13.92 ± 1.53	36.49 ± 4.13
聖トマス病院	1	220.00 % 81	100 85	18.60 36	16.20 82	22000 51 70 73

【0085】
【表7-3】

表7(つづき)

30分の再灌流後							
	n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分) (μmol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	9	239.444 ± 18.7165	113.00 ± 3.07	24.62 ± 2.917	11.53 ± 1.001	39.44 ± 4.259	26684 ± 1669 4.946 ± 0.443
聖トマス病院 溶液2	1	220 % 81	105.00 90	16.8 33	20.4 103	73 55	74 23100 5.303 73 73

表7(つづき)

60分の再灌流後						
n	心拍数 (bpm)	最大血圧 (mmHg)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分) (μmol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン/ による心停止	9	249.22 ± 17.19	111.89 ± 3.29	25.58 ± 3.26	11.39 ± 1.32	40.63 ± 4.72
	% 91	94	94	70	70	27570 ± 1577
聖トマス病院 溶液2	1	250.00 % 93	102.00 87	14.40 28	18.00 91	34.40 49
						25500 81
						6.29 86

【 0 0 8 7 】

図5は、30分の虚血性の断続的な停止 (n = 7)、2時間の断続的停止 (n = 7)、及び4時間の断続的停止 (n = 9)後に、AL溶液で停止された心臓が全て生存したことを見示す図2~4の結果の要約である。これに対して、聖トマス溶液で停止された心臓は、調べたもののうち、30分後では全て生存していたが (n = 10)、50% (調べた8つの

うち4つ)と14% (7つのうち1つ)が生存していたにすぎなかった。さらに、ALを用いると、2つの心臓が6時間正常に停止した(図5)。

【0088】

図2~4は、0.5時間の停止(図2)、2時間の停止(図3)、及び4時間の停止(図4)後の60分間、機能的な特性(心拍数、最大血圧、大動脈の流速、冠状動脈の流速、酸素消費、及び拍数-圧力積)を示している。全てのケースで、AL溶液で停止された心臓は、より高い機能回復パラメーターを有していた。0.5時間の停止後、これらの差は、AL停止溶液を与えた心臓における大動脈流速の回復を除き、有意でなかった。70mmHgの圧力ヘッドに対する大動脈の流速は、聖トマスの心臓における65%に比べて、30分で対照値の90%にまで回復した。2時間の断続的な虚血性の停止後に、機能的な回復の差は、より顕著である。ALで停止された心臓では、心拍数と最大血圧は、対照値のほぼ100%にまで回復したのに対して、聖トマスの心臓では、40~50%しか回復しなかった。大動脈の流速、冠状動脈の流速、酸素消費、及び拍数-圧力積は、AL心臓では対照の80%以上に回復したが、聖トマスの心臓では20~40%までしか回復しなかった。4時間の停止後には、差はさらに大きくなり、7つの聖トマス心臓のうち1つだけが回復した。全てのAL心臓は、4時間の停止後に、2時間について上記したのと同様の回復機能プロフィールで回復した。AL停止は、成体の心臓において、2及び4時間の停止中により優れた保護と回復を与えると結論付けることができる。

10

【0089】

例3

20

供給及び負荷後の圧力ヘッドを50mmHgに減少したことを除き、例2に記載した、2時間37での断続的な灌流技術を用いて、新生仔/乳児ラット(50~70gの20日齢のラットを用いた)の心臓を準備した。下表8と9及び図6に示されている結果は、A-Lは、聖トマス溶液の1/3の時間(19秒(n=7)対66秒(n=7))で停止させることを示している。聖トマスで停止させた7つの心臓のうち3つが回復しなかった。A-L心臓は、80%の大動脈流速で全て生存した(n=7)。回復した聖トマス心臓の大動脈流速は平均80%であったが、これは極めてばらつきが大きかった。

【0090】

2時間の断続的な虚血性停止後に、AL溶液で停止された新生仔/乳児の心臓は全て回復した。聖トマス溶液で停止された7つの心臓のうち4つだけが、2時間の断続的な虚血性停止後に回復した。ALで停止された心臓では、心拍数と最大血圧は対照値の90~100%まで回復したのに対して、聖トマスの心臓は、50~60%までしか回復しなかった。大動脈の流速、冠状動脈の流速、及び拍数-圧力積は、AL心臓では対照の80%以上にまで回復したが、聖トマスの心臓では約50%までしか回復しなかった。AL心臓の酸素消費は対照の70~85%であり、聖トマス溶液で停止された心臓では約60%であった。AL停止は、新生仔/乳児の心臓における2時間の停止と回復の間に、より優れた保護を与えると結論できる。

30

【0091】

【表8】

表8

アデノシン/リグノカインによる心停止及び聖トマス病院2によって達成された新生仔の未成熟なラットの心臓の停止*の特性
*(20分の大動脈のクランピング後に繰り返された2分の心停止パルス)

	アデノシン/ リグノカイン	聖トマス病院 溶液2	p	
停止時間(秒)	18.57 ± 3.72(7)	65.71* ± 12.71(7)	<0.05	10
再灌流後最初の 収縮までの時間(秒)	23.83 ± 3.03(7)	55.75* ± 12.97(4)	<0.05	
50mmHg及び大動脈のフロー を回復するまでの時間(秒)	165 ± 29.48(7)	270 ± 83.5(4)	ns	
再灌流後に生存した心臓の ペーセント(%)	100(7)	57*(4)	<0.05	
不整脈の発生(%)	14(7)	25(4)	ns	20

*スチューデントのT検定を用いた統計学的な有意差 p<0.05 を表す。

【0092】

【表9-1】

表9
アデノシン/リグノカインによる心停止又は聖トマス病院溶液2を用いた
2時間の虚血*性停止後の未成熟なラットの心臓の機能回復の比較
*(20分にわたる大動脈のクランピングの間に与えられた2分の心停止投与)

安定な灌流期間						
II	心拍数 (bpm)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)	MV02 (μ mol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7 261.98 \pm 12.81	6.99 \pm 1.30	4.80 \pm 0.56	13.45* \pm 1.16	16579 \pm 853	4.60 \pm 0.52
聖トマス病院 溶液2	7 239.96 \pm 19.52	4.43 \pm 1.05	4.29 \pm 0.76	9.95* \pm 1.01	15515 \pm 1149	5.39 \pm 0.61

表9(つづき)

15分の再灌流後						
	心拍数 (bpm)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)	MV02 (μ mol/分/g)
アデノシン+ リグノカバシ による心停止	7 ± 12.33	230.94 ± 1.63	5.37 ± 0.61	4.03 ± 1.84	11.77 ± 1.297	14046 ± 0.33
聖トマス病院 溶液2	4 ± 36.2	233.45 ± 1.51	3.78 ± 1.2	4.58 ± 1.99	10.87 ± 3103	13818 ± 0.67

【0094】
【表9-3】

表9(つづき)

30分の再灌流後						
n	心拍数 (bpm)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)	MV02 (μmol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7 ± 8.99	± 1.58	± 0.68	± 1.71	± 709	± 0.24
聖トマス病院 溶液2	4 ± 32.67	4.38 ± 1.68	4.00 ± 1.14	10.63 ± 1.97	13522 ± 2912	4.14 ± 0.69

【0095】
【表9-4】

表9(つづき)

60分の再灌流後						
n	心拍数 (bpm)	大動脈 の流速 (mL/分)	冠状動脈 の流速 (mL/分)	心拍出量 (mL/分)	RP積 (mmHg/分)	MV02 (μ mol/分/g)
アデノシン+ リグノカイン による心停止	7 ± 30.35	± 1.66	± 0.57	± 1.55	± 2643	± 0.62
聖トマス病院 溶液2	4 ± 40.16	234.48 ± 1.41	3.88 ± 0.92	3.58 ± 1.50	9.68 ± 3.262	4.02 ± 0.75

【0096】

例4

下表10は、1～2日齢の新生仔ブタの心臓の心停止において、アデノシンとリグノカインが有効であることを示している（20分にわたる大動脈のクランピングの間に与えた、2時間の2分の心停止パルス）。

【0097】

【表10】

表10

<i>n</i>	停止時間 (秒)	心拍数回復 (2時間停止後*)
1	8	75%

10

【0098】

例5

温度と光を制御した部屋で、雄のウィスター ラット(250g)を飼育した。食物を与えない、ラットを一晩絶食させた実験前日までは、食物と水を自由に与えた。ペントバルビタール(60 mg kg^{-1})を腹腔内投与して、ラットに麻酔をかけた。麻酔下で、アデノシンとリグノカイン(AL)を投与し、血圧を測定するために、それぞれ、ラットの大脛静脈と動脈にカニューラを挿入した。気管切開術を施し、60~70呼吸/分で、人工的に部屋の空気をラットに通気させた。ラットの胸部を切開し、左前下行(LAD)冠状動脈の位置を確認した。縫合糸をLADの下に置いた。20分のベースライン時間後に、実験用ラットの群のLADを30分間結紮し、血圧と心拍数をモニターした。30分の虚血後に、結紮を除去し、心臓を20分間再灌流した。対照ラットでは、図7に示されているようにALは全く投与しなかった。ALの注入では、3つの異なる用量のアデノシン：

(1)図8と9に示されているように、1mL/hr/300gラットで、6.3mg/mLのアデノシン+12.6mg/mLのリグノカインを注入した；

(2)図10に示されているように、1mL/hr/300gラットで、3.15mg/mLのアデノシン+12.6mg/mLのリグノカインを注入した；

(3)図11と12に示されているように、1mL/hr/300gラットで、1.6mg/mLのアデノシン+12.6mg/mLのリグノカインを注入した；

を用いた。

20

【0099】

30

30分の虚血(ALの注入なし)を用いたラットと比べて、ALは用量依存的に心臓を保護し、用量が多くなると、最も大きな保護が得られることが明らかとなった。アデノシンの用量が半分になるとともに、保護は徐々に失われた。しかしながら、悪いケースでさえ、ALなしの場合と比べて、心臓の機能は有意に良好であった。ALを与えたラットの心臓は全て、拍数と圧力が回復した。

【0100】

インビボでの心臓発作中のアデノシンとリグノカインの概要

図7は、ラットモデルでの30分の心臓発作又は心筋梗塞(MI)中に、10分の時点での血圧がゼロに近づき、動物が死亡状態に近くなったと考えられることを示している。心臓は、10分後には回復して、血圧は上昇し、虚血性の発作からは極めてかけ離れる。この回復は、おそらく、側腹循環の動員によるものであろう。これに対して、ラットの中に、冠状動脈を閉塞する5分前に、アデノシンとリグノカインの溶液を注入すると、このような血圧の低下は10分の時点では見られない(図8)。AL溶液を与えていない動物は、10分の時点での血圧がゼロに近づき、動物が死亡状態になったが、AL溶液の存在下では、心臓はその収縮数を低下し、2~3拍にまで落ち込む。注目すべきことに、20分の虚血において、心臓には不規則な拍動は全く存在しなかった。ALの注入を停止した後には、全ての心臓は完全な機能を回復した(図9)。AL溶液の存在下にある心臓は、冠状動脈を閉塞することによって生じた深い虚血性の発作に対して、劇的に保護されたと結論することができる。AL溶液の心臓に対する保護効果は、アデノシンの用量に関連していた。アデノシンの量を半分にすると、リグノカインの量を一定に保っても、10分及び20分の時点での心臓の機能は回復しない。

40

50

大きな変動が見られる(図10)。アデノシンの量をさらに半分にすれば、保護はさらに減少した。しかしながら、全てのケースで、ALを注入したラットは、血圧と心拍数に基づけば、血流力学的機能を完全に回復した(図12)。

【0101】

AL溶液あり、及びなしで心臓発作を生じている2つのグループのラットを核磁気共鳴(NMR)分光装置の中に置いた。代謝データを図13~15に示す。NMRは、30分の冠状動脈閉塞中のアデノシン三リン酸(ATP)、ホスホクレアチン(PCR)、及びpHの変化を非侵襲的に測定する。実験台での別の実験では、液体窒素温度で心臓を凍結クランプし、分光光度計を用いて、中和された組織の酸抽出物に対して一般的な酵素法でグリコーゲンと乳酸塩を測定した。主な有意差($P < 0.05$)は、冠状動脈の閉塞中にAL溶液を与えた心臓に見られた。ALを与えない心臓での60%と比べて、ALの心臓では、ATPは対照値の90~100%の間に留まった(図13)。高エネルギーリン酸貯蔵物質であるPCRについても同じことが示されたが、ALを用いない心臓では、より大きなパーセント低下が示された(閉塞前の値の20%まで低下)(図14)。虚血期間にわたってALを与えた心臓では、嫌気的な代謝の最終産物である乳酸塩が5倍増加したのに対して、ALなしの心臓では、乳酸塩は、20倍を超えて増加した(図15)。これは、心筋細胞のpHを測定することによって支持された: AL溶液を与えない心臓では、より大きなpHの減少(酸性がより強い)が見られる。注目すべきことに、最初の10分には、AL心臓ではpHは僅かに低下したにすぎず、ALの存在下にある心筋細胞は、組織乳酸塩レベルが低いことによって支持されたように、より好気的であることを示している。ALあり及びALなしの心臓によって、最初の10分に、燃料であるグリコーゲンは、同じような量で使用されたが、虚血性の心臓のみと比べて、AL心臓では閉塞前の値の約60~70%に留まった。代謝データから、ALが与えられた冠状動脈が閉塞した心臓は、ALを与えた心臓と比べ、より好気性の状態を維持したと結論付けることができる。グリコーゲンは、各心臓に対する主要な燃料源であったが、AL心臓は、乳酸塩の産生からではなく、ミトコンドリアの酸化的リン酸化からそれらのATPを優先的に再生した。これは、血圧と心拍数の変化から上記した機能的データと完全に一致する。

【0102】

例6

10 mMのグルコースを有するクレブス-ヘンゼライトpH7.4中の200 μM及び50 μMの局所麻酔剤ブリロカイン、プロカイン、及びメピバカインを用いて、停止溶液を作成した。下表11に示された結果は、30分の70 mmHgでの一定した心停止の灌流に対するものである。

【0103】

【表11】

表11

	アデノシン+ ブリロカイン	アデノシン+ プロカイン	アデノシン+ メピバカイン
停止時間	13s	21s	10.5s
最初の拍動	1:13	1:45	0:36
大動脈のプローブ の回復	3:12	3:35	3:40
5分 AF%	67%	58%	39%

【0104】

例7

0.05%のジメチルスホキシド(DMSO)(200 μM)中に溶かしたピナシジル、クレブス-ヘンゼライト溶液中の局所麻酔剤ブリロカイン、プロカイン、及びメピバカイ

10

20

30

40

50

ン、及びリグノカインを用いて停止溶液を作成した。下表12に示されているように、ピナシジルは、アデノシンほどには有効でないことが分かった。

【0105】

【表12】

表12

	ピナシジル+ プリロカイン	ピナシジル+ プロカイン	ピナシジル+ メピバカイン	ピナシジル+ リグノカイン	
停止時間	1:28	4:22s	0:41	1:49	10
最初の拍動	2:15	1:20	0:56	2:30	
大動脈のフロー の回復	8:10	4:50	6:55	4:45	
5分 AF%	0%	25%	0%	70%	
10分 AF%	38%	57%	36%	71%	

【0106】

例8

ATP-カリウムチャンネル遮断薬であるグリベンクラミド (20 μM) とアデノシン及びリグノカインの添加は、26秒 (AL) から76~120秒 (ALG) (n=2) へと、3倍超停止時間を遅延させた。さらに、グリベンクラミドの存在下、より回復時間が遅く、より大動脈の流速 (42~53%) が低いということは、ALによって与えられる停止及び保護の様式として、KATPチャンネルの開口が重要であることを示している。これらの結果から、ATP-カリウムチャンネルは、アデノシンとリグノカインからの停止反応を生じる重要な標的であると結論付けることができる。

【0107】

【表13】

表13

	A/L+20μM グリベンクラミド (n=2)	A/Lのみ (n=5)	
停止時間	76-120s	26.s	30
最初の拍動	2:45-2:55 (min:s)	1min:27s	
大動脈のフロー の回復	5:00-7:30 (min:s)	3min:51s	
5分 AF%	42-53%	84%	

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、クレブス-ヘンゼライト中の100 μMのアデノシンと0.5 mMのリグノカイン、及び聖トマス病院第2溶液を用いて停止した心臓の大動脈流速対時間を比較したグラフである。

【図2】 図2は、30分の断続的な虚血からの心拍数、最大血圧、大動脈の流速、冠状動脈の流速、MVO2、及び拍数と圧力の積の回復を示す6つのグラフである。

【図3】 図3は、2時間の断続的な虚血からの心拍数、最大血圧、大動脈の流速、冠状動脈の流速、MVO2、及び拍数と圧力の積の回復を示す6つのグラフである。

【図4】 図4は、4時間の断続的な虚血からの心拍数、最大血圧、大動脈の流速、冠状動脈の流速、MVO2、及び拍数と圧力の積の回復を示す6つのグラフである。

10

20

40

50

【図 5】 図 5 は、図 2 ~ 4 の結果をまとめた棒グラフである。

【図 6】 図 6 は、新生仔ラットの心臓を用いた 2 時間の断続的な虚血からの心拍数、最大血圧、大動脈の流速、冠状動脈の流速、MVO₂、及び拍数と圧力の積の回復を示す 6 つのグラフである。

【図 7】 図 7 は、アデノシン・リグノカインの注入なしに、冠状動脈を結紮した後のインビボでのラットの心臓における 20 分の虚血を示す 4 つのグラフである。

【図 8】 図 8 は、1 mL / 時間 / 300 g ラットのアデノシン (6.3 mg / mL) とリグノカイン (12.6 mg / mL) を注入したときの、冠状動脈結紮後のインビボでのラットの心臓における 20 分の虚血を示す 4 つのグラフである。

【図 9】 図 9 は、1 mL / 時間 / 300 g ラットのアデノシン (6.3 mg / mL) とリグノカイン (12.6 mg / mL) を注入したときの、冠状動脈結紮後のインビボでのラットの心臓における 30 分の虚血を示すグラフである。 10

【図 10】 図 10 は、1 mL / 時間 / 300 g ラットのアデノシン (3.15 mg / mL) とリグノカイン (12.6 mg / mL) を注入したときの、冠状動脈結紮後のインビボでのラットの心臓における 20 分の虚血を示す 4 つのグラフである。

【図 11】 図 11 は、1 mL / 時間 / 300 g ラットのアデノシン (1.6 mg / mL) とリグノカイン (12.6 mg / mL) を注入したときの、冠状動脈結紮後のインビボでのラットの心臓における 30 分の虚血を示す 4 つのグラフである。

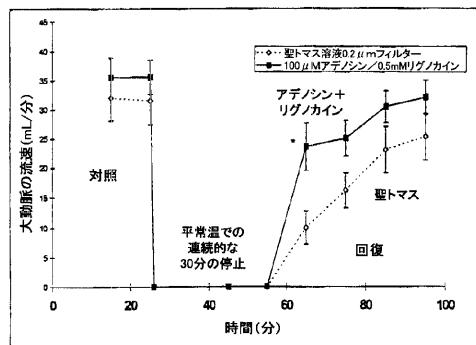
【図 12】 図 12 は、1 mL / 時間 / 300 g ラットのアデノシン (1.6 mg / mL) とリグノカイン (12.6 mg / mL) を注入したときの、冠状動脈結紮後のインビボでのラットの心臓における 30 分の虚血を示すグラフである。 20

【図 13】 図 13 は、AL の存在下及び非存在下におけるインビボでの心臓発作中の ATP と PCR の変化対虚血時間を示す 2 つのグラフである。

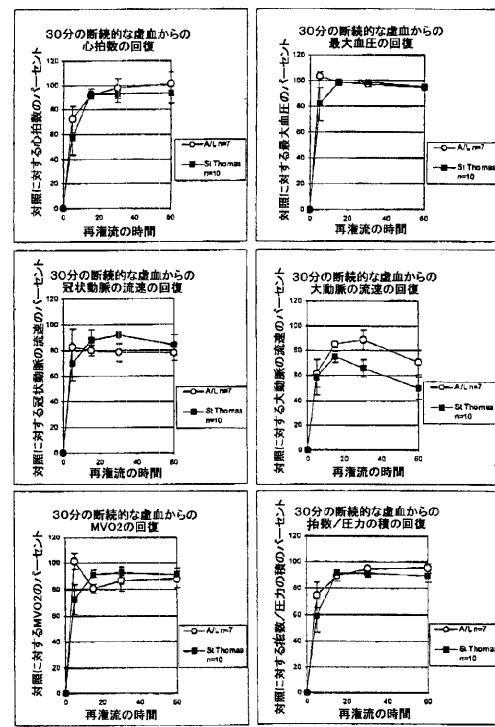
【図 14】 図 14 は、AL の存在下及び非存在下におけるインビボでの心臓発作中の乳酸塩と心筋の pH の変化対虚血時間を示す 2 つのグラフである。

【図 15】 図 15 は、AL の存在下及び非存在下におけるインビボでの心臓発作中のグリコーゲン及び拍数と圧力の積の変化対虚血時間を示す 2 つのグラフである。

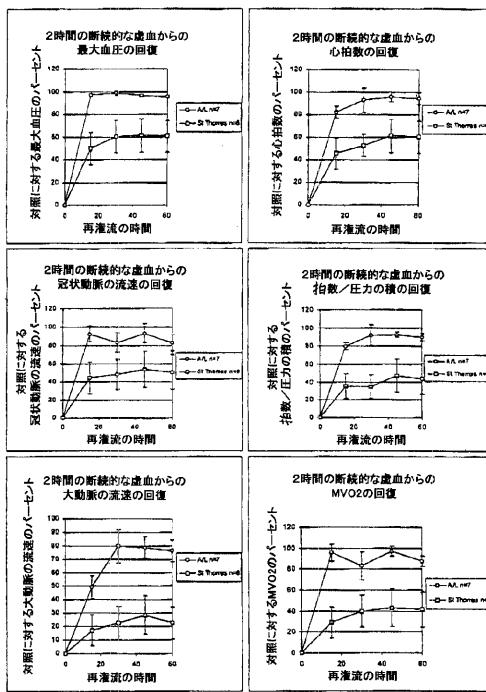
【図1】



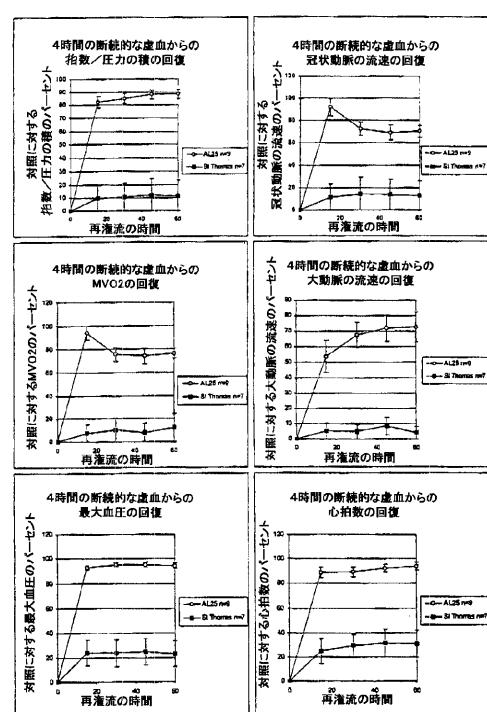
【図2】



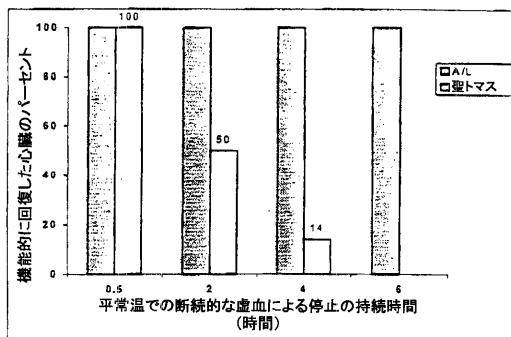
【図3】



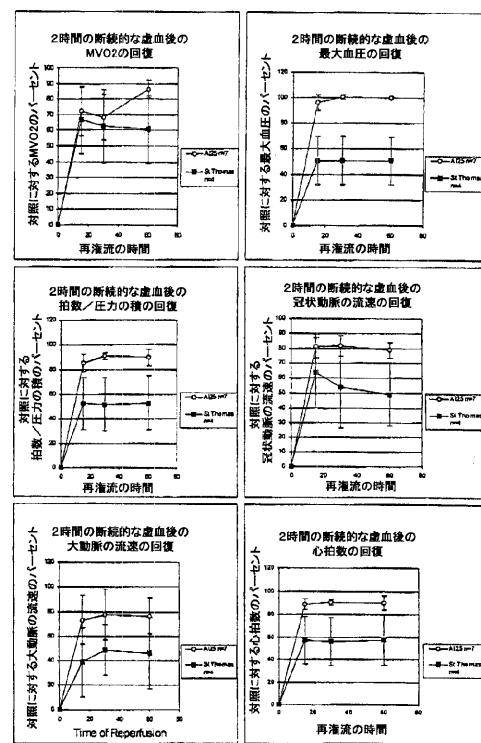
【図4】



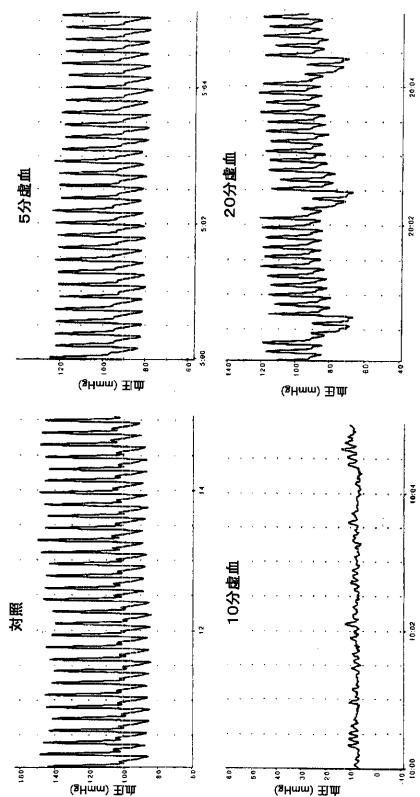
【図5】



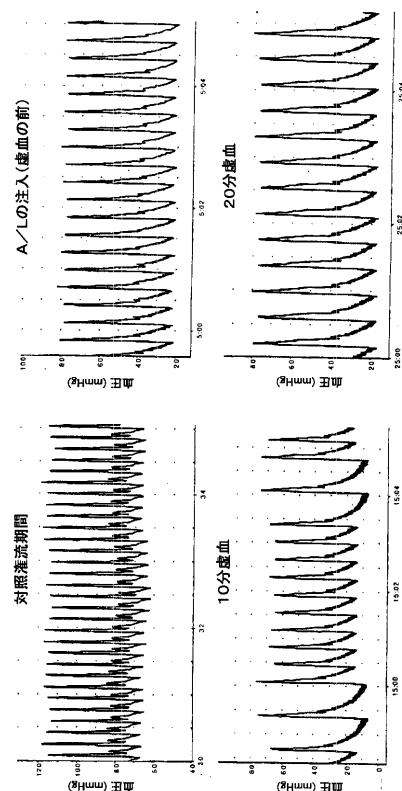
【図6】



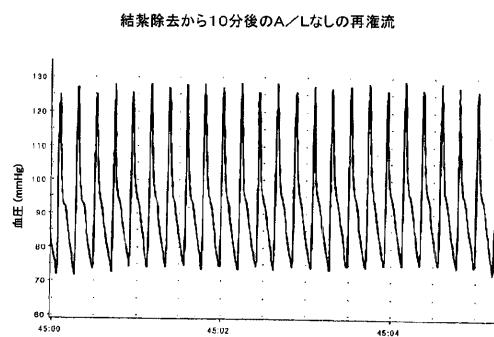
【図7】



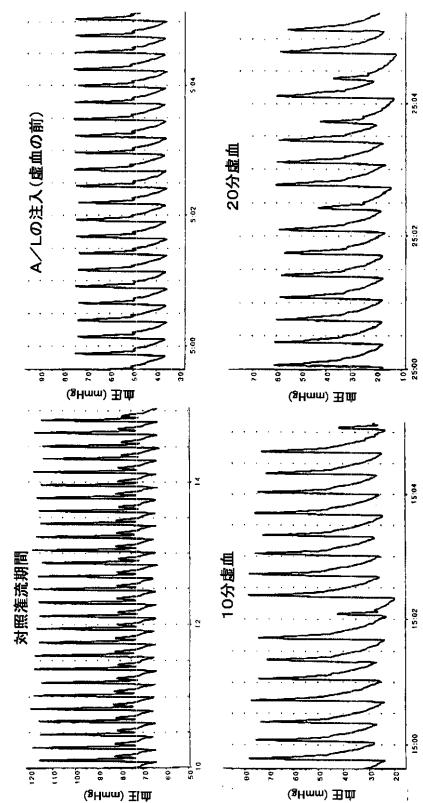
【図8】



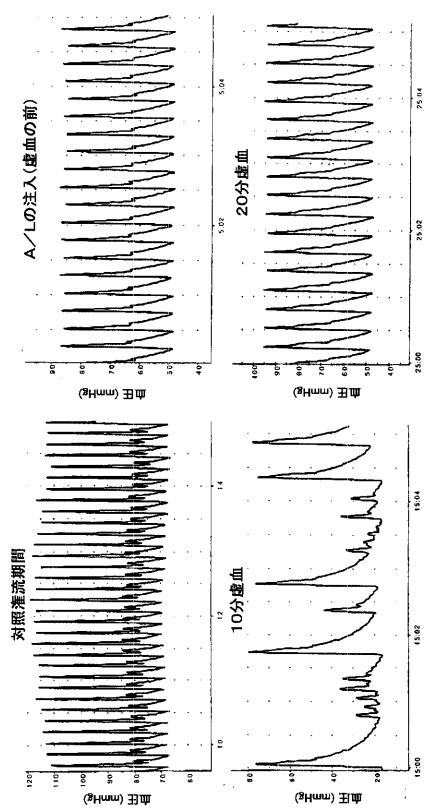
【図9】



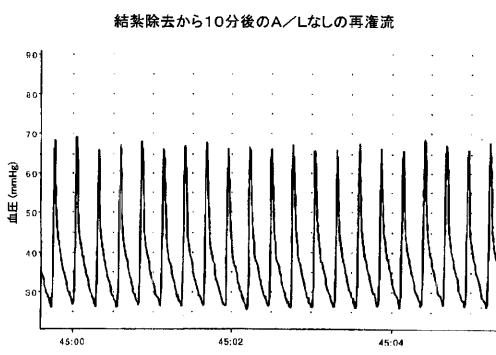
【図10】



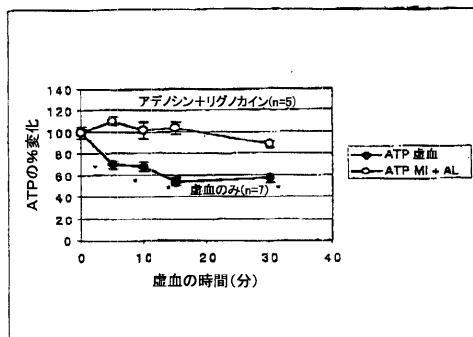
【図11】



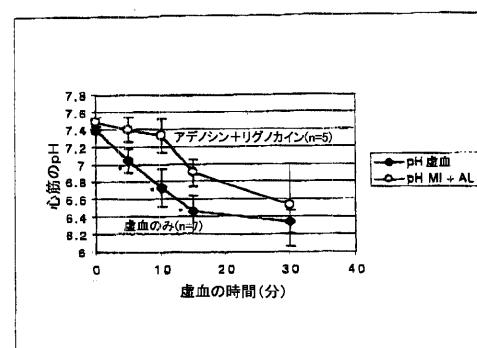
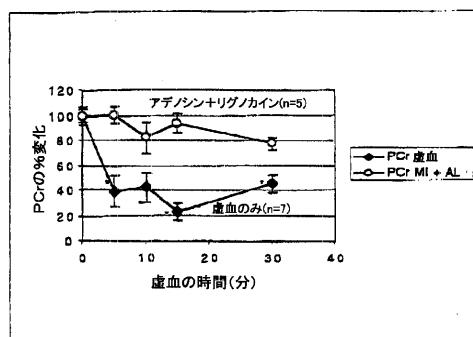
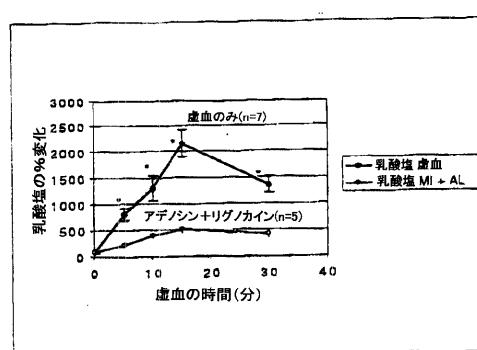
【図12】



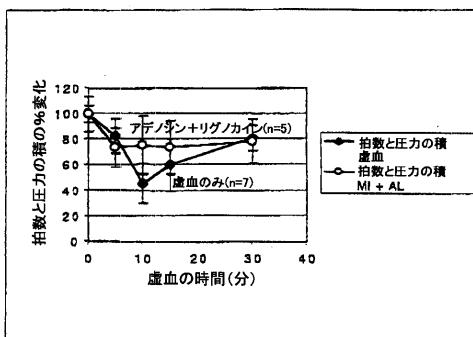
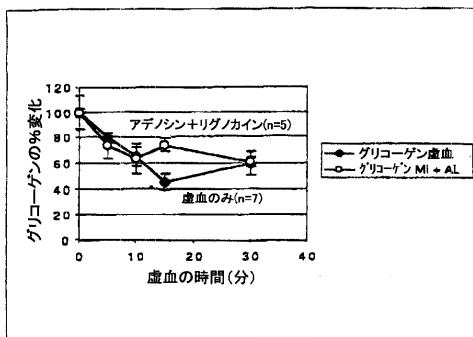
【図13】



【図14】



【図15】



フロントページの続き

(74)代理人 100159651
弁理士 高倉 成男
(74)代理人 100091351
弁理士 河野 哲
(74)代理人 100088683
弁理士 中村 誠
(74)代理人 100109830
弁理士 福原 淑弘
(74)代理人 100075672
弁理士 峰 隆司
(74)代理人 100095441
弁理士 白根 俊郎
(74)代理人 100084618
弁理士 村松 貞男
(74)代理人 100103034
弁理士 野河 信久
(74)代理人 100119976
弁理士 幸長 保次郎
(74)代理人 100153051
弁理士 河野 直樹
(74)代理人 100140176
弁理士 砂川 克
(74)代理人 100158805
弁理士 井関 守三
(74)代理人 100124394
弁理士 佐藤 立志
(74)代理人 100112807
弁理士 岡田 貴志
(74)代理人 100111073
弁理士 堀内 美保子
(74)代理人 100134290
弁理士 竹内 将訓
(72)発明者 ドブソン、ジョフリー・フィリップ
オーストラリア国、クイーンズランド州 4811、ウルグル、ダール・クレセント 14

審査官 爾見 武志

(56)参考文献 特開平09-151134 (JP, A)
特表平09-504513 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A01N 1/00 - 1/02
CA/REGISTRY(STN)