

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 31/19
A61K 47/36 A61P 7/08



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410008486. X

[43] 公开日 2005 年 1 月 5 日

[11] 公开号 CN 1559391A

[22] 申请日 2004. 3. 12
[21] 申请号 200410008486. X
[71] 申请人 中国人民解放军军事医学科学院野战
输血研究所
地址 100850 北京市太平路 27 号
[72] 发明人 王字玲 周 虹 赵 莲 管利东
王广义

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司
代理人 鲁 兵

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 1 页

[54] 发明名称 一种扩容保护剂及其在失血性休克
治疗中的应用

[57] 摘要

公开了一种扩容保护剂，其包含一种保护增效成分和一种扩容成分，保护增效成分为使用时配制成医学上可接受浓度溶液的丙酮酸钠或丙酮酸钙，配制摩尔浓度为 0.15 – 2.7mol/l；所述扩容成分为使用时配制的医学上可接受的晶胶扩容液，为选自 7.5%氯化钠和 6%右旋糖酐 70，6%右旋糖酐 70 和 0.9%氯化钠溶液，10%右旋糖酐 40 和 0.9%氯化钠溶液以及 10%羟乙基淀粉和 0.9%氯化钠溶液中的一种。 本发明采用丙酮酸盐保护成分和晶胶扩容液联用，不仅可以增加扩容治疗效果，延长存活时间，还可以使缺血再灌注心、肺损伤程度减轻，并使心血管功能、能量代谢状况等得到改善，本发明的扩容保护剂可作为治疗失血性休克的药物。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种扩容增效保护剂，其包含一种保护增效成分和一种扩容成分，所述保护增效成分为使用时配制成医学上可接受浓度溶液的丙酮酸盐，所述扩容成分为使用时配制的医学上可接受的晶胶扩容液。

2、根据权利要求1所述的扩容保护剂，其特征在于，所述丙酮酸盐为丙酮酸钠或丙酮酸钙。

3、根据权利要求1或2所述的扩容保护剂，其特征在于，所述丙酮酸盐使用时配制成溶液的摩尔浓度为0.15-2.7mol/l。

4、根据权利要求1或2所述的扩容保护剂，其特征在于，所述晶胶扩容液为选自7.5%氯化钠和6%右旋糖酐70；6%右旋糖酐70和0.9%氯化钠溶液；10%右旋糖酐40和0.9%氯化钠溶液；以及10%羟乙基淀粉和0.9%氯化钠溶液中的一种。

5、权利要求1至4任一所述的扩容保护剂作为失血性休克治疗药物的用途。

一种扩容保护剂及其在失血性休克治疗中的应用

技术领域

本发明涉及一种在治疗失血性休克中使用的药物，特别涉及一种扩容保护剂。

背景技术

失血性休克（hemorrhagic shock，简称 HS）是一种常见的休克，因失血引起循环血量骤减，常继发于创伤或其他疾病，为低血容量性休克（hypovolemic shock）的一种。失血性休克常发生在创伤后出血、消化道出血、手术后出血或凝血功能异常。扩容治疗是治疗失血性休克的重要手段。一般认为，失血占全血 20% 以上则要进行扩容治疗，目的是恢复血容量。目前扩容治疗中大多根据病情选用合适的晶体液和胶体液，采用合适的晶胶比例进行充分的扩容，必要时输血，所以相应的研究也主要集中在对扩容液的选择和改造上，以达到最佳的扩容效果。但是，实验中也表明，单纯采用晶胶扩容液进行扩容治疗时，会对机体脏器产生损伤，尤其是对心脏和肺的损伤尤为显著。

丙酮酸盐是一种能量底物，它是三羧酸循环的基础。丙酮酸盐在将食物转化为能量的过程中扮演着关键角色，丙酮酸盐作为天然的代谢底物，对人体具有较小的毒副作用。在医药领域，美国专利 US5395822 中公开丙酮酸盐可以阻止缺血引起的神经元损伤，US6153647 公开丙酮酸盐可以增强 β 一肾上腺能受体激动剂，中国专利申请 95198020.3 公开丙酮酸盐或酯作为自由基产生的抑制剂，还有专利公开丙酮酸盐可作为细胞培养液和离体器官保存液的成分。这些研究表明，丙酮酸盐在医药领域也有很广阔的应用前景。

发明创造内容

本发明的目的是针对现有晶胶扩容液的不足，提供一种可以减低机体脏器受损程度并具有增效作用的的扩容保护剂。

本发明提供的扩容保护剂，其包含一种保护增效成分和一种扩容成分，所述保护增效成分为使用时配制成医学上可接受浓度溶液的丙酮酸盐，所述扩容成分为使用时配制的医学上可接受的晶胶扩容液。

上述扩容保护剂中，所述丙酮酸盐为丙酮酸钠或丙酮酸钙。所述丙酮酸盐使用时配制成溶液的摩尔浓度为 0.15-2.7mol/l。

上述扩容保护剂中，所述晶胶扩容液为选自 7.5%氯化钠和 6%右旋糖酐 70；6%右旋糖酐 70 和 0.9%氯化钠溶液；10%右旋糖酐 40 和 0.9%氯化钠溶液；以及 10%羟乙基淀粉和 0.9%氯化钠溶液中的一种。

本发明的另一目的是提供上述扩容保护剂作为失血性休克治疗药物的用途。

实验表明，本发明采用丙酮酸盐保护成分和晶胶扩容液联用，不仅可以增加扩容治疗效果，延长存活时间，还可以使缺血再灌注心、肺损伤程度减轻，并使心血管功能、

能量代谢状况等得到改善, 本发明的扩容保护剂可作为治疗失血性休克的药物。

附图说明

图 1 为肺组织在不同条件下的形态学图片; 其中,

A: 正常肺组织 (HE 2.2×20);

B: HSD 复苏的肺组织 (HE 2.2×20);

C: 丙酮酸钠与 HSD 联用复苏的肺组织(HE 2.2×40)。

图 2 为心肌组织在不同条件下的形态学图片; 其中,

D: 正常心肌组织(HE 2.2×40);

E: HSD 复苏的心肌组织(HE 2.2×40);

F: 丙酮酸钠与 HSD 联用复苏的心肌组织(HE 2.2×40)。

具体实施方式

本发明是针对现有晶胶扩容液的不足, 提供一种扩容增效保护剂。本发明的扩容增效保护剂主要是将丙酮酸盐和现有的晶胶扩容液联用, 以减低缺血再灌中机体脏器的损伤程度, 同时, 增强扩容效果。这里, 现有的晶胶扩容液为扩容成分, 丙酮酸盐为保护成分, 同时作为扩容的增效成分。

本发明中使用丙酮酸盐作为保护剂, 其作用机制可能与抑制自由基的产生, 清除自由基有关。氧自由基生成增多是造成缺血再灌注过程中组织细胞损伤的主要原因, 丙酮酸盐直接和过氧化氢反应, 生成醋酸盐、二氧化碳和水, 阻止具有更强毒性的羟基自由基的生成, 通过清除氧自由基来减轻缺血再灌中细胞的损伤。

在本发明中, 所用的丙酮酸盐可以为丙酮酸钠和丙酮酸钙中的一种。使用时将所用丙酮酸盐配制成浓度 0.15-2.7mol/l 的溶液, 在扩容治疗的同时或扩容治疗进行之前, 以 0.6-12 毫摩尔/公斤体重的量静脉输注。

所用的晶胶扩容液可以为以下几种现有扩容液中的一种 :

1#—HSD: 7.5%氯化钠和 6%右旋糖酐 70;

2#—6%右旋糖酐 70 和 0.9%氯化钠溶液;

3#—10%右旋糖酐 40 和 0.9%氯化钠溶液;

4#—10%羟乙基淀粉和 0.9%氯化钠溶液;

这些已有扩容液, 可直接用于静脉输注。

在对失血性休克的扩容治疗当中, 表征治疗效果的参数主要有: 生存时间、平均动脉压和碱剩余值等。在本发明中, 通过使用扩容增效保护剂, 首先使扩容治疗效果得以增强, 请参见表 1 和实验二、三。

使用本发明的扩容增效保护剂, 还可以使缺血再灌注心、肺损伤程度减轻, 请参见实验一。

本发明扩容保护剂可按表 1 所列实施例配制:

表 1

实施例 编号	丙酮酸盐种类	丙酮酸盐浓度 (mol/l)	晶胶扩容液种类	灌注后平均生存 时间 (分钟)
1	丙酮酸钠	0.15	1#	190±35
2	丙酮酸钙	0.3	1#	183±36
对照 1	—	—	1#	122±38
3	丙酮酸钠	2.7	2#	165±26
对照 2	—	—	2#	115±31
4	丙酮酸钙	0.6	3#	185±29
对照 3	—	—	3#	125±28
5	丙酮酸钠	1.2	4#	177±34
对照 4	—	—	4#	118±25

生存时间是表示扩容治疗效果的重要指标,对于失血性休克,生存时间的延长则可以争取宝贵的急救时间。从表 1 中可以看出,加用丙酮酸盐与单独给予晶胶扩容液相比较,动物的生存时间显著延长,说明丙酮酸盐增强了扩容治疗的效果。

以下通过动物实验继续说明使用本发明的扩容保护剂在失血性休克治疗中的效果。

实验方案:失血性休克的哺乳动物,给予本发明扩容增效保护剂治疗,观察治疗效果。

失血性休克的哺乳动物模型:Wister 大鼠,购自军事医学科学院动物中心,采用两步放血法,即放血将血压降至规定低血压的水平并维持一定时间。

空白对照组:给予常规的扩容治疗(如 HSD 复苏)

实验组:在常规的扩容治疗的基础上给予适合浓度的丙酮酸盐(如丙酮酸钠)

实验一:缺血再灌注损伤程度、能量代谢状况实验

组织丙二醛(MDA)含量测定:

采用改良硫代巴比妥酸(TBA)比色法。检测原理是过氧化脂质降解产物中的 MDA 与 TBA 缩合形成红色物质,此红色物质在波长 532 nm 有最大吸收峰,可用分光光度法进行定量测定。

取出脏器组织,生理盐水洗去污物,在冰浴中制成 10%匀浆。取 10 mm×100 mm 带塞试管 3 支,分别为空白、标准、测定管,依次加入蒸馏水,10 nmol·ml⁻¹ 1,1,3,3 四乙氧基丙烷标准应用液,组织匀浆 0.3 ml,每管加入 0.268% TBA 液 2.5 ml,加塞充分混匀,沸水煮 30 min 后,立即置冷水终止反应。冷却后,各管加入正丁醇 2.5 ml,颠倒混匀放置 5~10 min,于 532 nm 处测吸光度值(OD)。丙二醛含量

$$\text{MDA (nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 湿组织)} = \frac{f}{F} \times 10$$

f 由样品测的光密度(测定管)

F 由标准应用液测的光密度(标准管)

组织髓过氧化物酶(MPO)活性测定:

采用罗武生法。MPO 存在于中性粒细胞的嗜天青颗粒中,每个细胞所含酶的量是一定的,约占细胞干重的 5%,该酶具有使过氧化氢还原的能力,利用此特点可分析此酶的活性。

称取 100 mg 组织,放入 10 ml 塑料离心管中,加入预冷的含 0.5%十六烷基三甲基溴化胺的 50 mmol/L 磷酸钾缓冲液(PH 6.0) 2 ml,冰浴中匀浆,匀浆液-70℃冻存,常温复融,再冻存复融一次,后超声破碎(冰浴中进行),40000×g,4℃离心 15min。取上清液 0.1 ml,置-70℃保存。样本采集到一定数量后,常温复融后再加反应液 2.9 ml(成分为邻联二茴香胺 16.7 mg,50 mmol/L 磷酸钾缓冲液 10 ml,蒸馏水 90 ml,0.0005%的 H₂O₂),保持 25℃恒温条件下紫外分光光度计进行 460 nm,2 min 扫描,以(30~90 s)1 min 内吸光度变化代表酶活力。按以下公式计算组织 MPO 活性:

$$\text{MPO 活性 (}\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 湿组织)} = \frac{\Delta A_{460}}{11.3 \times \text{所加组织量 (g)}}。$$

ΔA_{460} 为反应开始后 1 min 的吸光度变化。

实验结果列于表 2 和表 3。

表 2 丙酮酸钠对 HSD 复苏再灌后
组织 MDA 含量和 MPO 活性的影响 ($\bar{x} \pm sd$)

组别	MDA (nmol/g)		MPO($\mu\text{mol/min/g}$)	
	心	肺	心	肺
HSD	150±39	259±32	350±136	5740±2803
丙酮酸钠组	87±16**	137±35**	185±57*	3459±777**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 HSD 组比较

表 3 丙酮酸钠对 HSD 复苏再灌后血浆 LDH、AST 活性
以及葡萄糖含量的影响($\bar{x} \pm sd$)

组别	LDH ($\mu\text{mol/min/L}$)	AST($\mu\text{mol/min/L}$)	Glu(mmol/L)
失血前	293±120	136±33	8.7±2.5
复苏再灌前	326±113	159±31	14.5±6.9
HSD	1059±508	345±101	5.8±1.7
丙酮酸钠+HSD	254±154**	157±33**	11.5±3.0**

** $P < 0.01$, 与 HSD 组比较

实验中,丙二醛(MDA)含量代表脂质过氧化程度,髓过氧化物酶(MPO)代表中性粒细胞的浸润程度,二者是表示缺血再灌注损伤程度的重要指标。乳酸脱氢酶(LDH)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)主要存在于肝细胞的胞浆中,能够敏感的反映肝组织细胞受损程度。表中数据表明,大鼠失血前心、肺组织MDA含量、MPO活性以及血浆LDH、AST活性都很低,休克30min后各项指标都有所增加,表明组织器官已有损伤。HSD复苏再灌后,各项指标都显著升高,这表明组织损伤加重,心、肺病理观察也显示组织损伤加重。这可能与早期组织缺血以及后期再灌注造成的损伤有关。在HSD复苏同时给予丙酮酸钠治疗后,心、肺组织MDA含量和MPO活性以及血浆LDH、AST活性明显下降,与HSD单独使用相比,各项指标均具有非常显著的差异。这说明丙酮酸钠的使用减轻了组织器官的损伤,增强了HSD复苏的效果。

表3数据还说明:在大鼠失血前,血浆葡萄糖(Glu)浓度为 $8.7 \pm 2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,休克30min后,血糖浓度升高至 $14.5 \pm 6.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,HSD复苏再灌后,血糖浓度明显下降($5.8 \pm 1.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),低于失血前浓度。因为在休克早期,尽管缺血缺氧,葡萄糖利用增强,仍然会出现高血糖现象,这与肾上腺素能促进肝糖原和肌糖原的大量分解有关。随着缺血缺氧状态的进一步加深,糖异生减少,糖原耗竭,血糖浓度降低,此时能量代谢障碍,组织细胞损伤加重。给予丙酮酸钠后,血糖浓度已升至 $11.5 \pm 3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,虽低于再灌前,但仍高于失血前的浓度。可见丙酮酸钠促进了血糖的恢复,改善了机体能量代谢状况,减轻了组织损伤。

光学显微镜观察组织病理改变:

取实验动物的心和肺组织,用10%中性甲醛缓冲溶液固定24h,常规石蜡包埋,切片,HE染色,Olympus光学显微镜观察组织病理改变。镜下观察显示:在肺组织,参见图1,A为正常肺组织;单独HSD复苏再灌后肺组织(B)水肿,肺泡腔内充满粉染液体,间质毛细血管重度淤血,可见中性粒细胞。丙酮酸钠与HSD合用(C)肺泡腔内无粉染液。

在心肌组织,参见图2,D为正常心肌组织;单独HSD复苏再灌后(E)肌间隙增宽,间质水肿,细胞中度淤血,有个别红细胞渗出,横纹模糊不清;丙酮酸钠与HSD合用(F)细胞淤血,无肌间隙增宽。

镜下观察显示出心肌组织、肺组织损伤明显减轻,说明丙酮酸钠增强了HSD复苏的效果。

实验二:心血管功能实验

测试实验动物的平均动脉压,结果见表4。

表 4 丙酮酸盐对 HSD 复苏再灌后大鼠平均动脉压的影响 ($\bar{x} \pm sd$)

组别	缺血前 (kPa)	复苏前 (kPa)	复苏后 1h(kPa)	复苏后 3h(kPa)
HSD	18.1 \pm 1.5	5.4 \pm 0.2	8.6 \pm 1.0	15.1 \pm 1.9
丙酮酸钠+HSD (实施例 1)	17.8 \pm 2.0	5.4 \pm 0.1	10.6 \pm 1.2**	17.2 \pm 1.6**
丙酮酸钙+HSD (实施例 2)	17.9 \pm 1.9	5.5 \pm 0.2	11.0 \pm 1.1**	17.1 \pm 1.8**

** $P < 0.01$, 与 HSD 组比较

平均动脉压是衡量扩容治疗效果的重要指标。表中数据表明, 休克末时, 各组动物平均动脉压均低于缺血前, 休克复苏 1h 和 3h 后, 给予丙酮酸盐组与单独给予 HSD 组比较, 平均动脉压明显回升。这说明丙酮酸盐与血压的升高和心肌功能的改善密切相关, 丙酮酸盐在扩容治疗中具有明显的增效作用。

实验三: 酸碱平衡实验

实验方法: 取实验动物动脉血, 用血气分析仪检测 pH 值和碱剩余(BE)值。结果见表 5。

表 5 丙酮酸钠对 HSD 复苏再灌后大鼠动脉血气的影响 ($\bar{x} \pm sd$)

Group	pH	BE/ mmol \cdot L ⁻¹
失血前	7.41 \pm 0.04	3.57 \pm 1.74
复苏再灌前	7.34 \pm 0.07	-11.75 \pm 3.99
HSD	7.47 \pm 0.09	-6.57 \pm 3.00
丙酮酸钠+HSD	7.46 \pm 0.05	-1.67 \pm 2.41**

** $P < 0.01$, 与 HSD 组比较

碱剩余 (bas excess, BE) 是指在标准条件下, 用酸或碱将一升全血或血浆滴定至 pH 7.40 时, 所需的酸或碱量。如果用酸滴定, 说明碱剩余, 用正值表示, 见于代谢性碱中毒。如果用碱滴定, 说明碱缺失, 用负值表示, 见于代谢性酸中毒。它能精确地反映血容量缺乏的严重状态以及低血容量性休克所致的代谢紊乱的程度, 是评价失血性休克复苏效果的一个相当有效和可靠的指标。表 5 中, 休克后, 大鼠动脉血 pH 和 BE 值显著下降 (7.34 \pm 0.07, -11.75 \pm 3.99)。HSD 复苏同时给予丙酮酸钠治疗后, 动脉血 pH 和 BE 值均显著回升 (7.46 \pm 0.05, -1.67 \pm 2.41), 较之 HSD 组 (7.47 \pm 0.09, -6.57 \pm 3.00) BE 值显著提高, 说明酸碱代谢紊乱已得到明显改善。

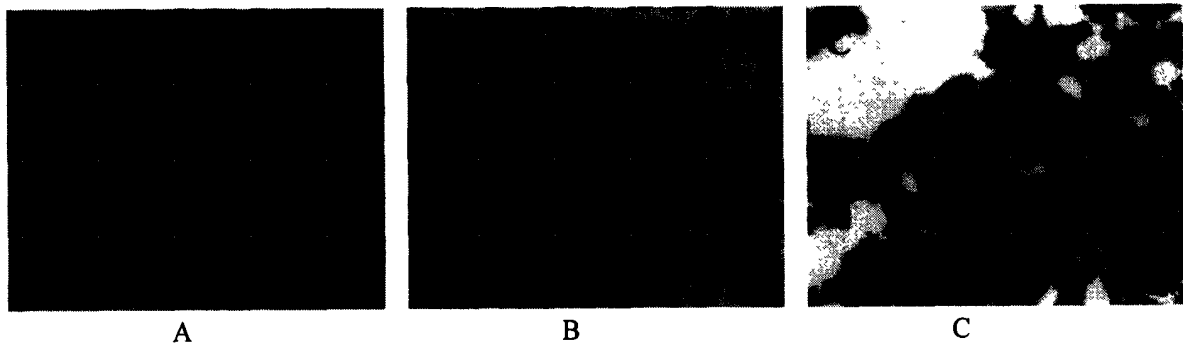


图 1

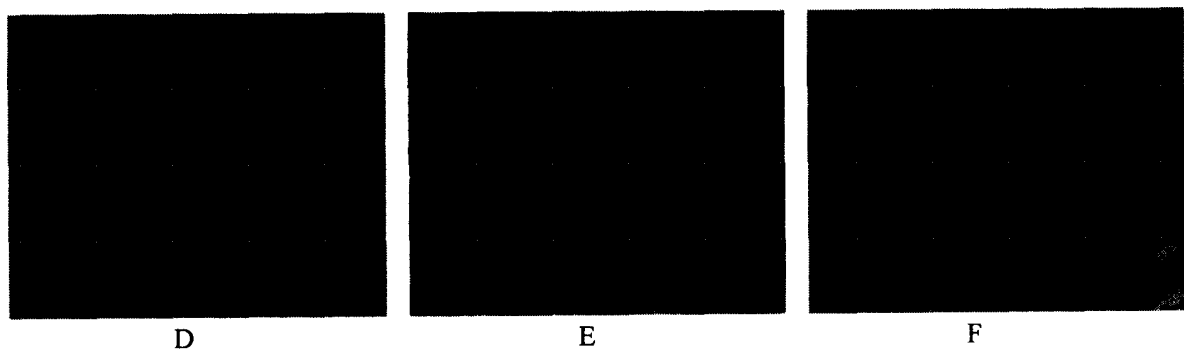


图 2