



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101766700 A

(43) 申请公布日 2010.07.07

(21) 申请号 200910210752.X

(22) 申请日 2006.03.27

(62) 分案原申请数据

200610065846.9 2006.03.27

(71) 申请人 深圳市生物谷科技有限公司

地址 518026 广东省深圳福田区益田路江苏大厦 A 座 34 层

(72) 发明人 林艳和

(51) Int. Cl.

A61K 36/71 (2006.01)

A61K 36/258 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61K 31/122 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 12 页

(54) 发明名称

含有麝香的药物组合物

(57) 摘要

本发明涉及药物组合物,具体地说,是根据现代医学理论研制的含有天然植物提取物或单体的药用组合物及其制备方法和应用,所述药物主要含有芍药和麝香,用于治疗昏迷、心脑血管疾病、老年痴呆症、脑细胞保护、糖尿病等疾病。

1. 一种药物组合物,由 10-90wt. %的活性组分和 90-10wt. %的药用辅料组成,所述活性组分为:

a. 麝香,或含有麝香酮、雄甾酮和麝香 -1 的麝香提取物,或麝香酮单体,5-65 重量份;和

b. 芍药干燥根粉末,或含有芍药苷、芍药内酯苷的芍药提取物,或芍药苷单体,5-100 重量份,和

具有血管活性的 c. 5-100 重量份,其为:

含有人参总皂苷的人参提取物,或人参总皂苷,或人参皂苷单体。

2. 如权利要求 1 的药物组合物,所述芍药提取物中还含有羟基芍药苷、氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、芍药新苷。

3. 一种药物组合物,所述活性组分为:

a. 含有麝香酮、雄甾酮和麝香 -1 的麝香提取物,10-50 重量份;和

b. 含有芍药苷、芍药内酯苷的芍药提取物,10-80 重量份;和

c. 10-80 重量份,其为含有人参总皂苷的人参提取物。

4. 如权利要求 1 的药物组合物,其中组分 a 为 15-45 重量份,组分 b 为 20-60 重量份,和 c 为 20-60 重量份。

5. 如权利要求 1 的药物组合物,其中所述活性组分为:

a. 麝香酮单体;和

b. 芍药苷单体;和

c. 人参皂苷单体。

含有麝香的药物组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及药物组合物,具体地说,是根据现代医学理论研制的含有麝香以及天然植物提取物或单体的药用组合物及其应用。

背景技术

[0002] 麝香为芳香开窍类中药的常用代表药物,麝香具有较强的中枢神经系统兴奋和抑制双向性作用、耐缺氧作用、心血管活性、抗炎作用等药理活性。目前,麝香在临床上的应用(尤其是心脑血管病)极为广泛,例如复方丹参类、冠心苏合丸、安宫牛黄丸、华佗再造丸、醒脑静等均含有麝香。在这类传统成方中,多利用了麝香“芳香走窜、开窍醒脑(透过血脑屏障)”的功效,产生“归经入脑”效果(山东医药工业 2002 年,21(1):26-27;时珍国医国药 2004 年,15(4)4248-249;中药新药与临床药理 2000 年,11(4):208-255)。

[0003] 多年来,许多学者基于现代医学理论,对麝香的药效学、药物动力学及安全性等方面做了广泛工作,取得了许多新进展。例如,研究发现:麝香归经入脑的试验研究(陈文培等,中西医结合学报 2004 年 7 月第 2 卷第 4 期);和麝香冰片组合脑保护作用(沈强等,麝香与冰片对全脑缺血再灌注大鼠脑组织白细胞介素-1 β mRNA 表达的影响,时珍国医国药 2003 年第 14 卷第 7 期)。

[0004] 凭借这些研究进展,学者们尝试着将麝香与其他活性成分组合,以期获得更佳的疗效。例如,ZL03110967.5、ZL200310105455.1、赵红梅等(吉林大学学报医学版,30(3):393-395)、林甲宜等(中成药 2004 年 26 卷增刊:13-16)、聂有智等(山东中医杂志 1998 年 17 卷(9):404-405)、李向新(现代中西医结合杂志 2004 年 13 卷 19 期:2541-2542)、张莉等(沈阳药科大学学报 2002 年 19 卷 1 期:41-42)、余尚贞等(广州中医药大学学报 2004 年 21 卷 5 期:382-384)、薛亚凤等(吉林中医药 2001 年 6 期:34)、陈苏等(江西中医药 1999 年 30 卷 5 期:9-10),以及成方麝香安心宁、醒脑静注射液等,广泛应用于心脑血管疾病的治疗,均取得了一定的成果。

[0005] 然而,上述复方远远不能满足临床上的需求。一方面,已有的复方通常是按“辨证论治”的原则组成的,这对于致病机理复杂、伴有不同类别并发症的疾病,这些麝香复方制剂难以多方位奏效。更为关键的是,这些大复方药物组合成分过于复杂,各成分间的相互作用不明,不符合现代药物的发展潮流,很难保证质量的均一性。

[0006] 在前期工作中,我们曾经对“麝香+芍药”进行了细致的研究,发现了有益的效果,也在一定程度上验证了这样的推论:即复方制剂的物质基础不仅是每种药物有效成分的总和,而且包括复方制剂过程中各成分的相互作用,这种相互作用既包括简单的物理变化也包括复杂的化学变化,各种成分的相互作用可以改变各种成分的溶出性质和聚集状态,甚至有可能发生化学反应后产生新的物质。换言之,复方效用是特定效应条件下复方化学组分间相互关系的综合表现,一些所谓的活性成分离开复方条件则可能无明显作用。

[0007] 虑到上述推论,有关“麝香+芍药”的研究结果可能代表着某种研究趋势。同时,这种研究结果也是诱人的,它提醒着学者们极有可能还存在着类似的其他组合。

[0008] 本申请试图对含有麝香、芍药和“活血化瘀”类药物的组合进行研究,以期通过它们之间的加合、甚至协同作用来减少用药量,从而在确保(甚至提高)疗效的同时进一步降低不良反应。可以预期的是,本领域对这种安全有效的天然药物(组合)有着迫切的需求。

发明内容

[0009] 本发明人在这方面进行了深入的探索,并取得了诸多喜人的结果。

[0010] 在本发明人先前的试验中,已经表明,芍药与麝香的组合可以明显增强麝香固有的药理作用,比如抗脑缺血再灌注损伤作用、抗炎性反应作用等。

[0011] 同时,当在上述芍药与麝香组合中加入具有血管活性的灯盏花时,可以具备更为全面的治疗效果。

[0012] 于是,我们进一步进行了芍药、麝香与其他血管活性药物组合的试验研究,结果发现,组合物同样具备更好的效果。

[0013] 因此,本发明的目的在于提供具有协同增效作用的“麝香+芍药+组分c”组合,用于治疗 and / 或预防心脑血管等疾病、老年痴呆症、脑细胞保护、糖尿病等疾病。

[0014] 在本发明药物组合物中,可以选择药味(例如芍药、麝香)直接粉碎成粉入药,也可以相当于上述天然药物材生药量的提取物或其他形式入药。因此,本发明药物组合物的活性组分包括药材原粉、脂或水溶性提取物(或有效部位)、或有效成分、或单体,或者采用现有技术中已有的其他制品形式。例如,所述活性组分包括:

[0015] a. 麝香:是指天然或人工麝香,或含有麝香酮、雄甾酮、麝香-1 等糖蛋白、胆固醇等的麝香提取物,或麝香酮单体。

[0016] b. 芍药:是指芍药(白芍、赤芍、川赤芍)的干燥根粉末,含有芍药总苷类化合物(优选为芍药苷和芍药内酯苷)的提取物,或芍药苷单体。另外,研究表明,同时含有芍药苷、芍药内酯苷、羟基芍药苷、氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、芍药新苷、丹皮酚、丹皮酚原苷、丹皮酚苷、芍药苷元等的有效部位也是有益的。本领域技术人员可以理解的是,本发明芍药苷类的来源并不局限于芍药,含有芍药苷类的其他植物(例如牡丹皮)也可实现本发明,其提取和制备方法为已知技术,在此不作赘述。

[0017] 所述活性组分 c 选自以下 c1-c6 中的一种:

[0018] c1. 丹参:是指主要含有丹酚酸* 和 / 或丹参酮* 的丹参提取物;或丹参水溶性提取物,主要含有以丹酚酸 A、丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参素为代表的酚酸类成分(总酚酸含量 40%、优选 60% 以上),或丹参酚酸单体或其药用盐(例如镁盐),或丹参酚酸单体的混合物;或丹参脂溶性提取物,主要含有丹参酮(丹参酮含量 50%、优选 80% 以上,例如丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹参酮 II_B、隐丹参酮、二氢丹参酮 I 等),或丹参酮单体或其药用盐(例如磺酸钠盐),或丹参酮单体的混合物;或

[0019] c2. 银杏:是指银杏提取物(例如低级醇、丙酮、乙酸乙酯的银杏叶提取物),主要含有银杏内酯* 和 / 或银杏黄酮* 作为活性成分的银杏提取物(例如标准提取物 Egb),或银杏黄酮单体和银杏内酯单体,或银杏内酯单体,或银杏黄酮单体。其中,所述银杏内酯是指含有各种银杏萜类内酯物质(二萜内酯 A、B、C、M、J,倍半内酯等)的混合物;“银杏内酯单体”是指上述萜类内酯中各种内酯类物质的单体和 / 或其衍生物、或其化学修饰物、类似物。所述银杏黄酮是指含有各种银杏黄酮物质(银杏黄酮及其苷、总黄酮醇及其苷、双黄酮、儿

茶素等)的混合物;“银杏黄酮单体”是指上述黄酮中各种黄酮类物质的单体和/或其衍生物、或其化学修饰物、类似物;或

[0020] c3. 红花:是指含有红花总黄色素(例如红花黄色素A*、B,含量50%以上)的红花提取物,(羟基)红花黄色素单体,或者这些单体的混合物;或

[0021] c4. 葛根:是指含有大豆黄酮、大豆黄酮苷、葛根素*、二葡萄糖大豆苷、甲氧基葛根素、7-木糖-葛根素、二乙酰基-葛根素、芒柄花素等多种异黄酮类的葛根提取物,或葛根总黄酮,或葛根素单体及其衍生物,或大豆黄酮、或大豆异黄酮单体,或者这些单体的混合物;或

[0022] c5. 川芎:是指含有川芎嗪*、川芎酚、阿魏酸*、挥发油等的川芎提取物,或川芎嗪单体或者川芎嗪衍生物(例如盐酸川芎嗪),或阿魏酸/钠及其衍生物(例如阿魏酸川芎嗪),或者这些单体的混合物;或

[0023] c6. 人参:是指主要含有人参总皂苷*的人参提取物,或人参皂苷单体;含有人参皂苷的其他植物(例如三七等)也可实现本发明。

[0024] 从表面上看,上述组分c1-c6似乎是不同的,但是从化学构成上来分析,这些植物中已知的主要药理活性成分可归类为具有“活血化瘀”作用的两大类成分:黄酮、酚酸。从现代医学理论的角度而言,上述植物中的黄酮类成分基本都具有扩张血管、改善组织缺血、抗氧化、改善血液流变学等药理功效;而酚酸类则具有更多多样性的作用,如抗炎性反应、内皮细胞保护等药理功效。例如,以葛根素、丹参、银杏叶、三七皂苷、川芎嗪、或红花入药而得的成药,在临床上也均以冠心病、脑卒中、糖尿病和/或老年痴呆为主要适应症。这充分证明,这些植物提取物在药理功效和主要活性成分的化学构成上具高度的“相似性”,这已为本领域技术人员所熟知。同样地,获得上述提取物或单体也属于常规技术。

[0025] 当我们试图从现有技术中探寻这种“麝香+芍药+组分c”为基础的药物结合的依据时,我们发现迄今为止的已有技术没有提供科学依据,甚至于没有类似的暗示。

[0026] 在上下文中,本发明药物组合物所涉及的术语“活性组分”具有上述定义。

[0027] 在本发明药物组合物中,各组分的含量为:

[0028] 组分a,5-65,优选10-50,更优选15-45重量份;和

[0029] 组分b,以芍药苷计为5-100,优选10-80,更优选20-60重量份;和

[0030] 组分c,以标有符号*的成分计为5-100,优选10-80,更优选20-60重量份。

[0031] 另外,在上下文中,“芍药苷+麝香酮+丹参素5:2:1”,表示这三种活性组分的重量配比为5:2:1。

[0032] 下面的试验将证实:按照本发明描述的具有上述定义之麝香、芍药与组分c的组合,具有本发明所述的有益效果。鉴于现有技术中业已存在着相当成熟且有效的制备/提纯上述定义组分的技术,在此不作重点描述。例如,可以采用现代提取和分离技术,以提高活性物质的纯度、尽量除去不需要的杂质,例如:中国专利申请ZL200410096958、ZL200410041752、ZL011103787、ZL021109737、ZL021332983、ZL031131263、ZL02156681X、ZL011301309、ZL2004100413049、ZL00120986、ZL2003101134541、ZL021179239、ZL02149694、ZL92108623、ZL00113019、ZL02153750X、ZL03117754、ZL03141616、JP2000247890A、GB2317613A、、中药材2000年23(6):316-6、延边医学院学报1995年18卷(1):73-78)等。。

[0033] 可针对上述组分的理化特性和体内吸收特点,采用标准制剂技术,加入药用辅料制成适宜口服或非肠道给药剂型,类似技术也已相当成熟有效,例如:口崩片(ZL2003101133322、ZL200310123852、ZL03102405、ZL200410016510、ZL200410041256)、滴丸(ZL200310107292、ZL03136485、ZL01133515、ZL03135325、ZL200310119222)、分散片(ZL03125462、ZL03112974、ZL02153445)、缓控制剂(ZL011333332、ZL011387106、ZL02116223、ZL200310110709、ZL01117620、ZL02109758、ZL02116795、ZL02129313、ZL02134118、ZL03100021、ZL03133897)、环糊精包合物(ZL01141436、ZL02108778、ZL200310125175、中国药学杂志 2002 年 37 卷(9):673-75)、固体分散物(ZL001194313)、注射剂(ZL001215329、ZL031399428、ZL031573150、ZL2003101241702、ZL021337241、ZL95104038、ZL97101107、ZL02155001、ZL021332983、ZL031279953、ZL03141614、ZL03113037、ZL2003101210259、ZL200410013845)、粉针(ZL200410037717、ZL031323820、ZL021446008、ZL200410002103、ZL03131959.9、ZL200410013937、ZL2003101210259、ZL200410000912)、微或纳米制剂(ZL021378630、ZL00119579)、含磷脂制剂(ZL001278126、ZL031320627、ZL01139971、ZL03128337)、中国中药杂志 2005 年 30 卷 4 期:260-263 等。

[0034] 本发明药物组合物,由 10-90wt. %的活性组分和 90-10wt. %的药用辅料组成,可用于治疗昏迷、心脑血管疾病、老年痴呆症、脑细胞保护,以及用于治疗 and 预防糖尿病及其并发症、预防心脑血管疾病的复发。上述药物组合物克服了已有药物存在的作用单一、服药量大等缺点,代表了天然药物治疗和预防上述疾病的新趋势。

[0035] 药理药效学试验研究

[0036] 一. 基础研究

[0037] 协同抗炎作用

[0038] 1 对急性渗出性炎症(二甲苯所致小鼠耳肿胀)的影响

[0039] 1.1 材料

[0040] 本发明组合 A(芍药提取物+麝香+丹参提取物 5 : 1 : 2),分 10、20、40mg/kg 组;

[0041] 本发明组合 B(芍药苷+麝香酮+丹参素 5 : 2 : 1),分 10、15、30mg/kg 组;

[0042] 本发明组合 C(芍药提取物+麝香+银杏提取物 2 : 5 : 10),分 15、30、50mg/kg 组;

[0043] 本发明组合 D(芍药苷+麝香+银杏黄酮 3 : 1 : 2),分 10、20、40mg/kg 组;

[0044] 空白对照组:生理盐水;

[0045] 阳性对照药:相当于同样用药量的芍药提取物;10%麝香组;芍药提取物+麝香 5 : 1,30mg/kg 组;阿司匹林 0.2g/kg 组;丹参素 2mg/kg 组;银杏黄酮组 20mg/kg。

[0046] 1.2 方法与结果

[0047] ICR 小鼠,体重 21-23g,按体重随机均分组,每组 10 只,连续灌胃给药 4 天(0.4ml/20g),空白对照组给相同体积的蒸馏水。于末次给药 1h 后,将 60 μ l 二甲苯均匀涂于每鼠右耳两面,40min 后将小鼠颈椎脱臼处死,用直径 8mm 巩膜穿孔器取下左右耳片称重,求出两耳重量差、计算肿胀率,t 检验比较组间差异,结果见表 1。

[0048] 表 1 对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响($\bar{X} \pm SD$, n = 10)

	组别	剂量 (mg/kg)	肿胀率 (%)
	空白对照组	—	145.26±38.38
	阿斯匹林	0.2	63.88±31.77**
	芍药提取物	30	91.96±32.16**
	麝香	5.0	96.81±27.22*
	丹参素	2	125.69±36.21
	银杏黄酮	20	119.21±32.02
	芍药提取物+麝香	30	69.27±26.51***#
[0049]	本发明组合物A (高)	40	65.45±24.43**△#^
	本发明组合物A (中)	20	68.34±26.32**#^
	本发明组合物A (低)	10	88.76±31.36*
	本发明组合物B (高)	30	64.23±23.11**△#^
	本发明组合物B (中)	15	67.87±26.56**#^
	本发明组合物B (低)	10	87.54±29.06*
	本发明组合物C (高)	50	64.67±28.02**△#^
	本发明组合物C (中)	30	65.87±26.56**#^
	本发明组合物C (低)	15	80.23±29.57*
	本发明组合物D (高)	40	63.98±27.89**△#^
	本发明组合物D (中)	20	69.19±28.61**#^
	本发明组合物D (低)	10	83.87±31.37*

[0050] 注:肿胀率=[(右耳重-左耳重)/左耳重]×100%;

[0051] 与空白对照组比较:*P<0.05,**P<0.01;

[0052] 与芍药组比较△P<0.05,△△P<0.01;与麝香组比较,#P<0.05。

[0053] 与丹参素或银杏黄酮比较^P<0.01

[0054] 2对二甲苯致小鼠皮肤毛细血管通透性的影响

[0055] 2.1 材料

[0056] 本发明药物组合物A(芍药提取物+麝香+60%(红花黄色素)红花提取物12:2:20),分10、20、40mg/kg组;

[0057] 本发明药物组合物B(芍药提取物+麝香+60%(葛根素)葛根提取物2:2:12),分10、30、50mg/kg组

[0058] 阳性对照药:相当于同样药量的芍药提取物;10%麝香组;芍药提取物+麝香10:1,30mg/kg组;阿司匹林0.2g/kg组;60%(红花黄色素)红花提取物组15mg/kg;60%(葛根素)葛根提取物15mg/kg。

[0059] 2.2 方法与结果

[0060] 参照《中药药理研究方法学》制作动物炎症模型,结果见下表 2:

[0061] 表 2 对二甲苯所致小鼠皮肤毛细血管通透性的影响 ($\bar{X} \pm SD$, $n = 10$)

[0062]	组别	OD 值
	正常对照组	0.067 ± 0.022
	阿司匹林	$0.035 \pm 0.023^{**}$
	芍药提取物	$0.039 \pm 0.018^{**}$
	麝香	$0.040 \pm 0.017^{**}$
	60%红花黄色素提取物	0.056 ± 0.020
	60%葛根葛根素提取物	0.058 ± 0.019
	芍药+麝香	$0.025 \pm 0.013^{**\Delta\#}$
	本发明组合物 A (低)	$0.036 \pm 0.019^{**\Delta\#}$
	本发明组合物 A (中)	$0.028 \pm 0.020^{**\Delta\#}$
	本发明组合物 A (高)	$0.023 \pm 0.016^{**\Delta\#\Delta\#}$
	本发明组合物 B (低)	$0.037 \pm 0.021^{**\Delta\#}$
	本发明组合物 B (中)	$0.028 \pm 0.017^{**\Delta\#}$
	本发明组合物 B (高)	$0.024 \pm 0.018^{**\Delta\#\Delta\#}$

[0063] 与对照组比较: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$; 与芍药提取物比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;[0064] 与麝香比较, $\#P < 0.05$, $\#\#P < 0.01$ 。[0065] 与红花提取物或葛根提取物比较 $^{\Delta}P < 0.01$

[0066] 结果表明:本发明组合物对二甲苯所致小鼠耳肿胀和对二甲苯所致小鼠皮肤毛细血管通透性有明显的抑制作用,具有抑制炎症早期毛细血管通透性增高的作用,与对照组相比具有显著性差异,与同等剂量的单组分提取物组相比,也具有统计学差异 ($P < 0.05$),高中剂量组与空白对照组比较 $P < 0.05-0.01$,同时也做了其他抗炎实验,结果表明,本发明组合物在抑制蛋清所致大鼠足跖肿胀中也显示了显著的效果,而且效果明显优于芍药提取物、麝香组和单组分提取物组,提示本发明组合物在其单用各自具有抗炎作用的基础上,一定比例的配伍更可以促进芍药/麝香或其他单味药的抗炎作用,起到协同抗炎作用。

[0067] 二. 心脑血管方面的药理作用

[0068] 1. 对全脑缺血再灌注大鼠脑组织氨基酸类神经递质的影响

[0069] 1.1 材料

[0070] 本发明药物组合物 A (芍药苷 + 麝香 + 川芎嗪 1 : 2 : 6, 30mg/kg 灌胃);

[0071] 本发明药物组合物 B (芍药苷 + 麝香 + 川芎嗪 5 : 3 : 1 : 1, 30mg/kg 灌胃);

[0072] 阳性对照药:芍药苷 10mg/kg、麝香酮混悬液 12mg/kg、川芎嗪 20mg/kg;

[0073] 1.2 方法

[0074] 造模前每天分两次给药,连续 3 天,于第 4 天上午给药 30 分钟后进行手术。按照标准方法造模,分离双侧颈总动脉,再灌注 6h,断头处死,取大脑迅速置于冰盘上取右侧脑自额极至枕叶分为 A、B、C、D 等分,取 C、D 脑片称重,按照 1ml/50mg 加入甲醇匀浆,离心收

集上清液,蒸去甲醇,再加入 80%乙醇,超声波处理,离心,收集上清液用于检测脑组织氨基酸类神经递质。

[0075] 中枢神经系统中大部分神经递质是氨基酸类,包括 γ -氨基丁酸 (GABA)、谷氨酸 (Glu)、天门冬氨酸 (Asp) 和甘氨酸 (Gly),生理情况下, Glu、Asp 对神经元有极强的兴奋作用, GABA、Gly 神经元行使作用,为重要的抑制性氨基酸。

[0076] 分析方法:反相 HPLC,峰面积外标法,然后统计学分析。

[0077] 1.3 结果

[0078] 见下表 3。

[0079] 表 3 各组全脑缺血再灌注大鼠脑组织氨基酸类神经递质的含量 ($\mu\text{mol/g}$)

[0080]

	Glu	Asp	GABA	Gly
假手术组	3.77±0.91	3.67±1.01	10.69±3.40	2.61±0.58
模型组	5.59±0.93**	5.79±0.96**	10.95±4.00	3.41±0.62*
芍药苷	5.22±1.13**	4.19±0.97 $\Delta\Delta$	15.65±3.12* Δ	4.11±0.59** Δ
川芎嗪	4.57±1.09**	4.21±0.88 $\Delta\Delta$	14.67±3.02* Δ	4.19±0.61** Δ
麝香酮	5.21±0.96**	4.18±0.67 $\Delta\Delta$	15.87±3.97* Δ	4.11±0.62** Δ
本发明组合物A	4.43±1.16* $\Delta\Delta\Delta$ #	4.01±0.71 $\Delta\Delta$ ^	19.43±3.11* $\Delta\Delta$ #^	4.18±0.56** $\Delta\Delta$
本发明组合物B	4.25±0.79* $\Delta\Delta$ #	4.06±0.69 $\Delta\Delta$ ^	19.02±3.86* $\Delta\Delta$ #^	4.16±0.46** $\Delta\Delta$

[0081] 与假手术比较,* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与麝香组比较,# $P < 0.05$;与川芎嗪比较^ $P < 0.05$

[0082] 1.4 结论

[0083] 本发明药物组合物各组、芍药苷注射液、麝香酮和川芎嗪,在大鼠脑组织缺血 45 分钟,再灌注 6 小时后 (Glu、Asp 明显升高),对 Asp 有一定程度的降低,本发明组合物组最明显;而芍药苷注射液、麝香酮和川芎嗪对 Glu 降低不明显,本发明药物组合物两组均可以降低 Glu,与对照药组相比具有显著性差异;GABA 和 Gly 的升高也是本发明组合物组最明显,与芍药苷、麝香酮和川芎嗪比较,组间具有显著性差异,可能是芍药苷和麝香提取物(麝香酮)的作用机制不同而共同带来的有益效果,说明本发明组合物的组合通过降低缺血区脑组织中的 Asp,提高了 GABA 和 Gly 的含量以对抗兴奋性氨基酸的毒性,从而保护脑缺血后继发神经元的损伤,这些虽然是麝香酮的药用机理之一,但本发明组合物无疑提高了药效,发挥了协同的作用。

[0084] 2. 对防止血管成形术后再狭窄

[0085] 血管成形术后再狭窄 (RS),属于血瘀证范畴,其发病率高,血管平滑肌细胞 (VSMCs) 的异常增殖,是 RS 的中药病理特征,因此抑制 VSMCs 异常增殖成为世界性心血管研究预防 RS 的重要手段。

[0086] 2.1 材料

[0087] 本发明药物组合物 A (芍药苷+麝香+人参总皂苷 3 : 2 : 6,6、12mg/kg 注射);

[0088] 本发明药物组合物 B (芍药苷+麝香+银杏内酯 1 : 6 : 1,4、8mg/kg 注射);

[0089] 本发明药物组合物 C (芍药苷+麝香+丹参酮 10 : 1 : 1,5、10mg/kg 注射);

[0090] 本发明药物组合物 D (芍药苷+麝香+葛根素 1 : 2 : 10,6、12mg/kg 注射);

[0091] 空白对照组：生理盐水；

[0092] 阳性对照药：芍药苷注射液、麝香酮注射液、银杏内酯 1mg/kg；丹参酮 1mg/kg；葛根素 6mg/kg；人参总皂苷各 8mg/kg；

[0093] 2.2 方法

[0094] 血管平滑肌细胞分离、培养、鉴定，参照文献 (Piper HM 编辑, Cell Culture Techniques in Heart and Vessel Research. Springer-Verlag: Germany. 1990: 280)。

[0095] 培养贴壁细胞，再换成 DMEM (含青霉素 100U/ml, 链霉素 100 μ g/ml) 继续培养使细胞生长同步，最后随机加入药物，各浓度用 DMEM 稀释至 10 μ l/孔。

[0096] ^3H -TdR 掺入实验：置换每孔 1ml 的 DMEM，加入 1uCi 的 ^3H -TdR，测定各孔的 CPM 值。

[0097] 细胞存活率 = 贴壁细胞 / 总细胞数 (贴壁细胞 + 不贴壁细胞)

[0098] 2.3 结果

[0099] 本实验用细胞计数法分析，各组药物对细胞增殖的影响与对平滑肌细胞 ^3H -TdR 掺入基本一致，并且测得细胞存活率没有明显影响，均在 90% 以上。本发明药物组合物各组、芍药苷注射液和麝香酮注射液对血管平滑肌细胞 (VSMCs) 的异常增殖均具有抑制作用，但本发明药物组合物各组最强，与芍药苷和麝香酮比较，组间具有显著性差异，可能是芍药苷和麝香提取物 (麝香酮) 作用机制不同而共同带来的有益效果。

[0100] 三. 促醒作用

[0101] 1. 材料

[0102] 小鼠：昆明种，体重 18-20g，雌雄各半。

[0103] 试药：丹参酮 + 芍药注射液 (自制)；红花提取物注射液 (自制)；葛根提取物 (自制)；麝香酮注射液 (自制)；安钠咖注射用原料 (上海第十四制药厂)；本发明组合物 A (芍药 + 麝香 + 川芎提取物，重量比 1 : 2 : 8) 组；本发明组合物 B (芍药 + 麝香 + 人参提取物 8 : 2 : 1)。

[0104] 2. 方法与结果

[0105] 小鼠随机分组，分别尾静脉注射氯化钠注射液、安钠咖生理盐水溶液、丹参酮 + 麝香注射液、红花提取物注射液、葛根提取物；麝香酮注射液等试药，每天一次，连续给药 2 天，于末次给药后 15min，腹腔注射戊巴比妥钠生理盐水溶液 (3mg/ml) 0.3ml/20g，记录小鼠翻正反射消失至恢复的时间，计算各组均值和标准差，进行 t 检验，结果见表 4。

[0106] 表 4 对小鼠的促醒作用 ($\bar{X} \pm \text{SD}$, n = 10)

	组别	剂量	睡眠时间 (分钟)
	生理盐水组	—	29.9±6.3
	麝香酮组	10mg/kg	20.1±4.8 ^{*△#}
	红花组	15mg/kg	26.8±5.7
[0107]	葛根提取物	20mg/kg	28.9±6.9
	丹参酮+芍药组	20mg/kg	26.1±5.5
	安钠咖组	2mg/kg	11.5±4.3 ^{**△##}
	本发明组合物A	20mg/kg	15.9±5.1 ^{**△#}
[0108]	本发明组合物B	20mg/kg	16.3±5.2 ^{**△#}

[0109] 与空白对照组比较 :^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01 ;与红花和葛根提取物比较△ P < 0.05, △△ P < 0.01 ;与丹参酮 + 芍药比较 :[#]P < 0.05, ^{##}P < 0.01。

[0110] 3. 结论

[0111] 与对照组相比,本发明组合物 A、B 两组、对照药安钠咖组均表现出促醒的作用,而红花和葛根提取物组则无明显粗性作用。与丹参酮 + 芍药比较,本组合物两组呈现显著性差异,表明本发明组合物具有良好的促醒药理活性。

[0112] 四. 糖尿病方面的药理作用

[0113] 1. 材料

[0114] 本发明药物组合物 A : 芍药 + 麝香 + 丹参提取物组 (重量比 5 : 1 : 10)

[0115] 本发明药物组合物 B : 芍药 + 麝香 + 丹参酮组 (重量比 3 : 5 : 2)

[0116] 正常对照组 : 生理盐水 ;

[0117] 糖尿病组 : 生理盐水 ;

[0118] 阳性对照药 : 芍药苷组 ; 丹参提取物组 ; 降糖灵片 ;

[0119] 2. 方法与结果

[0120] 糖尿病实验模型的建立 : 二级 SD 大鼠按照 150mg/kg 体重尾静脉注射四氧嘧啶液,在四氧嘧啶液作用下,大鼠的胰岛 β 细胞受到损伤,造成胰岛素发生障碍,3 天后尾静脉采血测空腹血糖,血糖值大于 11.0mmol/L 的为糖尿病大鼠。

[0121] 每日一次,连续 4 周,之后,尾静脉采血测空腹血糖 (FBG) 和血清 Ins。

[0122] 表 5 对糖尿病大鼠的 FBG 和血清 Ins 的影响 n = 15

[0123]

药物	剂量	FBG(m mol/L)	Ins(m IU/L)
正常对照组	——	4.96±0.40**	23.6±3.2**
糖尿病组	——	16.5±3.1	17.5±2.3
芍药苷	80mg/kg	11.4±3.0*	18.9±2.7
丹参提取物	40 mg/kg	16.8±3.0	17.3±2.1
降糖灵片	80mg/kg	8.9±3.5**	17.6±2.6
本发明药物组合物 A	80mg/kg	7.9±2.0**△△	17.8±2.1
本发明药物组合物 B	80 mg/kg	7.4±1.5**△△	17.1±2.2

[0124] 与糖尿病组比较 : *P < 0.05 **P < 0.01 ; 与芍药苷比较, △ P < 0.05, △△ P < 0.01。

[0125] 上述实验表明, 本发明组合物明显降低了四氧嘧啶糖尿病的血糖, 并对血清 Ins 水平影响不明显, 这表明芍药、麝香联合用药及本发明组合物对四氧嘧啶糖尿病大鼠产生了较强的降血糖作用, 且降血糖作用不是通过提高胰岛素水平实现的。

[0126] 五. 对高血脂症大鼠的抗氧化作用

[0127] 1. 材料

[0128] 本发明药物组合物: 芍药 + 麝香 + 银杏提取物 10 : 1 : 2 : 8, 50mg/kg 灌胃 ;

[0129] 正常对照组 : 生理盐水 ;

[0130] 高血脂组 : 生理盐水 ;

[0131] 阳性对照药 : 芍药苷 (50mg/kg) ; VE (50mg/kg) ; 麝香 + 银杏 (30mg/kg) ; 银杏提取物 (20mg/kg)。

[0132] 2. 方法与结果

[0133] 建立高血脂模型, 与正常组比较 : 高脂模型血清和肝脏的 LPO 明显升高, 而 SOD 活性明显降低。

[0134] 药物灌胃, 处理动物, 按照试剂盒说明书操作, 测 LPO 和 SOD, 结果见表 6 :

[0135] 表 6 对高血脂大鼠血清和肝脏 LPO 和 SOD 的影响 (nmol/L) n = 10

[0136]

组别	血清LPO	血清SOD	肝脏LPO	肝脏SOD
高血脂组	8.99±2.00	400.9±56.7	6.91±1.18	7.59±1.19
VE组	6.54±1.23**	440.1±28.9	5.61±1.13*	8.87±1.27*
芍药苷	7.89±1.17	451.6±40.1*	5.89±1.37	8.73±1.18*
麝香+银杏	8.59±1.21	425.9±33.3	6.33±1.33	7.70±1.29
银杏提取物	6.98±1.16**△△	458.9±26.1*△	5.22±1.11**	9.24±1.03**
本发明组合 物组	6.37±1.21**△△	466.1±27.3*△	5.11±1.05**	9.49±1.13**

[0137] 与高血脂组比较 : *P < 0.05, **P < 0.01 ; 与芍药比较, △ P < 0.05, △△ P < 0.01。

[0138] 结论

[0139] 实验表明,本发明组合物的抗氧化活性显著优于单独施用的芍药、麝香。

[0140] 上述结果还证明:麝香经过实验证明具有增强中枢耐缺氧的能力和作用,而且经证实,麝香的增强中枢耐缺氧的能力是对中枢系统的直接作用而非间接影响,因此中医上称其芳香开窍,用麝香既治中风昏迷又治惊痫,但未证明其有明显的抗氧化作用,本申请实验证明其与芍药和银杏合用,抗氧化活性显著优于单用芍药,说明在对高血脂抗氧化方面,三者存在增强协同作用。

[0141] 本发明组合物的伍用则没有发现毒副作用,没有带来的不良副作用。

[0142] 另外,还从保护神经细胞、减少脑组织丙二醛(MDA)和NO生成等方面,考察了本发明组合物的抗氧化作用,结果证明本发明组合物对脑组织MDA有明显的抑制作用,降低了脑组织中升高的NO,对神经细胞也显示了保护作用。

[0143] 制剂实施例

[0144] 实施例1 片剂

[0145] 取赤芍,粉碎成粗粉,加80-90%乙醇回流提取三次,合并提取液,减压浓缩后用正丁醇提取三次,每次600ml,合并正丁醇提取液,减压浓缩至无正丁醇味,加水400ml,加热溶解,滤过,滤液喷雾干燥,得提取物I备用;

[0146] 取6g提取物I,与1g麝香和丹参的CO₂超临界萃取物15g(乙醇为夹带剂)混匀,加入辅料(总重的5%)低取代羟丙基纤维素、硬脂酸镁、淀粉、微晶纤维素,按照标准制粒和压片工艺制备。

[0147] 实施例2 片剂

[0148] 取葛根总黄酮提取物3g、10g提取物I和15g麝香混匀,加入低取代羟丙基纤维素、硬脂酸镁、淀粉、微晶纤维素,按照标准制粒和压片工艺制备1000粒。

[0149] 实施例3 软胶囊剂

[0150] 取芍药苷2g、麝香的CO₂超临界萃取物4g、银杏内酯1g,与甘油混匀,制丸1000粒,即得软胶囊剂。

[0151] 实施例4 滴丸

[0152] 取赤芍,粉碎成粗粉后用水提取,将水提液上大孔吸附树脂柱,用水、70%的乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,浓缩后滤去沉淀物,滤液喷雾干燥,得提取物II备用;

[0153] 取15g提取物II、30g盐酸川芎嗪、麝香水蒸汽提取物20g混匀,得III;

[0154] 取木糖醇和红藻胶混和均匀,加入上述方法制备的III,充分混合,混合物加热熔融,搅拌均匀并保温,于约60℃下滴入0℃的甲基硅油中,制成10000粒滴丸,将滴丸沥尽并擦尽冷却液,待干燥后分装。

[0155] 实施例5 口腔崩解片

[0156] 取芍药提取物10g、人参皂苷提取物(总皂苷含量不低于60%)50g、麝香水蒸汽提取物的环糊精包合物20g(麝香4g)、阿斯巴甜、柠檬香精、和硬脂酸镁,混合过100目筛。加入交联羧甲基纤维素钠、微晶纤维素,混合均匀后过100目筛,压片,共制成1000片。

[0157] 实施例6 缓释片剂

[0158] 取芍药苷18g、红花黄色素提取物(总黄色素含量不低于50%)100g、麝香水蒸汽提取物的环糊精包合物30g(麝香含8g),均匀混合,加入乳糖、微晶纤维素、羟丙甲基纤维素、聚乙烯吡咯、硬脂酸镁,按照标准制粒和压片工艺制备1000片。

[0159] 实施例 7 冻干针剂

[0160] 取银杏总黄酮 25g、适量有机碱,加注射用水约至 900ml,搅拌使溶解,调节 pH 值后,加入芍药苷 15g 至溶解,混合均匀,过滤,得 IV 备用;

[0161] 取人工麝香的超临界二氧化碳萃取物(含麝香总大环酮 30%以上)16g,加入聚山梨酯 80,均匀混合,再加入羟丙基- β -环糊精,超声搅拌包合 2 小时后,得 HP- β -CD 包合物 V。

[0162] 取 IV 3g、V,加冻干赋形甘露醇,加注射用水至全量,加入活性炭,吸附,脱炭过滤;所得滤液继续用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,分装,冷冻干燥。

[0163] 实施例 8 注射用乳剂

[0164] 将麝香总大环酮 5g、油酸 0.6g,混合均匀后加入到甘油三酯中,加热均质后备用;取精制卵磷脂 2.0g、泊洛沙姆 1880.5g、甘油 2.0g、丹参素 1g、芍药苷 40g 加入蒸馏水中,充分搅拌混合均匀。将油、水两相混合,调节 PH 值,制成 1000ml,用激光粒度仪检测,粒径符合要求之后,再经过微孔滤膜过滤,然后灌装、充氮气、封口、灭菌。