

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02827077.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/121 (2006.01)
A61K 31/12 (2006.01)
A61K 36/9066 (2006.01)
C07C 49/203 (2006.01)
C07C 49/647 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 8 月 19 日

[11] 授权公告号 CN 100528149C

[22] 申请日 2002.12.14 [21] 申请号 02827077.0
[30] 优先权

[32] 2001.12.14 [33] US [31] 60/340,165

[86] 国际申请 PCT/IB2002/005366 2002.12.14

[87] 国际公布 WO2003/051380 英 2003.6.26

[85] 进入国家阶段日期 2004.7.13

[73] 专利权人 科学与工业研究会

地址 印度新德里

[72] 发明人 M·雷伊 R·帕尔 S·辛格

N·M·卡恩纳

[56] 参考文献

. 方洪锯等. 药学学报, 第 17 卷第 6 期.

1982

审查员 赵明强

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 唐晓峰

权利要求书 5 页 说明书 32 页 附图 9 页

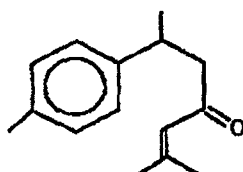
[54] 发明名称

治疗神经脑血管疾病的组合物

[57] 摘要

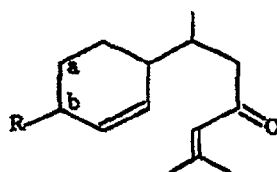
本发明涉及由姜科姜黄种的根茎和叶的脂溶性提取物获得的组合物, 用来治疗神经脑血管疾病, 所述组合物包含由式(1)的芳姜黄酮和式(2)的姜黄酮组成的组分 A, 和/或连同由姜黄烯和姜碱组成的组分 B, 和/或由大根香叶酮、curcumerone、蓬莪术酮、sedoarondiol、isozdedoarondiol、curcumenone 和 curlone 组成的组分 C, 和/或可药用添加剂以及利用所述组合物通过给予治疗有效量的脂溶性提取物治疗动物包括人神经脑血管疾病的方法。

1. 用于治疗神经脑血管疾病的组合物, 由姜科姜黄种的根茎和叶的脂溶性提取物获得, 所述组合物包含由式 1 的芳-d-姜黄酮



1

和式 2 的 α 和 β 姜黄酮组成的组分 A, 其中在 α 姜黄酮中 $R = CH_3$, 且在 β 姜黄酮中 $R = CH_2$



2

连同由姜黄烯和姜碱组成的组分 B, 和任选地由大根香叶酮、curcumerone、蓬莪术酮、sedoaronidiol、isozdedoaronidiol、curcumenone 和 curlone 组成的组分 C, 和 / 或可药用添加剂。

2. 权利要求 1 要求的组合物, 其中姜黄种是姜黄 (*Curcuma domestica* Valetton)。

3. 权利要求 1 要求的组合物, 其中组分 A、组分 B 和组分 C 的比率在 1-3: 1-3: 1-3 范围内。

4. 权利要求 1 要求的组合物, 其中添加剂选自褪黑激素、抗氧化剂、钙通道拮抗剂、组织纤维蛋白溶酶原激活剂和细胞膜稳定剂。

5. 权利要求 1 要求的组合物, 其中所述的神经脑血管疾病选自局部缺血、中风、中风后损伤、出血、再灌注损伤、血栓形成、血管收缩、一氧化氮诱导的自由基氧化损害、梗塞、炎症和阿尔茨海默氏病。

6. 权利要求 1 要求的组合物, 其中组合物的组分 A 是有效的。

7. 权利要求 1 要求的组合物, 其中所述组合物为片剂、胶囊、栓剂、小球或气雾剂。

8. 获得高产量脂溶性提取物和其组分的改进方法, 所述组分包含权利要求 1 所述的由式 1 的芳姜黄酮和式 2 的姜黄酮组成的组分 A, 由姜黄烯和姜碱组成的组分 B, 和由大根香叶酮、curcumerone、蓬莪术酮、sedoaronidiol、isozdedoaronidiol、curcumenone 和 curlone 组成的组分 C, 获得自姜科姜黄种的根茎和叶, 所述方法包括步骤:

- a. 粉碎姜黄种的根茎和叶成细微颗粒形式,
- b. 在室温, 在持续搅拌或超声处理下用极性有机溶剂提取所述粉末 24 小时,
- c. 重复步骤 (b) 两到五次,
- d. 在低于 45℃ 通过减压蒸馏除去溶剂以获得残留浓缩物,
- e. 用非极性溶剂研磨残留浓缩物,
- f. 在低于 45℃ 通过减压蒸馏除去溶剂,
- g. 获得所述脂溶性提取物,
- h. 用柱色谱法分馏所述提取物,
- i. 获得组分 A、组分 B 和组分 C, 和
- j. 进一步利用 HPLC 或 GLC 分馏组分 A、B 和 C 中的每一种以获得所述组分。

9. 权利要求 8 要求的方法, 其中在硅胶柱上分馏提取物。

10. 权利要求 8 要求的方法, 其中极性溶剂选自乙醇和丙酮。

11. 权利要求 8 要求的方法, 其中非极性溶剂选自石油醚和甲苯。

12. 权利要求 8 要求的方法, 其中利用 n-己烷、比率为 95: 5 的 n-己烷: 乙酸乙酯的混合物和乙酸乙酯顺序地分馏提取物。

13. 权利要求 8 要求的方法, 其中组分 A 占所述提取物的 75%。

14. 权利要求 8 要求的方法, 其中芳姜黄酮占组分 A 的 95%。

15. 权利要求 8 要求的方法, 其中压力在 7-11mmHg 范围内。

16. 权利要求 8 要求的方法, 其中提取物的浓度为 6%。

17. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人神经脑血管疾病

的药物中的用途。

18. 权利要求 17 要求的用途，其中所述药物用于抑制一氧化氮合酶过量产生、阻止神经元中钙超载和清除自由基。

19. 权利要求 17 要求的用途，其中脑血管疾病选自局部缺血、中风、中风后损伤、出血、再灌注损伤、血栓形成、血管收缩、一氧化氮诱导的自由基氧化损害、梗塞、炎症和阿尔茨海默氏病。

20. 权利要求 17 要求的用途，其中组合物的组分 A 是有效的。

21. 权利要求 17 要求的用途，其中所述组合物为片剂、胶囊、栓剂、小球或气雾剂。

22. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人局部缺血的药物中的用途。

23. 权利要求 22 要求的用途，其中所述局部缺血为严重的脑局部缺血。

24. 权利要求 22 要求的用途，其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

25. 权利要求 22 要求的用途，其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

26. 权利要求 22 要求的用途，其中所述治疗阻止线粒体中的钙超载。

27. 权利要求 22 要求的用途，其中组分 A 是有效的。

28. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人中风的药物的用途。

29. 权利要求 28 要求的用途，其中所述的中风选自血栓性的、栓塞的和病灶的。

30. 权利要求 28 要求的用途，其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

31. 权利要求 28 要求的用途，其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

32. 权利要求 28 要求的用途，其中组分 A 是有效的。

33. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人出血的药物中的

用途。

34. 权利要求 33 要求的用途，其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-500 毫克/天范围内。

35. 权利要求 33 要求的用途，其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

36. 权利要求 33 要求的用途，其中组分 A 是有效的。

37. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人血栓形成的药物中的用途。

38. 权利要求 37 要求的用途，其中血栓形成选自脑的、冠状动脉的和深静脉的。

39. 权利要求 37 要求的用途，其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

40. 权利要求 37 要求的用途，其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

41. 权利要求 37 要求的用途，其中所述药物使血栓降至四分之一。

42. 权利要求 37 要求的用途，其中组分 A 是有效的。

43. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人高血压的药物中的用途。

44. 权利要求 43 要求的用途，其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

45. 权利要求 43 要求的用途，其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

46. 权利要求 43 要求的用途，其中所述药物降低血压 40%。

47. 权利要求 43 要求的用途，其中所述药物维持正常血压。

48. 权利要求 43 要求的用途，其中组分 A 是有效的。

49. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人血管收缩的药物中的用途。

50. 权利要求 49 要求的用途，其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

51. 权利要求 49 要求的用途, 其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

52. 权利要求 49 要求的用途, 其中组分 A 是有效的。

53. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人超氧化物和一氧化氮诱导的自由基氧化损伤的药物中的用途。

54. 权利要求 53 要求的用途, 其中所述药物增加包括超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的氧清除酶水平。

55. 权利要求 53 要求的用途, 其中所述药物降低硫代巴比妥酸反应物质水平。

56. 权利要求 53 要求的用途, 其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

57. 权利要求 53 要求的用途, 其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

58. 权利要求 53 要求的用途, 其中组分 A 是有效的。

59. 权利要求 1 的组合物在制备治疗动物包括人水肿的药物中的用途。

60. 权利要求 59 要求的用途, 所述水肿选自脑和肺水肿的各种水肿。

61. 权利要求 59 要求的用途, 其中所述药物分剂量方案中药物有效量在 10-1000 毫克/天范围内。

62. 权利要求 59 要求的用途, 其中所述药物为腹腔或口服途径给药制剂。

63. 权利要求 59 要求的用途, 其中组分 A 是有效的。

治疗神经脑血管疾病的组合物

本发明领域

本发明涉及以高产量从姜科 (zingiberaceae) 种尤其是姜黄 (Curcuma) 种的根茎和叶生产称作姜黄油的脂溶性提取物的方法, 并且也涉及所述油、它的组份和所述组份的新的衍生物用于治疗神经脑血管疾病的用途。

背景和先有技术参考

神经脑血管疾病, 如脑血管梗塞、中风、局部缺血发作等等, 是由输送血液至大脑的动脉的疾病产生的血液供应中断引起的。

在中风的三种一般类型中, 脑出血由血管破裂引起并伴有出血进入大脑 (脑内出血) 或其被膜下, 当血块在壁内形成时, 脑血管阻塞导致脑血栓形成。

血块可以由血液的异常增稠, 动脉硬化、动脉粥样硬化对血管的损伤, 动脉炎或静脉炎引起。

如果血液供应完全停止或者降低至低于正常水平的四分之一, 则脑软化 (脑梗塞) 发生, 引发永久性脑损伤。

脑栓塞是由血块或从机体循环的另一部分迁移来的异物形成的大脑动脉阻塞, 如当在一根颈动脉内壁上形成的血块向上迁移至大脑并阻塞主要的动脉分支。

暂时性局部缺血发作 (TIAs) 是由血液供应暂时中断引起的短暂发作症状。可逆性局部缺血性神经缺陷 (RINDs) 是小的脑梗塞。多发性脑梗塞会导致永久性意识错乱和记忆丧失。局部缺血性中风是医学急症。在 TIAs 或中风发生后, 可通过外科手术或医药治疗。在某些情况下, 为移去任何走向大脑的血管的阻塞, 外科手术可能是必需的。

药物治疗可以阻止血块在血管壁内的粥样硬化斑块上形成。脑肿胀通常伴随脑梗塞或出血。没有令人满意的治疗方法。

目前，用于外周血管和脑疾病的药物包括麦角生物碱、阿司匹林、抗凝血剂等。后者在中风后使用来预防进一步的脑血管事件，但是如果中风是出血的结果，则它们的应用是禁忌的。

由于不利的副作用，用来治疗中风病例的噻氯匹定—高度有效的抗血小板剂的长期使用是受限制的。用来治疗冠状动脉内（急性心脏病发作）血块的组织纤维蛋白溶酶原激活剂（t-PA）是有机体产生的天然血块溶解物质，其可以打开在脑内引起中风的急性局部缺血脑损伤病症的血块。虽然 t-PA 可以溶解引起血管阻塞的血块，但是存在其它在缺血性中风期间发生的并发症，如果要阻止永久性脑损伤，则这必须被提及。当给予 t-PA 来减少当血流受限且甚至当血流重新开始时发生的自由基损伤时，极为重要的是在血流中含有一氧化氮（NO）和过氧化物清除剂。

一氧化氮（NO）和过氧化物对重要的生物分子施以损害并且它们的增加的产出已经牵涉到如大脑-、心血管、炎症、神经机能障碍和癌症等人类疾病。[Onoda M. , Inano H. , Nitric oxide: Biology and Chemistry, 4, (5), 505-515 (2000)]

大多数中风在细胞死亡的核心区域（梗塞）达到极点并且血流急剧下降使得细胞通常不能复原。脑细胞由于下述作用死亡：钙活化蛋白酶（消化细胞蛋白质的酶）、脂肪酶（消化细胞膜的酶）和由于局部缺血级联形成的自由基。若没有神经保护剂，神经细胞会在数分钟内不可逆的损伤。任何流向大脑血流的中断都会引起大量的自由基损伤，这会诱发许多大脑细胞再灌注损伤，典型的是中风。当血流中断并随后恢复（再灌注）时，组织释放铁，其作为通常永久性地损伤大脑细胞的自由基形成的催化剂。因此保护大脑细胞免受由血流中断引起的损伤是最重要的。如果局部缺血性中风发生，已经建议使用大量的如褪黑激素、维生素的抗氧化剂和如银杏的草药来提供某些益处。镁的口服剂量是1500mg，它是缓解动脉痉挛-血栓性中风中常见问题的安全营养素。

远古印度系统的医药—印度草药学与疾病的预防、诊断和治愈有关。词语“疾病（dis-ease）”—病（illness）的正确翻译被看作全

身机能障碍并且归因于普遍存在的体液的循环和转化。

大多数印度草药学的药物是名气很大的产品，它们作用于许多包括各种器官的机体机能障碍，并且以阻止问题或恢复正常状况为目标，且尝试让患者完全康复。经历了长时间和试验的发展，它们是某些基础元素的特定组合的结果，这些元素决定它们的性质，这些性质继而是那些物质的化学的、生物学的或治疗的效果的原因。当正确地制备后，没有物质不能被用作药物。

印度草药学描述了许多属于姜科的不同种的根茎和叶的有益效果，特别是 *Curcuma longa* L. 又称 *Curcuma domestica* Valetton，它们的根茎和叶一般称作姜黄 (Turmeric) 或 Haldi。它们的突出特点是抗菌、抗真菌伤口愈合和抗炎作用，这使得姜黄糊剂能被用作家用药物来治疗伤口或炎症。

在最近几年中发现，除了这些活性外，其组分姜黄素和其它类姜黄色素类还显示促胆汁分泌、利胆、抗氧化、抗癌、抑制白细胞三烯生物合成、5-脂肪氧合酶、环氧合酶、脂类过氧化反应、超氧化物和一氧化氮 (NO) 清除作用。

姜黄一在医学 - 印度草药学的印度系统中名声很大的草药一是 *Curcuma longa* L. 又称 *Curcuma domestica* Valetton (姜科) 的根茎，其在印度产量丰富。长期以来，它被用作食品香料和着色剂以及用作天然存在的药物。它的粉末和提取物被推荐用来治疗伤口和炎症。

主要成分姜黄素被开发作为抗炎剂 [Srima1 R. C., Khanna N. M., Dhawan B. N., Ind. J. Pharmacol., 3, 10 (1971)]。姜黄素、各种类姜黄色素类和一些其它的姜黄种成分的其它治疗性质包括抗菌、抗真菌 [Schraufstatter F., Brent H., Nature, 164, 456 (1949), Arch. Dermatol. u. Syphilis, 188, 250 (1949); Lutomski. J., Kedzia B., Debska W, Planta Med., 26, 9 (1974); Rao B. G. N., Joseph P., Reichst, Aromen Koerperflegem, 21, 405-406 (1971); Swada T., Yamahara J., Shimazu S., Ohta T., Shoyakugaku Zasshi, 2, 11-16 (191), Prasad C. R., Sirsi M., J. Sci. Ind. Res., C.

15, 239-41 (1957); Schraufstatter E. , Deutsh. S. Z. Naturforsch. 4, 276 (1949); Chopra R. N. , Gupta J. C. , Chopra G. S. , Ind. J. Med. Res., 29, 769-72 (1941)], 抗氧化 [Ramaswamy T. S. , Banerjee B. N. , Ann. Biochem. Exp. Med., 8, 55 (1948); Chipault. J. R. , Mizuno G. R. , Lundberg W. O., Food Res., 10, 209, (1956)], 抑制脂类过氧化 [Sharma S. C., Mukhtar H., Sharma S. K., Krishnamurthy C. R. , Biochem. Biopharmacol., 21, 1210-14 (1972); Zu S. , Tang. X. Lin Y., Zhongguoyev., 22, 264- 5 (1991); Sharma O. P. , Biochem. Biopharmacol. 25, 1811 (1976)]; 活性氧种类清除以及通过姜黄素在体内预防自由基形成增加 [Tennesen H. H. , Inter. J. Pharmacol., 50, 67-69 (1989), Kunchandy E., Rao M. N. A. , Inter. J. Pharmacol. , 58, 237 (1990)], 姜黄素对在乳腺中由脂多糖引起的 iNOS 的抑制活性以及 NO 自由基清除活性 [Onoda M., Inano H. , Nitric Oxide: Biology and Chemistry, 4, 505-515 (2000)], 抗炎 [Arora R. B. , Basu N., Kapoor V. , Jain A. , Proc. Second Indo Soviet Symposium on Natural Products, New Delhi, 1970, p. 170., Ind. J. Med. Res. , 59, 10 (1971); Mukhopadhyaya A. , Basu N. , Ghatak N. , Singh K. P. , Gujral P. D. , Proc. Int. Union of Physiol. Sci. , 11, 241 (1974) ; Ghatak N. N. , Basu N., Ind. J. Exp. Biol., 10, 235 (1972), Chandra D. , Gupta S. S. , Ind. J. Med. Res. , 60, 138-142 (1972)], 抗癌 [Soudamini K. K., Kuttan R. , J. Ethnopharmacol. 27, 227 (1989) ; Kuttan R. Bhanumatty P., Nirmala K. , George M. C. , Cancer Lett., 29, 197 (1985)]; 抗氧化和抗在人白血病细胞中诱发凋亡的肿瘤启动子 [Rao M. L. , Huang T. S. , Lin J. K., Biochem. Biophysic. Acta, 1817, 98-100 (1996)], 抑制中国仓鼠卵巢细胞培养物中的细胞生长以及对于淋巴细胞和道尔顿氏淋巴瘤细胞的细胞毒性 [Cancer Lett. (Ireland), 29, 197 (1985) via Chem. Abstr. 104, 61654^d (1986)]; 在由 7, 12-二甲基苯并 (a) 蒽诱导的小鼠皮肤癌发生中的肿瘤保护活性 [Kyoto-Furiton Doigaku

Zasshi, 96, 725 (1987) -via Chem. Abstr., 107, 211555^a (1987)], 抑制 HIV 蛋白酶[Suz Luz, Craik C. S., Oritz T., Montanello P. R., Proc. 205, ACS National Meeting, Denver, Colorado, 28 March-2 April, Amer. Chem. Soc. Med. Chem. Div. (1993), Take Y., Inoyya H., Nakamura S., Alauddin H. S., Kuba A., J. Antibiot., 42, 107-118 (1989)], 抑制脂肪氧合酶、环氧合酶[Tennesen. H. H., Int. J Pharmacol., 50., 67 (1989)], 抑制 ADP - 肾上腺素和胶原诱导的血小板聚集[Srivastava R., Puri V., Srimal R. C., Dhawan B. N.; Arznei Forsch., 36, 715-717 (1986)]; 保护抵抗血栓形成[Srivastava R., Dixit M., Srimal R. C., Dhawan B. N., Thromb. Res., 40, 413-17 (1985)]; 降低高脂大鼠中总胆固醇/磷脂比率和升高 HDL - 胆固醇与总胆固醇比率[Ind. J. Physiol. Pharmacol., 32, 299 (1988)]; 抗凝血活性[Chem. Pharm. Bull., 33, 1499 (1985)]; 抑制血小板聚集、代谢障碍和高脂血症[Lin Y., 美国专利 4842849; Chem. Abstr., 111, 160200 (1984); Khanna N. M., Sarin J. P. S., Singh S., Pal R., Seth R. K., Nitya Nand S., 印度专利 162441 (1984)]; 这使得其能用来预防心血管疾病, 如局部缺血性心脏发作、心肌梗塞等等。在印度 - 中国区域, 姜黄提取物由于它们的抗凝血作用在分娩时被给予。从姜黄根茎精油中分离的乙基 p - 甲氧基肉桂酸乙酯显示抗真菌活性[Herba Hung., 28, 95 (1989), via Chem. Abstr. 111, 191496j (1989)], 而同样从姜黄根茎精油中分离出的 furanogermentone 和 (4S, 5S) (+) 大根香叶酮 4, 5 - 环氧化物显示抗炎和抗应激溃疡预防作用[Yakugaku Zasshi, 106, 1137 (1986), Chem. Abstr. 106, 95935c (1987); Zhongyao Tongbto, 10, 134 (1983), Chem. Abstr. 103, 115886d (1985)]. 其它来自姜科的有名的草药 - Zingiber officinale Rosch - 显示对心脏病发作或中风的预防作用[Srivastava K. C., Prostaglandins Leukotrienes and Medicines, 13, 227-235 (1964)].

本发明的目的:

本发明的主要目的是应用属于姜科的姜黄种的根茎和叶的脂溶性提取物来治疗神经脑血管疾病。

本发明的另一个目标是开发以高产量从属于姜科的姜黄种的根茎和叶中生产脂溶性提取物的方法。

本发明的另一个目标是从姜黄油中分离个别的组分。

本发明的另一个目标是研制姜黄油所述组分的类似物。

本发明的另一个目标是检测所述类似物的神经脑血管疾病。

本发明的另一个目标是识别姜黄种中治疗神经脑血管疾病的活性组分。

本发明的另一个目标是利用姜黄种的活性组分治疗局部缺血。

本发明的另一个目标是利用姜黄种的活性组分治疗中风。

本发明的另一个目标是利用姜黄种的活性组分治疗出血。

本发明的另一个目标是利用姜黄种的活性组分治疗血栓形成。

本发明概述

本发明涉及以高产量生产称作姜黄油的脂溶性提取物的方法。所述油的来源是姜科种的根茎和叶。用来生产所述油的所述科独特的种类是姜黄种。所述油被用来治疗神经脑血管疾病。研制了所述油组分的新的类似物并且也发现了它们能用来治疗神经脑血管疾病。

本发明详细说明

相应地，本发明涉及从姜科尤其是姜黄种的根茎和叶获得高产量的称作姜黄油的脂溶性提取物和其组分的改进方法。

从姜科姜黄种的根茎和叶的脂溶性提取物获得的组合物，用来治疗神经脑血管疾病，所述组合物包含由式 1 的芳姜黄酮和式 2 的姜黄酮组成的组分 A，和/或连同由姜黄烯和姜碱 (zingiberine) 组成的组分 B，和/或由大根香叶酮、curcumerone、蓬莪术酮、sedoaronidiol、isozdedoaronidiol、curcumenone 和 curlone 组成的组分 C，和/或可药用添加剂。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中姜黄种是 *Curcuma domestica* Valetton。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A、组分 B 和组分 C 的比例在 1-3: 1-3: 1-3 范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中添加剂选自褪黑激素、抗氧化剂、钙通道拮抗剂、组织纤维蛋白溶酶原活化剂（t-PA）和细胞膜稳定剂。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物抑制一氧化氮合酶（NOS）过量生产、预防神经细胞中钙超负荷以及清除自由基。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物治疗的神经脑血管疾病选自局部缺血、中风、中风后损伤、出血、再灌注损伤、血栓形成、血管收缩、一氧化氮诱导的自由基氧化损害、梗塞、炎症和阿尔茨海默氏病。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组合物的组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中利用以选自片剂、胶囊、栓剂、微球和气雾剂的不同给药系统的所述组合物来治疗所述疾病。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中从姜科姜黄种的根茎和叶获得高产量的脂溶性提取物和其组分的改进方法，它们包含由式 1 的姜黄酮和式 2 的姜黄酮组成的组分 A，由姜黄烯和姜碱组成的组分 B，和由大根香叶酮、curcumerone、蓬莪术酮、sedoaronidiol、isozdedoaronidiol、curcumenone 和 curlone 组成的组分 C，所述方法包括步骤：

- 粉碎姜黄种的根茎和叶成细微颗粒形式，
- 在室温，在持续搅拌或超声处理下用极性有机溶剂提取所述粉末约 24 小时，
- 重复前一步骤两到五次。
- 在约 45℃ 下通过减压蒸馏除去溶剂以获得残留浓缩物，
- 用非极性溶剂研磨残留浓缩物，
- 在 45℃ 下通过减压蒸馏除去溶剂，
- 获得所述脂溶性提取物，

- 用柱色谱法分馏所述提取物,
- 获得组分 A、组分 B 和组分 C, 和
- 进一步利用 HPLC 或 GLC 分馏组分 A、B 和 C 中的每一种以获得所述组分。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中在硅胶柱上分馏提取物。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中极性溶剂选自乙醇和丙酮。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中非极性溶剂选自石油醚和甲苯。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中利用 n-己烷、比率为 95:5 的 n-己烷: 乙酸乙酯的混合物和乙酸乙酯依次分馏提取物。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中组分 A 约占所述提取物的 75%。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中芳姜黄酮占组分 A 的 95%。。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中压力在 7-11mmHg 范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中提取物的浓度为约 6%。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人的神经脑血管疾病的方法, 通过给予治疗有效量的脂溶性提取物。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中所述方法包括抑制一氧化氮合酶 (NOS) 过量产生、预防神经元中钙超载和清除自由基。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中脑血管疾病选自局部缺血、中风、中风后损伤、出血、再灌注损伤、血栓形成、血管收缩、一氧化氮诱导的自由基氧化损害、梗塞、炎症和阿尔茨海默氏病。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中组合物的组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中, 其中利用以选自片剂、胶囊、栓剂、小球和气雾剂的不同给药系统的所述组合物来治疗所述疾病。

在本发明的另一个具体实施方案中，式 3 和 4 的两种新的化合物。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人局部缺血的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法帮助治疗严重的脑局部缺血。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法预防线粒体中钙离子超负荷。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组合物的组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人的中风的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中治疗选自血栓性的、栓塞的和病灶性的中风。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包含 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人出血的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 500 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人血栓形成的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中血栓形成选自大脑的、冠状动脉的和深部静脉的。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法将血栓降至四分之一。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人高血压的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法使血压下降了约 40%。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法维持正常血压。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人血管收缩的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p.

和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人的一氧化氮诱导的自由基氧化损伤的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法增加包含超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶的氧清除酶的浓度。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述方法降低硫代巴比妥酸反应物质（TBARS）的浓度。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，利用权利要求 1 的组合物治疗动物包括人的方法，所述方法包括给予患者治疗有效量的步骤。

在本发明的另一个具体实施方案中，所述方法包括治疗选自脑和肺水肿的各种水肿。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中以分剂量方案有效量在 10 - 1000 毫克/天范围内。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中所述组合物通过包括 i. p. 和 p. o. 的各种途径给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中组分 A 是最有效的。

在本发明的另一个具体实施方案中，粉碎干燥的根茎和叶成细微颗粒。

在本发明的另一个具体实施方案中，在室温用有机溶剂渗滤所述粉末。

在本发明的另一个具体实施方案中，在渗滤期间连续地搅拌内容物。

在本发明的另一个具体实施方案中,在 45℃ 下通过减压蒸馏除去所述有机溶剂。

在本发明的另一个具体实施方案中,重复上面提及的渗滤步骤至少 4—8 次。

在本发明的另一个具体实施方案中,以 5%—8% 的产量收集橙黄色有香味的液体姜黄油,和

在本发明的另一个具体实施方案中,通过利用如色谱法和在高真空下蒸馏的技术将所述油分离成其组分。

在本发明的另一个具体实施方案中,姜黄种选自 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton, 和 *Curcuma aromatica* Salisb.

在本发明的另一个具体实施方案中,有机溶剂是非极性溶剂,选自石油醚和甲苯。

在本发明的另一个具体实施方案中,有机溶剂是极性溶剂,选自乙醇和丙醇。

在本发明的另一个具体实施方案中,与极性有机溶剂相比,非极性溶剂得到较高的产量。

在本发明的另一个具体实施方案中,用非极性有机溶剂提取来自极性有机溶剂提取物的残留浓缩物。

在本发明的另一个具体实施方案中,将姜黄油分离成其单独的组份,包括芳-d-姜黄酮(式 1)、 α 和 β 姜黄酮(式 2)、姜碱、姜黄烯、大根香叶酮、curcumenone 和 curlone。

在本发明的另一个具体实施方案中,色谱的种类选自柱色谱,优选高效液相色谱和气-液色谱。

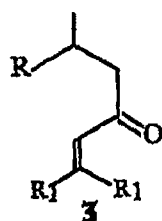
在本发明的另一个具体实施方案中,色谱用吸附剂选自铝和硅胶。

在本发明的另一个具体实施方案中,所述组分用选自 n-己烷、乙酸乙酯以及比例变化的 n-己烷和乙酸乙酯混合物的有机溶剂洗脱。

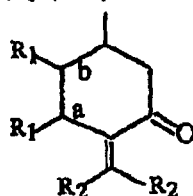
在本发明的另一个具体实施方案中,由色谱法分离的姜黄油各种组分的分子量是,姜黄酮(α -, β -)-摩尔重量 218, 芳-d-姜黄酮-摩尔重量 216, 姜碱-摩尔重量 204 和姜黄烯-摩尔重量 202。

在本发明的另一个具体实施方案中，由色谱法分离的姜黄油的各种组份的保留时间是，黄酮（ α -， β -）-保留时间 9'-04"，芳-d-姜黄酮-保留时间 8'-08"，姜碱-保留时间 5'-04"和姜黄烯-保留时间 4'-24"。

式 3 的新化合物，包括芳-d-姜黄酮、姜黄酮和大叶香根酮的化合物的类似物，其中 R 代表烷基、链烯基、环烷、苯基、环烯或环二烯基，在苯基、环烯、环二烯烃环上带有取代基如烷基或烷氧基、卤素，或是杂芳基如吡啶基氮杂环胺和取代的胺，且 R1 代表烷基或芳烷基。



式 4 的新化合物，包括原莪术醇、zedoarondiol 和 curcumenone。



4

$\text{CHR}_1\text{-CHR}_1$ =苯基，取代的苯基或

$=\text{ab } \Delta$, H,

$\text{R}_2=\text{H}$ 或 $\text{cd } \Delta$,

R_3 = 低级烷基 C_{1-3}

用于治疗神经脑血管疾病的药物组合物，所述组合物包含有效量的来自姜科植物种尤其是姜黄种的根茎和叶的称作姜黄油的脂溶性提取物，它或它单独的组分是单独的或互相组合的或与包括褪黑激素和组织型纤维蛋白溶酶原（t-PA）的相关化合物组合的给药，任选地组合有可药用添加剂。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗、减轻、控制和预防与一氧化氮（NO）产出增加、炎症引起的损伤、钙进入增加和对重要生物分子的自由基氧化损伤相关的疾病状况。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中添加剂选自包含蛋白质、碳水化合物、蔗糖、滑石、硬脂酸镁、纤维素、碳酸钙、淀粉-明胶糊的营养素；和/或可药用载体、赋形剂、稀释剂或溶剂。

本发明的另一个具体实施方案是口服、吸入或植入给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中用于口服途径的所述组合物的物理状态是胶囊、片剂、糖浆、浓缩剂、粉剂、颗粒剂、气雾剂或小球形式。

本发明的另一个具体实施方案是以 5 - 5000mg/天的剂量水平给药。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗动物或人。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗高血压。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗伴有脑和心肌梗塞的脑和肺水肿。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗再灌注损伤。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗包括中风和暂时性局部缺血发作的神经脑血管疾病。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗包括血栓形成的、栓塞的、病灶性的和再发的所有类型的中风。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗蛛网膜下和脑出血。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗神经机能障碍。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗包括脑、冠状动脉和深静脉的血栓形成梗塞。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗癌症。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗阿尔茨海默氏病创伤。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗获得性免疫缺陷综合症。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗偏头痛。

本发明的另一个具体实施方案是在复发情况下再次给药。

治疗患有神经脑血管疾病状况的患者的方法，所述方法包括给予患者有效量的来自姜科植物种尤其是姜黄种的根茎和叶的称作姜黄油的脂溶性提取物，它或它单独的组分是单独的或各自组合的或与包含褪黑

激素和组织纤维蛋白溶酶原（t-PA）的相关化合物组合给药，任选地组合有可药用添加剂。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗动物或人。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中添加剂选自包含蛋白质、碳水化合物、蔗糖、滑石、硬脂酸镁、纤维素、碳酸钙、淀粉-明胶糊的营养素；和/或可药用载体、辅料、稀释剂或溶剂。

本发明的另一个具体实施方案是口服、吸入或植入给予所述组合物。

在本发明的另一个具体实施方案中，其中用于口服途径的所述组合物的物理状态是胶囊、片剂、糖浆、浓缩剂、粉剂、颗粒剂、气雾剂或小球形式。

本发明的另一个具体实施方案是以 5 - 5000mg/天的剂量水平给予所述组合物。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗高血压。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗伴有脑和心肌梗塞的脑和肺水肿。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗中风后损伤。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗再灌注损伤。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗包括中风和暂时性局部缺血发作的神经脑血管疾病。

本发明的另一个具体实施方案是用来治疗包括血栓形成的、栓塞的、病灶的和再发的所有类型中风。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗蛛网膜下和脑出血。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗神经机能障碍。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗包括脑、冠状动脉和深静脉的血栓形成梗塞。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗癌症。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗阿尔茨海默氏病创伤。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗获得性免疫缺陷综合症。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物用来治疗偏头痛。

本发明的另一个具体实施方案是所述组合物在复发情况下再次给药。

在本发明的另一个具体实施方案中，获得/制备的治疗有效量的药物来自属于姜科的姜黄种根茎和叶的提取物。

在本发明的另一个具体实施方案中，更特别地，是 *Curcuma longa* L. 又称 *Curcuma domestica* Valetton 的脂溶性提取物/成分，通常称作姜黄 (turmeric) 或 Haldi。

在本发明的另一个具体实施方案中，用可药用制剂/传递系统例如片剂、胶囊、栓剂、小珠、气雾剂等等来治疗和预防牵涉一氧化氮 (NO) 产出增加和自由基氧化损伤的人类疾病。

在本发明的另一个具体实施方案中，这种疾病是神经脑血管疾病，如短暂性局部缺血发作 (局部缺血、出血、病灶复发等等)、血栓形成 (脑、冠状动脉、深静脉)、梗塞、中风 (血栓形成的、栓塞的、病灶性的等等)、阿尔茨海默氏病、炎症、神经机能障碍、创伤、癌发生、进行性肿瘤等等。

在本发明的另一个具体实施方案中，姜黄种根茎 (科: 姜科) 特别是 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 的脂溶性提取物/成分的超氧化物和一氧化氮 (NO) 的清除性质，在下文中称作姜黄油，它或它的各种组分单独的或互相组合的给药，使得它们能治疗有效的控制各种退行性疾病，更尤其是药物，此药物是带有抗炎活性的一氧化氮 (NO) 和过氧化物清除剂，能抵抗伴有脑和心肌梗塞的脑和肺水肿/肿胀。

在本发明的另一个具体实施方案中，考虑这些生物学性质并且作为人类疾病印度草药学的整体观点的后续，姜黄种根茎和叶 (姜科) 的脂

溶性提取物/物质,下文中称作姜黄油,从 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 的根茎和叶获得, 它或它的主要的活性组分, 芳-d-姜黄酮(式 1), 姜黄酮(α -, β -, 式 2), 单独地或互相组合或与其它次要组分组合,被发现是显著有益的并具有强大的一氧化氮(NO)和自由基/过氧化物清除活性。

在本发明的另一个具体实施方案中, 所述脂溶性提取物显示/具有有效的自由基清除/抗氧化活性, 这使得它们能防御保护下游的靶的线粒体损害, 且它们抑制一氧化氮合酶(NOS)过量产生, 避免炎症导致的损伤, 并减少钙进入, 这使得神经元中的钙超载不会发生。

在本发明的另一个具体实施方案中, 另一个重要的优点是, 如果那里有任何阻塞, 是再灌注损伤的主要原因的上面三种参数, 用这些药物治疗, 并且“威利斯顿循环”的脉络能对血流有所帮助并因此使药物达到损伤部位。

在本发明的另一个具体实施方案中, 对于严重脑局部缺血发生的病例, 给药姜黄油或其各种组分例如芳-d-姜黄酮、姜黄酮类等等, 单独地或相互组合地组合和不组合其它相关的式 3 或 4 类型的化合物和/或如褪黑激素、其它抗氧化剂、钙通道拮抗剂、组织纤维蛋白溶酶原激活剂(t-PA)和细胞膜稳定剂的其它治疗有效剂给药, 能提供抗脑甚至是冠状动脉损伤的有效保护。

在本发明的另一个具体实施方案中, 既然中风是高血压病人死亡率的主要原因, 我们的发现也强调姜黄油的重要性, 它或它的各种组分, 单独地或各自组合地给药, 作为具有抗氧化和神经保护活性的有效的抗高血压药物。

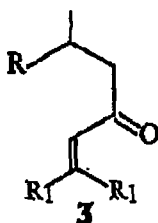
在本发明的另一个具体实施方案中, 姜科姜黄种特别是 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 的根茎和叶的脂溶性提取物, 在上文中称作姜黄油, 是浅黄色至橙黄色的有香味的油状液体, 它的主要组分是: 芳-d-姜黄酮(式 1), 姜黄酮(α -, β -, 式 2) [Tap Chi Hoa Hoc: 25, 18 (1987); Chem. Abstr., 108, 137682^s (1988)] 除此之外其它次要成分是例如姜碱、姜黄烯、curlone、curculone、curzenone、

α -, β -curcumenolides、curcumenone, 姜黄二酮、大根香叶酮、芳樟醇、樟脑、龙脑、姜醇等 [Essenze Deriv. Agrum, 54, 117 (1984); Chem Abstr., 103, 128791^v (1985)] 它抑制一氧化氮 (NO) 产出增加且是自由基清除剂 / 抗氧化剂, 它可以穿过血脑屏障并通过抵抗人疾病中一氧化氮 (NO) 和过氧化物 / 自由基诱导的神经元损伤来提供有效的治疗保护, 这些疾病例如是神经脑血管机能障碍、所有类型的中风、血栓形成 (脑、冠状动脉、深静脉)、梗塞、炎症和神经元疾病、某种类型的癌症、创伤、阿尔茨海默氏病和其它一氧化氮神经毒性、高压氧接触等。

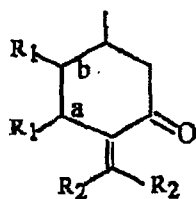
在本发明的另一个具体实施方案中, 高产量的脂溶性物质从姜黄种根茎和叶 (姜科), 尤其是 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 获得, 在下文中称作姜黄油和分离的它的各种组分。

在本发明的另一个具体实施方案中, 更特别地本发明涉及姜黄油自身或它的组分单独地或互相组合的一氧化氮 (NO) 和超氧化物清除活性并预防脑血流量动力学中的任何变化, 这使得它们能用作药物来治疗和预防神经脑血管疾病及相关的和不相关的机能障碍, 例如局部缺血发作、各种类型的中风、血栓形成、梗塞、偏头痛、阿尔茨海默氏病、炎症和神经机能障碍、致癌作用、进行性肿瘤、创伤和甚至 HIV/AIDS。

式 3 的新化合物, 包括芳-d-姜黄酮、姜黄酮和大叶香根酮的化合物的类似物, 其中 R 代表烷基、链烯基、环烷、苯基、环烯或环二烯基, 在苯基、环烯、环二烯环上带有取代基如烷基或烷氧基、卤素, 或是杂芳基如吡啶基氮杂环胺和取代的胺, 且 R1 代表烷基或芳烷基。



式 4 的新化合物, 包括原莪术醇、zedoaronadiol 和 curcumenone 的化合物的类似物。



4

$\text{CHR}_1-\text{CHR}_1$ =苯基, 取代的苯基或

=ab Δ , H,

R_2 =H 或 cd Δ ,

R_3 = 低级烷基 C_{1-3}

附图简要说明

图 1 显示在使用姜黄油后, 阻止病灶局部缺血大鼠的梗塞;

图 2 显示在使用组分 A 后, 完全阻止了前脑中的梗塞;

图 3 显示在使用组分 B 后, 完全阻止了前脑中的梗塞;

图 4 显示线粒体中的钙瞬变 (340/380 比率);

图 5 显示在使用组分 A 和组分 B 后线粒体中 SOD 水平的变化;

图 6 显示在使用组分 A 和组分 B 后线粒体中的过氧化氢酶水平;

图 7 显示在使用组分 A 后, 线粒体中的丙二醛水平;

图 8 显示 NE 诱导的收缩的舒张百分比变化; 和

图 9 显示在使用组分 A 后线粒体中 SNP 水平的变化。

在本发明的另一个具体实施方案中, 提供获得各种属于姜科的种的脂溶性提取物/组分的方法, 特别是通过提取 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 或 *Curcuma aromatica* Salisb 或 *Curcuma zedoaria* Roxb. 等的粉碎的根茎和叶以良好的产量从姜黄种获得姜黄油的方法, 用有机溶剂如乙醇、丙酮、乙酸乙酯等, 但是优选非极性溶剂如石油醚或甲苯, 持续搅拌并在低于 45℃ 通过减压蒸馏从此提取物中移去溶剂。

在本发明的另一个具体实施方案中, 在用极性有机溶剂如乙醇提取的情况下, 在移去溶剂后, 将残留乙醇浓缩物用非极性有机溶剂如石油醚、甲苯等彻底提取。

在本发明的另一个具体实施方案中, 在低于 45℃ 从此提取物中减压

蒸馏溶剂以 5% - 6% 的产率得到浅黄至橙黄色的有香味的液体。

在本发明的另一个具体实施方案中,用合适的吸附剂和合适的有机溶剂洗脱剂通过柱色谱分离这种油,或用 HPLC 或 GLC 洗脱,或真空蒸馏得到各种组分例如芳-d-姜黄酮(式 1),姜黄酮(α -, β -, 式 2)为主要组分(通过 GC-MS 鉴定约 70%)除此之外其它次要组分是例如姜碱、姜黄烯、zedeorone、大根香叶酮、curlone、姜黄二酮等,所有都通过 GC-MS 等鉴别。

在本发明的另一个具体实施方案中,以高产量获得姜科不同种特别是姜黄种例如 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 或 *Curcuma aromatic* Salisb. 等的根茎和叶的脂溶性提取物/物质的改善方法,通过在室温连续徐徐搅拌或通过超声处理用合适的有机溶剂彻底提取细粉状根茎或叶,然后在 45℃ 下通过减压蒸馏除去溶剂。

在本发明的另一个具体实施方案中,有机溶剂是非极性有机溶剂例如石油醚、甲苯等。

在本发明的另一个具体实施方案中,使用的有机溶剂是极性有机溶剂例如乙醇、丙醇等。

在本发明的另一个具体实施方案中,将从极性有机溶剂提取物中除去溶剂的残留浓缩物用非极性有机溶剂例如石油醚、甲苯等彻底提取。

在本发明的另一个具体实施方案中,在 45℃ 下通过减压蒸馏从提取物中除去有机溶剂。

在本发明的另一个具体实施方案中,持续搅拌是手工进行或通过机械搅拌器或通过电动机进行。

在本发明的另一个具体实施方案中,所述种的根茎或叶的脂溶性提取物/物质,其是浅黄至橙黄色有香味的油状液体,通过色谱法(柱色谱、HPLC、GLC 等)或高真空下的蒸馏被分离成它的各种组分,例如芳-d-姜黄酮(式 1)、姜黄酮(α , β -, 式 2)、姜碱、姜黄烯、大根香叶酮、curcumenone、curlone 等。

在本发明的另一个具体实施方案中,姜黄油的各种组分通过柱色谱利用适合的吸附剂例如氧化铝、硅胶等以及用合适的有机溶剂例如 n-

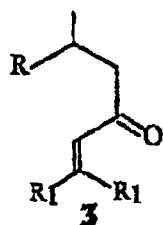
己烷、n-己烷：乙酸乙酯混合物（比例变化的）、乙酸乙酯等洗脱而获得。

在本发明的另一个具体实施方案中，姜黄油的各种组分通过 HPLC 或 GLC 获得，例如姜黄酮(α -， β -)，摩尔重量 218，保留时间 9'-04"，芳-d-姜黄酮(摩尔重量 216)，保留时间 8'-08"，姜碱(摩尔重量 204)，保留时间 5'-04"，姜黄烯(摩尔重量 202)，保留时间 4'-24"。

在本发明的另一个具体实施方案中，姜黄油的各种组分，例如芳-d-姜黄酮(式 1)、姜黄酮(式 2)、姜碱、姜黄烯、curcumenone、大根香叶酮等是通过真空蒸馏姜黄油获得的，例如芳-d-姜黄酮 b. p. 155-160 °C/9mm Hg，通过富含芳-d-姜黄酮的组分 b. p. 140-160 °C/10mm Hg 获得，其约占姜黄油总量的 70%。

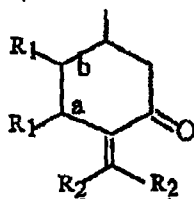
本发明的另一个具体实施方案是，所述脂溶性提取物各种组分例如芳-d-姜黄酮(图 1)、姜黄酮(图 2)、大根香叶酮、curcumenone、姜碱、curcu-meneetc，其自己或其各种组分的一氧化氮(NO)和过氧化物清除(抗氧化)性质。

在本发明的另一个具体实施方案中，式 3 的化合物，作为芳-d-姜黄酮或姜黄酮、大叶香根酮等的类似物，当 R 代表烷基、烯基、环烷烃、苯基、环烯或环二烯基，在苯基、环烯烃或环二烯烃环上带有取代基如烷基或烷氧基、卤素等，杂芳基如吡啶基氮杂环胺和取代的胺等，且 R1 = 烷基或芳烷基等时，作为一氧化氮(NO)、过氧化物/自由基清除剂来抵抗/预防一氧化氮(NO)、过氧化物/自由基对重要生物分子的氧化损伤。



在本发明的另一个具体实施方案中，类型式 4 的化合物，作为原菝葜术醇、zedoaronadiol、curcum-enone 等的类似物—姜黄种脂溶性提取物的其它次要组分，其结合入它们的分子结构，芳-d-姜黄酮和姜黄酮(α -， β -)分子在刚性框架中的突出特质是作为治疗有效的药物起

作用来治疗和预防所有类型的中风、血栓形成、梗塞、神经机能障碍等。



4

$\text{CHR}_1\text{-CHR}_1$ =苯基, 取代的苯基或

$=ab \Delta$, H,

$R_2=H$ 或 $cd \Delta$,

$R_3 = \text{低级烷基 } C_{1-3}$

在本发明的另一个具体实施方案中, 治疗有效的姜黄油或其各种组分单独地或互相组合或与相关的化合物组合, 减少、控制或预防牵涉一氧化氮 (NO) 产出增加和对重要生物分子的自由基氧化损伤的疾病, 例如所有类型的中风 (血栓形成的、栓塞的、病灶的和局部缺血的)、血栓形成 (脑、冠状动脉、深静脉)、梗塞、神经机能障碍等。

在本发明的另一个具体实施方案中, 治疗哺乳动物中风后损伤的方法包括给予需要此治疗的患者治疗有效量的姜黄油或其各种组分, 单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予。

在本发明的另一个具体实施方案中, 在中风 5-7 小时后, 治疗蛛网膜下和脑出血中风的方法是通过给予需要此的患者有效量的姜黄油 (全部) 或其各种组分, 单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予。

在本发明的另一个具体实施方案中, 治疗哺乳动物再灌注损伤的方法包括给予需要此的患者有效量的姜黄油 (全部) 或其各种组分, 单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予。

在本发明的另一个具体实施方案中, 治疗神经脑血管疾病如所有类型的中风 (血栓形成的、栓塞的、病灶的和局部缺血的)、暂时性局部缺血发作等的方法, 通过给予需要此的患者有效量的姜黄油 (全部) 或其各种组分, 单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予。

在本发明的另一个具体实施方案中, 治疗局部缺血疾病和预防危险的血凝块形成的方法, 通过给予需要此的患者有效量的药物和姜黄油

(全部)或其各种组分,单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予。

在本发明的另一个具体实施方案中,治疗哺乳动物高血压的方法,包括给予需要此的患者/病人有效量的姜黄油(全部)或其各种组分,单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予。

在本发明的另一个具体实施方案中,抵抗伴有脑和心肌梗塞的脑和肺水肿的方法,通过给予需要此的患者有效量的药物如姜黄油(全部)或其各种组分,单独地或互相组合地或与相关药物组合地给予,其是具有抗炎活性的一氧化氮(NO)和过氧化物/自由基清除剂。

在本发明的另一个具体实施方案中,治疗有效的 SAID 脂溶性提取物整体或其各种组分如芳-d-姜黄酮、姜黄酮、大根香叶酮、姜碱、姜黄烯、curlone 等,单独地或互相组合地与或不与其它治疗有用的药剂如褪黑激素和组织纤维蛋白溶酶原(t-PA)组合地使用,口服、非肠道(单独纯组分)或以任何其它合适的可药用传递系统如片剂、胶囊、小球、栓剂、气雾剂、植入剂等给药,以有效量(对于中风,以分剂量 10-500mg/天,且对于其它疾病,以分剂量 10-1000mg/天)给药,为人疾病提供高度有效的治愈/治疗,这些疾病牵涉一氧化氮(NO)和自由基氧化损伤例如所有类型的中风、血栓形成、梗塞和神经机能障碍,并且其也可用于治疗特定类型的癌症例如白血病、阿尔茨海默氏病创伤和甚至 HIV/AIDS。

实施例

下面的实施例概括地说明了本发明,而不以任何方式限制本发明的实质和范围。

实施例 1

这一实施例描述了以高产量获得姜黄油和其组分的方法及其剂型的制备。从 *Curcuma longa* L. 也称 *Curcuma domestica* Valetton 或其它姜黄种根茎获得姜黄油和其组分的改进的提取步骤。

常规的提取步骤是用有机溶剂如石油醚、甲苯、乙醇等渗滤干粉状姜黄根茎三或四次,并从滤出液中蒸馏出溶剂。当是乙醇提取物时,在溶剂除去后,用非极性有机溶剂如石油醚研磨残留的浓缩物,然后通过

蒸馏除去溶剂得到 1-1.5% 产率的姜黄油。

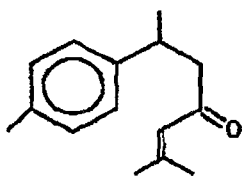
热提取物 (Soxhlet) 导致重要的挥发性组分丧失。当改变这些步骤时, 在通过电动机驱动的机械搅拌器或用手或用超声波仪搅拌的持续搅拌下, 用合适的有机溶剂如石油醚、丙酮、乙醇等提取干粉状姜黄根茎, 然后在低于 45℃ 通过减压蒸馏从提取物中除去溶剂, 可看到姜黄油的产量和质量都上升。

在典型的步骤中, 在靠近底部配有排出滤出液的水龙头的不锈钢或玻璃渗滤器/容器中, 用 *n*-己烷 (3 升) 连续地渗滤干微粉状姜黄根茎 (1kg), 并每次将内容物缓慢持续搅拌 24 小时, 用电动机驱动的机械搅拌器搅拌。排出橙-黄色滤出液, 重复此步骤四至五次。在低于 45℃ 从渗滤液中减压蒸馏除去溶剂得到橙黄色有香味的液体 (51gms=5.1% 产率)。

同样地, 每次在持续搅拌 24 小时下, 用丙酮或乙醇 (5x3 升) 初步提取微粉状姜黄根茎 (1kg), 然后在 45℃ 下通过减压蒸馏从渗滤液中除去溶剂, 并用 *n*-己烷或甲苯 (6x500 ml) 彻底研磨残留浓缩物, 然后在 45℃ 下通过减压蒸馏除去溶剂, 得到橙黄色有香味的液体 (60 gm.=6% 产率)。

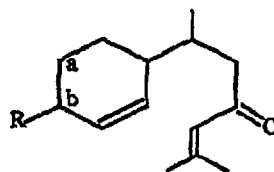
这一橙黄色有香味的液体 (20.0gm.) 的柱色谱, 用硅胶柱, 接连使用 *n*-己烷、*n*-己烷: 乙酸乙酯 (比例变化) 混合物和乙酸乙酯得到芳-d-姜黄酮 (式 1, 55%) 和姜黄酮 (α -, β - 式 2, 20%), 它们是主要成分 (组分 A), 然后是姜黄烯 (10%) 和姜碱 (组分 B), 和其它次要组分 - 大根香叶酮、curcumerone、蓬莪术酮、zedoaron diol、isozedoaron diol、curcumenone、curlone 等 (组分 C), 它们的活性低。

减压 (140-160℃/9mm Hg) 蒸馏姜黄油 (20.0gms.) 得到富含芳香族-d-姜黄酮的主要组分 I (式 1, 15.0 gms.) 和其它姜黄酮 (α -, β -, 式 2) 和其它次要组分 (4.2 gms, 组分 II)



1

芳-d-姜黄酮



2

 α -姜黄酮, ab Δ 和 R = Me, β -姜黄酮, R = CH_2

组分 I 的折射率 (n_D^{30}) 是 1,4990, 比旋度是 $(L)^{25} + 19.6$ 。通过色谱法或真空蒸馏获得的姜黄油自身或其各种组分是单独地或互相组合地与和不与其它治疗有效的化合物组合地使用来制备合适的临床有效的制剂。

固体剂型可以通过单独地或互相组合地浸渍姜黄油和其各种组分获得, 尤其是将芳-d-姜黄酮、 α -、 β -姜黄酮与淀粉和微晶纤维素在混合器中以合适的比例浸渍, 直到混合物变成可自由流动的粉末, 其能被填充入胶囊或转化成片剂, 每一个都符合治疗所需的规格。

典型的实施例, 将姜黄油 (10.0 gm.) 溶解在乙醇 (100 ml) 中。将淀粉 (5.0 gm) 和微晶纤维素 (85.0 gm) 加入此溶液。将它们充分混合并在 45°C 下通过干燥除去溶剂。使得到的产品通过 40 目大小的筛来获得自由流动的颗粒。然后将这些颗粒压制成具有合适剂量要求的片剂, 例如重量为 500mg 每个药片含有 50mg 姜黄油。

实施例 2

局部脑缺血

在此试验中使用来自 CDRI Animal House 的体重为 270-375gm 的雄性 Sprague Dawley 大鼠。大鼠生活在 12 小时亮/暗周期中并且不限制饮水。使动物禁食过夜并用戊巴比妥钠麻醉, 30mg/kg。测量直肠温度。形成暂时性局部缺血/再灌注, 利用血管内细丝堵塞单侧大脑中动脉 [Longa Z. E., Weinstein P. R., Carlson S., Cummins R.;

Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats: Stroke, 20, 84-91 (1989)]2 小时, 然后再灌注 36 小时。将动物随机分成 $n=5$ 只大鼠的下述组 (1) 对照: 假手术 (2) 局部缺血/再灌注 - 未治疗 (3) 局部缺血/再灌注 - 治疗组: (i) 姜黄油 (重量/ml, 0.86gm), 683.65mg/kg, 腹腔注射和口服给药 (ii) 组分 A (重量/ml, 0.88gm), 569.56mg/kg, 腹腔注射和口服给药 (iii) 组分 B (重量/ml, 0.91gm), 938.86mg/kg, 腹腔注射和口服给药。将动物处死, 移去脑并快速冷冻。从每个大脑切下 2mm 厚的 8 个冠状缝切片, 并用 2, 3, 5 - 氯化三苯四唑镱在 37℃ 染色 30 分钟并用福尔马林后固定。为每个脑薄片照相。用双盲法评价每一薄片中梗塞的面积。用组 (1、2 和 3) 大鼠 $n=3$, 移去大脑并处理做线粒体 Ca^{2+} 估算。

试验方案:

前脑线粒体的分离:

按照作了微小修改的 Lai 和 Clark 的方法 [Lai J. C. K., Clark J. P., Preparation of synaptic and non-synaptic mitochondria from mammalian brain: Method Enzymol., 55, 51-60 (1979)] 从大鼠前脑中分离线粒体。在断头后立即移去大鼠前脑并将其浸入冰冷的分离介质或磷酸盐缓冲生理盐水。将脑切碎并漂洗以除去所有血痕。用机械化 Teflon 匀化器在合适的介质中匀化组织 (10% w/v) 并立即在 1800g 离心 10 分钟。倾泻出上清液并将片状沉淀物再匀化, 在 1800g 离心 10 分钟。将从第一和第二次旋转中得到的上清液加在一起, 并在 17000g 离心 20 分钟。将得到的片状沉淀物再混悬在特定的介质中并在 17000g 离心 5 分钟。

测定线粒体内容物:

按照做过微小修改的 Zaidan E. 和 Sims N. R. [The calcium content of mitochondria from brain sub regions following short term fore brain ischaemia and recirculation in the rat; J. Neurochem., 63, 1812-1819 (1994)] 的方法估计分离自前脑的线粒

体的钙含量。简言之，用 Fura-2 AM (0-5 μm) 装载在琥珀酸盐介质中的线粒体 (0.3mg 蛋白质) 并在 37°C 持续振荡下温育 30 分钟。然后在琥珀酸盐介质中洗涤线粒体两次并重新混悬在相同的介质中。

利用 Shimadzu RF 5000 荧光分光光度计，用在 510nm 的发射测定激发波长在 340 和 380nm 处的 Fura-2 荧光的比率。作为 340/380 荧光比率的描记显示线粒体钙 ($[\text{Ca}^{2+}]_m$) [Macleod K. T 和 Harding S. E.; Effect of phorbol ester in contraction, intracellular pH and intracellular Ca^{2+} in isolated mammalian ventricular myocytes. J. Physiol. (London), 444, 481-498 (1991)]。

结果: 预治疗组中病灶局部缺血大鼠的梗塞被完全阻止了，见图 1 和 2。在大脑中动脉阻塞后给予试验化合物 / 药剂组中，七只中的六只脑切片显示完全阻止 (图 3)，然而有一只约 20% 的面积显示梗塞。从动物前脑分离的线粒体使得假局部缺血，并且用试验化合物组 (i) 治疗显示细胞内钙水平接近正常 (图 4)。

实施例 3

胶原酶诱导的大脑内出血:

在下面的试验中使用来自 CDRI-Animal House 的成年雄性大鼠 (250 - 350gm.)。将大鼠用戊巴比妥钠 (30 mg/kg, i. p.) 麻醉并放置在立体定位架上 (大鼠用, Narashige, 日本)。接下来用 Rosenberg 等的方法 [Rosenberg G. A. Mun-Bryce S., Mary B. S. 和 Kornfeld M., Collagenase-Induced intracerebral hemorrhage in rats: Stroke, 21, 801-807 (1990)]。在头皮上做一个切口并在尾状核和壳核中植入 23 线规的针 (坐标为 A5. 8, L3. 0, H1)。(大鼠脑的立体定位图谱, eds. R. M. Elliot, Gardener Lindzey and Kenneth, MacCorquodale. Meredith Publishing Company, 1967)。给大鼠 (n=10) 注射胶原酶 (0.01IU 在 2 μl 盐水中)，对照注射 2 μl 普通盐水。在输注后，移去针并缝合伤口。使动物从麻醉状恢复，放置在温暖的地方，允许进食及饮水。18 小时后，按照 Yamamoto 等 [Yamamoto A. Tamura, Kirino T.,

Shimizu M 和 Sano K. Behavioral changes after focal cerebral ischaemia by left middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Research*, 452, 323- 328. (1988)]通过估量异常 posture 和偏瘫分数来评价动物的神经缺乏。稍后,用戊巴比妥钠重新麻醉大鼠,30-mg/kg i. p., 并移去大脑。将大鼠随机分成三组。组 1, 给予生理盐水。胶原酶 (0.01IU 在 2 μ l 盐水中) 处理组 2&3, 在用胶原酶处理 5 和 7 小时后通过口服途径给予组分 A (683.65mg/kg)。

抗氧化评估

如实施例 2 的描述分离线粒体。为了进行抗氧化评估,将线粒体漂洗并混悬在磷酸缓冲液中。为了其它的评估,将线粒体再混悬在包含蔗糖 250mM, KH_2PO_4 6 mM 和琥珀酸盐 6mM, pH 7.2 的介质中。在 4℃ 进行分离步骤。

抗氧化:

在从试验动物前脑分离的线粒体中评估氧清除酶、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和硫代巴比妥酸反应物质。

SOD: 通过抑制 NADH、PMS、NBT 和在 560nm 监测的吸光度来测量 SOD 活性。酶活性以 U/分钟/毫克蛋白质表示。[Nishikini M., Rao N. A., Yagi K., The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced PMS and molecular oxygen. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 46, 849-854 (1972)]。

CAT: 按照 Aebi [Aebi H., In *Methods of Enzymatic Analysis* (Third edition) ed. H. U. Bergmeyer Academic Press, New York and London, Vol. 2 pp 673-684. (1974)] 在 240nm 处通过测量 H_2O_2 的 UV 吸光度的变化来分析 CAT 活性。

硫代巴比妥酸反应物质 (TBARS):

通过 Okhawa 等 [Okhawa H., Ohishi N., Yagi K., Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction: *Anal. Biochem.*, 95, 351 (1979)] 的方法在 532 nm 测量 TBARS 水平作为丙二醛和因此的脂质过氧化指数。按照 Bederson [Bederson J. B., Pitts,

L. H. Tsi ji M., Nishimura M. C. Davis R. L. , Barkowisk H. , Rat MCAO: Evaluation of model and development of a neurologic examination, Stroke, 17, 472 (1986)]评估功能缺乏并评估水含量。与未治疗组相比,发现这两个参数都有显著的减少。

蛋白质分析

通过 Lowry 等 [Lowry O. H., Rosbrough N. J., Farr. A. L. , Randall K. J.; Protein measurement with folin phenol reagent: J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)]的方法测定线粒体蛋白质,利用牛血清白蛋白 (BSA) 作为标准。

结果: 在用胶原酶处理 5 小时后给予试验化合物 (组分 A) 显著地减少了水肿。在未治疗组中在处理 5 & 7 小时时的神经缺乏评分为等级 4 而在治疗组中为等级 0-2。在未治疗组的 5 只中死亡 3 只,而在治疗组的 5 只中死亡 1 只。

SOD: 在 5 小时时 SOD 值几乎是正常的,而在用胶原酶处理 7 小时后给予试验化合物的情况下 (组分 A), SOD 水平增加 (图 5)。

过氧化氢酶: 报告此酶在脑中以微量存在 (图 6)。

TEARS: 在胶原酶处理后 5 小时时,此值接近胶原酶处理的动物,而在 7 小时时,与正常组相比,此值显著下降,指示试验化合物-组分 A 的抗氧化性质 (图 7)。如在实施例 2 中的描述分离线粒体。

实施例 4

将来自 C. D. R. I. Animal house 的成年雄性大鼠 (250-350gm.) 用 30mg./kg. 的戊巴比妥钠麻醉。暴露大鼠的颈静脉。在颈静脉上滴加 5 滴在 65% 甲醇中的 10% 的福尔马林。使血栓形成 6 小时,然后按照它的存在或不存在分级。[Blake O. R. , Ashwin J. G. , Jaques L. B. , ; An assay for the antithrombotic activity of anticoagulants: J. Clin. Pathol., 12, 118 (1959)]。在治疗组中以 200 μ l. i. p. /300gm. 给予大鼠组分 A (芳-d-姜黄酮和姜黄酮),而未治疗 (对照) 组给予等量的盐水 (i. p)。

结果: 未治疗组中的血栓是 2.8mg 且治疗组中的是 0.75mg。相对于治疗组, 未治疗组显示 373.33% 的增加。

实施例 5

按照 Goldblatt 等 [Goldblatt H. , Lynch J., Hanezal R. F. , Serville W. W.: Studies on experimental hypertension,: The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischaemia J Exp Med; 59: 347-379 (1934)]使大鼠患高血压。8 星期后, 高血压大鼠的平均初始血压是 200 mm/Hg。在以 683.65 mg./kg. 腹膜内给姜黄油后, 血压在 15 分钟内降至 115 mm/Hg 并在这一水平停留超过 60 分钟。

大鼠	剂量 (i. p.) (683.65mg/kg)	血压下降 (%)	持续时间 (分钟)	试验数目
高血压		38.76 ± 7.19	大于 60 分钟	n=3
血压正常		未下降		n = 2

结果: 此化合物显著降低高血压大鼠的血压而不降低正常血压大鼠的血压。其降低血压, 但是由于 β - 肾上腺素受体拮抗作用不发生心动过缓或者对于血管舒张剂常见的反射性心动过速。[Nichols A. J, Gallai M. Ruffolo R. P Jr. Studies on the mechanism of arterial vasodilation produced by the novel antihypertensive agent. Carvedilol. Fundam. Clin. Pharmacol., 5 : 25-38(1991)].

实施例 6

按照 Wolfgang 等 [Wolfgang Auch-Schweik, Zvonimir S. Katusic and Paul M. Vanhoutte: contractions to oxygen derived free radicals are augmented in aorta of the spontaneously hypertensive rats., Hypertension, 13, 859-864 (1989)]固定腹主动脉。用去甲肾上腺素 10^{-8} - 10^{-5} M 收缩主动脉环。通过乙酰胆碱或姜黄油松弛收缩的脉管, 以分步方式加入。以 10^{-7} - 10^{-5} M 的浓度加入乙酰胆碱。至

于姜黄油, 在 8ml 水浴中获得最终收缩是 0.861mg (图 8)。在完整且裸露的主动脉带标本中, 蛋白激酶 C 激动剂、(12-)十四酸佛波酯(-13-)乙酸盐 (PMA) (10^{-7} M) 诱导收缩。用姜黄油 0.881mg 预处理最终抑制 PMA 诱导的收缩。其抑制蛋白激酶 C [Kaczmarck L. K. ; The role of Protein Kinase C in regulation of ion channels and neurotransmitter release: Trends in Neurosciences, 10, 30-34 (1987); Jin-Moo Lee, Grabb M. C. , Zipfel G. J. , Choi D. W. , J. Clin. Invest., 106, (6), 723- 731 (2000)] 。

结果: 在去甲肾上腺素诱导的收缩中, 姜黄油和乙酰胆碱引起了完全的松弛, 显示显著的血管舒张作用。

实施例 7

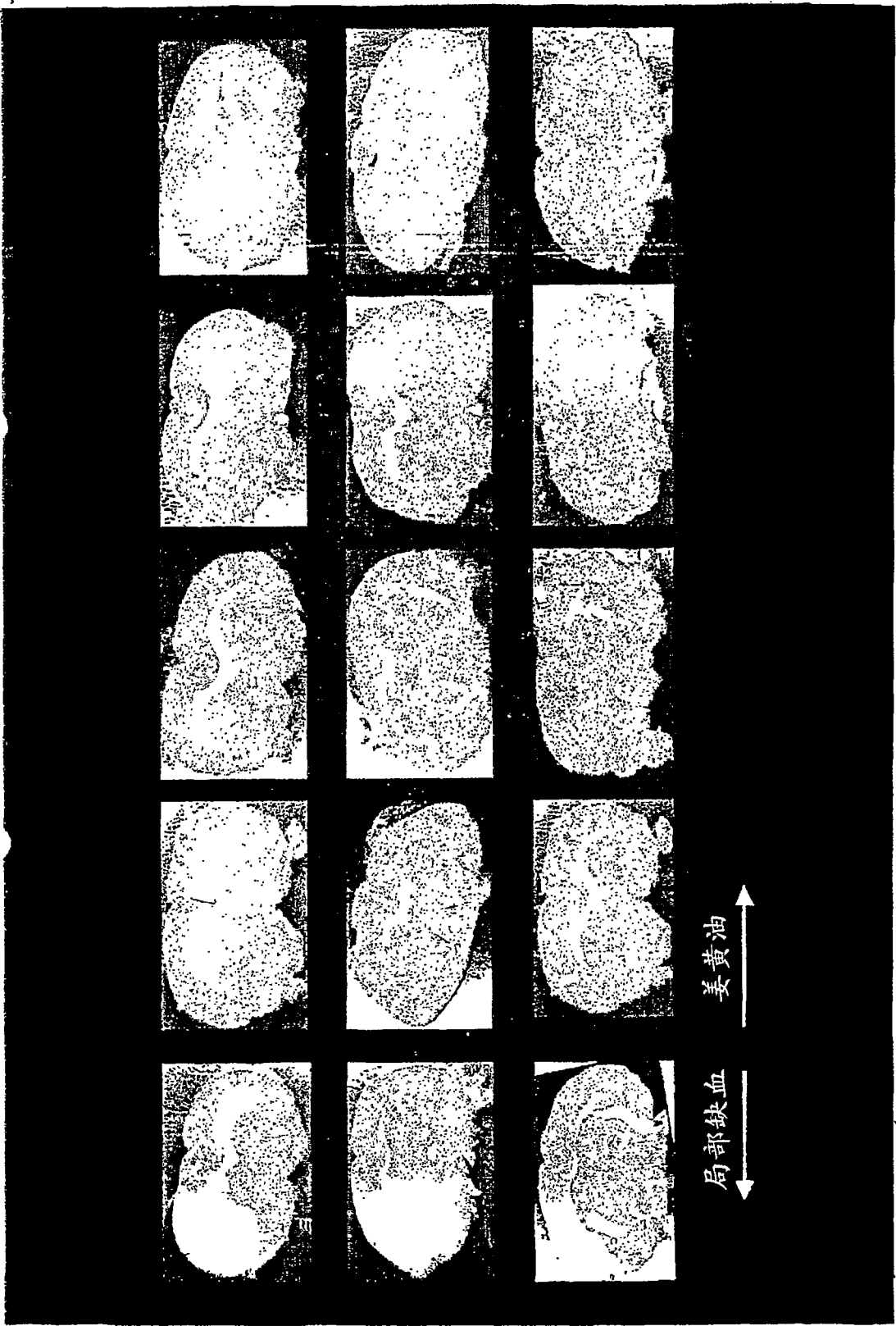
一氧化氮首先被表征为在中枢神经系统中作为细胞内信使调节 cGMP 水平的增加, 其会激活谷氨酸受体 (Garthwaite J, Charles S. L. and Chess-Williams R. Endothelium derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggest a role as intracellular messenger in the brain. Nature 336, 385-388 (1988))。NO 和超氧游离基的同时产生促使毒性反应产物过氧亚硝酸盐阴离子的产生 (Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshal PA and Freeman BA , Apparent hydroxyl radical production by peroxynitriye: implication for endothelial injury for nitric oxide and superoxide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1620 (1990))。一旦接近或在细胞中, 过氧化亚硝酸盐会损害或耗尽许多重要的成分, DNA 的链断裂, 脂质的脂质过氧化顺乌头酸酶和抗氧化有效性 (Cuzzocrea S, Riley. DP, Caputi AP and Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach ion shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol. Rev. 53: 135-159, (2001))。为检验试验剂的一氧化氮清除性质, 利用 NO 供体硝普钠进行体外实验。

试验化合物 / 药剂的一氧化氮 (NO) 清除:

硝普钠 (SNP) 产生一氧化氮 (NO) [Sreejayan and Rao M. N. A: Nitricoxide scavenging by curcuminoids, J. Pharm. Pharmacol., 49, 105-107 (1997)]。将组分 - A 86.14mg 混合入有不同浓度 SNP (5 - 40 mM) 的磷酸缓冲生理盐水, 将 Griess 试剂以 1: 1 的比率与试验化合物混合 (组分 A)。在 546nm 处读由 SNP、试验化合物 (组分 - A) 和 Griess 试剂形成的上述生色团缓冲液的吸光度, 并读出以相同方式用 Griess 试剂处理的亚硝酸钾的标准溶液的吸光度 (Green L. C, Wagner D. A., Glogowski J, Skipper P. L., Wishnok J, S. , Tannenbaum S. R. , Analysis of nitrate, nitrite and ¹⁵N in biological fluids; Anal. Biochem. 126, 131 (1982). Marcocci L. , Maguire J. J, Droy-Lefaix M. T., Packer L.: The nitric oxide scavenging property of Ginkgo biloba extract EGb 761, Biochem. Biophys. Res. Commun. 201, 748 (1994))。

结果: SNP 产生一氧化氮, 试验化合物 (组分 A) 清除由此产生的一氧化氮。此结果说明在病灶局部缺血中, 试验化合物 (组分 A) 是一氧化氮清除剂 (图 9)。

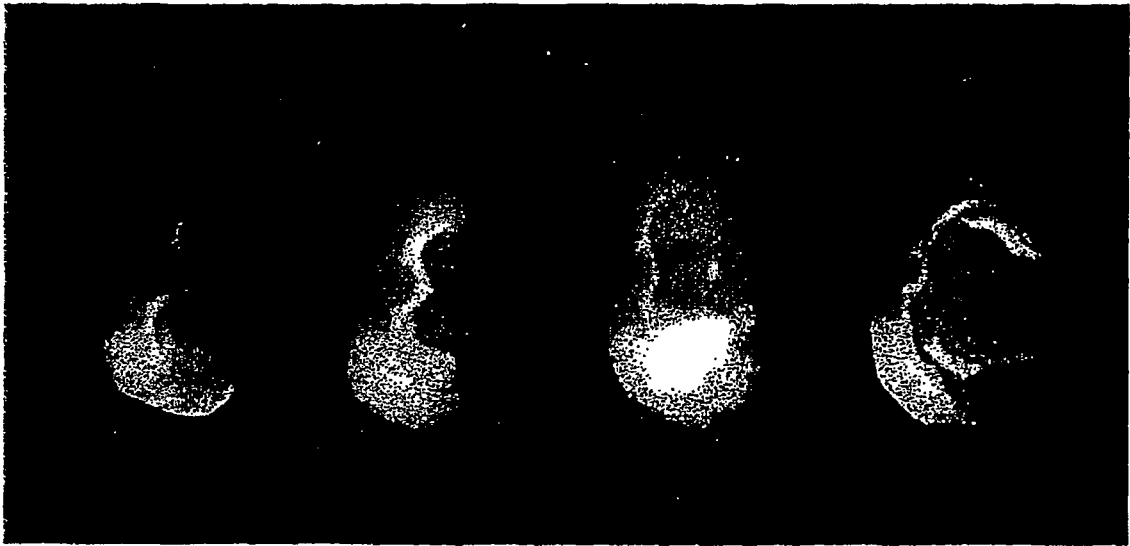
图1





组分A

图2



局部缺血

图3



局部缺血

组分B



图4

线粒体中钙瞬变 (340/380比率)

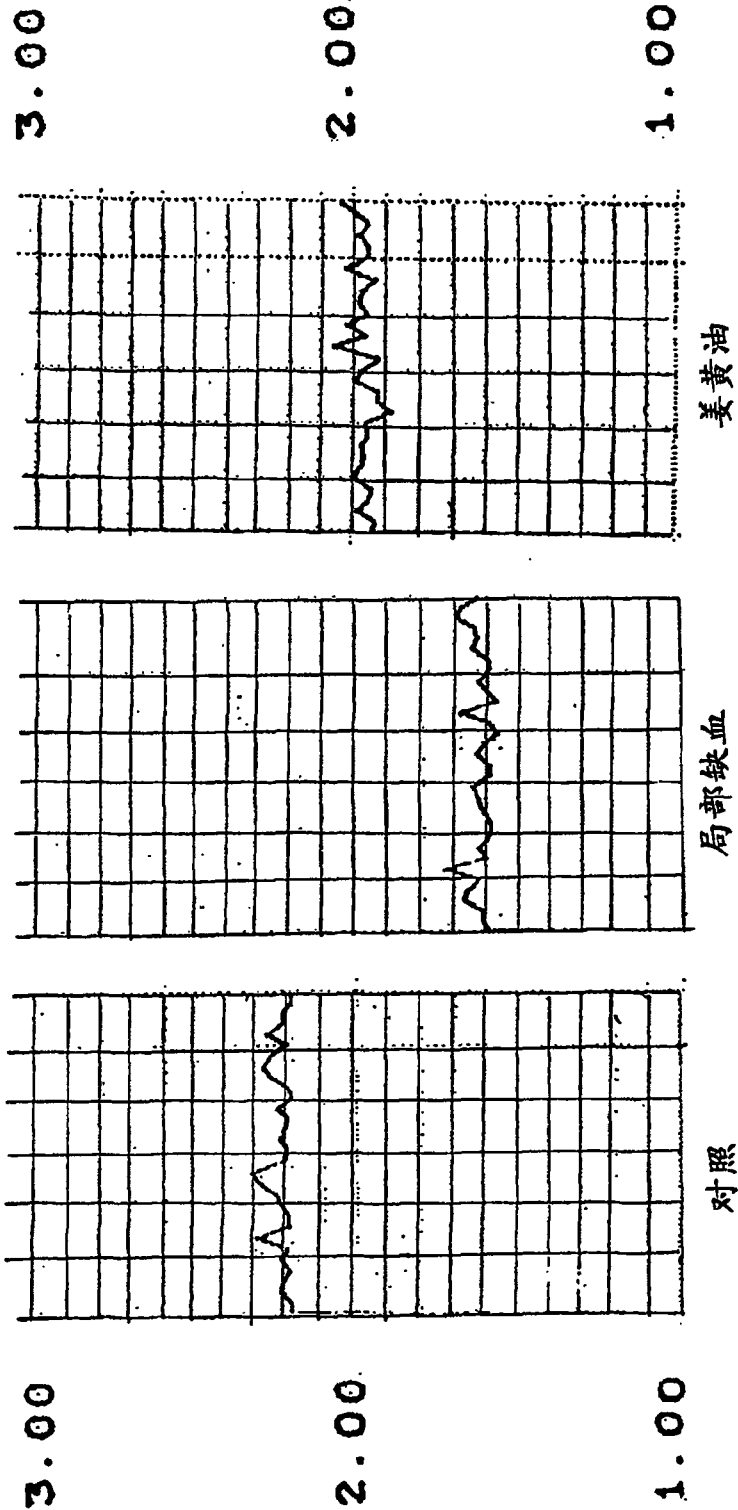
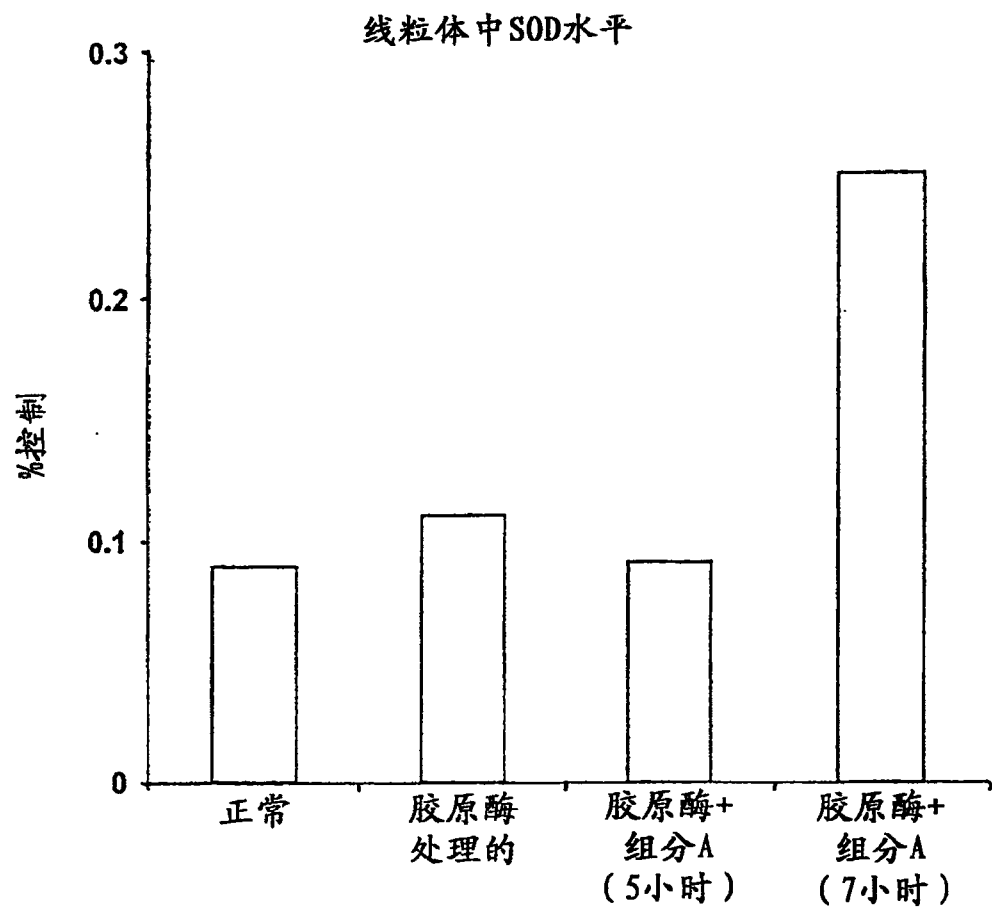


图5



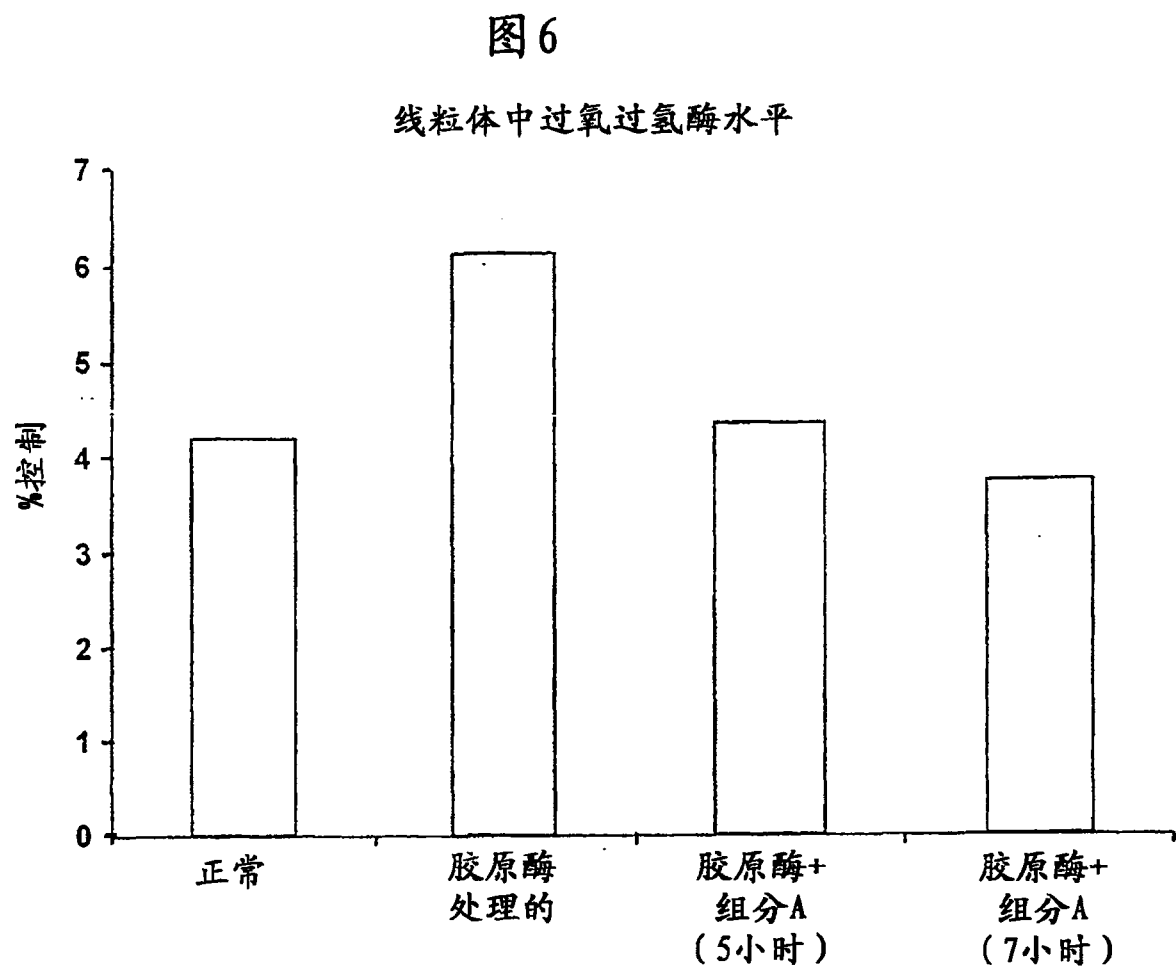


图7

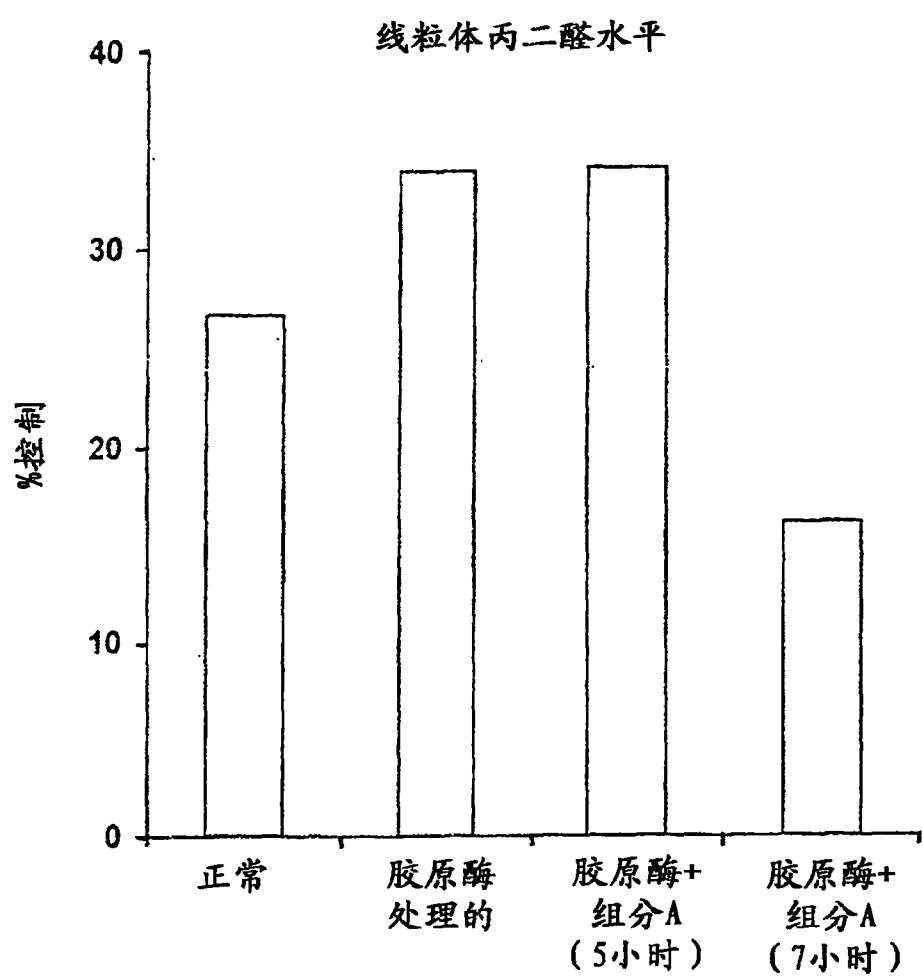


图 8

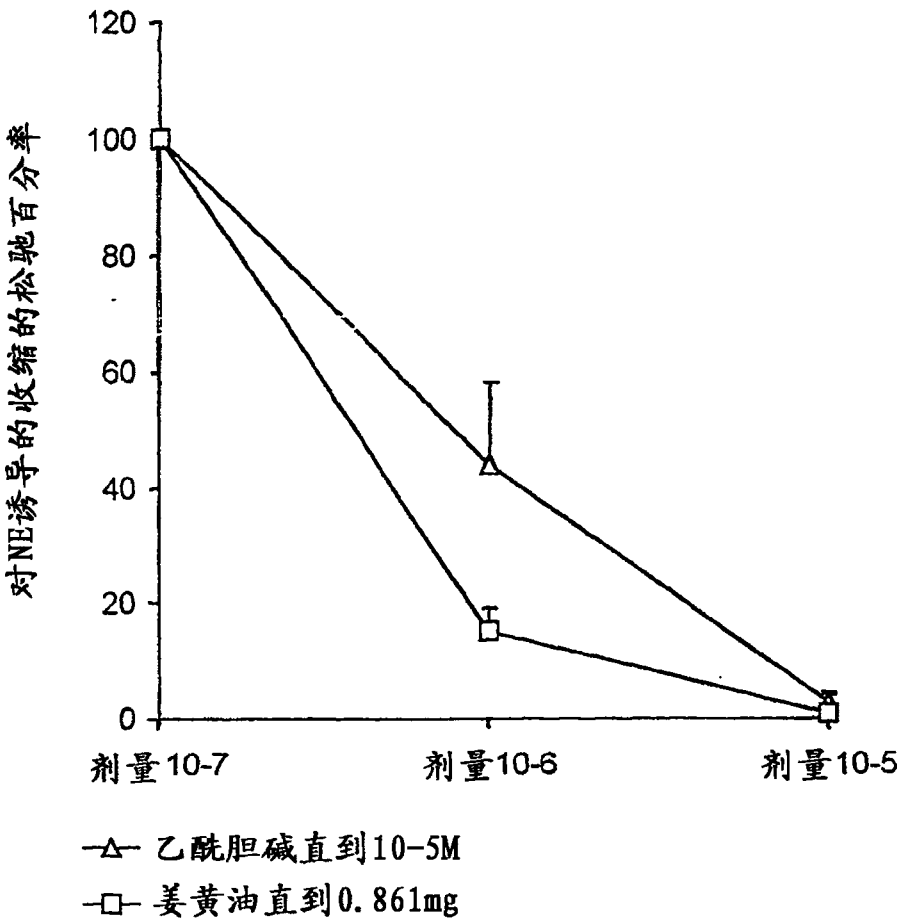


图9

