



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1985993 B

(45) 授权公告日 2012.04.04

(21) 申请号 200610172626.6

A61K 31/51 (2006.01)

(22) 申请日 2006.12.29

A61K 31/525 (2006.01)

A61K 31/355 (2006.01)

(73) 专利权人 安徽辉克药业有限公司

A61K 31/375 (2006.01)

地址 235000 安徽省淮北市南黎路 85 号

A61K 31/01 (2006.01)

(72) 发明人 叶红平 孙萌 朱作霖

A61P 25/00 (2006.01)

(51) Int. Cl.

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

(56) 对比文件

A61K 38/06 (2006.01)

罗焕敏,等. D- 半乳糖和三氯化铝诱导小鼠产生类阿尔茨海默病变.《中国药理学与毒理学杂志》.2004,第18卷(第1期),第22-26页.

A61K 36/16 (2006.01)

池莉平,等. 大豆卵磷脂改善记忆作用动物实验研究.《中国热带医学》.2006,第6卷(第11期),第1945-1946页.

A61K 33/04 (2006.01)

A61K 33/30 (2006.01)

A61K 33/00 (2006.01)

A61K 31/7076 (2006.01)

A61K 31/6615 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

A61K 31/435 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 31/385 (2006.01)

A61K 31/205 (2006.01)

A61K 31/047 (2006.01)

A61K 31/4415 (2006.01)

章子贵,等. 硒对氟致小鼠学习记忆损伤的改善作用.《卫生研究》.2001,第30卷(第3期),第144-146页.

黄绍重. 论磷脂的医疗保健作用.《商丘职业技术学院学报》.2005,第4卷(第5期),第67-69页.

审查员 邢振兰

权利要求书 1 页 说明书 14 页

(54) 发明名称

增强记忆力的复方制剂

(57) 摘要

本发明公开了一种小分子化合物西药的开发方法,并通过一种增强记忆力的复方制剂验证了这种新药开发方法,这种增强记忆力的复方制剂中含有包括刺激大脑的和记忆相关的功能、基质与过程的药物,增加大脑的氧与营养供应的药物,以及保持大脑内的氧化应激水平处于正常的药物。该制剂可以通过口服增强记忆力且防止大脑中枢神经系统内的氧化应激水平升高,它既可用于正常健康人增强学习能力,又可用于治疗认知障碍疾病,还可以通过口服治疗与预防阿尔茨海默病。

1. 一种增强记忆力的复方制剂,其组成为:

5-羟基色氨酸的含量为 150 毫克;磷酸酐胆碱含量为 300 毫克;二甲基氨基乙醇含量为 200 毫克;磷脂丝氨酸含量为 120 毫克;腺苷蛋氨酸含量为 300 毫克;DL-苯丙氨酸含量为 240 毫克;肌醇含量为 90 毫克;漆黄素含量为 600 毫克;L-色氨酸含量为 200 毫克;L-酪氨酸含量为 300 毫克;锂含量为 320 微克;

乙酰基左旋肉碱的含量为 150 毫克;长春乙酯含量为 15 毫克;银杏叶精含量为 120 毫克;葛根黄素含量为 220 毫克;

维生素 B₁ 的含量为 6 毫克;维生素 B₂ 的含量为 6 毫克;维生素 B₃ 的含量为 10 毫克;维生素 B₅ 的含量为 10 毫克;维生素 B₆ 的含量为 15 毫克;叶酸含量为 300 微克;

谷氨酸的含量为 150 毫克;甘氨酸含量为 150 毫克;丙氨酸含量为 150 毫克;

硫辛酸的含量为 150 毫克,甜菜碱含量为 150 毫克;石杉碱甲含量为 300 微克;维生素 C 的含量为 200 毫克;谷胱甘肽的含量为 90 毫克;维生素 E 的含量为 5 国际单位;番茄红素的含量为 30 毫克;锌的含量为 2.6 微克;硒的含量为 90 微克。

增强记忆力的复方制剂

[0001] 所属技术领域

[0002] 本发明属于新品种开发技术领域,具体涉及一种全新的小分子化合物西药的开发方法和一种增强记忆力的复方制剂。

[0003] 发明背景

[0004] 随着科学的发展和技术的进步,人类对自然和自身的认识 and 了解逐渐加深,各种知识呈爆炸性增长,人们需要掌握的知识和技巧也越来越多。开发有效增强人类记忆力的产品是愈来愈重要。

[0005] 开发全新类的新型小分子药 (New Chemical Entity),包括许多方面的工作。单一小分子化合物的开发方向一般都是单一靶向产品,开发工作首先需要寻找到新的生物治疗目标 (Target),然后再利用所得的结果设计出药效基团,以此药效基团作基础,尽可能地合成出所有可能的分子,然后通过离体试管内测评,筛选出几个分子进行优化,等等,这是一个非常复杂的系统工程。经过近百年的现代药物研发,简单易得的有好疗效的小分子新化合物已经非常难于找到。现代单一小分子化合物新药的开发投资大,周期长,风险高是不可避免的。据美国食品药物管理部门统计资料显示,到去年 (2005 年) 止,一个新药的平均开发费用是十五亿美元左右,并且呈逐年上升的趋势。如此高的研发费用必然增加医疗健康成本,并且大多数的发展中国家药品生产企业由于没有自主知识产权的新药,无法取得足够的利润来支持此类现代单一小分子化合物新药的开发研究,这些发展中国家的绝大多数医药企业将可能长期处于仿制的低利润状态,在全球化的市场竞争中将逐渐被淘汰出局,因此,开发出较为简单、成本低廉的新药开发方法极其重要。

[0006] 本行业的科技人员已经认识到开发增强记忆力产品的重要性,但是已知的合成类单一小分子化合物药品均被临床证实有很强的毒副作用,如他克林 (tacrine), 咯利普兰 (rolipram), 和四羟氨基丫啉 (velnacrine) 等,有肝脏毒副作用和严重的肠胃道反应。这类药物仅适用于大脑损伤的治疗,而不能用于日常增强学习。虽然在对老年痴呆症患者的临床试验中发现它们可以对患者的记忆力有所改进,但并没有任何证据表明,它们对正常健康人、普通的中年人、或轻度失忆者确有帮助。另外,虽然研究结果显示银杏叶提取物的药理是能够促进人体血液循环和大脑供血,有可能改善大脑的记忆力。然而,迄今为止的药理审查并未显示出银杏叶确有此种增强人类记忆力的功效。此外,服用银杏叶还有一个缺点,作为一种血液稀释剂,单独使用有增加内出血的危险。一些正在开发的合成类小分子化合物药品,如 Helicon 公司的 HT-0712、Cortex 药业的 CX516、葛兰素史克公司的 SB271046、辉瑞制药和美国国家衰老研究所 (National Institute on Aging) 合作开发的 Aricept、申请人正在开发的两个品种、和 Axonyx 公司的 Gilatide,相对来说毒性较小,作用时间较长,但是它们一般还处在刚开始临床试验或者还在临床前阶段 (Pre-Clinical Test),即使成功,离临床实用还有很长的时间,并且这种单一小分子化合物药品均是单一靶向产品,针对的全部是患老年痴呆症或轻度认知障碍的患者,它们所起到的只能是补偿和修复作用,对正常健康人来说,不具备全面解决增强记忆力满足提高学习能力的需求。

[0007] 增强记忆力提高学习能力首先要刺激大脑的和记忆相关的功能、基质与过程,如

活化人体内与记忆相关的 CREB 基因 (cAMP response element binding protein, 环磷酸腺苷反应单元结合蛋白); 调控 AMPA 型谷氨酸受体, 刺激神经递质产生更多的突触; 关闭海马体中一个和记忆相关的离子通道; 调节 GABA 受体来增加大脑中负责学习和记忆区域敏感性 GABA (伽马氨基丁酸) 的拮抗剂, 等等。大脑在上述这些单一靶向产品的刺激作用下, 常常会造成大脑内的氧化应激 (Oxidative Stress, OS) 水平升高, 存在造成中枢神经细胞永久伤害的危险。氧化应激是由于某种或多种原因破坏了机体内强氧化剂和抗氧化剂的平衡导致的潜在伤害, 而强氧化剂、抗氧化剂平衡的破坏是机体内各种细胞损伤的主要原因。

[0008] 全面增强记忆力提高学习能力的安全产品, 应当具备以下这些功能: 刺激大脑的和记忆相关的功能、基质与过程; 增加大脑的氧与营养供应; 保持大脑内的氧化应激水平处于正常。

发明内容

[0009] (一) 发明目的

[0010] 本发明的目的在于按照中药的君臣佐使方剂理论提供一种全新的多组分小分子化合物西药开发方法。

[0011] 根据上述的开发方法, 本发明的目的还在于提供一种全面增强记忆力提高学习能力的复方制剂。配方中涉及的所有有效成份均是日常饮食中含有的天然组分, 有机物和微量元素矿物质, 具有长期使用的安全性。

[0012] 本发明所说的复方制剂适用于所有制剂剂型, 包括但不限于固体剂型如片剂, 颗粒剂, 药丸, 胶囊, 和口服液, 等等。

[0013] (二) 发明思路和君臣佐使功能组分的筛选

[0014] 现代小分子新化合物新药的开发研究已发明了几千个小分子化学药、许多大分子药物, 但它们有不少的毒副作用需要降低, 许多功能还有待强化, 特别是小分子药物之间的协同强化作用存在很高的医疗和市场需求, 而且多靶向的疾病治疗和所需使用的药物, 不可能仅仅通过单一的化合物药物来完成, 必须有多组分药物来满足。因此, 开发多组分小分子化合物药物以及它们的开发方法, 对人类社会极其重要。

[0015] 本发明提供的一种新的西药开发方法, 是传统中药方剂手段在现代西药研发中的重要运用, 通过筛选君药、臣药、佐药、和使药, 制备新的治疗功用的药物。根据该方法制备的新药物或增强各自的功能效力, 或减少各自的毒副作用, 或者既增强各自的功能效力又减少各自的毒副作用。

[0016] 按照君臣佐使方剂理论, 增强记忆力的复方制剂应具备三种功能: 第一种能够刺激大脑的和记忆相关的功能、基质与过程, 主要是增强大脑的记忆力, 实现这种功用的有效成份可视为君药; 第二种可以明显增加大脑的氧与营养供应, 协助君药起作用, 实现这些功能的有效成份可视为臣药; 第三种能够保持大脑内的氧化应激水平处于正常, 避免因大脑的活跃而造成对大脑损害, 实现这些功能的有效成份可视为佐药。而确保上述有效成份进入体内发挥作用的辅料成份可视为使药。

[0017] 实现这三种功能的物质首先必须能够透过大脑的血液保护障碍 (Brain Blood Barrier), 这种障碍限制了许多大分子物质的使用, 如用于降低氧化应激的谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx, glutathione peroxidase), 过氧化氢酶 (catalase), 超氧化物歧化酶 (SOD,

superoxide dismutase), 谷胱苷肽还原酶 (GR, glutathione reductase) 等。小分子化合物成为本发明首选的主要组成配方成份, 个别疗效显著、成分清楚、作用机理明确的植物提取物, 如银杏叶提取物也包含在本发明的配方中。符合这些功能需要的、人体内或食物中常见的小分子化合物已经发现不少, 但是它们单独地使用均无法达到所需的试验效果。

[0018] 本发明所说的增强记忆力的复方制剂, 包含有:

[0019] (a) 刺激大脑的和记忆相关的功能、基质与过程的药物, 即君药;

[0020] (b) 增加大脑的氧与营养供应的药物, 即臣药;

[0021] (c) 保持大脑内的氧化应激水平处于正常的药物, 即佐药;

[0022] (d) 药学上可接受的载体, 确保君药、臣药、和佐药稳定并协助它们到达作用区的成分, 即使药。

[0023] 本发明的复方制剂中的君药:

[0024] 所有已知的、被文献报道的、具有增强记忆力和大脑氧养成份供应的组分, 均被作为君臣药作了匹配试验。通过筛选, 本发明所说的君药包括 5- 羟基色氨酸 (5-hydroxytryptophan), 胆碱类如磷脂酰胆碱 (phosphatidyl choline), 二甲基氨基乙醇 (Dimethylethanolamine), 磷脂丝胺酸 (phosphatidylserine), 腺苷蛋氨酸 (S-adenosyl-L-methionine, SAm), DL- 苯丙氨酸 (DL-phenylalanine), 肌醇 (Inositol), 漆黄素 (Fisetin), L- 色氨酸 (L-Tryptophan), L- 酪氨酸 (L-tyrosine), 和微量元素锂。另外, 如果大脑内缺乏不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸 (DHA), 会造成大脑内的神经递质减少, 所以 DHA 也可以出现在本发明的配方中。

[0025] 其它组分或者增高能力即协助能力不大, 或者它 (们) 的出现还降低了复方的效力。这部分有效成份被排除在本发明的配方外, 比如槲皮酮 (Quercetin) 等。

[0026] 本发明的复方制剂中的臣药:

[0027] 强力活跃的大脑中枢神经系统活动需要足够的能量来维持, 增强对大脑中枢神经系统的营养、氧气供应非常重要。对于短时间内的中枢神经系统活动增强, 如果不伴随增加营养、氧功能, 长时间内的中枢神经系统活动不一定受到正面影响, 对于长时间的学习活动则必须伴随增养、氧功能, 否则制剂的增强大脑记忆力功能大幅度降低。

[0028] 增加大脑的氧与营养供应一般可以通过两种手段达到, 在本发明的配方中, 它们可以同时出现, 也可以单一手段出现, 两种手段同时使用效果最好。一是增加大脑和中枢神经系统的血液流量, 二是增强糖、氨基酸、和脂肪在大脑和中枢神经系统内与附近的代谢, 增加能量供应。

[0029] 通过筛选, 用于增加大脑和中枢神经系统血液流量的有效成份, 包括乙酰基左旋肉碱 (Acetyl-L-Carnitine), 长春乙酯 (Vinpocetine), 银杏叶精 (GinkgoBiloba), 和葛根黄素 (Puerarin) 等, 另外, 长春乙酯还增强大脑内的新陈代谢。复方制剂含有所有这些臣药和上述的君药时的临床使用效果最好, 试验数据显示其记忆力系数最高, 但是配方中的组分数量也可以减少, 筛选过程发现, 减少一个组分的配方, 其功能仅降低微小的程度。

[0030] 用于增强糖、氨基酸、和脂肪在大脑和中枢神经系统内与附近的代谢, 增加能量供应的有效成份, 包括生物素 (Biotin), B 族维生素 (B1, 2, 3, 5, 6, 9), 和微量元素铬等。这些是确保糖、蛋白质、和脂肪代谢正常以提供足够的能量需求所必需的物质。

[0031] 另外, 研究发现, 出现记忆力障碍时, 大脑内的谷氨酸 (Glutamate), 甘氨酸

(Glycine), 和 丙氨酸 (L-alanine) 浓度低于正常值 (Pharmacol Reports, 2006, 58, 75-82)。因此, 本发明的配方中可以含有这三种氨基酸, 补差可视为臣药。

[0032] 本发明的复方制剂中的佐药:

[0033] 君药一般由于功用较强大, 毒副作用也较大。从分子水平分析, 本复方制剂中的君药和臣药, 在能够刺激大脑活动和增加大脑的氧与营养供应时, 常造成大脑内的氧化应激水平升高, 对大脑中枢神经系统产生损伤。为此, 本发明中所说的佐药用于减弱君药毒副作用, 保持大脑内的氧化应激水平处于正常, 这些有效成份通过筛选, 包括硫辛酸 (Alpha Lipoic Acid), 甜菜碱 (Betaine), 维生素 C, 谷胱甘肽, 石杉碱甲 (Huperzine-A), 番茄红素 (Lycopene), 维生素 E, 和微量元素硒与锌等。

[0034] 复方制剂中的这些抗氧化成份很重要, 没有时大脑的氧化应激水平明显升高, 例如实施例二中, 大脑中枢神经系统中的硫代巴比妥酸反应活化物浓度几乎升高一倍。

[0035] 本发明在确立了最有效配方后进行了减少成份研究, 结果显示配方中仅含有 5- 羟基色氨酸、磷脂酰胆碱、漆黄素、银杏叶精、和硫辛酸这五种有效成份时, 其使用效果仍然非常显著, 见实施例二、三。

[0036] (三) 复方制剂的有效成份的含量和作用机理

[0037] 上述的君药、臣药、佐药为复方制剂的有效成份。

[0038] 在本发明的每个单剂中, 对于功能类似的有效成份可以含有一种, 也可含有一种以上, 或者同时存在, 本发明中的有效成份不限于下面列出的这些。如果含有某一成份, 则其在每个单剂中的成份含量如下所示:

[0039] 君药:

[0040] 5- 羟基色氨酸, 含量介于 50 毫克到 1000 毫克之间;

[0041] 磷脂酰胆碱, 含量介于 100 毫克到 1000 毫克之间;

[0042] 二甲基氨基乙醇, 含量介于 10 毫克到 500 毫克之间;

[0043] 磷脂丝胺酸, 含量介于 50 毫克到 800 毫克之间;

[0044] 腺苷蛋氨酸, 含量介于 100 毫克到 1000 毫克之间;

[0045] DL- 苯丙氨酸, 含量介于 120 毫克到 600 毫克之间;

[0046] 肌醇, 含量介于 10 毫克到 200 毫克之间;

[0047] 漆黄素, 含量介于 200 毫克到 2000 毫克之间;

[0048] L- 色氨酸, 含量介于 100 毫克到 1200 毫克之间;

[0049] L- 酪氨酸 (L-tyrosine), 含量介于 100 毫克到 2000 毫克之间;

[0050] 微量元素锂, 含量介于 120 微克到 600 微克之间;

[0051] 二十二碳六烯酸 (DHA), 含量介于 50 毫克到 800 毫克之间;

[0052] 臣药:

[0053] 乙酰基左旋肉碱, 含量介于 50 毫克到 600 毫克之间;

[0054] 长春乙酯, 含量介于 1 毫克到 60 毫克之间;

[0055] 银杏叶精 (含 $\geq 24\%$ 银杏黄酮苷 ginkgo flavonoglycosides, $\geq 6\%$ 萜烯 terpenes), 含量介于 80 毫克到 300 毫克之间;

[0056] 葛根黄素, 含量介于 50 毫克到 900 毫克之间;

[0057] 生物素, 含量介于 0.1 毫克到 5 毫克之间;

[0058] 维生素 B₁ 的含量介于 0.1 毫克到 10 毫克之间,常用剂量介于 0.5 毫克到 5 毫克之间,最合适剂量介于 1.0 毫克到 3.2 毫克之间;

[0059] 维生素 B₂ 的含量介于 0.1 毫克到 10 毫克之间,常用剂量介于 0.5 毫克到 5 毫克之间,最合适剂量介于 1.0 毫克到 3.2 毫克之间;

[0060] 维生素 B₃ 的含量介于 1 毫克到 100 毫克之间,常用剂量介于 2 毫克到 20 毫克之间,最合适剂量介于 6 毫克到 15 毫克之间;

[0061] 维生素 B₅ 的含量介于 1 毫克到 100 毫克之间,常用剂量介于 2 毫克到 50 毫克之间,最合适剂量介于 5 毫克到 20 毫克之间;

[0062] 维生素 B₆ 的含量介于 1 毫克到 100 毫克之间,常用剂量介于 2 毫克到 50 毫克之间,最合适剂量介于 10 毫克到 30 毫克之间;

[0063] 叶酸也是 B 族维生素 (B₉),其含量介于 50 微克到 2000 微克之间,常用剂量介于 100 微克到 1000 微克之间,最合适剂量介于 200 微克到 900 微克之间;

[0064] 铬的含量介于 1.0 微克到 300 微克之间,常用剂量介于 5 微克到 280 微克之间,最合适剂量介于 10 微克到 100 微克之间;

[0065] 谷氨酸,含量介于 1 毫克到 1000 毫克之间,常用剂量介于 5 毫克到 500 毫克之间,最合适剂量介于 50 毫克到 200 毫克之间;

[0066] 甘氨酸,含量介于 1 毫克到 1000 毫克之间,常用剂量介于 5 毫克到 600 毫克之间,最合适剂量介于 50 毫克到 300 毫克之间;

[0067] 丙氨酸,含量介于 1 毫克到 1000 毫克之间,常用剂量介于 5 毫克到 500 毫克之间,最合适剂量介于 20 毫克到 200 毫克之间;

[0068] 佐药:

[0069] 硫辛酸的含量介于 1.0 毫克到 3000 毫克之间,常用剂量介于 5.0 毫克到 1200 毫克之间,最合适剂量介于 40 毫克到 700 毫克之间;或者说,有效硫辛酸的用量应当达到 1.0 毫克/千克体重到 200 毫克/千克体重的水平,最好是达到 1.2 毫克/千克体重到 70 毫克/千克体重的水平;

[0070] 甜菜碱,含量介于 1.0 毫克到 3000 毫克之间,常用剂量介于 5.0 毫克到 1200 毫克之间,最合适剂量介于 40 毫克到 500 毫克之间;

[0071] 石衫碱甲,其含量介于 50 微克到 2000 微克之间,常用剂量介于 100 微克到 1000 微克之间,最合适剂量介于 200 微克到 700 微克之间;

[0072] 维生素 C 的含量介于 10 毫克到 2000 毫克之间,常用剂量介于 50 毫克到 1500 毫克之间,最合适剂量介于 100 毫克到 1100 毫克之间;

[0073] 谷胱甘肽的含量介于 50 毫克到 1500 毫克之间;

[0074] 维生素 E 的含量介于 10 国际单位 (IU) 到 2000 国际单位 (IU) 之间,常用剂量介于 15 国际单位到 1000 国际单位之间,最合适剂量介于 20 国际单位到 100 国际单位之间;

[0075] 番茄红素的含量介于 0.1 毫克到 300 毫克之间,常用剂量介于 0.3 毫克到 200 毫克之间,最合适剂量介于 0.4 毫克到 100 毫克之间;

[0076] 锌的含量介于 1.0 毫克到 100 毫克之间;

[0077] 硒的含量介于 1.0 微克到 300 微克之间,常用剂量介于 5 微克到 280 微克之间,最合适剂量介于 10 微克到 100 微克之间。

[0078] 下面分别阐述上述有效成份的作用机理。

[0079] 神经递质 (neurotransmitters) 是从神经细胞的特殊部位突触 (synapses) 中释放出来的信号分子,通过引起邻近靶细胞的反应产生作用。5- 羟基色氨酸来自豆科灌木植物加纳谷物 *Griffonia simplicifolia* 的干燥种子,是人体血清素的前体物质,能够刺激神经递质的传递,增强中枢神经系统的活动,同使可以帮助人体平衡血清素这种荷尔蒙。

[0080] 胆碱类等在人体内制造的物质如磷酸酰胆碱,二甲基氨基乙醇,磷脂丝胺酸,增高神经递质的生成,增强中枢神经系统的活动,帮助脑神经细胞保持清新、敏锐、警觉。

[0081] 腺苷蛋氨酸存在于所有的活细胞内,随着年龄的增大而不断减少,可促进多巴胺和血清素神经质的新陈代谢及感官功能,增强中枢神经系统的活动。DL- 苯丙氨酸能够调动内源性麻醉系统,增强中枢神经系统的活动。

[0082] 肌醇是维生素 B 族中的一种,和胆碱的功能类似,能有效促进卵磷脂的生成,是维持多种神经递质正常功能的必须之物。

[0083] 微量元素锂调节神经递质多巴胺和血清素的活性,帮助维生素 B12 和叶酸进入大脑。

[0084] 漆黄素是很多蔬菜和水果含有的一种黄酮,刺激海马区与“长时程增强”有关的细胞内分子活动。

[0085] 乙酰基左旋肉碱将中长链脂肪酸,从细胞线粒体膜外转移到膜内,在线粒体基质中氧化,产生能量。

[0086] 银杏叶精的主要功能是刺激末梢血液循环,补充脑部更多的养分,能增进脑供血,增加大脑对氧和葡萄糖的利用,促进脑部、手、脚的血液循环。

[0087] 长春乙酯系由夹竹桃科植物 *vinca minor* (蒂氏莟苳) 中提取而得的一种有效成份。选择性增加脑血流量,改善脑代谢 ;增强红细胞变形能力,降低血液粘稠度,抑制血小板凝聚,从而改善血液流动和微循环。

[0088] 生物素是每一个活细胞都含有的微量生长因子,是脂肪代谢及其他羧化反应的重要辅酶,对可逆性羧基的生成及二氧化碳的传递起着重要作用,是维持正常生长发育,保持皮肤和骨髓的健康所不可缺少的。

[0089] 葛根黄素增强心肌收缩力,保护心肌细胞作用。能扩张血管、降低血压、改善微循环。保护红细胞的变形能力,增强造血系统功能。具有抗血小板聚集,增加纤溶活性,降低血粘度作用。

[0090] B 族维生素 (B1,2,3,5,6,9),和微量元素铬等,是确保糖、蛋白质、和脂肪代谢正常以提供足够的能量需求必需物质 ;锌与人体中的 50 多种酶有关系,在核酸代谢和在蛋白质合成中起重要作用,具有抗氧化作用 ;硒不仅可以提高人体免疫力具有防癌的效果,而且能够保持人身体组织的年轻活力 ;

[0091] 谷胱甘肽 (L- 谷胱氨酸 -L- 半胱氨酸 - 甘氨酸),存在于所有动物细胞中,在许多生命活动中起着直接或间接的作用,包括基因表达调控、酶活性和代谢调节、对细胞的保护、氨基酸转运、免疫功能调节等。谷胱甘肽和维生素 C 在正常状态下,大脑中的含量很高。

[0092] 硫辛酸是存在于人体内的天然抗氧化剂,由细胞的线粒体产生。它能使水溶性维生素 C 和脂溶性维生素 E 在细胞内外的浓度同时提高,而且通过硫辛酸的氧化还原特性,可使维生素 C 和维生素 E 再生。硫辛酸能在其他抗氧化剂短缺时成为“替身”。也就是说,如

果体内缺乏维生素 E 或 C 时,硫辛酸将暂时接手它们的工作。硫辛酸抗氧化效果胜过维生素 A、C、E,并能消除加速老化与致病的自由基,可能是目前人类所知的天然抗氧化剂中效果最强的一种。

[0093] 维生素 E 对动物的生殖、发育有明显的影响,缺乏时会使动物的生殖机能受损,而补充它则可恢复其生育机能。因为维生素 E 的结构特点和在人体内的分布特点,它具有抗自由基,抗衰老,增强免疫力,以及保护心血管与皮肤等一系列功能。维生素 E 对抗自由基脂质过氧化作用的效率很高。在研究中发现,维生素 E 的缺乏对人类或动物的免疫功能均有影响,不仅是体能免疫力降低,而且对细胞免疫也有很大影响。

[0094] 西红柿红素是一种抗氧化剂。对于清除体内脂溶性部份的自由基,西红柿红素的抗氧化性最强,对抗细胞伤害,保护人体细胞中的 DNA、蛋白质、脂肪及脂质等。

[0095] 维生素 C 是人体必需的维生素,在细胞呼吸的氧化还原作用上有重要的角色。细胞间基质及胶原蛋白的形成及维护、类固醇的合成、叶酸的转化及酪氨酸 (tyrosine) 的代谢都需要维生素 C。维生素 C 可促进血液循环、消除疲老、改善白血球机能、增强免疫力。

[0096] 叶酸天然存在于动物的肝、肾内,是一种水溶性 B 族维生素,为机体细胞生长和繁殖所必需的物质,对红细胞发育成熟起辅助作用,是制造红血球增强氧的传送不可缺少的物质。

[0097] L-酪氨酸 (L-tyrosine) 俗称甲状腺素,是一种主要的甲状腺荷尔蒙,用于增强新陈代谢和控制生成速度,是产生神经传导素必要的氨基酸,特别是人体处于高度紧张状况 (stressful conditions) 情况时,酪氨酸确保神经传导素的浓度在正常状态,包括肾上腺素、正肾上腺素和多巴胺,酪氨酸也明显对于中枢神经系统有部份的刺激作用。

[0098] (四) 药学上可接受的载体

[0099] 本发明除了上述的君、臣、佐药等有效成份外,还需要确保这些有效成份稳定和有效传送的使药成份,即西药制剂中常说的药学上可接受的辅料载体。

[0100] 本发明中作为赋型剂的包括以下这些:磷酸钙、玉米淀粉 (Corn starch) 作为填充剂和崩解剂;纤维素胶和预胶化淀粉 (Cellulose gel and pre-gelatinized starch) 作为增塑剂和粘合剂;明胶 (Gelatin) 作为乳化剂,粘合剂和崩解剂;葡萄糖 (dextrose)、甘油 (Glycerin) 等作为矫味剂;羟丙纤维素 (Hydroxypropyl cellulose) 作为水分散性材料;硬脂酸镁或锌 (Magnesium/Zinc stearate),滑石粉 (talc),硅粉 (silica),和矿物油 (Mineral oil) 等作为润滑剂;微晶纤维素 (microcrystalline cellulose) 作为粘合剂和崩解剂;交联羧甲基纤维素钠 (Croscarmellose sodium) 作为粘合剂和崩解剂;乳糖 (Lactose) 作为填充剂和粘合剂;阿拉伯胶 (Acacia) 作为乳化剂和粘合剂;硬脂酸 (Stearic acid) 作为乳化剂和粘合剂;甲基化羟丙纤维素 (Hydroxypropyl methylcellulose) 作为粘合剂和崩解剂;山梨醇 (Sorbitol),三氯蔗糖 (Sucralose),乙酰磺胺酸钾 (Acesulfame potassium),和蔗糖 (Sugar) 作为矫味剂;聚乙二醇 (Polyethylene glycol) 作为填充剂、乳化剂、和崩解剂;变性食用淀粉 (Modified food starch) 作为填充剂和崩解剂;以及豆油 (Soybean oil) 和卵磷脂 (Lecithin) 等作为脂溶性的辅助性物质;山梨醇作为粘合剂,和二氧化钛 (Titanium dioxide) 用作着色剂等。

[0101] (五) 复方制剂的制备方法

[0102] 本发明中的各种剂型的生产可以采用现有的各种生产技术。例如固体剂型,如果所有的有效成份在同一个成型剂内,一般先将匹配的有效成份和一种或两种赋形剂采用湿法生产工艺,或干法生产工艺混合成混合物,再加入其它有效成份和赋形剂混合均匀,等量递增法在这种多组分复方制剂中常用在混合过程中。混合过程可以是制粒混合(granulating)、腾涌混合(slugging)、掺合混合(blend)等。混匀的混合物经压片或滚丸而成片剂或药丸。

[0103] 当植物油作为脂类或脂溶性辅助性物质时,如棕榈油、椰籽油、棕榈果油、大豆油、红花油、坎劳勒(Canola)油、葡萄子油、棉籽油等等,采用软胶囊制剂。

[0104] 本发明中的胶囊生产采用现有的各种生产技术。一般先将匹配的有效成份、脂类或脂溶性辅助性物质、和一种或多种赋形剂混合成混合物,再加入其它有效成份和赋形剂混合均匀,混匀的混合物制成胶囊。

[0105] (六) 给药方式

[0106] 本发明优选口服使用,无论是口服液,还是片剂,颗粒剂,胶囊,包衣片等制剂每日口服一次,正常情况下,对于成年人来说,用量为试样 1 的配方。

[0107] 如果用于治疗病症的目的,所用的数量和给药方案,取决于多种因素,包括体重、年龄、性别、必然的医学症状、疾病轻重、给药途径等。

[0108] (七) 有益效果

[0109] 本发明第一次提出了中药的君臣佐使方剂理论在小分子化合物西药开发中的应用,按照该方法制备的新药物或增强各自的功能效力,或减少各自的毒副作用,或者既增强各自的功能效力又减少各自的毒副作用。通过提供的全面增强记忆力提高学习能力的复方制剂验证了这一开发方法可以更好地发挥西药的效力,能为人类提供更好的确保健康的产品。

[0110] 本发明提供的复方制剂,可以通过口服增强记忆力且防止大脑中枢神经系统内的氧化应激水平升高,它既可以用于正常健康人增强学习能力,又可用于治疗认知障碍疾病。涉及的所有有效成份均是日常饮食中含有的天然组分,有机物和微量元素矿物质,具有长期使用的安全性。

[0111] 所述的复方制剂还可以通过口服治疗与预防阿尔茨海默病。

具体实施方式

[0112] 以下的实施例仅仅是用来说明本发明,并不等于本发明仅限于以下这些实例。

[0113] 实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。

[0114] 实施例一 试样配方

[0115] 本实施例提供了试样 1-6 进行对比试验,其中试样 1 包括所筛选出的全部必须有效成份,试样 2 不包括用于控制氧化应激的有效成分即佐药,试样 3 是包括君臣佐药各种成分,但是通过优化而得的含最少有效成份的复方制剂,试样 4 不包括用于增强大脑中枢神经系统氧养供应的有效成分即主要臣药部分,试样 5 不包括所说的君药,试样 6 仅用于控制氧化应激的有效成分即佐药。

[0116] 试样所涉及的有效成份及含量如表一所示:

[0117] 表一 中未注明单位的均为毫克

[0118] 表一

[0119]

有效成份	试样 1 含量	试样 2 含量	试样 3 含量	试样 4 含量	试样 5 含量	试样 6 含量
5- 羟基色氨酸	150	150	150	150		
磷脂酰胆碱	300	300	300	300		
二甲基氨基乙醇	200	200		200		
磷脂丝胺酸	120	120		120		
腺苷蛋氨酸	300	300		300		
DL- 苯丙氨酸	240	240		240		
肌醇	90	90		90		
漆黄素	600	600	600	600		
L- 色氨酸	200	200		200		
L- 酪氨酸	300	300		300		
锂	320 微克			320 微克		
乙酰基左旋肉碱	150	150			150	
长春乙酯	15	15			15	
银杏叶精	120	120	120		120	
葛根黄素	220				220	
硫辛酸	150		150	150	150	
甜菜碱	150			150	150	
维生素 C	200			200	200	200
谷胱甘肽	90			90	90	90
石杉碱甲	300 微克					300 微克

番茄红素	30			30	30	30
维生素 E	5IU			5IU	5IU	5IU
硒	90 微克			90 微克	90 微克	90 微克
锌	2.6 微克			2.6 微克	2.6 微克	2.6 微克
谷氨酸	150			150	150	
甘氨酸	150			150	150	
丙氨酸	150			150	150	
叶酸 (B ₉)	300 微克			300 微克	300 微克	
维生素 B ₁	6			6	6	
维生素 B ₂	6			6	6	
维生素 B ₃	10			10	10	
维生素 B ₅	10			10	10	
维生素 B ₆	15			15	15	

[0120] 实施例二功效应用试验

[0121] 大脑内的氧化应激状态对比

[0122] 用实施例一的试样组剂进行动物试验,测试这些试样对氧化应激的作用效果。动物使用六个月大的 WISTAR 小鼠。试验鼠养在标准的动物试验环境中,水和食物可以随时取用,分为 12 个小时的日 / 夜循环。共分为七组,每组 10 只试验鼠。第一组为空白组,喂食盐水;其余各组试验鼠喂试样 1-6 制剂。喂食的量以试样组剂中的 5- 羟基色氨酸、或者乙酰基左旋肉碱为对照 (1.5mg/kg 体重)。8 个小时后,试验鼠和对照组全部在乙醚的麻醉下使用头颈脱臼处死法。鼠脑内的前额皮质和海马体在冰镇条件下采摘,然后它们的组织均质物 (tissuehomogenates) 使用文献 (Life Science,1991,48,517) 方法制备,样品未测试前在 -80℃ 条件下保存,样品内的氧化应激标示物硫代巴比妥酸反应活化物 (TBARS) 使用光谱法测定 (J Neurochem,1980,34,1630),大脑中枢神经系统内用于对抗氧化应激的最主要成分谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathioneperoxidase) 含量使用 RANSEL 测试盒测定。

[0123] 表二:试验鼠的氧化应激水平

[0124]

	硫代巴比妥酸反应活化物 (nmol/mg 蛋白质) $\times 10^3$	
	海马体	前额皮质
空白对照组	2.9 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.2
第一组：试样 1	2.6 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.2
第二组：试样 2	4.8 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 0.4
第三组：试样 3	3.9 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 0.3
第四组：试样 4	2.7 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.3
第五组：试样 5	2.1 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.2
第六组：试样 6	2.7 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.3

[0125] 表三

[0126]

	谷胱甘肽过氧化物酶 (U/mg 蛋白质) $\times 10^3$	
	海马体	前额皮质
空白对照组	11.4 $\pm$ 2.1	14.8 $\pm$ 4.3
第一组：试样 1	12.6 $\pm$ 3.3	14.6 $\pm$ 4.3
第二组：试样 2	6.8 $\pm$ 1.7	8.8 $\pm$ 1.9
第三组：试样 3	12.9 $\pm$ 3.6	15.2 $\pm$ 3.9
第四组：试样 4	11.7 $\pm$ 2.5	14.3 $\pm$ 2.9
第五组：试样 5	14.1 $\pm$ 4.3	16.2 $\pm$ 4.8
第六组：试样 6	11.3 $\pm$ 2.5	14.3 $\pm$ 2.8

[0127] 结果显示：

[0128] 1. 本发明中的产品含有所有组分时（试样 1），不升高大脑的氧化应激水平；

[0129] 2. 在刺激大脑活动并增加大脑的氧养供应时（试样 2），氧化应激水平最高；

[0130] 3. 在刺激大脑活动并提供抗氧化剂的条件下（试样 4），不升高大脑的氧化应激水平；

[0131] 4. 增加大脑的氧养供应但是不刺激大脑活动时（试样 5），氧化应激水平最低；

[0132] 5. 提供抗氧化剂的条件下（试样 6），基本不改变大脑的氧化应激水平；

[0133] 6. 最少组分的试样（试样 3），大脑的氧化应激水平仅有一定的升高。

[0134] 实施例三

[0135] 对学习能力和记忆力的影响（正常健康状态，和大脑认知缺陷的不正常状态）

[0136] A：正常健康状态的物体认识试验

[0137] 试验使用 10 个星期大的 C57BL/6J 小鼠，试验鼠被随机的分为八组，每组十只。第一组为空白组，喂食盐水；第二组为正对照组，腹腔注射罗利普兰（Rolipram, 10% DMSO 溶液, 0.1mg/kg 体重）；其余各组试验鼠喂试样 1-6 制剂。喂食的量以试样组剂中的 5- 羟基

色氨酸、或者乙酰基左旋肉碱为对照 (1.5mg/kg 体重)。如果喂食,则在试验前 60 分钟;如果注射,则在试验前 20 分钟。

[0138] 所有的试验鼠在试验前被放进试验环境至少一个小时熟悉环境,此时试验环境内有两个外置小物体,这两个物体不用于后面的物体认识试验。

[0139] 试验时,试验环境内放入两个完全相同的外置小物体,试验鼠在试验区足够长的时间,使试验鼠花费在这两个物体上的总时间不少于八秒钟(熟悉并记住这两个物体)。试验鼠离开试验区三个小时后,用一个新物体取代原来的两个完全相同的外置小物体中的一个,再将试验鼠放进试验区,试验鼠在试验区总共五分钟,记录它们对新 ($T_{\text{新物体}}$)、旧物体 ($T_{\text{旧物体}}$) 上花费的时间,计算每组的平均值。试验鼠在新物体上花费的时间越长,说明它的记忆力越好,记忆力系数定义为

$$[0140] \quad M = 100T_{\text{新物体}} / (T_{\text{新物体}} + T_{\text{旧物体}})$$

[0141] 表四

[0142]

	空白	咯利普兰	试样 1	试样 2	试样 3	试样 4	试样 5	试样 6
T 新物体	2.6±0.2	4.1±0.5	4.6±0.5	4.6±0.5	4.4±0.6	4.5±0.5	3.1±0.3	2.8±0.3
T 旧物体	2.2±0.3	1.8±0.3	1.5±0.2	1.5±0.3	1.6±0.3	1.6±0.3	2.0±0.2	2.0±0.3
M	54	69.5	75.4	75.4	73	73.8	60.8	58

[0143] 结果显示:

[0144] 1. 本发明中的产品含有所有组分时(试样 1),增强记忆力能力最强,优于已知最好的产品咯利普兰,但是咯利普兰需要注射且有肝脏毒副作用和肠胃道反应;

[0145] 2. 在刺激大脑活动并增加大脑的氧、养供应时(试样 2),短时间内同样增强记忆力能力最强;

[0146] 3. 最少组分试样 3 的增强记忆力能力也很好并优于已知最好的产品咯利普兰,且本发明中揭示的产品是口服起效的,对比注射法,使用安全简易;

[0147] 4. 在刺激大脑活动并提供抗氧化剂的条件下(试样 4),短时间内同样增强记忆力能力也很强;

[0148] 5. 增加大脑的氧养供应但是不刺激大脑活动时(试样 5),也具有一定的增强记忆力能力;

[0149] 6. 仅提供抗氧化剂的条件下(试样 6),记忆力也比不使用任何产品得到一些增强,虽然不太明显。

[0150] B:有大脑认知缺陷的不正常状态的物体认识试验

[0151] 试验使用 10 个星期大的 C57BL/6J 小鼠,试验鼠被随机的分为四组,每组十只。第一组为正对照组,喂食试样 1 的复方制剂,喂食的量以试样组剂中的 5-羟基色氨酸为对照 (1.5mg/kg 体重)。其它三组为大脑认知缺陷的不正常状态鼠,第一组 A 喂食盐水,其它两组喂食试样 1 的复方制剂,喂食的量以试样组剂中的 5-羟基色氨酸为对照(第二组 B:1.5mg/kg 体重,和第三组 C:4.5mg/kg 体重)。大脑认知缺陷的不正常状态鼠使用腹腔注射东莨菪碱 (Scopolamine, 0.3mg/kg 体重) 来制备;喂食在试验前 60 分钟,注射在试验前 30 分钟。

[0152] 所有的试验鼠在试验前被放进试验环境至少一个小时熟悉环境,此时试验环境内有两个外置小物体,这两个物体不用于后面的物体认识试验。

[0153] 试验时,试验环境内放入两个完全相同的外置小物体,试验鼠在试验区足够长的时间,使试验鼠花费在这两个物体上的总时间不少于 20 秒钟(熟悉并记住这两个物体)。试验鼠离开试验区一个小时后,用一个新物体取代原来的两个完全相同的外置小物体中的一个,再将试验鼠放进试验区,试验鼠在试验区总共五分钟,记录它们对新($T_{\text{新物体}}$)、旧物体($T_{\text{旧物体}}$)上花费的时间,计算每组的平均值。

[0154] 表五

[0155]

	正对照	第一组 A	第二组 B	第三组 C
T 新物体	4.7 ± 0.5	2.4 ± 0.2	2.9 ± 0.3	3.5 ± 0.4
T 旧物体	1.4 ± 20.2	2.4 ± 0.3	2.1 ± 0.3	2.0 ± 0.3
M	77	50	58	63.6

[0156] 结果显示:

[0157] 本发明中的产品含有所有组分时(试样 1),修复大脑认知缺陷不正常状态的能力是和所用的剂量是成正比的。

[0158] C. 对大脑内 cAMP 环磷酸腺苷反应单元结合蛋白浓度的影响

[0159] 试验使用二个月大的 WISTAR 大鼠海马体切片($400 \mu\text{m}$ 厚)。海马体切片在 30°C 的控温腔内用 95% 氧气和 5% 二氧化碳饱和的人造脑脊液灌注。海马体切片恢复两个小时后,分别用 $3 \mu\text{M}$ 咯利普兰处理 30min、或者使用本发明的试样 1 复方制剂(以试样组剂中的 5-羟基色氨酸为对照计量: $1 \mu\text{M}$) 处理 15min、或者使用类二萜毛喉素(Forskolin) $5 \mu\text{M}$ 处理 15min,处理后,海马体切片立即使用液氮冷冻。未使用任何处理的作为对照。测试前将海马体切片溶化,然后溶解在 cAMP 缓冲溶解液内。cAMP 测定采用闪烁邻近测定法(Scintillation proximity assay),总蛋白质含量使用 BCA 法测定,每个数据是三个样品的平均值。

[0160] 表六

[0161]

	空白对照	咯利普兰	毛喉素	试样 1
CAMP 含量 (pmoles/mg 蛋白质)	18.7 ± 1.5	23.3 ± 1.9	32.8 ± 3.5	64.7 ± 6.1

[0162] 结果显示:

[0163] 本发明中的产品有很强的刺激大脑和学习能力相关活动的的能力。

[0164] D. 对大脑内血液流量的影响

[0165] 试验使用二个月大的 WISTAR 大鼠,被麻醉的试验鼠的枕骨部位钻出一个 $3 \times 3\text{mm}$ 的小孔,使鼠脑的下半月叶暴露出来,非常小心的将硬膜除去后,使用 pH 值为 7.3-7.4 之间

温度为 37℃ 的调节水、电解质及酸碱平衡的 Ringer 溶液,以表面薄层流动 (0.33ml/min) 来保持这个脑窗。激光多普勒流速仪 (laser-dopplerflowmeter) 用来测定脑部血液流速,流速探头的尖端直径 0.8mm,采用文献报道的方法测量脑部血液流速 (J Neurosci., 2000, 20, 6968)。

[0166] 试验鼠被随机的分为九组,每组一只。第一组为空白组,不使用本发明的复方制剂,作为流速的基线值;其余各组试验鼠使用试样 1-6 制剂。使用的量以试样组剂中的 5-羟基氨基酸、或者乙酰基左旋肉碱为对照计量:1 μ M。配制的溶液取代 Ringer 溶液后,直到流速读数稳定后记录流速,然后换回 Ringer 溶液。流速变化 (FC) 以增加的百分比表述,空白组的数据作为基础值,数据全部是为三次测量的平均值。

[0167] 表七

[0168]

	试样 1	试样 2	试样 3	试样 4	试样 5	试样 6	试样 1 (2 μ M)	试样 1 (3 μ M)
FC	34.8 $\pm$ 5.5	33.7 $\pm$ 4.2	29.6 $\pm$ 4.5	8.1 $\pm$ 1.4	36.1 $\pm$ 5.8	4.2 $\pm$ 1.5	54.1 $\pm$ 6.5	69.1 $\pm$ 7.9

[0169] 结果显示:

[0170] 1. 发明中的产品含有所有组分时 (试样 1),增强脑血供应量的能力最强,并且其增高量和剂量相关;

[0171] 2. 试样 6 基本上不增强脑血供应量。

[0172] 实施例四

[0173] 对阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的预防与治疗作用

[0174] 淀粉样肽现在被公认为是造成阿尔茨海默病的最重要原因,清除大脑淀粉样肽的能力被用来评估治疗阿尔茨海默病药物的功效。动物试验使用 10 个月大的转基因 APP^{swe}/PS1 Δ E9 鼠,八只鼠被随机的分为空白对照组和使用试样 1 的治疗组。空白组喂食生理盐水,治疗组喂食试样 1 的复方制剂,喂食的量以试样组剂中的 5-羟基色氨酸为对照 (1.5mg/kg 体重),每天早晚各一次。10 天后,试验鼠和对照组全部在乙醚的麻醉下使用头颈脱臼处死法,鼠前脑使用十倍体积的 Guanidine-Tris 缓冲液 (5.0M Guanidine HCl/50mM Tris-HCl, pH8.0) 均质化。前脑内的淀粉样肽 A β ₄₂ 含量使用文献方法 ELISA 法测定 (Amyloid, 2000, 7, 245-258)。

[0175] 表八

[0176]

	空白对照组	试样 1 治疗组
A β ₄₂ 含量 (ng/g 前脑样品)	4126 $\pm$ 219	3087 $\pm$ 273

[0177] 结果显示:

[0178] 本发明的复方制剂明显减少淀粉样肽 A β ₄₂ 含量,减量超过 25% 以上。