(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 1736384 B
(45)授权公告日 2010.05.26

(21)申请号 200410083497.4

(22)申请日 1993.03.19

(30)优先权数据
107/92 1992.09.29 CU

(62)分案原申请数据
93103165.6 1993.03.19

(73)专利权人 达尔马实验室有限公司
地址 古巴拉哈瓦那

(72)发明人 A·拉古那格兰雅
J·马格兰纳赫南迪斯
D·卡巴哈昆坦纳
L·阿鲁沙沙巴拉瓦曼尼亚
R·马斯费雷罗 M·加西亚美沙

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 段晓玲

(51)Int.Cl.
A61K 31/616(2006.01)
A61K 31/045(2006.01)
A61K 9/16(2006.01)
A61K 9/20(2006.01)
A61K 9/48(2006.01)
A61P 7/02(2006.01)
A61P 9/10(2006.01)

(56)对比文件
EP 0488928 A2,1992.06.03, 参见全文.

审查员 雷耀龙

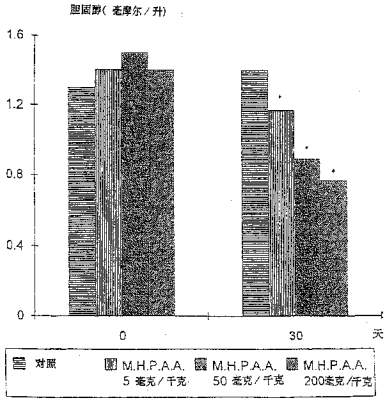
权利要求书 1 页 说明书 22 页 附图 18 页

(54)发明名称

高级脂族伯醇混合物与乙酞水杨酸的混合物和药物制剂

(57)摘要

本发明涉及包含以下混合物的药物制剂及其用途和以下混合物的用途。通过皂化和用有机溶剂革取等步骤,可以从甘蔗蜡得到碳原子数为22到38个的高级脂族伯醇的混合物,该混合物含有二十四烷醇、二十六烷醇、二十七烷醇、二十八烷醇、二十九烷醇、三十烷醇、三十二烷醇和三十四烷醇,可以用来治疗血胆固醇过多症和诸如血小板过度聚集、局部缺血和血栓形成等动脉弱样硬化并发症,并且防止药物诱发的胃溃疡和改进雄性性功能。



CN 1736384 B

1. 一种混合物，该混合物由定量比例为 20 ： 1 至 1 ： 20 的高级脂族伯醇混合物与乙酰水杨酸组成，并且所述高级脂族伯醇混合物含有 ：

1- 二十四烷醇	0.5-5.0%，
1- 二十六烷醇	5.0-15.0%，
1- 二十七烷醇	0.5-5.0%，
1- 二十八烷醇	50.0-80.0%，
1- 二十九烷醇	0.5-3.0%，
1- 三十烷醇	6.0-20.0%，
1- 三十二烷醇	1.0-10%，和
1- 三十四烷醇	0.0-2.5%。

2. 根据权利要求 1 的混合物，该混合物由定量比例为 20 ： 1 至 1 ： 20 的高级脂族醇混合物与乙酰水杨酸组成，并且所述高级脂族醇混合物含有 ：

1- 二十四烷醇	0.5-1.0%
1- 二十四烷醇	5.5-8.5%
1- 二十七烷醇	2.0-3.5%
1- 二十八烷醇	60.0-70.0%
1- 二十九烷醇	0.4-1.2%
1- 三十烷醇	10.0-15.0%
1- 三十二烷醇	4.0-6.0%和
1- 三十四烷醇	0.4-2.0%。

3. 根据权利要求 2 的混合物，该混合物由定量比例为 20 ： 1 至 1 ： 20 的高级脂族醇混合物与乙酰水杨酸组成，并且所述高级脂族醇混合物含有 ：

1- 二十四烷醇	0.8+/-0.1%
1- 二十六烷醇	6.7+/-0.3%
1- 二十七烷醇	3.0+/-0.3%
1- 二十八烷醇	65.6+/-3.4%
1- 二十九烷醇	0.7+/-0.1%
1- 三十烷醇	12.5+/-0.6%
1- 三十二烷醇	5.0+/-0.4%
1- 三十四烷醇	0.8+/-0.1%。

4. 根据权利要求 1-3 任一项的混合物，其中所述高级脂族伯醇混合物与乙酰水杨酸的定量比例为 10 ： 1 至 1 ： 10。

高级脂族伯醇混合物与乙酞水杨酸的混合物和药物制剂

[0001] 本申请是申请号为 00101057.3 母案的分案申请。该母案的申请日为 1993 年 3 月 19 日；发明名称为“药物制剂及其用途和高级伯醇混合物的用途”。

技术领域

[0002] 本发明涉及高级脂族伯醇的混合物，其中含有 22 到 38 个碳原子、尤其是 24 到 34 个碳原子的醇，更具体地说，含有 24、26、27、28、29、30、32 和 34 个碳原子的直链醇。本发明更涉及由高级脂族伯醇混合物与乙酞水杨酸组成的混合物和含有该混合物的药物制剂。

[0003] 该混合物各批之间的各个醇的相对组成显示出很好的重复性。

背景技术

[0004] 该混合物各批之间的各个醇的相对组成显示出很好的重复性。

[0005] 欧洲专利申请 0488928 中曾描述含有 24 至 34 个碳原子的高级脂族伯醇混合物在治疗人和动物的血胆固醇过多、II 型血脂蛋白过多和改善性功能方面的药物制剂中可用作活性成分。

[0006] 根据本发明，定量关系相对狭小的含 24 至 34 个碳原子的高级脂族伯醇混合物（下面称为 M.H.P.A.A.）显示新的性能，可用作抗血小板、抗血栓形成和/或抗局部缺血剂，以及用于对抗药物引起的溃疡，并说明了具体混合物在制备这些用途的药物制剂中为什么可用作活性组分的道理。

发明内容

[0007] 本发明的目的之一是用一种公众丢弃物 24 至 34 个碳原子的 M.H.P.A.A. 作为药物制剂。

[0008] 本发明的目的之一是从粗制蜡和精制蜡这两种甘蔗蜡中得到、分离和纯化有 24 到 34 个碳原子的高级脂族伯醇 (M.H.P.A.A.)。

[0009] 甘蔗蜡的降脂效果已用大鼠 (Fukuda，甘蔗蜡对大鼠血清和肝脂的影响；化学文摘，106，17，137413p) 和小鼠 (Sho H. 等，1984，Okinawan 甘蔗蜡和脂肪醇对大鼠血清和肝脂的影响，J.Nutri.Vitaminol.30，6，553-553) 得到了证实。

[0010] 最初，甘蔗蜡对血清和肝脂的影响用喂饲高含量植物和动物脂肪的雄性 Wistar 大鼠作了研究。这些作者发现，向规定食物的脂肪中加入 0.5％甘蔗蜡大大降低了喂饲植物或动物脂肪的大鼠的血清甘油三脂，但仅在后一情形胆固醇含量才明显降低，而肝脂的含量不受影响。因此，这些作者断定，甘蔗蜡具有降血脂作用。

[0011] 另一方面，Sho H. 等人 (1984) 研究了冲绳甘蔗蜡对于喂食含 0.5％这种蜡的食物的大鼠的血清及肝脂的影响，他们发现血清和肝的胆固醇含量均显著降低。尽管如此，当在动物食物中使用从同一种蜡中得到的脂肪醇时，胆固醇含量无明显变化。因此，他们排除了蜡的降脂作用是由于这些醇造成的。

[0012] 但是，几年之后，Shimura S.，Hagesawa.T.，Takano S. 和 Susuki T.(1987：关于

二十八烷醇对小鼠运动持久性的影响;Nutrition Reports Int.36,1029-1038)用进行体力活动和喂食富含二十八烷醇食物的小鼠研究了二十八烷醇的影响。他们发现,从甘蔗蜡中分离出来的二十八烷醇显著降低肝中的甘油三酯和胆固醇的含量,而血清中只有甘油三酯含量才明显降低。他们断定,从甘蔗蜡中分离出的二十八烷醇具有降脂作用,这与上述的Sho H. 等人的先前结果不同。

[0013] 同样,曾经提出另一种高级脂族伯醇,二十六烷醇,也具有抗血脂作用,虽然据报道需要很高的剂量才得到这种效果(10-30 毫克/千克/天)(Hagiwara Y.1987:用含二十六烷醇的抗血脂剂治疗高血压、动脉硬化、糖尿病、心脏病和肥胖;日本专利A62099323)。

[0014] 现在已有认为是安全、有效和耐受性良好的各种商品降脂药物,但是它们大多产生各种不良的副作用。因为降脂药物必须长期服用。所以这一点很重要。

[0015] 例如,二甲苯氧庚酸降低血清甘油三酯,增高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量,并且使血清胆固醇略有减小,但是已报道有几种不良作用。例如,胃肠作用,如上腹痛、腹泻、嗯心、呕吐和气胀等已有报道。另外,在用二甲苯氧庚酸治疗的患者中曾发现头痛、头昏、视力模糊、阳萎、性欲减退和肝功能反常,例如转氨酶、乳酸脱氢酶、肌酸磷酸激酶和碱性磷酸酶增高。同样,肾衰竭病人不能服用。

[0016] 丙丁酚是具有抗氧化剂性质的另一种降脂药物,它使血清胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)适度减少。但是,它的降脂作用的一个缺点是它降低了 HDL-C 的含量。另外,曾报道它有几种不良作用,例如约 10%的患者的胃肠失调现象,以及心电图有相当大的变化。

[0017] 常用的其它降脂药物是消胆胺和降胆宁。它们是有效的优秀降胆固醇药物,强烈地降低血清胆固醇和 LDL-C,但是会增高甘油三酯含量。这些药物会引起几种胃肠症状,主要是便秘。治疗的顺应性一般较低,因为有不良的症状,而且它们是不易服用的药剂,需要高达 12 至 20 克/天的剂量才达到所要求的效果。另外,曾有人报道它们与其它药物,例如毛地黄毒苷,有不良的化学相互作用。

[0018] Lovastatin 是“Statins”中的第一种,属于 HMG CoA 还原酶的抑制剂,从而有效地降低血清胆固醇和 LDL-C 的含量,它也适度地增高 HDL-C 并减少甘油三酯。已有人报道过此种药物的几种副作用。例如,主要的副作用是肌病、肌酸磷酸激酶的低度至中度增加和血清转氨酶永久性增加,这常常在停止治疗后变成不可逆的。肌病主要发生于用免疫抑制药物(如二甲苯氧庚酸或烟酸)进行伴行治疗的患者。另外,曾报道过用 Lovastatin 治疗和患者中,敏感的患者有诸如皮疹、瘙痒、头痛和严重的肌肉损伤等副作用,结果导致肌溶解。再者,曾报道过在实验室动物中发生与药物有关的睾丸萎缩和肝肿瘤。

[0019] 类似地,Simvastatin 和 Pravastatin 是另外二种“Statins”,它们按照与 Lovastatin 同样的机制起作用,显示出近似相同的降低胆固醇的效果。对这些患者报道的副作用与用 Lovastatin 治疗的患者相同,但是据称程度较轻。据报道,用 Simvastatin 和 Pravastatin 治疗的患者有便秘、气胀、嗯心、头痛、疲劳、皮下皮疹和肌病。

[0020] 在欧洲专利申请 0488928 中曾描述含有 24 至 34 个碳原子的、醇之间有定量关系的高级脂族伯醇混合物可用于治疗人和动物的血胆固醇过多、II 型血脂蛋白过多以及改善性功能。表 1 列出了根据本发明从甘蔗蜡得到的 M.H.P.A.A. 混合物的一般定性和定量组

成。

[0021] 表 1 :在药物制剂中使用的 M. H. P. A. A. 组合物的一般的定性及定量组成

组分	在混合物中的比率
1 －二十四烷醇	0．5－ 5．0%
1 －二十六烷醇	5．0－15．0%
1 －二十七烷醇	0．5－ 5．0%
1 －二十八烷醇	50．0－80．0%
1 －二十九烷醇	0．5－ 3．0%
1 －三十烷醇	6．0－20．0%
1 －三十二烷醇	1．0－10．0%
1 －三十四烷醇	0．0－ 2．5%

[0022]

[0023] 表 2 列出了本发明涉及的特殊的醇混合物中成分之间的定性和定量组成。

[0024] 表 2 :本发明涉及的 M. H. P. A. A. 的特殊的定性与定量组成

组分	在混合物中的比率
1 －二十四烷醇	0．5－ 1．0%
1 －二十六烷醇	6．0－ 8．0%
1 －二十七烷醇	2．5－ 3．5%
1 －二十八烷醇	60．0－70．0%
1 －二十九烷醇	0．5－ 1．0%
1 －三十烷醇	10．0－15．0%
1 －三十二烷醇	4．5－ 6．0%
1 －三十四烷醇	0．5－ 2．0%

[0025]

[0026] 这种混合物显示了意想不到的新的效果，如用作抗血小板、抗血栓和 / 或抗局部缺血剂，以及用作对抗由药物引起的胃溃疡。这种特殊的混合物也显示了与欧洲专利申请 0488928 描述的混合物性质相同。

[0027] 本发明的再一目的是证实 M. H. P. A. A. 对实验诱发的局部缺血的保护作用。

[0028] 本发明的另一目的是证实 M. H. P. A. A. 和最常用于大脑局部缺血治疗的 ASA 之间有药理相互作用。结果表明在 M. H. P. A. A. 和 ASA 的抗血小板、抗血栓形成和抗局部缺血效

能之间有协同作用。

[0029] 本发明还有一个目的是证实 M.H.P.A.A. 显著减少被阿斯匹林、乙醇、消炎痛、化合物 C4880（西格马公司）和其它在所治疗人体中产生胃溃疡的药物所造成的胃溃疡。

[0030] 曾经报道，乙醇诱发的胃溃疡主要与作为生理因素的 TxA_2 的增加有关，而 C4800 诱发的溃疡主要与血清素激活的机制有关，虽然不能排除 TxA_2 在雄体单体生殖方面的作用。另一方面，ASA 诱发的胃溃疡与 ASA 产生的对前列腺素（E 系列）合成的抑制有关，因为前列腺素对胃粘膜有细胞保护作用。已经证实，TxA_2 与 PgI_2 比在胃粘膜中作为一种整体的内源机制起重要的作用。

[0031] 另一方面，曾经提到用某些降脂药物治疗降低了在高血脂病人中常见的血小板过度聚集的倾向，实验数据已显示了由这些化合物调节的抗聚集作用。尽管如此，仅仅某些降胆固醇药物显示出这种性质。正如已提到的，动脉粥样硬化是动脉内膜多种多样变化的综合结果，这些变化包括脂类、复合的碳水化合物、血和血液产物、纤维组织及钙沉积物的局部累积，常常还伴有内侧变化。因此，这一定义表明动脉粥样硬化是一个多因素的过程，不仅仅以高血脂作为危险因子。

[0032] 因此，在对动脉粥样硬化和发展起作用的各因子之间，血小板聚集占有很重要的地位。血小板释放微粒含有活性花生四烯酸，它代谢变化成环形内过氧化物。它们主要被转化成环形的内过氧化物，最终变成为血栓烷 A_2(TxA_2)，这是一种很强的血管收缩剂和血小板聚集剂。有各种化合物可以诱发血小板聚集，例如胶原、腺苷二磷酸和肾上腺素及其它。因此，各种以“体内”、“体外”或“试管内”方式试验假定的抗血小板药物的效力的实验，通常是检验所述药物对由这些化合物诱发的血小板聚集的影响。

[0033] 这些试验也用来试验健康的志愿人员和患有常常诱发聚集过度的病人，例如患有血胆固醇过多和糖尿病的病人的血小板聚集。在这些试验之中，胶原诱发血小板聚集是最常使用的。例如，静脉内注射胶原导致“活体内”不可逆的血管内血小板聚集，血小板聚集体进入血管微循环，从而减少循环的血小板计数，同时增加血浆中的丙二醛 (MDA) 浓度。另外，在某些物种中，注射胶原会诱发血栓形成而造成死亡。在这些模式中，抗血小板药物一般防止血小板含量减少和丙二醛 (MDA) 浓度的增加，以及由胶原诱致的死亡。

[0034] 某些具有防止血小板聚集作用的药物可用来治疗血栓病、心肌梗死和中风，但是它们并非都有这些优点。另一方面，有的抗血栓药物主要通过溶解过程影响血液凝集，而不是对血小板聚集起作用，例如链激酶和尿激酶。

[0035] 因为局部缺血性心血管病、中风和血管末稍阻塞病症是动脉粥样硬化的主要后遗症，所以试验了几种药物对这些并发症的作用。例如，理论上如果一种具有降低胆固醇性能的药物也能通过对这些过程中涉及的其它现象的作用而阻止这些并发症，则必定对治疗这些病人有利。同样，TxA_2 含量的降低不仅与抗血小板和抗血栓形成作用有关，而且也与抗局部缺血作用有关。抗局部缺血药物的药学筛选通常包括评价它们对诱发的脑体局部缺血的作用。例如，曾有人报导过各种药物对大鼠脑局部缺血的保护作用，包括抑制环氧酶催化的反应的某些非甾族消炎药物 (NSAID) 以及血栓合成酶抑制剂和前列腺环素类似物 (PgI_2) (Borzeix MG 和 Cahn J.，1988，新的化学上代谢稳定的前列腺环素类似物对鼠类短暂性大脑血量减少的作用；Prostaglandins 35，5，653-664)。

[0036] 其它的实验方式，例如用蒙古沙土鼠实验诱发的脑体局部缺血，也常常采用。

[0037] 乙酰水杨酸 (ASA) 是在实验模型和人体中显示出抗血小板、抗血栓形成和抗局部缺血性能的一种化合物。它是在治疗急性心肌梗塞和中风以及防止血栓栓塞紊乱方面应用最广的一种药物。ASA 的作用受到众所周知的它对花生四烯酸代谢时的一种关键酶（环氧酶）的抑制作用的支持。因此，ASA 使血清中血栓烷 A_2(TxA_2) 含量明显地大大减少，后者是公认的血管内皮病理生理因子，这解释了 ASA 的上述作用。

[0038] 但是，因为 ASA 的抑制作用是在环氧酶浓度上发挥作用，所以不仅 TxA_2 含量降低，而且前列腺环素 (PgI_2) 的含量也降低，后者是药理性质与 TxB_2 相反的一种化合物。另一方面，考虑到 ASA 抑制了前列腺素（系列 E）的合成，它会由于阻碍前列腺素的细胞保护作用而造成胃损伤。这是对 ASA 报道的主要副作用，即，胃炎、胃溃疡及有关的失调现象。

[0039] 本发明涉及的特殊的高级脂族伯醇的优选组成列于表 3 中。

[0040] 表 3：在药物制剂中使用的 M.H.P.A.A. 的更特殊的定性与定量组成

[0041]

组 分	在混合物中的比率
1－二十四烷醇	0．8±0．1%
1－二十六烷醇	6．7±0．3%
1－二十七烷醇	3．0±0．3%
1－二十八烷醇	65．6±3．4%
1－二十九烷醇	0．7±0．1%
1－三十烷醇	12．5±0．6%
1－三十二烷醇	5．0±0．4%
1－三十四烷醇	0．8±0．1%

[0042] 含这种高级脂族伯醇混合物的药物制剂可以给人类和动物施用。用于治疗不同疾病的来自甘蔗蜡的 M.H.P.A.A. 的日剂量规定为每天 1 到 100 毫克之间，最好是约 3-20 毫克。M.H.P.A.A. 可以口服或非肠道给药。优选的途径是口服涂膜的片剂以及粒剂或胶囊。

[0043] 药物制剂中含有作为活性组分的 0.5％到 15％重量的 M.H.P.A.A.。这一剂量是通过将 M.H.P.A.A. 与各种赋形剂（例如凝集剂、崩解剂、润滑剂、滑动剂）或只与填料混合得到的。这些赋形剂中包括乳糖、玉米淀粉、蔗糖、硬脂酸镁、微晶纤维素、交联的羧甲基纤维素钠、明胶、乙酰邻苯二甲酸纤维素、二氧化钛、供片剂用的特种滑石粉和聚乙二醇。

[0044] 将在实施例中说明的本发明的乙酰水杨酸和 M.H.P.A.A. 的混合物或者 M.H.P.A.A. 的混合物和乙酰水杨酸，当它们的比例是在 20 ： 1 至 1 ： 20 之间，尤其是在 10 ： 1 至 1 ： 10 之间时，在其有关抗血小板、抗血栓形成和抗局部缺血的性质中，显示了药理学上互相作用中的协同作用。

[0045] 蔗糖蜡及其天然来源，蔗泥，一直是人们关注的对象，这不仅是因为它们的工业用途，而且也由于它们的化学组成。甘蔗中的蜡含量在 0.1％至 0.3％之间，依品种而异。在

农产工业加工中，仅仅 40％的蜡含量被稀释到甘蔗汁中，其余的则损失于蔗渣里。

[0046] 从这 40％中，95％被蔗泥吸收，由蔗泥制得粗蜡。这种蜡由酯、醛、酮、烃类、脂肪酸和游离醇构成，各组分的数量取决于甘蔗作物的品种和来源以及制取蜡所用的技术。

[0047] 若干作者已研究过从甘蔗副产物中得到的直链脂族醇以了解其成分和主要特点。从各类蜡中制取不同组合的化合物已有报道 (J.A.Lamberton 等，1959 ;Australian Journal of Chemistry，13，261-268，以及 Horn A.and Martic JS，1957 ;Journal of Science Food and Agriculture 10，571)，他们提出一种从甘蔗表皮蜡制取脂族醇的方法，其作法是用氢氧化钾醇溶液均匀皂化，接着将不能皂化的物质酯化，再进行分子蒸馏。

[0048] 还报道过通过高效高真空蒸馏柱分离醇混合物的另一种方法。这种高真空下的蜡蒸馏用来将羰基化合物化学分离并使用石油醚萃取剩余的蜡。将溶剂蒸发，剩余成分酰化，以便通过氧化铝层析进一步分离。最后，经过加碱水解得到醇，然后在乙醇中重结晶，熔点范围为 80 到 82℃。

[0049] 一种从动物蜡和植物蜡得到高级脂族伯醇的方法是基于将脂族酯皂化，接着采用适当的溶剂，通过温度在 25-100℃之间的亚临界态和超临界态的流体萃取醇混合物，该法表明，在低温下依赖于溶解度和压力变化，可以进行选择性萃取。将这一方法用于甘蔗蜡，可以得到 5％的 C_{20} 到 C_{36} 的醇的混合物。

[0050] 另一种设计 (Inada S，Furukawa K.，Masui T.，Honda K.，Ogasawara J.and Tsubikamoto G.，1986 ;回收高级脂族正伯醇的方法，日本专利 60-119514 号) 提出了一种很类似的萃取蜡的方法，该方法以带有乙烯的亚临界和超临界状态 CO_2 流体为基础。也有人报道过用处在亚临界和超临界状态的流体从混合物中分离有机化合物。从分析的角度看，所有这些都是有价值的方法，但是由于使用柱色谱和分子蒸馏这些全是不经济的方法，妨碍了大规模生产。

[0051] 本发明的方法是基于用碱或碱土金属氢氧化物，尤其是用低分子量的，特别是钠、钾和钙的氢氧化物浓溶液将预先熔化的甘蔗蜡均相皂化的方法。

[0052] 氢氧化物溶液的浓度必须使相应的氢氧化物与要处理的蜡的重量比超过 5％，尤其是从 8％至 25％，特别是从 15％至 25％。皂化过程持续 30 分钟以上，尤其是从 2 到 5 小时。将这一步得到的固体置于固－液萃取器中，用适当的有机溶剂选择性萃取 M.H.P.A.A.，有机溶剂选自 3 到 8 个碳原子的酮，1 到 5 个碳原子的醇，6 到 9 个碳原子的烃，卤仿及芳族化合物，例如苯及其衍生物，包括它们的混合物。用于本发明的一些优选的溶剂是以下几种 :丙酮、甲乙酮、戊酮、己酮、庚酮、2- 甲基戊酮、乙醇、甲醇、2- 丙醇、丁醇、叔丁醇、戊烷、己烷、庚烷、辛烷、氯仿、1，2- 二氯乙烷、二氯甲烷、三氯乙烷、1，2，3- 三氯丙烷、苯、甲苯、苯酚、对甲基甲苯及其它。

[0053] 萃取在 5 到 10 小时的时间内进行。然后，用上述的溶剂或其混合物将产物连续结晶。产率约为 30％，而 M.H.P.A.A. 的纯度达到 80％至 98％，特别是从 90％至 98％。这样得到的 M.H.P.A.A. 是由 22 到 38 个碳原子的醇组成。这是一种灰白色的混合物，熔点在 76.5 和 84.5℃之间。为了用熔凝二氧化硅毛细管柱通过气相色谱分析 M.H.P.A.A.，用 N- 甲基 -N- 三甲基硅烷基三氟乙酰胺 (MSTFA) 衍生化合物。

[0054] 与先前报道的相比，本发明提出的从甘蔗蜡中获取 M.H.P.A.A. 的方法具有某些优点。这些优点之一是加工时间短。本发明的另一个优点是用这种方法可以达到的高产率

（接近 30％重量），相比之下，先前介绍的 Sho 等人的结果报道产率低于 5％。所提出的方法的另一个优点与可以达到的 M.H.P.A.A. 的纯度有关（接近 98％），它比目前工艺水平所报道的高出很多。因此，本发明提出的方法比 Inada 等（日本专利 60-119514）和 Hagiwara Y.（日本专利 62-87537）的方法更简单，而且更适合于大规模生产。

[0055] 最后，在关于 M.H.P.A.A. 全貌的整个描绘中，与目前已知的药物相比，它的极好的安全性和耐受性代表了一种重要的优点。例如，用啮齿动物、兔子、猎兔犬和猴子进行的急性、亚慢性和慢性研究中，表明没有与药物有关的毒性。另外，它在家兔或小鼠中既无任何的诱变作用，也没有致畸作用。服用 M.H.P.A.A. 两代以上的大鼠未影响胎儿发育，也不影响生殖活动。最后，对小鼠进行 24 个月的致癌性研究也表明，M.H.P.A.A. 没有毒性和致癌作用。

[0056] 短期和长期临床试验也说明这种治疗极其完全和具有极好的耐受性。

附图说明

[0057] 图 1 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清胆固醇含量的影响，

[0058] 图 2 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清 LDL-C 含量的影响，

[0059] 图 3 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清胆固醇变化的影响，

[0060] 图 4 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清 LDL-C 变化（％）的影响，

[0061] 图 5 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的 HDL-C 含量的影响，

[0062] 图 6 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清甘油三酯的影响，

[0063] 图 7 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清甘油三酯变化的影响，

[0064] 图 8 显示 M.H.P.A.A. 对患 II 型血脂蛋白过多的病人血脂分布的影响，

[0065] 图 9 显示服用 M.H.P.A.A. 一个月的大鼠腺苷二磷酸渗诱发的血小板聚集，

[0066] 图 10 显示服用 M.H.P.A.A. 一个月的大鼠胶原诱发的血小板聚集，

[0067] 图 11 显示 M.H.P.A.A. 对大鼠富血小板血浆中腺苷二磷酸诱发的血小板聚集的影响，

[0068] 图 12 显示 M.H.P.A.A. 对浓度为 2 微摩尔 / 升，$p << 0.01$ 的腺苷二磷酸诱发的血小板聚集的影响，

[0069] 图 13 显示 M.H.P.A.A. 对大鼠静脉内血小板聚集的影响，

[0070] 图 14 显示 M.H.P.A.A. 对胶原诱导的 C57BL6 小鼠死亡率的影响，$p << 0.001$（Mann-Whitney U 检验），

[0071] 图 15 显示 M.H.P.A.A. 对胶原诱导的 C57BL6 小鼠死亡率的影响，$p << 0.05$（Mann-Whitney U 检验）

[0072] 图 16 显示 M.H.P.A.A. 和 ASA 混合服用对胶原诱导小鼠死亡率的影响，

[0073] 图 17 显示 M.H.P.A.A. 和 ASA 对大鼠脑缺血的协同作用，

[0074] 图 18 显示 M.H.P.A.A. 对诱发的蒙古沙土鼠中大脑梗塞的影响，

[0075] 图 19 显示 M.H.P.A.A. 对 c4880 和乙醇诱发的胃溃疡的影响。

具体实施方式

[0076] 本发明的目的将在以下实施例中详细说明。这些实施例将不限制本发明的范围。

[0077] 实施例 1

[0078] 取 1000 克精制甘蔗蜡在 100-110℃下熔化，加入溶在 150 毫升水中的 200 克氢氧化钾。在搅拌下保持此过程 5 小时。在固一液萃取系统中以庚烷作为溶剂由此过程得到的固体中萃取 M. H. P. A. A. 12 小时。将得到的萃取液在室温下冷却，M. H. P. A. A. 由其中结晶，在甲乙酮中重结晶。得到多达 285 克的醇混合物；纯度为 94.70%。混合物的溶点范围在 80.5 和 82.5℃之间。

[0079] 表 4 列出了用此方法得到的 M. H. P. A. A. 的定性和定量组成。

[0080] 表 4：所得 M. H. P. A. A. 的定性和定量组成

[0081]

组 分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0.81
1－二十六烷醇	7.00
1－二十七烷醇	2.81
1－二十八烷醇	65.09
1－二十九烷醇	0.67
1－三十烷醇	12.43
1－三十二烷醇	5.05
1－三十四烷醇	0.84

[0082] 实施例 2

[0083] 将 2 千克粗制甘蔗蜡在 85-100℃下熔化，加入溶解在 200 毫升水中的 300 克氢氧化钠，在搅拌下保持此皂化过程 4 小时。用氯仿作为溶剂在常规的固一液萃取系统中萃取 M. H. P. A. A. 10 小时，将所得的萃取液在室温下冷却，所得的固体在甲醇中重结晶，最后在氯仿／甲乙酮混合物中重结晶。得到纯度总计 92.52%的 M. H. P. A. A. 405 克。M. H. P. A. A. 的溶点范围从 79.0 至 80.5℃。表 5 列出了用此方法得到的 M. H. P. A. A. 的定性和定量组成。

[0084] 表 5：所得 M. H. P. A. A. 的定重及定性组成

[0085]

组 分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0．87
1－二十六烷醇	6．84
1－二十七烷醇	3．08
1－二十八烷醇	62．92
1－二十九烷醇	0．80
1－三十烷醇	12．66
1－三十二烷醇	4．65
1－三十四烷醇	0．70

[0086] 实施例 3

[0087] 将溶解在 7 升水中的 12 千克氢氧化钙加到 50 千克预先在 100-120℃下熔化的精制甘蔗蜡中。此皂化过程在搅拌下进行 7.5 小时。在固一液萃取系统中用乙醇作溶剂萃取 M.H.P.A.A. 12 小时。将所得的萃取液在室温下放置冷却，而后将固体在氯仿中重结晶。得到纯度为 93.77％的 M.H.P.A.A. 13.7 千克。该混合物的熔点范围为 80.0-82.0℃。表 6 列出了用此方法得到的 M.H.P.A.A. 的定性与定量组成

[0088] 表 6 :所得 M.H.P.A.A. 的定性与定量组成

[0089]

组 分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0．71
1－二十六烷醇	6．88
1－二十七烷醇	3．06
1－二十八烷醇	64．70
1－二十九烷醇	0．62
1－三十烷醇	12．01
1－三十二烷醇	5．09
1－三十四烷醇	0．90

[0090] 实施例 4

[0091] 将 8.6 千克溶在 4.5 升水中的氢氧化钙加到 50 千克预先在 100-120℃熔化的粗制的甘蔗蜡中。皂化过程在连续搅拌下进行 3 小时。在固一液萃取器中用二氯甲烷作溶

剂萃取 M.H.P.A.A.12 小时。所得的产物冷却到室温，得到的固体在己烷和丙酮 (1 ： 1) 混合物中重结晶。得到纯度为 92.91％的醇混合物 6.8 千克。M.H.P.A.A. 的熔点范围为 78.5℃ -80.5℃。表 7 列出了用此方法得到的 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成。

[0092] 表 7 :所得的 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成

[0093]

组 分	各醇的百分含量
1 －二十四烷醇	0．75
1 －二十六烷醇	7．00
1 －二十七烷醇	3．14
1 －二十八烷醇	63．60
1 －二十九烷醇	0．62
1 －三十烷醇	12．03
1 －三十二烷醇	4．99
1 －三十四烷醇	0．78

[0094] 实施例 5

[0095] 向 20 千克预先在 100-110℃的温度下熔化的精制甘蔗蜡中加入稀释在 3.0 升水中的 3.7 千克氢氧化钾。皂化过程在连续搅拌下进行 5 小时。用甲乙酮作为溶剂，在索氏萃取器中萃取 M.H.P.A.A.14 小时。将萃取出的物质在室温下冷却。接着，将它在己烷 / 氯仿 (1 ： 1) 混合物中重结晶，得到纯度为 92.56％的 M.H.P.A.A.3.8 千克。M.H.P.A.A. 的熔点范围在 78.5 和 80.5％之间。表 8 列出了用此方法得到的 M.H.P.A.A. 的定性与定量组成。

[0096] 表 8 :所得 M.H.P.A.A. 的定性与定量组成

[0097]

组分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0.85
1－二十六烷醇	6.56
1－二十七烷醇	3.10
1－二十八烷醇	63.10
1－二十九烷醇	0.72
1－三十烷醇	12.18
1－三十二烷醇	5.31
1－三十四烷醇	0.74

[0098] 实施例 6

[0099] 将 250 克氢氧化钙加到预先在 100℃熔化的 1 千克粗制甘蔗蜡中。此皂化过程在连续搅拌下进行 2 小时。在固一液萃取系统中用 2- 丙醇作为溶剂萃取 M.H.P.A.A. 12 小时。所得的产物在室温下冷却，用庚烷重结晶。得到纯度为 93.63％的 M.H.P.A.A. 165 克。M.H.P.A.A. 的熔点范围为 80.0 至 81.5℃。表 9 列出了用此法得到的 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成。

[0100] 表 9 :所得 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成

[0101]

组分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0.84
1－二十六烷醇	6.52
1－二十七烷醇	3.18
1－二十八烷醇	64.13
1－二十九烷醇	0.69
1－三十烷醇	12.54
1－三十二烷醇	4.93
1－三十四烷醇	0.80

[0102] 实施例 7

[0103] 将 400 克稀释在 200 毫升水中的氢氧化钠加到预先在 110℃熔化的 2 千克精制甘蔗蜡中。这一过程在连续搅拌下保持 3 小时。在固体萃取器中用甲苯作为溶剂萃取

M.H.P.A.A.6 小时，用甲醇作为溶剂第二次重结晶。得到纯度为 95.10％的 M.H.P.A.A.389 克。混合物的熔点范围为 81.0 至 83.0℃。表 10 列出了用此方法得到的 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成。

[0104] 表 10 :所得 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成

[0105]

组 分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0.80
1－二十六烷醇	7.00
1－二十七烷醇	2.82
1－二十八烷醇	64.54
1－二十九烷醇	0.72
1－三十烷醇	13.02
1－三十二烷醇	5.31
1－三十四烷醇	0.89

[0106] 实施例 8

[0107] 5 千克精制甘蔗蜡在 120℃下熔化后用稀释在 500 毫升水中的 1 千克氢氧化钾处理。此过程在连续搅拌下保持 4 小时。在固一液萃取系统中用乙醇作为溶剂萃取 M.H.P.A.A.5 小时。然后，将萃取液室温下冷却，用甲苯作为溶剂将 M.H.P.A.A. 结晶。得到纯度为 92.20％的 M.H.P.A.A.1490 克。M.H.P.A.A. 的熔点范围在 79.5 和 81.0℃之间。表 11 列出了用此法得到的 M.H.P.A.A. 的定性与定量组成。

[0108] 表 11 :所得 M.H.P.A.A. 的定性和定量组成

[0109]

组分	各醇的百分含量
1－二十四烷醇	0．76
1－二十六烷醇	6．58
1－二十七烷醇	2．84
1－二十八烷醇	62．43
1－二十九烷醇	0．71
1－三十烷醇	13．08
1－三十二烷醇	5．05
1－三十四烷醇	0．75

[0110] 实施例 9

[0111] 用M.H.P.A.A.作为活性成分研制了两种不同的药物制剂，其成分列在表12中。这些制剂是考虑了活性成分的物理、化学和物理化学特点而研制的。用湿造粒法将活性组分与药物赋形剂按控制的比例混合、干燥、脱粒、润滑和压片，制成药剂。

[0112] 表12：用M.H.P.A.A.作为活性成分的药物制剂

[0113] 组分 [0114]	制剂1 (%)	制剂2 (%)
[0115] M.H.P.A.A.	5.0	15.0
[0116] 乳糖	56.0	54.0
[0117] 玉米淀粉	15.0	10.0
[0118] 明胶	2.5	2.0
[0119] 交联的羧甲基纤维素钠	5.0	4.0
[0120] 蔗糖	5.0	4.0
[0121] 滑石粉	2.0	2.0
[0122] 硬脂酸镁	1.5	1.0
[0123] 乙酰邻苯二甲酸纤维素	0.5	1.0
[0124] 微晶纤维素	7.5	7.0

[0125] 实施例 10

[0126] 使雄性新西兰兔(2-3千克)适应实验室条件15天，随机地分成4个实验组：一个对照组(只服用介质)和三个M.H.P.A.A.处理组。后三组分别用胃管饲法(1毫升/千克)分别服用悬浮在阿拉伯胶/水介质中的5、50和200毫克/千克的M.H.P.A.A.4周。测定基线处的脂含量(开始治疗前和治疗4周后)。在30天内口服5、50和200毫克/千克的M.H.P.A.A.以一种与剂量有关的方式显著减少(Wilcoxon $P < 0.05$)总胆固醇和血清中低密度蛋白的含量。另外，对照组和处理组中百分数的变化统计学上是有差异的(MannWhitney U，$P < 0.05$)，见图1-4。

[0127] 图1显示M.H.P.A.A.对血胆固醇正常的家兔的血清胆固醇含量的影响，图2显示M.H.P.A.A.对血胆固醇正常的家兔的血清LDL-C含量的影响，图3显示M.H.P.A.A.对血胆

固醇正常的家兔的血清胆固醇变化的影响，而图 4 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清 LDL-C 变化（％）的影响。

[0128] 在这一实验系统中，服用最高剂量的 M.H.P.A.A.（200 毫克 / 千克）将血清胆固醇和 LDL-C 分别降低 51％和 78％。图 5 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的 HDL-C 含量的影响。在所有四组中 HDL-C 含量均无明显变化。

[0129] 图 6 显示 M.P.H.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清甘油三酯的影响，图 7 显示 M.H.P.A.A. 对血胆固醇正常的家兔的血清甘油三酯变化的影响。比较处理组与对照组之间的甘油三酯百分含量，变化也很明显 (MannWhitney U，$P < 0.05$)，但未观察到剂量与效果间的关系。

[0130] 实施例 11

[0131] 将雄性新西兰家兔随机地分成 4 组：一个对照组（只用胃管饲法服用介质）和分别用 5 毫升 / 千克 M.H.P.A.A.、二十八烷醇和二十六烷醇处理的 3 个组。在基线处和处理 30 天后测定血脂分布。M.H.P.A.A. 显著降低总胆固醇和 LDL-C。另外，用 M.H.P.A.A. 处理的家兔的胆固醇、LDL-C 和甘油三脂比对照组的明显降低。但是，在用二十八烷醇或二十六烷醇处理的二组血脂的变化没有统计学意义，结果见表 13。

[0132] 表 13：M.H.P.A.A.、二十八烷醇和二十六烷醇对血胆固醇正常的新西兰家兔血脂含量（毫摩尔 / 升）的影响

[0133]

[0134] 组别	剂量 (毫克/千克)	基线	处理后
[0135] 总胆固醇			
[0136] 对照	0	2.5	2.3
[0137] M.H.P.A.A.	5	2.8	1.6^{*+}
[0138] 二十八烷醇	5	2.7	2.2
[0139] 二十六烷醇	5	2.6	2.4
[0140] LDL-C			
[0141] 对照	0	1.5	1.2
[0142] M.H.P.A.A.	5	1.3	0.6^{*+}
[0143] 二十八烷醇	5	1.4	0.9
[0144] 二十六烷醇	5	1.5	1.0
[0145] 甘油三酯			
[0146] 对照	0	0.80	0.82
[0147] M.H.P.A.A.	5	0.78	0.55*
[0148] 二十八烷醇	5	0.77	0.70
[0149] 二十六烷醇	5	0.80	0.78

[0150] $*p < 0.05$ 与对照组比较 (Mann whitney U 检验)

[0151] $^{+}p < 0.05$ 与基线比较 (Wilcoxon)

[0152] 实施例 12

[0153] 在仅用规定膳食 5 周之后，45 名胆固醇值和 LDL-C 值用食物不足以控制的门诊病人服用含 5 毫克 M.H.P.A.A. 的片剂（每天午餐和晚餐时各一次）或无效对照剂共 6 周。在这段有效治疗期间，保持规定的饮食条件。在基线处（只服规定饮食期间结束时）以及治疗 4 和 6 周后测定血脂含量。M.H.P.A.A. 将总血清胆固醇和 LDL-C 分别显著地降低 16.23％和 21.33％。胆固醇与 HDL-C 的比和 LDL-C 与 HDL-C 之比也分别被明显地减少 11.67％和

22.28%（p＜0.05，配对数据的Wilcoxon检验）。在所有的病人中，总胆固醇含量和LDL-C含量在治疗6周后都低于基线值。其它脂类组分含量的变化不明显，结果列在表14和15中。

[0154] 表14：M.H.P.A.A.（10毫克/天，分2次，每次5毫克）对患II型血脂蛋白过多病人血清脂分布（毫摩尔/升）的影响

	n	基线 (X+SD)	6周 (X+SD)
总胆固醇			
M.H.P.A.A.	22	7.43+1.29	6.21+1.38***〃〃
无效剂	23	6.97+0.72	6.70+0.75*
LDL-C			
M.H.P.A.A.	22	5.54+1.22	4.35+1.31***〃〃〃a
无效剂	23	5.07+0.63	4.97+0.67
HDL-C			
M.H.P.A.A.	22	1.03+0.26	1.10+0.28
无效剂	23	1.13+0.31	1.02+0.28
甘油三酯			
M.H.P.A.A.	22	2.41+0.94	1.74+0.88
无效剂	23	2.03+0.64	1.87+0.67
VLDL-C			
M.H.P.A.A.	22	1.09+0.43	0.79+0.40
无效剂	23	0.92+0.29	0.85+0.31

[0172] -n患者数目

[0173] -*p＜0.01；***p＜0.0001，与基线比较

[0174] （Wilcoxon）

[0175] -a p＜0.05与无效剂比较，绝对值，Mann Whitney U检验。

[0176] -〃〃 p＜0.001与无效剂比较（Mann Whitney U检验）

[0177] -〃〃〃 p＜0.00001与无效剂比较（Mann Whitney U检验）

[0178] 表15：M.H.P.A.A.（10毫克/天，分2次，每次5毫克）对患II型血脂蛋白过多病人血清脂比率（毫摩尔/升）的影响

	n	基线 (X+SD)	6周 (X+SD)
LDL-C/HDL-C			
M.H.P.A.A.	22	5.71+1.82	4.18+1.59＊＊〃〃a
无效剂	23	4.92+1.85	5.30+1.79
胆固醇/HDL-C			
M.H.P.A.A.	22	7.65+2.18	5.94+1.81＊〃
无效剂	23	6.69+2.21	7.06+2.05

[0187] -*p＜0.05；**p＜0.01，与基线比较（Wilcoxon）

[0188] -a p＜0.05与无效剂比较，绝对值，Mann Whitney U检验。

[0189] -〃 p＜0.05与无效剂比较（Mann Whitney U检验）

[0190] -〃〃 p＜0.01与无效剂比较（Mann Whitney U检验）。

[0191] 实施例13

[0192] 一组患II型血脂蛋白过多症的病人在8周仅食用规定饮食后（基线），服用含15

毫克组合物的片剂。在基线处和在治疗 8 周后测定血脂分布。主要结果总结在表 16 中。含有 M. H. P. A. A. 的制剂将血清总胆固醇显著地降低 16.44%，LDL-C 降低 23.51%。

[0193] 图 8 显示 M. H. P. A. A. 对患 II 型血脂蛋白过多的病人血脂分布的影响因此胆固醇、LDL-C 和 HDL-C 的变化示以平均值，而甘油三酯的变化则为中值。HDL-C 增加 6.40%，而甘油三酯和极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C) 分别减少 7.80%和 10.83%，但是这些变化在统计学上不显著。表 17 中列出了 LDL-C 与 HDL-C 之比和胆固醇与 HDL-C 之比的变化，它们分别显著地减少了 29.07%和 23.72%。

[0194] 表 16 :M. H. P. A. A. 对患 II 型血脂蛋白过多的病人血清脂分布和脂蛋白的影响

[0195]

参量	n	基线 (X + SD)	n	8 周 (X + SD)
胆固醇	25	7.84+1.14	25	6.50+1.21 ****
LDL-C	17	5.86+1.11	18	4.33+1.32 **
HDL-C	19	1.03+0.44	20	1.21+0.46
甘油三酯	19	2.30+1.42	20	2.14+1.06
VLDL-C	19	1.05+0.64	20	0.97+0.48

** p < 0.01; **** p < 0.0001 (Wilcoxon 检验)

[0196] 表 17 :M. H. P. A. A. 对患 II 型血脂蛋白过高的病人 LDL-C/HDL-C 和胆固醇 /HDL-C 比值的影响

[0197]

参数	n	基线 (X + SD)	n	8 周 (X + SD)
LDL－C／HDL－C	17	6.34+2.79	18	3.82+1.55 **
胆固醇／HDL－C	19	8.83+3.49	20	6.07+2.17 **

** p < 0.01 (Wilcoxon 检验)

[0198] 实施例 14

[0199] 首先，研究 M.H.P.A.A. 的作用和它对腺苷二磷酸 (ADP) 和胶原诱发的大鼠血小板聚集的影响。将一群重 250 至 350 克的雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机地分成两个实验组。用胃饲管口服 M.H.P.A.A. 在阿拉伯胶 - 水介质的悬浮液 4 周。2 组中一个是只服用介质的对照组，另一组则用 M.H.P.A.A. 处理 (25 毫克 / 千克)。为进行血小板聚集的鉴定，将大鼠在乙醚气氛中麻醉。打开腹部由腔静脉抽血 5 毫升，与 3.8％的柠檬酸钠混合 (每 9 体积血用 1 体积的柠檬酸钠)。将血液离心，得到富血小板的血浆 (PRP)。将 PRP 液在 330xg 下离心 15 分钟，得到贫血小板的血浆 (PPP)。用腺苷二磷酸和胶原诱发血小板聚集，用一台 Payton 集合度计按文献所述进行测定 (McGregor L.，Moranzain R. 和 Renaud S. ；1980 ；食用亚油酸对大鼠血小板功能的影响 ；Thrombosis Res. 20，499)。用非参数的 Mann-Whitney U 检验比较治疗组与对照组之间的结果。用 25 毫克 / 千克的 M.H.P.A.A. 治疗 4 周的大鼠，在服用亚最高剂量的腺苷二磷酸和胶原时，显著地抑制了体外血小板的聚集。

[0200] 图 9 显示服用 M.H.P.A.A. 一个月的大鼠腺苷二磷酸渗诱发的血小板聚集，图 10 显示服用 M.H.P.A.A. 一个月的大鼠胶原诱发的血小板聚集 ($P << 0.05$，Mann-Whitney U 检验，15 厘米％透光率)。大鼠口服 M.H.P.A.A. 四周显著抑制腺苷二磷酸和胶原诱发的血小板聚集这一事实，说明 M.H.P.A.A. 作为抗血小板药物起作用。

[0201] 实施例 15

[0202] 为了检验 M.H.P.A.A. 对大鼠体外血小板聚集的影响，进行了它的抗血小板聚集作用时间过程的研究。为此，将重 250 至 350 克的两种性别的 Sprague-Dawley 大鼠分成四个组 ：一个对照组和三个分别用单剂量为 25、50、和 200 毫克 / 千克 M.H.P.A.A. 处置的实验组。另外，在服用 200 毫克 / 千克的剂量 2、6 和 24 小时之后，研究对血小板聚集的影响。

[0203] M.H.P.A.A. 用实施例 14 中所述的方法制备，以一次剂量的形式在实验前 2 小时口服给药。对照的动物服用相同体积的介质，所有的动物均禁食，但是在实验前 20 小时自由饮水。用乙醚将所有的动物麻醉，从腔静脉抽血，与 3.8％的柠檬酸钠混合 (每 9 体积血加 1 体积抗凝剂)。将血在 250g 离心 10 分钟以得到富血小板的血浆 (PRP)。一旦分离出 PRP，将剩余的部分在 1300g 离心 15 分钟，得到贫血小板的血浆 (PPP)。

[0204] 用浊度法定量测定血小板聚集度 (Born G.，1962 ；腺苷二磷酸引起的血小板聚集及其解聚 ；Nature(London)194，927-929)。将仪器较正为对 PRP 透光率为 0％、对 PPP 为 100％，然后测定血小板聚集度。记录聚集曲线 5 分钟。图 11 显示 M.H.P.A.A. 对大鼠富血小板血浆中腺苷二磷酸诱发的血小板聚集的影响，$P << 0.05$(Mann-Whitney U 检验)。结果用最大聚集百分数 (％) 表示。各组之间用 Mann-Whitney U 检验 ($P << 0.05$) 比较。

[0205] 在采血样前 2 小时服用 M.H.P.A.A.(50 和 200 毫克 / 千克) 抑制了腺苷二磷酸诱发的血小板聚集，而较低的剂量 (25 毫克 / 千克) 没有明显改变对腺苷二磷酸的响应。选择最高剂量的 M.H.P.A.A.(200 毫克 / 千克) 研究抗血小板作用的时间过程。

[0206] 图 12 显示 M.H.P.A.A. 对浓度为 2 微摩尔 / 升，$P << 0.01$ 的腺苷二磷酸诱发的血小板聚集的影响。虽然在 2 小时后血小板的聚集被明显地抑制，但是 6 小时后这种抑制作用就变成不很明显 ($P = 0.06$)，而在 24 小时后已得不到统计学上有意义的结果。结果表明，在采血 2 小时前让大鼠口服多二十烷醇，在用 50 和 200 毫克 / 千克的 M.H.P.A.A. 处置的大鼠的 PRP 中以与剂量依赖的关系抑制了腺苷二磷酸诱发的血小板聚集。M.H.P.A.A. 对

腺苷二磷酸诱发的聚集的抑制作用是可逆的，因为在用它以 200 毫克 / 千克的剂量处理 6 小时后，对血小板聚集的抑制作用已不很明显，而在处理 24 小时后，观察到效果丧失，说明 M.H.P.A.A. 不会造成永久性的细胞变性。

[0207] 实施例 16

[0208] 研究了 M.H.P.A.A. 对大鼠体内静脉血小板聚集的影响和对小鼠胶原诱发的死亡率的影响。将重 250 至 300 克的 Sprague Dawley 雄大鼠和重 20 至 25 克的 57BL6 雌性小鼠随机地分成几个实验组。M.H.P.A.A. 按实施例 14 所述制备，乙酰水杨酸 (ASA) 则溶解在 5％的 $NaHCO_3$ 中。在鉴定前 2 小时用管饲法口服药物。在口服药物 16 小时前动物禁食。雄大鼠按 1 毫升 /100 克体重、小雌鼠按 0.5 毫升 /20 克体重服药，对照动物则服用相当体积的介质。在大鼠的静脉内血小板聚集研究中使用四个实验组 :1) 对照组、2)、3) 和 4) 组分别服用 5、10 和 20 毫克 / 千克的 M.H.P.A.A.。将动物用戊巴比妥钠腹膜内麻醉 (30-40 毫克 / 千克)。在将 30 毫克 / 千克的胶原注射到阴茎静脉中之前和 9D 秒之后，将一根套管插到颈总动脉中采取血样。有明显的保护作用，从而

[0209] 在含有 0.7 毫克 / 毫升消炎痛和 19 毫克 / 毫升 EDTA 的 100 微升混合物的塑料管中收集 900 微升血。取一部分通过光学显微镜计数测定各样品中的血小板浓度。然后将血液离心，血浆丙二醛 (MDA) 浓度通过硫巴比妥酸法定量测定 (Satoh M.，1978 ；测定脑血管障碍中血脂过氧化物的新比色法 ；Clin Chim.Acta 90，34-43)。注射胶原之后血小板计数和血浆 MDA 浓度的变化用基线值的百分数表示。对照组和处理组之间的差异性用 Mann-Whitney U 检验法确定。

[0210] 为了研究胶原诱发的大鼠死亡率，将实验分组如下 :

[0211] 1) 对照组 :动物只服用介质，但是用静脉内注射胶原法诱发死亡 ；2) 在注射胶原 2 小时前，用 360 毫克 / 千克体重的 M.H.P.A.A. 预先处理动物 ；3) 在诱发死亡前 1、4、8 和 24 小时，用 360 毫克 / 千克体重的 M.H.P.A.A. 预先处理动物 ；4) 在检测前 2 小时，用 180 毫克 / 千克体重和 M.H.P.A.A. 和 50 毫克 / 千克体重的 ASA 对动物预处理。

[0212] 按文献所述制备 III 型酸溶的小牛皮胶原 (Kimura Y.，Kaube T. 和 Watanabe K.，1985 ；Celostagel 对血小板聚集和实验血栓形成的影响 ；Arzneim Forsch Drug Res.35，114-1148)，以最终浓度为 2.5 毫克 / 毫升使用。通过眼眶后血管丛注射，剂量为 0.1 毫升 /20 克体重。这一剂量造成对照动物 60％至 100％的死亡率。对照动物和处理过的动物之间死亡百分率的比较用 Fischer 正合概率检验法进行。

[0213] 图 13 显示 M.H.P.A.A. 对大鼠静脉内血小板聚集的影响，P ＜＜ 0.05 ；P ＜＜ 0.01(Mann WhitneyU 检验)。M.H.P.A.A. 明显地抑制了由胶原诱发的循环血小板计数的减少和血浆中 MDA 浓度的同时增加。

[0214] 图 14 显示 M.H.P.A.A. 对胶原诱导的 C57BL6 小鼠死亡率的影响，P ＜＜ 0.01(Mann-Whitney U 检验)。360 毫克 / 千克体重的 M.H.P.A.A. 使胶原诱发的死亡率大大降低。对胶原致死的这种保护效果是在检测前 1 和 4 小时服用这一剂量时观察到的，但是在检测前 8 小时服用则不显者。图 15 显示 M.H.P.A.A. 对胶原诱导的 C57BL6 小鼠死亡率的影响，P ＜＜ 0.05(Mann-Whitney U 检验)。

[0215] 图 16 显示 M.H.P.A.A. 和 ASA 混合服用对胶原诱导小鼠死亡率的影响，P ＜＜ 0.01(Fishcr′ s 正合概率检验)。M.H.P.A.A.(180 毫克 / 千克体重和 ASA(50 毫克 /

千克体重）的结合应用也造成胶原致死率在统计学意义上的显著降低，而当二者单独服用时均无效果。

[0216] 单独服时无效的 M.H.P.A.A. 剂量和 ASA 剂量，在一起用时有明显的保护作用，从而表明 M.H.P.A.A. 和 ASA 的抗血栓形成效果有协同作用。

[0217] 实施例 17

[0218] 为了分析 M.H.P.A.A. 对大鼠大脑梗塞的影响，将体重 290 至 330 克的 Sprague Dawley 雄鼠分成以下实验组：1) 阴性对照组：未结扎的大鼠只用胃管饲法服用介质；2) 阳性对照组：结扎的大鼠也用胃管饲法服用介质；3) 和 4)：结扎的大鼠用同样的途径分别服用 M.H.P.A.A.（5 和 25 毫克 / 千克体重）。不同的治疗组逐日服用 4 周。最后一组如这种模型中通常采用的那样，在结扎前 12 小时和结扎后 8 和 24 小时服药。

[0219] 为了诱发大脑局部缺血，将动物轻微地麻醉，通过将颈总动脉双侧结扎造成血量减少。紧接着皮下注射硝普酸钠 (0.8 毫克 /250 克体重）以造成动脉低血压。60 分钟后取下颈动脉夹，观察动物 72 小时，然后杀死。迅速取出大脑，在 80℃的烘箱中放置 24 小时。测定湿重和干重以确定水含量（水肿），采用以下公式：

[0220]

$$\text{水肿} = \frac{\text{湿重} - \text{干重}}{\text{湿重}} \times 100$$

[0221] 采用非参量的 Mann-Whitney U 检验对结果进行统计分析。逐日服用 25 毫克 / 千克体重的 M.H.P.A.A. 4 周能显著减轻大脑水肿 ($P << 0.05$)。这一剂量也减少了死亡率和患水肿动物的百分数，虽然另外这两项降低没有达到显著的水平。这些发现表明，服用 25 毫克 / 千克体重的 M.H.P.A.A. 对实验诱发的鼠脑局部缺血有明显的保护作用，因为大脑水肿大大减轻。所治疗的动物中显示出大脑水肿面积的百分数也有减小，但是这一减小未达到显著的水平（见表 18）。

[0222] 表 18：M.H.P.A.A. 对大鼠诱发性大脑缺血的影响

[0223]

实验组	剂量（毫克／千克）	百分数 水肿	死亡	动物
(－) 对照	0	79.3+/-0.39	---	---
(＋) 对照	0	80.1+/-0.82	35	54.5
M.H.P.A.A.	5	80.0+/-0.91	40	33.3
M.H.P.A.A.	25	79.5+/-0.49*	28	7.6

[0224] (-) 对照：阴性对照；(+) 对照：阳性对照；* 与阳性对照相比差异明显；$p << 0.05$ (Mann-Whitney U 检验）。

[0225] 实施例 18

[0226] 为研究 M.H.P.A.A. 和阿斯匹林对于诱发的大鼠大脑缺血症的协同效应，将重 250 至 300 克的雄性 Sprague Dawley 鼠分成 5 组：1) 阴性对照（未结扎的鼠）；2) 阳性对照（只服用介质的结扎的动物）；3) 管饲法口服 25 毫克 / 千克体重的 M.H.P.A.A. 的动物；4) 口服溶在 5％碳酸氢钠溶液中的 30 毫克 / 千克体重的 ASA 的动物；5) 口服 ASA(30 毫克 / 千克体重）+M.H.P.A.A.(25 毫克 / 千克体重）的大鼠在实验前 2 小时服药。

[0227] 为了诱发局部缺血，将动物用乙醚轻微麻醉，分离出颈总动脉并结扎之。然后皮下注射硝普酸钠 (0.8 毫克 /250 克体重）造成低血压。60 分钟后取下动脉夹，观察动物 24 小时。将它们杀死，立即取出大脑，在 80℃的烘箱中放置 24 小时以确定含水量。用非参量的 Mann-Whitney U 检验分析结果。图 17 显示 M.H.P.A.A. 和 ASA 对大鼠脑缺血的协同作用，P ＜＜ 0.01(Mann-Whitney U 检验）。上述剂量的 M.H.P.A.A. 和阿斯匹林在分别给动物服用时都不能明显减轻大脑缺血。但是，当它们一起服用时，得到明显的保护作用。这些结果证实在 M.H.P.A.A. 和 ASA 的抗局部缺血效能之间有协同作用。

[0228] 实施例 19

[0229] 采用两种性别的蒙古沙土鼠（体重 60-80 克），事先使其适应实验室条件一周。用胃管饲法服用悬浮在 Tween-20 水溶液介质中的 M.H.P.A.A.。将这些动物随机地分成以下几组：

[0230] (1) 阳性对照（结扎的动物，只服用介质）；(2)M.H.P.A.A.(50 毫克 / 千克体重）；(3)M.H.P.A.A.(300 毫克 / 千克体重）。所有治疗药物都在诱发大脑缺血前 2 小时服用。将左颈总颈动脉暴露，在乙醚麻醉下用外科手术线双重结扎。观察各动物的行为 24 小时，记录大脑缺血的临床症状，例如转圈、周而复始的痉挛以及癫痫等。同时记录死亡率。用 Fischer 正合概率检验法统计比较各组死亡率和临床症状的频度。图 18 显示 M.H.P.A.A. 对诱发的蒙古沙土鼠中大脑梗塞的影响，P ＜＜ 0.05(Mann-Whitney U 检验）。结果表明，这种治疗减轻了临床症状并且大大降低了死亡率。

[0231] 众所周知，在结扎颈总动脉之后约 60％的蒙古沙土鼠产生了神经病态缺陷，例如转圈行为和周期性痉挛。这些症状与约 2/3 这些动物的颅底点和颈动脉系统之间的连结动脉不完善或不存在有关。另外，几乎 80％的显示出临床症状的动物在结扎后 72 小时内死亡。

[0232] 因为难以鉴定全部脑区大脑梗塞形成的严重程度，而死亡率则容易定量判定，所以通常用此参量评价被认为是抗局部缺血的药物。我们的结果表明，M.H.P.A.A.(200 毫克 / 千克体重）对蒙古沙土鼠因一侧结扎颈总动脉造成的脑体缺血有明显的保护作用。因此，说明 M.H.P.A.A. 可用于防止脑体缺血的产生。

[0233] 实施例 20

[0234] 研究了 M.H.P.A.A. 对各种药物诱发的胃溃疡的影响。使用体重 200 至 220 克的两种性别的 Sprague Dawley 大鼠。使动物适应实验室条件一周，水和食物任意。在 24 小时禁食之后，将鼠随机地分成两个实验组。第一组在腹膜内注射悬浮在 Tween 20/ 水介质中的 M.H.P.A.A.(25 毫克 / 千克体重），第二组（对照组）只接受相同体积的介质。在每种情形里，都对对照组和治疗组进行诱发不同类型的药物诱致胃溃疡的实验步骤（每类溃疡使用两组）：

[0235] A) 用 C4880(Sigma) 实验诱发的胃溃疡。实验步骤与 Awouters F.，Nemegeens

CJE 和 Jansken PAJ 所述的相似 (1985 :大鼠肥大细胞 5-HT 胃损伤试验的药理分析和氟哌喹酮的影响 ;Drug. Div. Res. 5,303-312)。为此,皮下注射 10 毫克 / 千克体重的联苯羟基胺,30 分钟后静脉内注射 C4880。在施用 C4880 4 小时后将动物杀死,迅速取出胃,沿长度方向切开胃大弯,用蒸馏水洗。然后,暴露出胃粘膜,用放大镜测量损伤面积。将结果用显示损伤的面积百分数表示。在这种方式里,在注射联苯羟基胺 30 分钟之前服用预疗药物 (M. H. P. A. A. 或介质)。

[0236] B) 乙醇诱发的溃疡。试验步骤按 Zengil H、Onik E、EreanTS 和 Tarker RK 所述进行 (1987 :ilopnost 和 UK 38485 对于各种刺激物造成的胃粘膜损伤的保护作用 ; ProstaglandinsLeukotrienes and Medicine,30,61-67)。为此,在施用 M. H. P. A. A. 或介质 1 小时之后,用胃管饲法使大鼠口服 40% 的乙醇 (1 毫升 / 每只鼠)。2 小时后将鼠杀死,如上所述定量测定胃溃疡。

[0237] C)ASA 诱发的胃溃疡 :根据前一节中引用的同一作者的方法进行试验。在用 M. H. P. A. A. 或介质处理 1 小时后,令大鼠口服 ASA(100 毫克 / 千克体重)。2 小时后将鼠杀死,如上所述测定胃溃疡。用非参量的 Mann-Whitney U 检验法比较对照组和用 M. H. P. A. A. 处理组。图 19 显示 M. H. P. A. A. 对 C4880 和乙醇诱发的胃溃疡的影响,P ＜＜ 0.05。腹膜内施用 M. H. P. A. A. (25 毫克 / 千克体重) 显著抑制了由 C4880、乙醇和 ASA 诱发的胃溃疡。另外,正如可以从表 19 看到的,口服 M. H. P. A. A. 不仅减少了 TxB_2,而且也使 PgI_2 增加,从而大大地降低了 TxB_2 与 PgI_2 之比。

[0238] 表 19 :M. H. P. A. A. 和 ASA 对小鼠血清中 TxB_2 含量和 6 酮 PgF1a 的影响

[0239]	TxB_2	6酮PgF1a	TxB_2/
[0240]	(纳克/毫升)	(纳克/毫升)	6酮PgF1a
[0241]			指数
[0242] 对照	286+16.7	1.65+0.26	173
[0243] ASA			
[0244] (50毫克/千克)	36.3+13.3**(a)	1.12+0.41	46.5*
[0245] (180毫克/千克)	182+31.9**(b)	3.91+0.4*	32.4**
[0246] M. H. P. A. A.			
[0247] +ASA	9.25+5.4**(c)	1.57+0.16	5.8***

[0248] *p ＜ 0.05 ;**p ＜ 0.01 ;a ＝ b ＝ c(Mann whitney U 检验)

[0249] 由 M. H. P. A. A. 引起的对 TxB_2 含量的抑制和 PgI_2 的增加可以解释该混合物对胃溃疡的保护作用。因此,当同时用 M. H. P. A. A. 和 ASA 时,观察到 TxB_2 对 PgI_2 之比大大减小。另外,这一机制也可以解释醇混合物对其它药物诱发的胃溃疡的作用。

[0250] 实施例 21

[0251] 对于年龄从 25 到 70 岁的两种性别患 II 型高血脂蛋白的 45 名门诊病人,在双盲条件下一天一次服用 M. H. P. A. A. 或无效对照片剂 6 周 (治疗的病人每天服用 5 毫克 M. H. P. A. A.)。在治疗前和治疗后研究以下参量 :出血时间、血小板计数、凝血酶原时间、抗凝血酶 III 活性、溶血时间、血浆优球蛋白、腺苷二磷酸诱发的血小板聚集度和丙二醛 (MDA) 浓度。

[0252] 表 20 总结了数据。这些数据表明,与凝固过程有关的参量没有一个受到影响,而在由腺苷二磷酸诱发血小板聚集的各组之间有显著差别。另外,也观察到丙二醛的不很明显的减少 (P ＝ 0.058)。

[0253] 表 20 :M.H.P.A.A. 治疗对患 II 型血脂蛋白过多的病人血液凝固和血小板聚集的影响

[0254]	分析时间	无效对照剂	M.H.P.A.A.
[0255]			(5毫克/天)
[0256] 出血时间	0	2′ 47″ +/-1′ 26″	2′ 31″ +/-1′ 24″
[0257]	6周	2′ 10″ +/-1′ 34″	2′ 08″ +/-1′ 06″
[0258] 皿小板计数	0	201.23+/-29.98	198.13+/-39.48
[0259]	6周	188.55+/-35.99	175.33+/-40.87
[0260] 凝血酶原时间	0	13.67+/-1.80	14.43+/-4.18
[0261]	6周	13.40+/-1.10	13.69+/-2.25
[0262] 纤维蛋白原	0	2.64+/-0.46	2.84+/-0.54
[0263]	6周	2.81+/-0.52	2.92+/-0.44
[0264] 抗凝血酶III活性	0	79.95+/-7.50	82.86+/-11.
[0265]	6周	91.78+/-9.69	93.67+/-14.62
[0266] 溶血时间	0	247.27+/-30.10	230.43+/-48.19
[0267]	6周	248.64+/-55.72	228.48+/-45.39
[0268] 血浆优球蛋白	0	35.79+/-18.18	36.93+/-20.93
[0269]	6周	47.59+/-21.29	30.98+/-24.19
[0270] 腺苷二磷酸	0	48.98+/-16.28	52.27+/-24.26
[0271]	6周	56.97+/-24.77	27.45+/-24.81++
[0272] 丙二醛	0	2.99+/-1.75	2.45+/-2.31a
[0273]	6周	2.79+/-1.28	1.76+/-1.67

[0274] a P = 0.058

[0275] ++ P < 0.01(Mann Whitney U 检验).

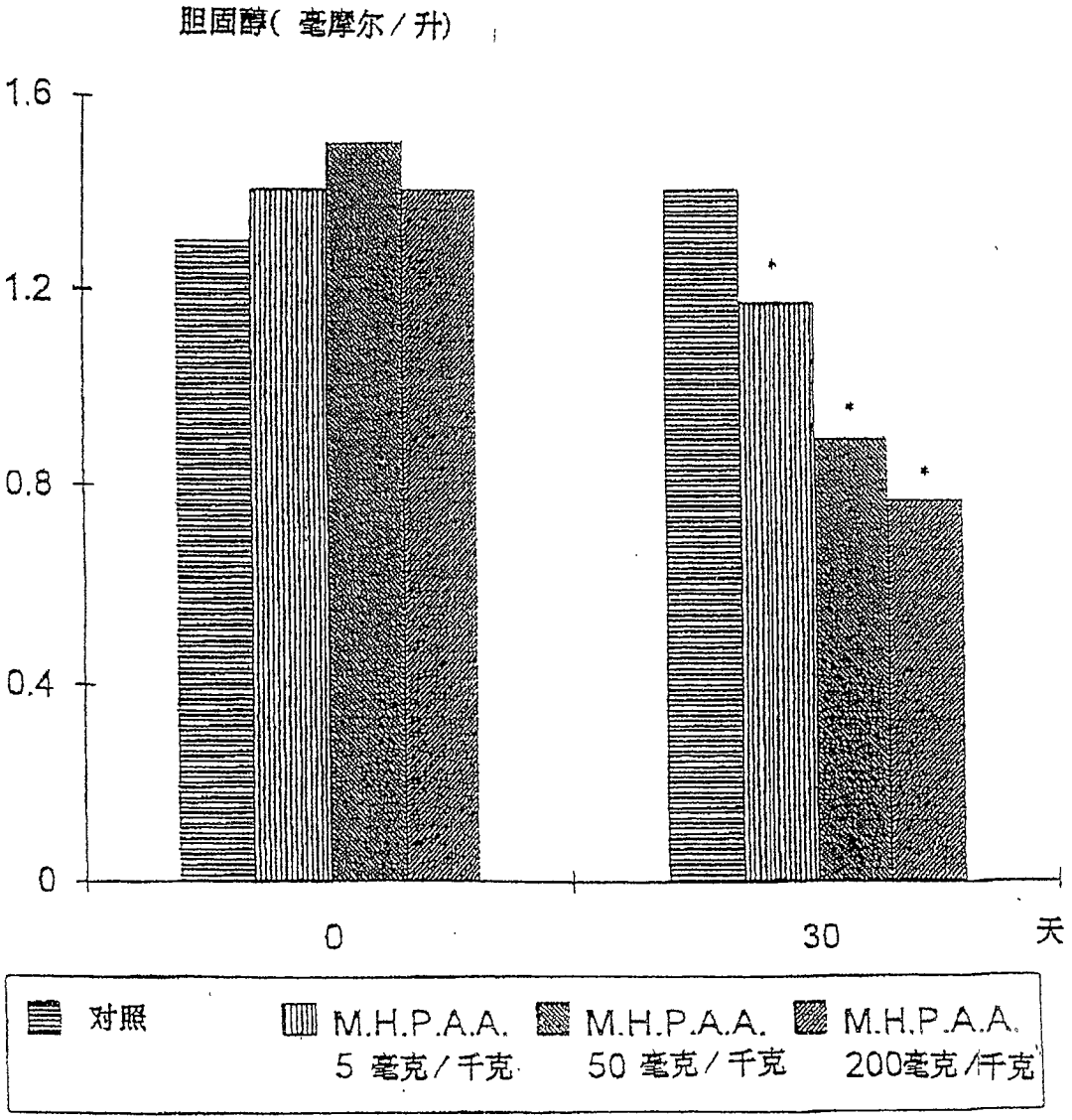

胆固醇(毫摩尔 / 升)
1.6
1.2
0.8
0.4
0
0
30
天
对照
M.H.P.A.A.
5 毫克 / 千克
M.H.P.A.A.
50 毫克 / 千克
M.H.P.A.A.
200毫克 /千克

图 1

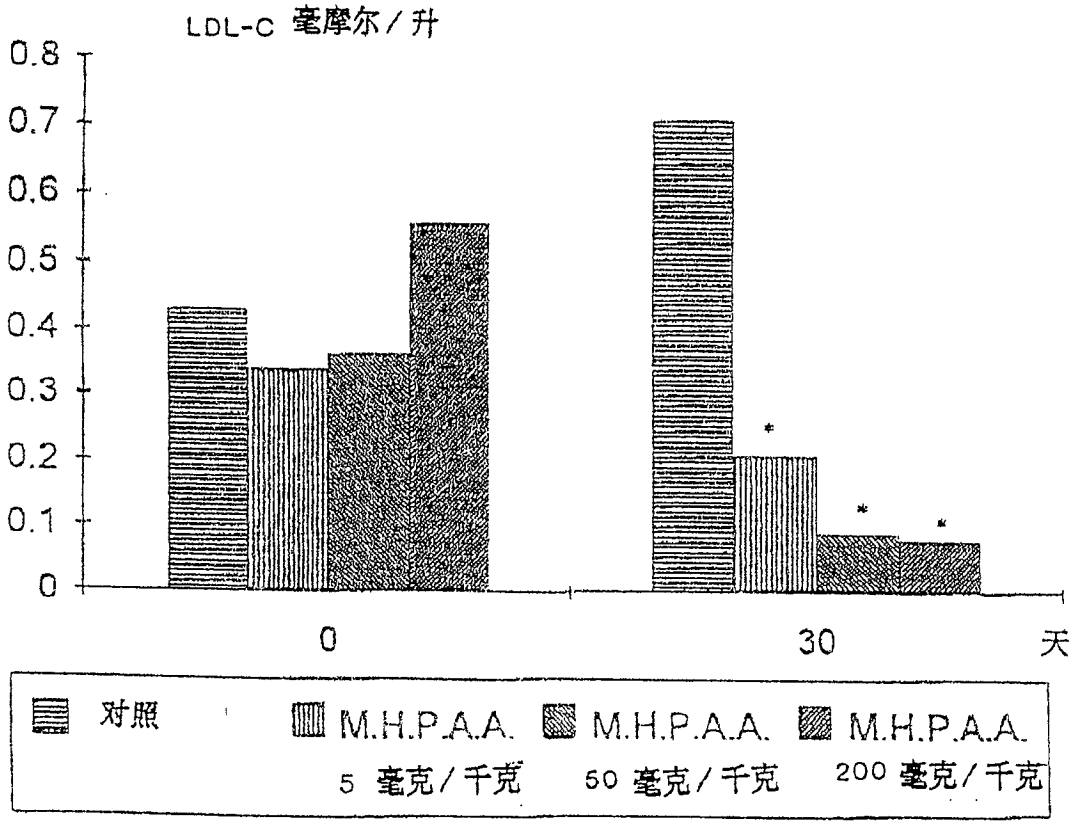

LDL-C 毫摩尔/升
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
30
天
对照
M.H.P.A.A.
5 毫克/千克
M.H.P.A.A.
50 毫克/千克
M.H.P.A.A.
200 毫克/千克

图 2

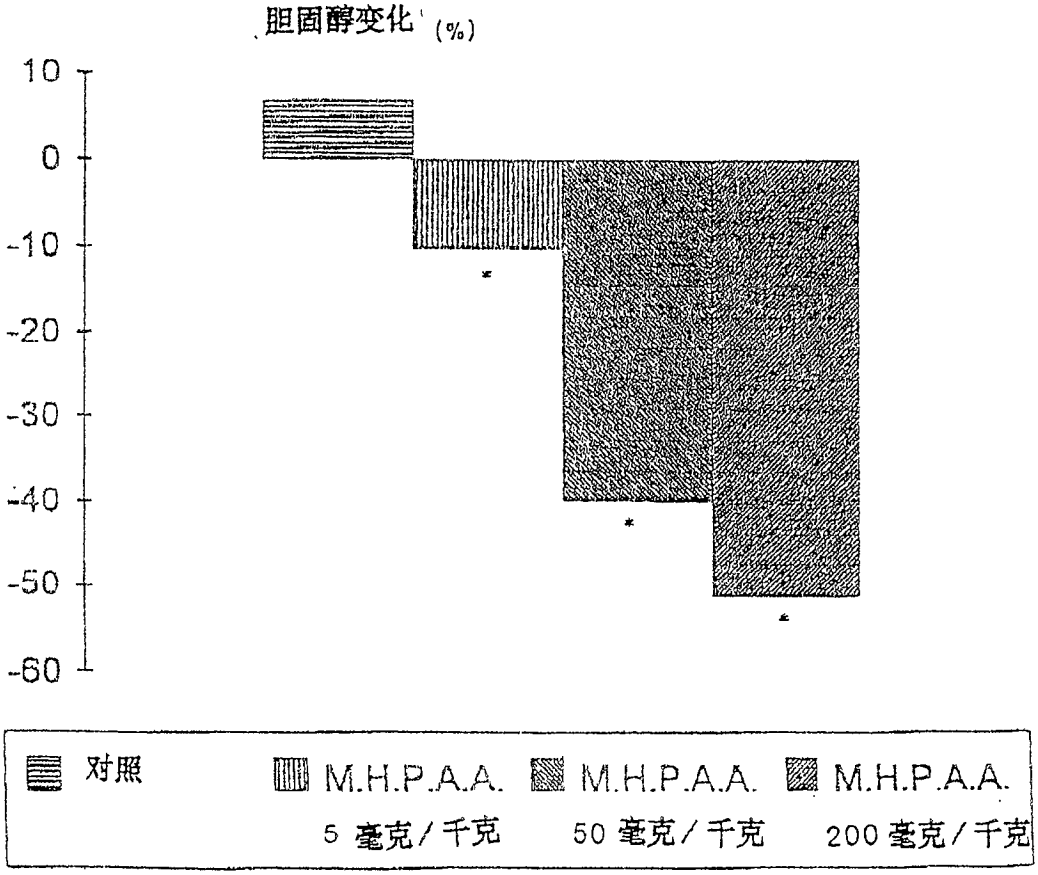

胆固醇变化 (%)
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
*
*
*
对照
M.H.P.A.A. 5 毫克/千克
M.H.P.A.A. 50 毫克/千克
M.H.P.A.A. 200 毫克/千克

图 3

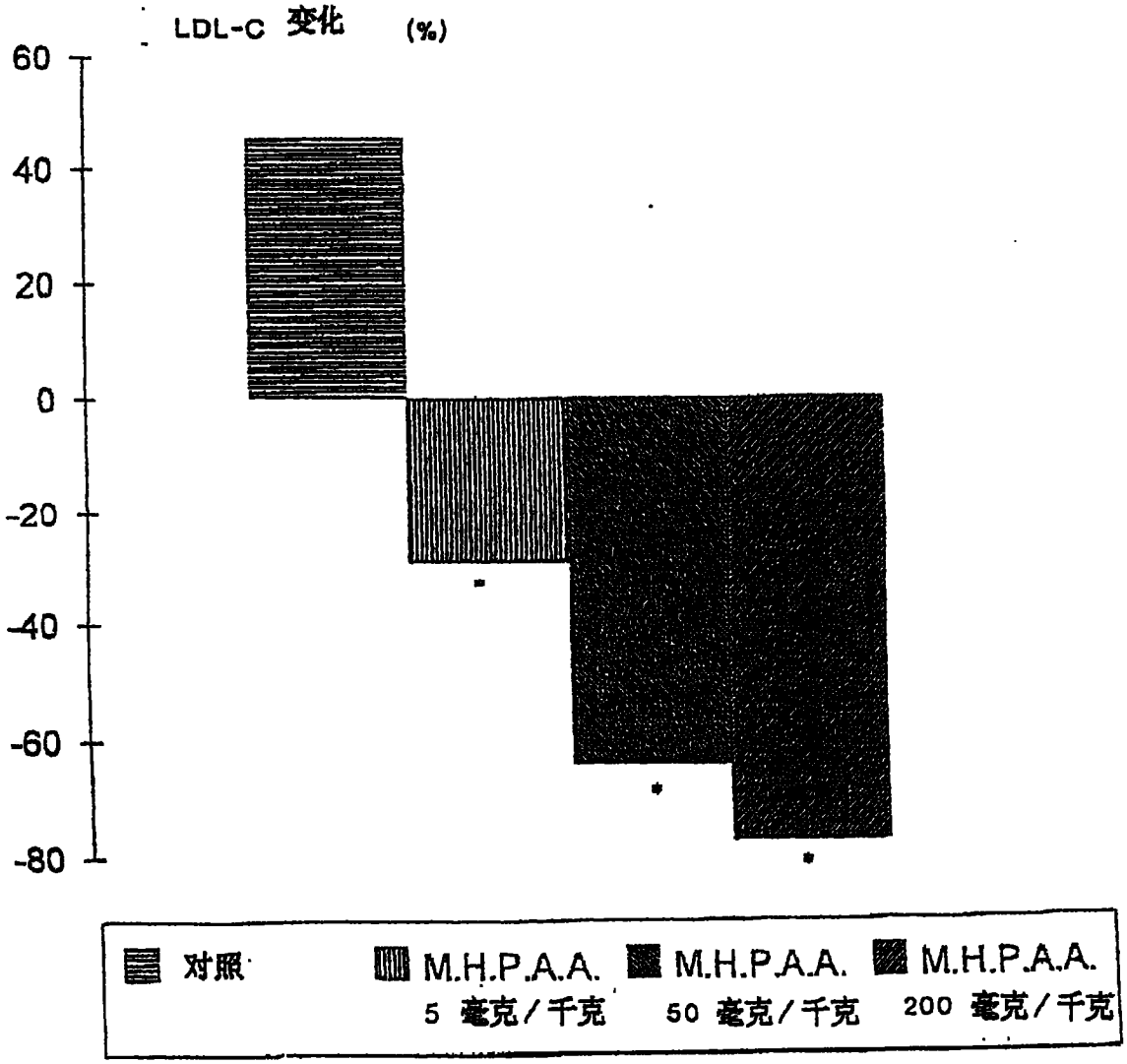

LDL-C 变化 (%)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
*
*
*
对照
M.H.P.A.A.
5 毫克/千克
M.H.P.A.A.
50 毫克/千克
M.H.P.A.A.
200 毫克/千克

图 4

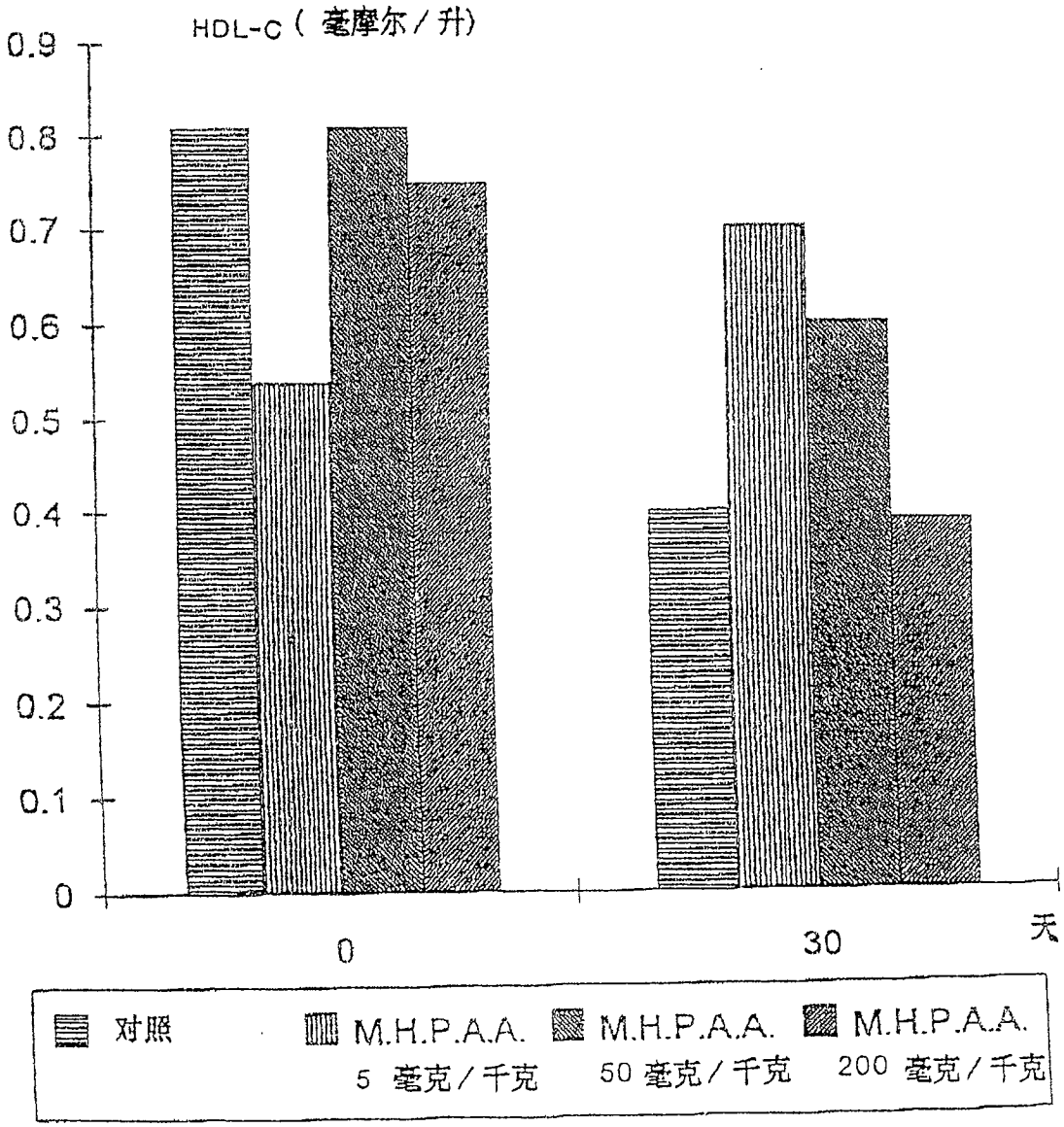

HDL-C（毫摩尔/升）
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
30
天
对照
M.H.P.A.A. 5 毫克/千克
M.H.P.A.A. 50 毫克/千克
M.H.P.A.A. 200 毫克/千克

图 5

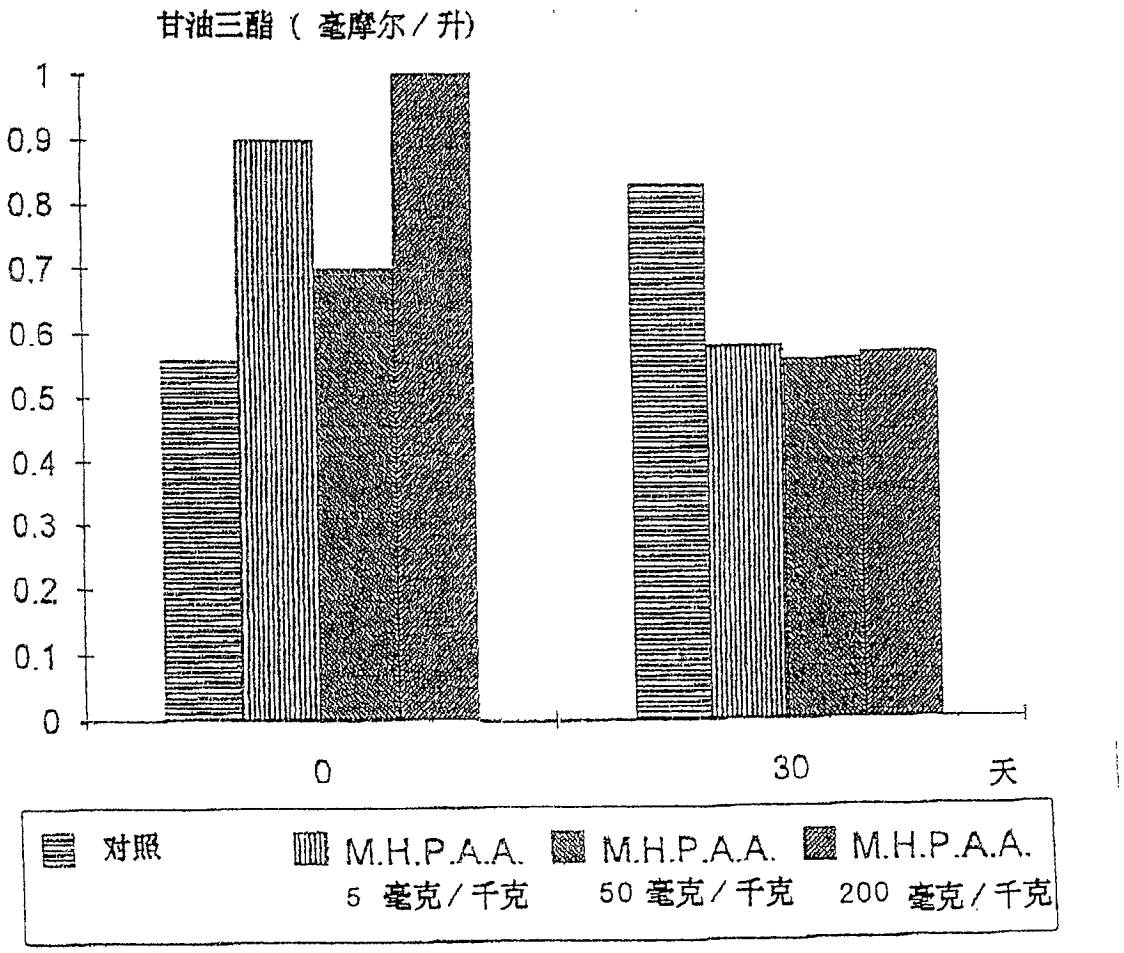

甘油三酯（毫摩尔/升）
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
30
天
对照
M.H.P.A.A.
5 毫克/千克
M.H.P.A.A.
50 毫克/千克
M.H.P.A.A.
200 毫克/千克

图 6

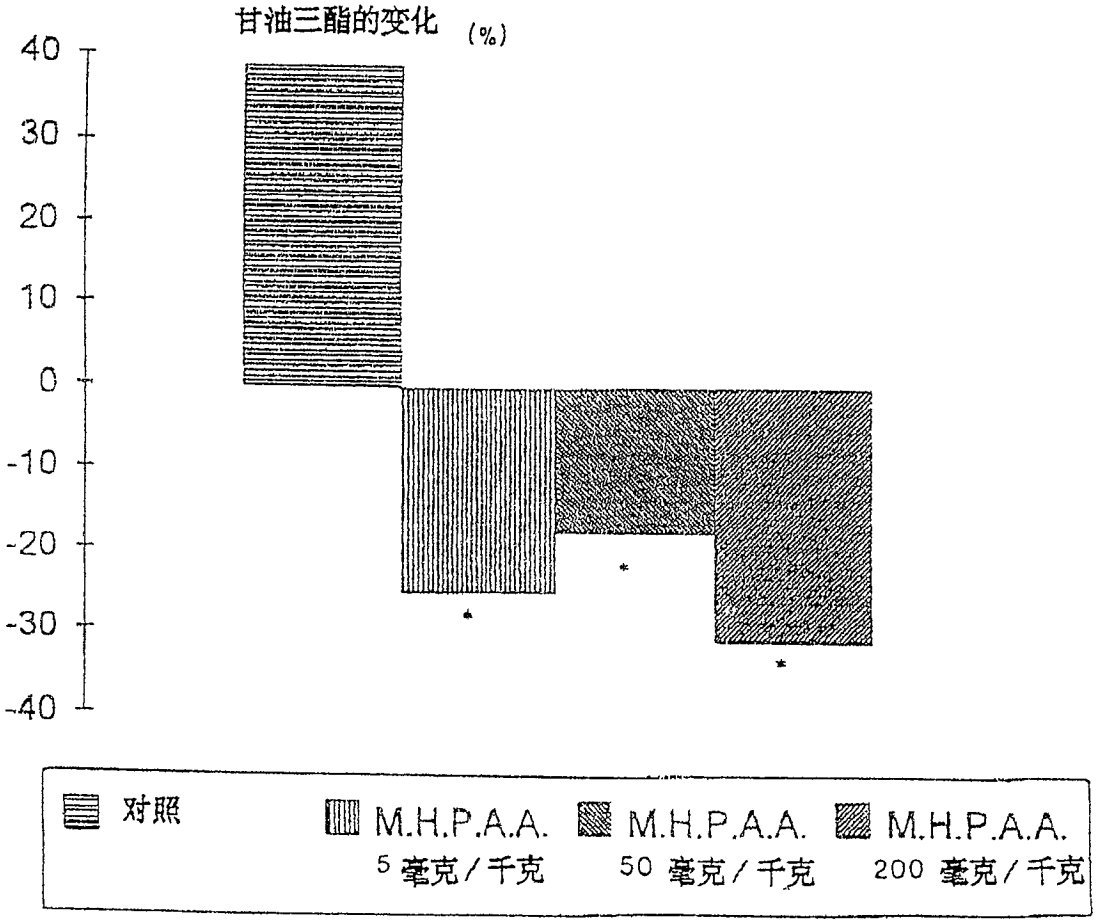

甘油三酯的变化 (%)
40
30
20
10
0
-10
-20
-30
-40
*
*
*
对照
M.H.P.A.A. 5 毫克/千克
M.H.P.A.A. 50 毫克/千克
M.H.P.A.A. 200 毫克/千克

图 7

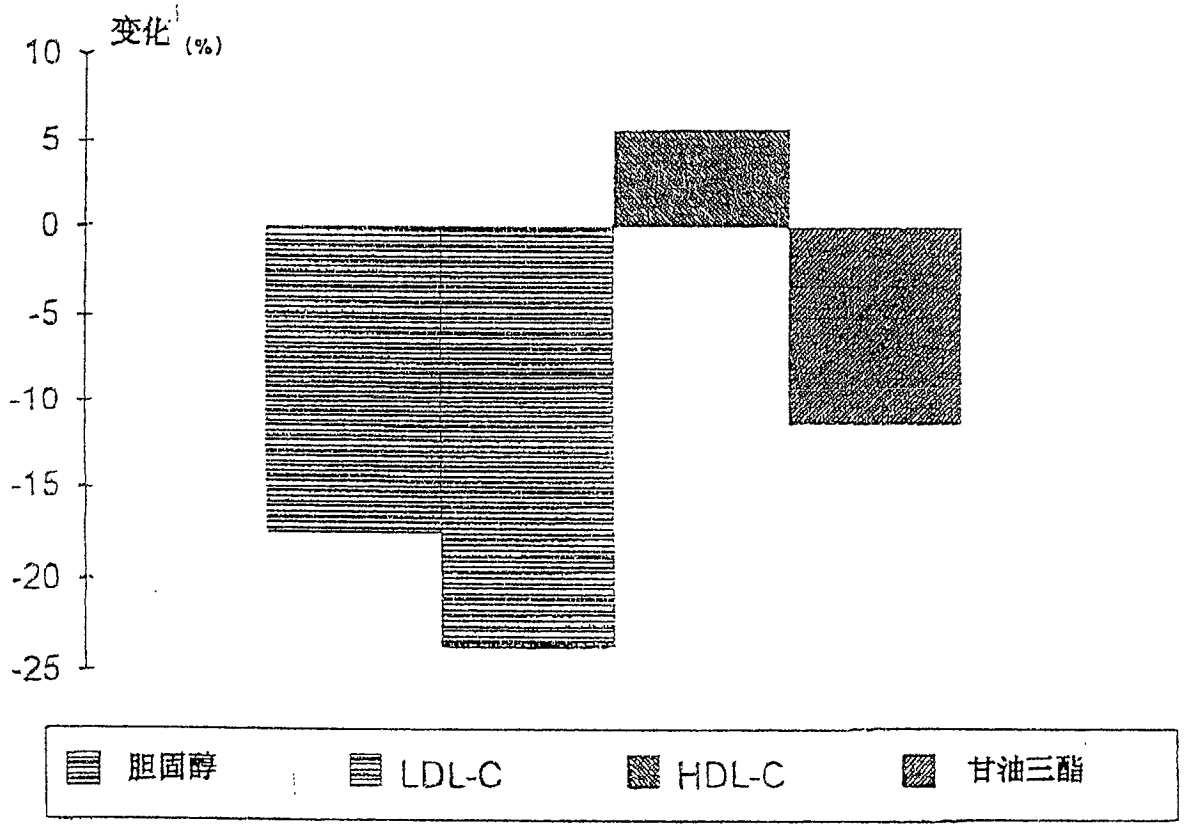

变化 (%)
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
胆固醇
LDL-C
HDL-C
甘油三酯

图 8

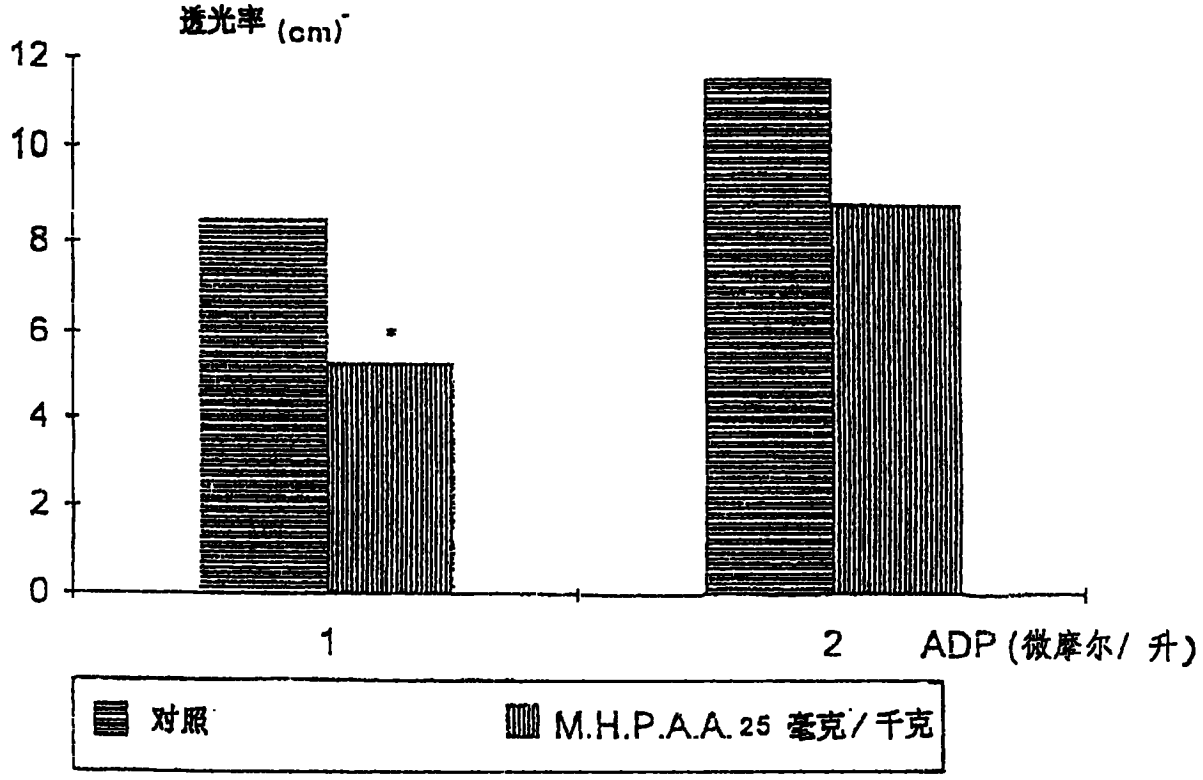

透光率 (cm)
12
10
8
6
4
2
0
1
2
ADP (微摩尔/ 升)
对照
M.H.P.A.A.25 毫克/千克

图 9

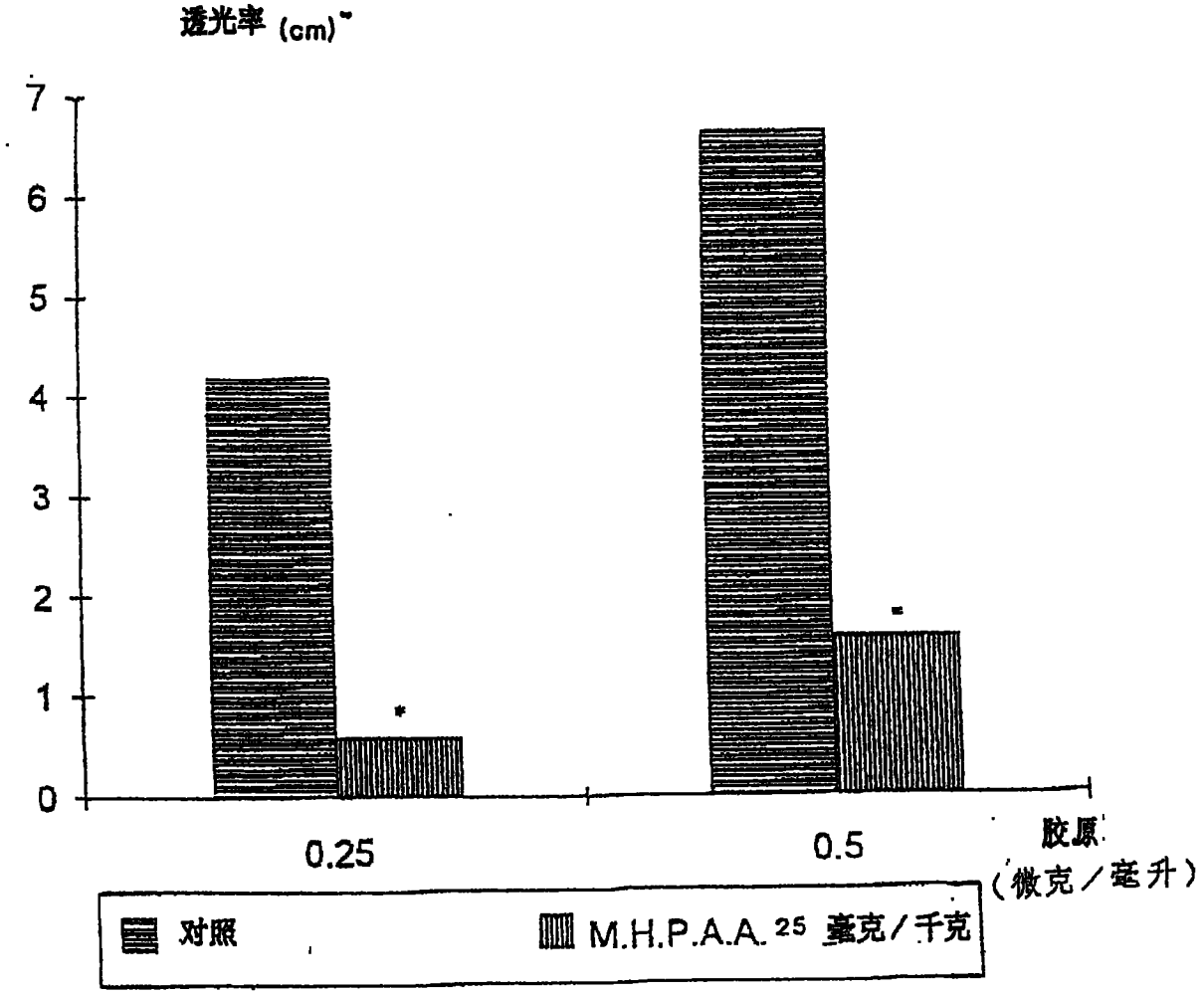


图 10

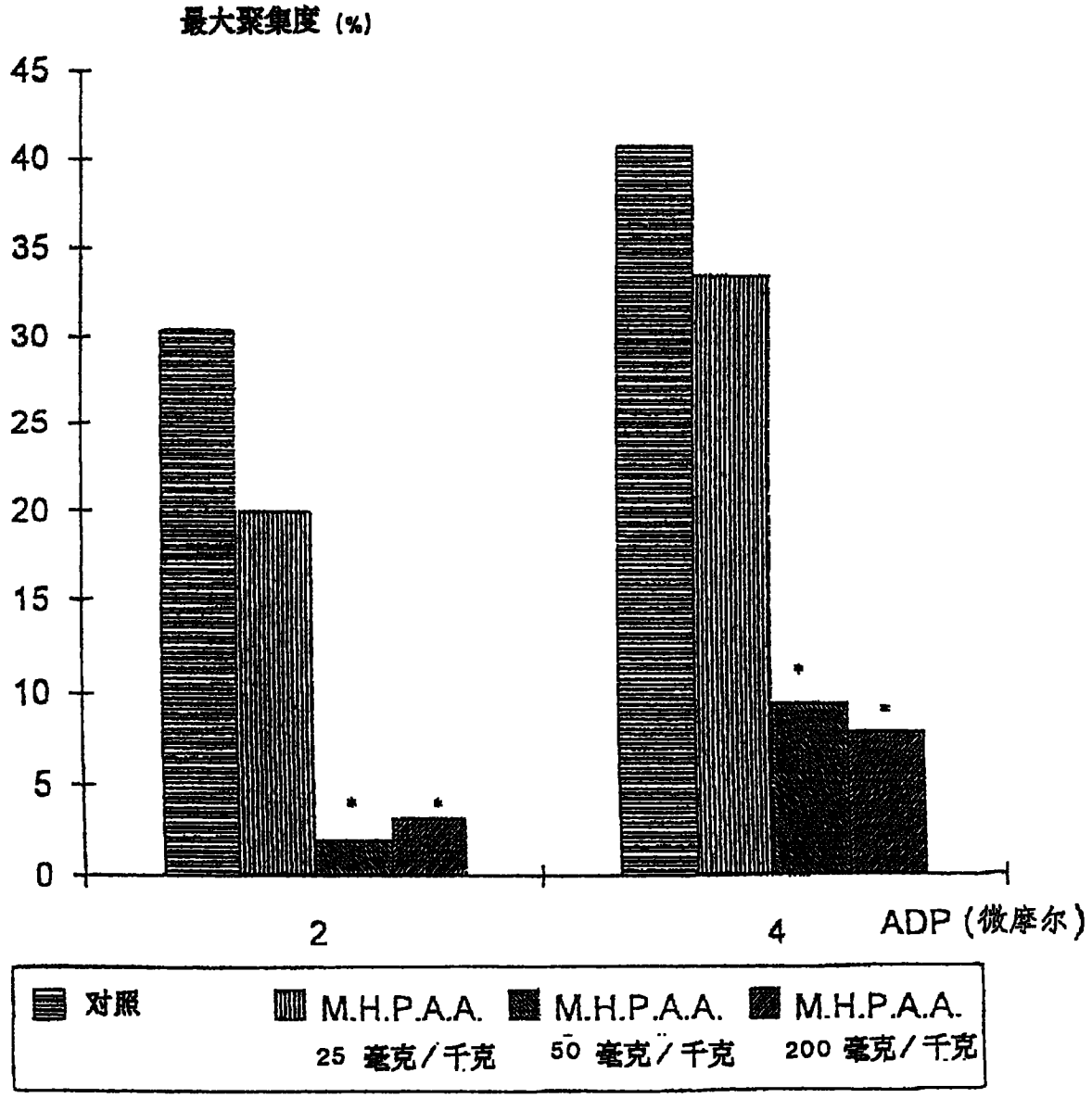

最大聚集度 (%)
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
2
4
ADP (微摩尔)
对照
M.H.P.A.A.
25 毫克/千克
M.H.P.A.A.
50 毫克/千克
M.H.P.A.A.
200 毫克/千克

图 11

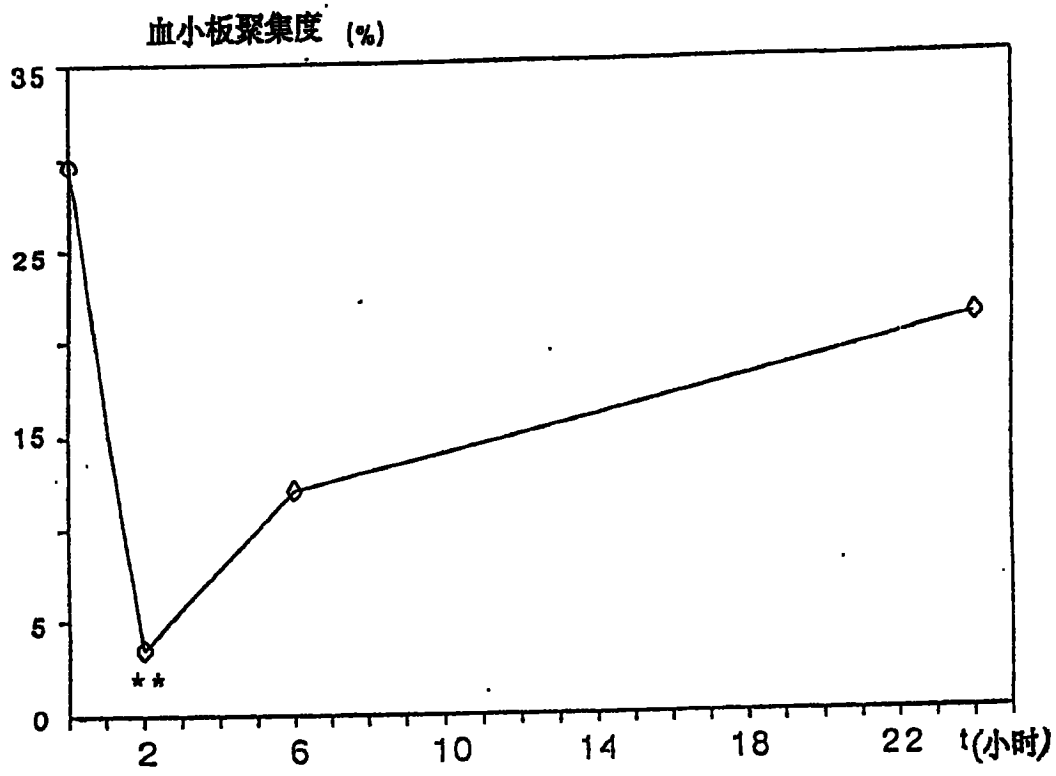


图 12

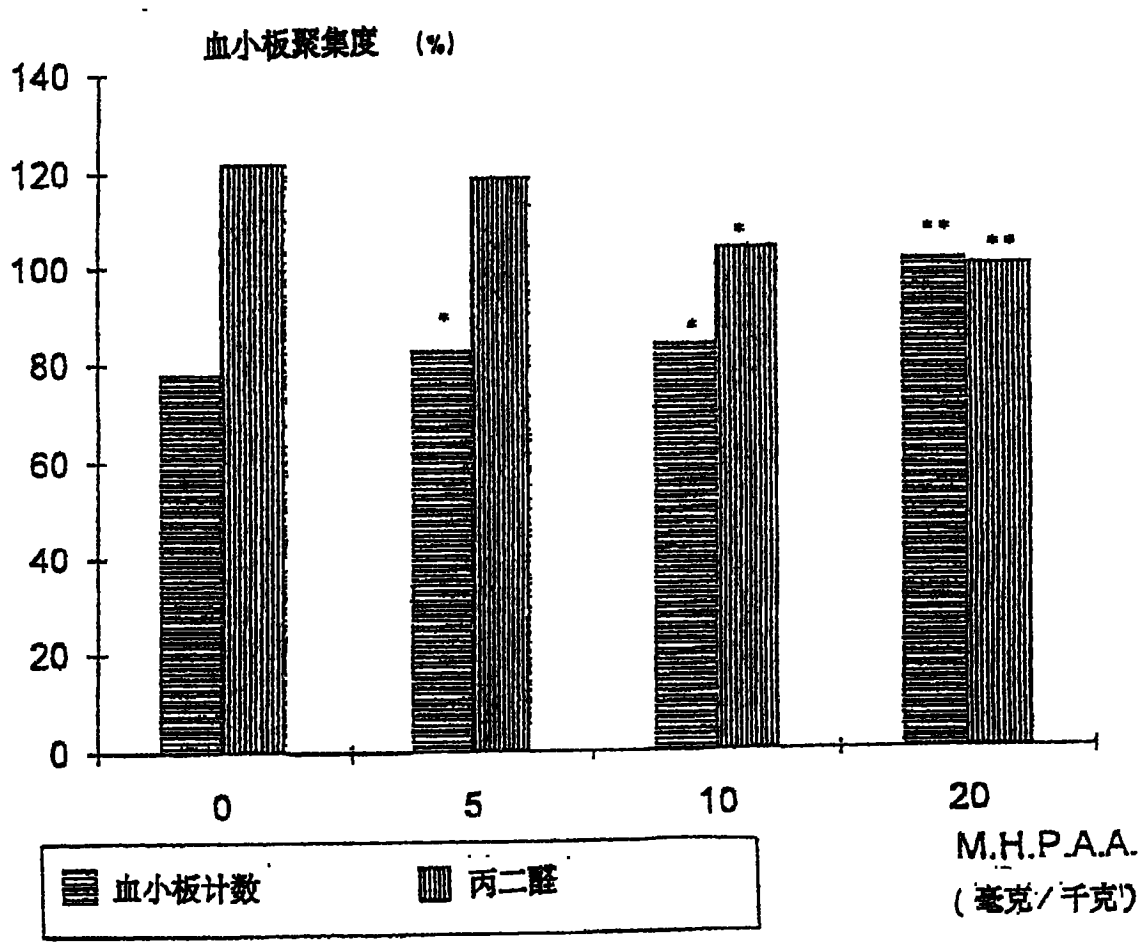


图 13

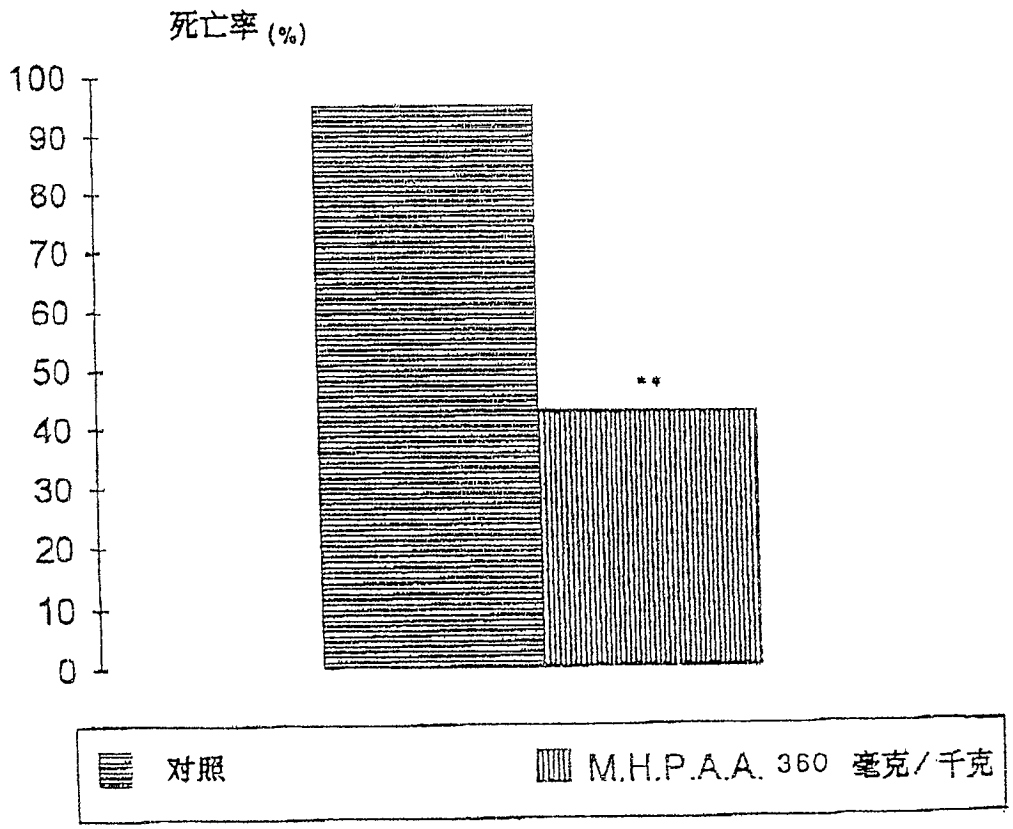


图 14

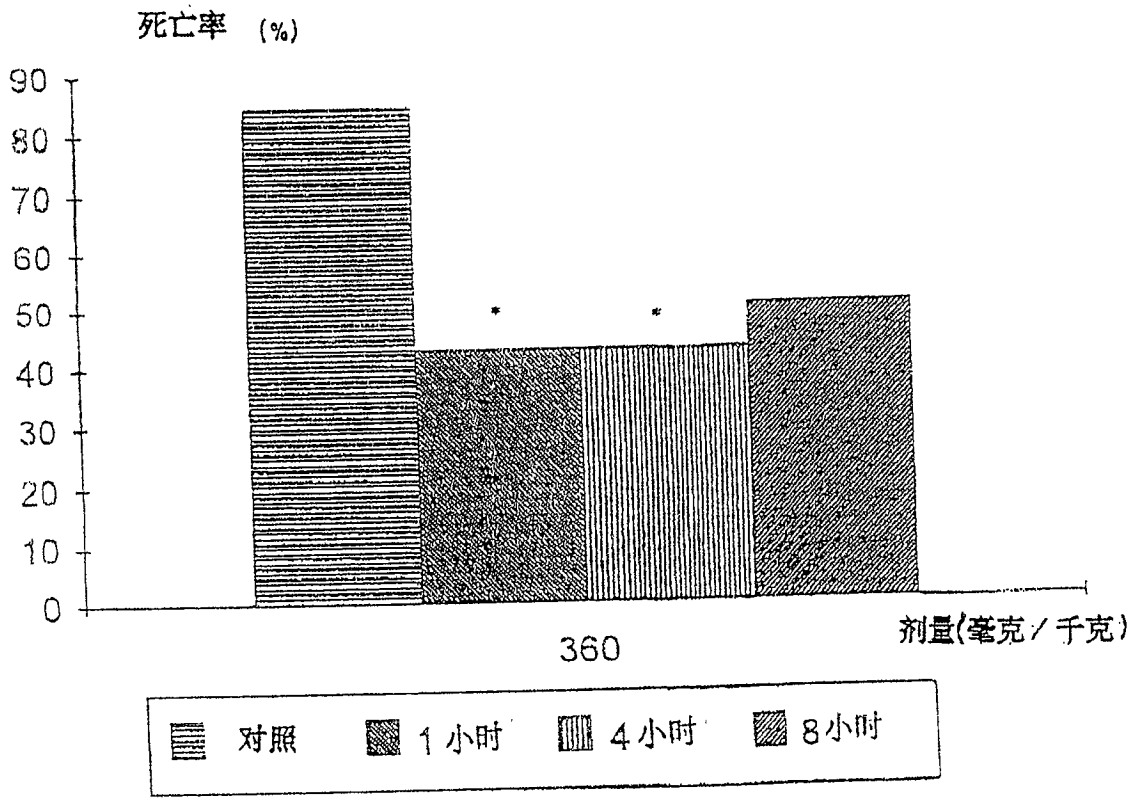


图 15

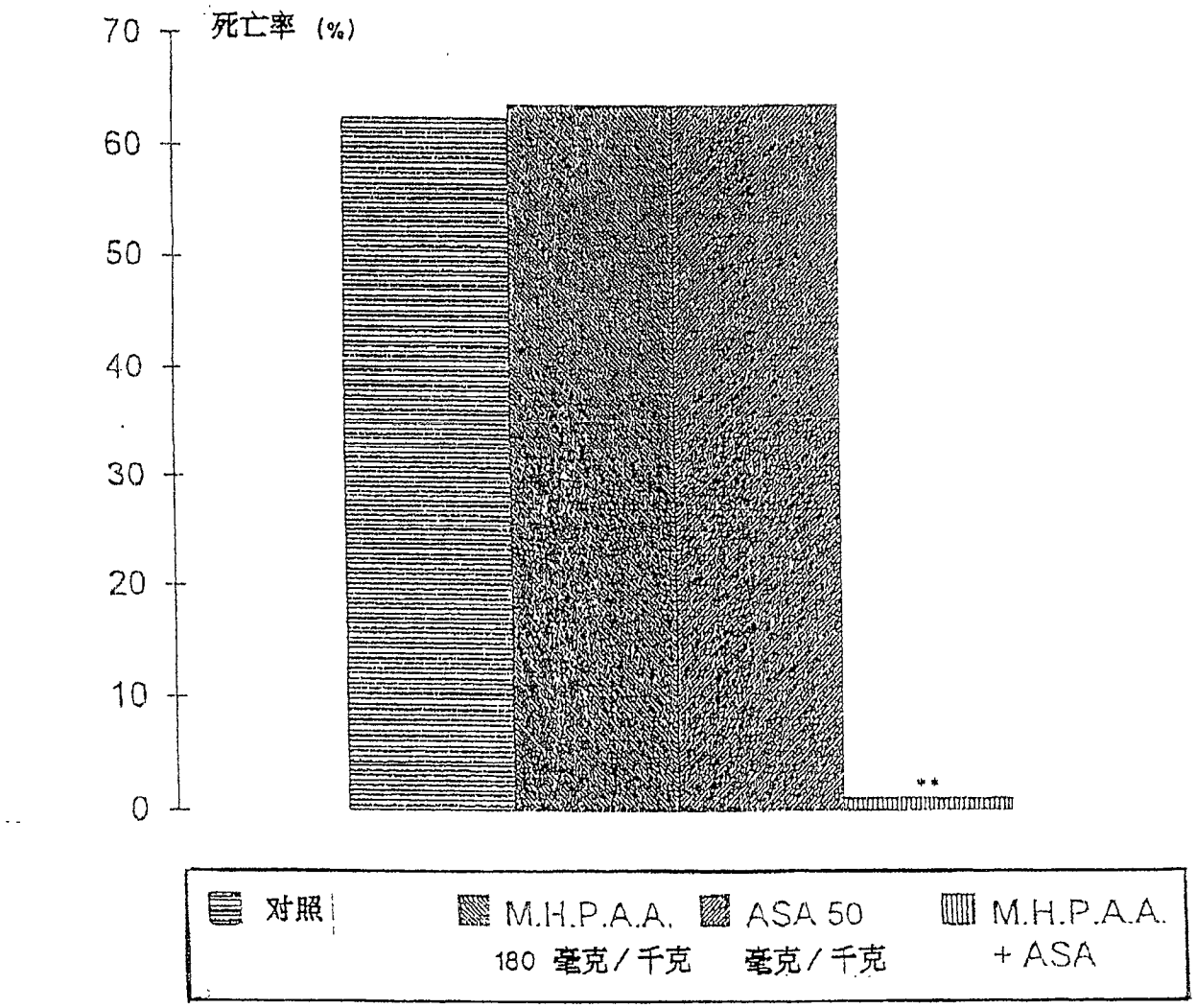


图 16

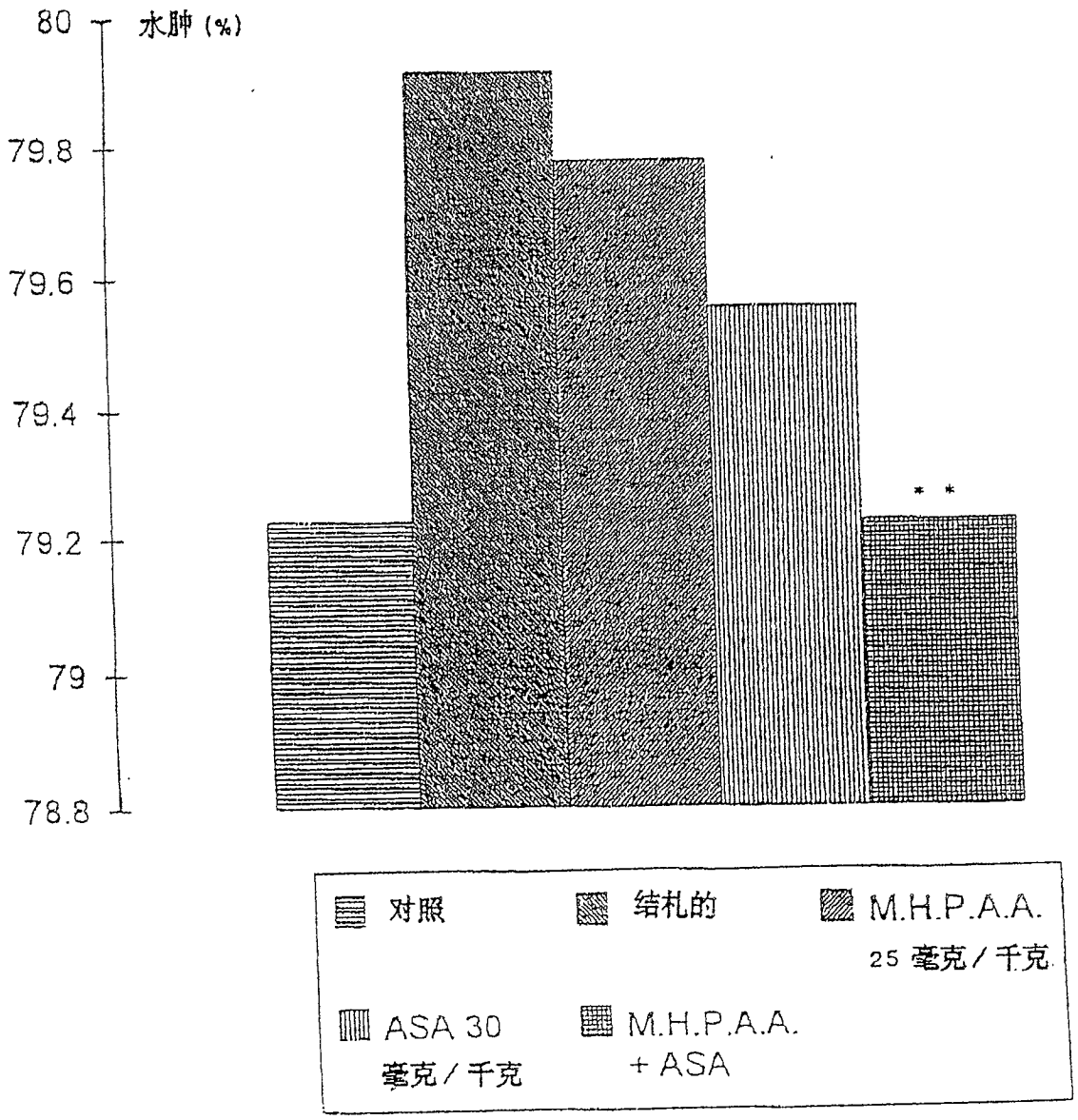

80
水肿 (%)
79.8
79.6
79.4
79.2
79
78.8
* *
对照
结札的
M.H.P.A.A.
25 毫克 / 千克
ASA 30
毫克 / 千克
M.H.P.A.A.
+ ASA

图 17

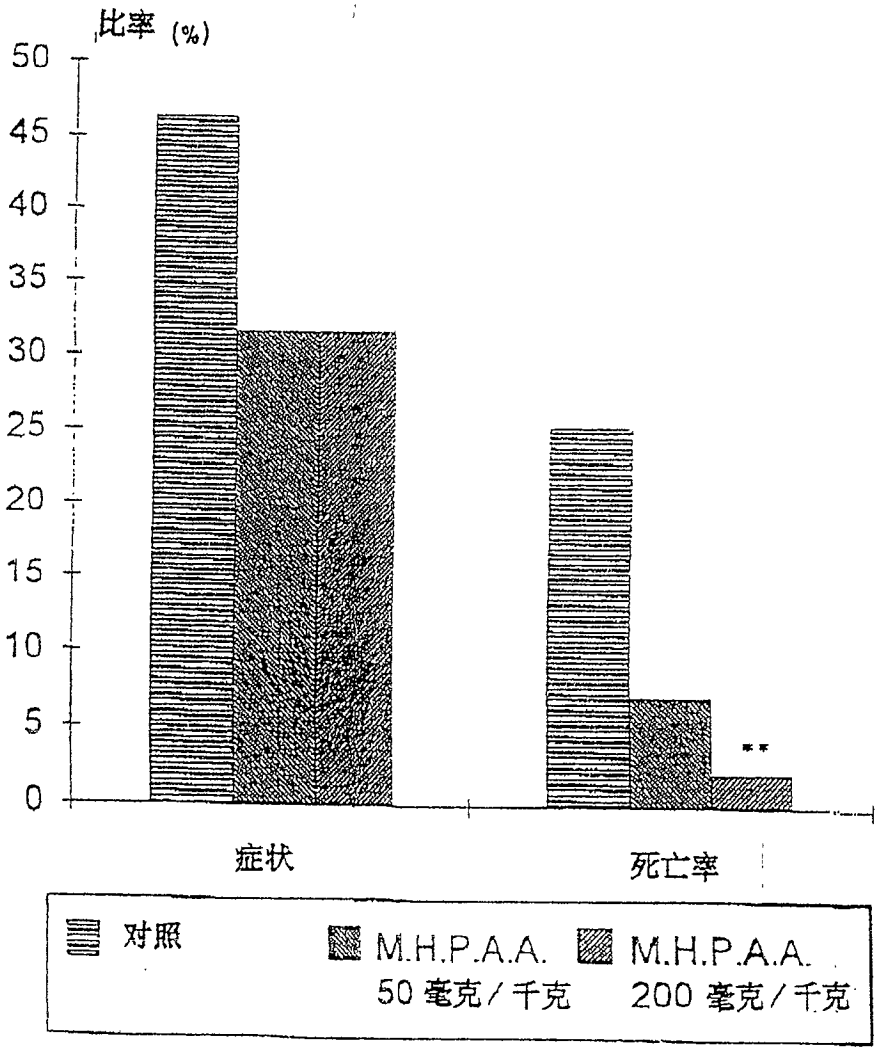

比率 (%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
**
症状
死亡率
对照
M.H.P.A.A. 50 毫克/千克
M.H.P.A.A. 200 毫克/千克

图 18

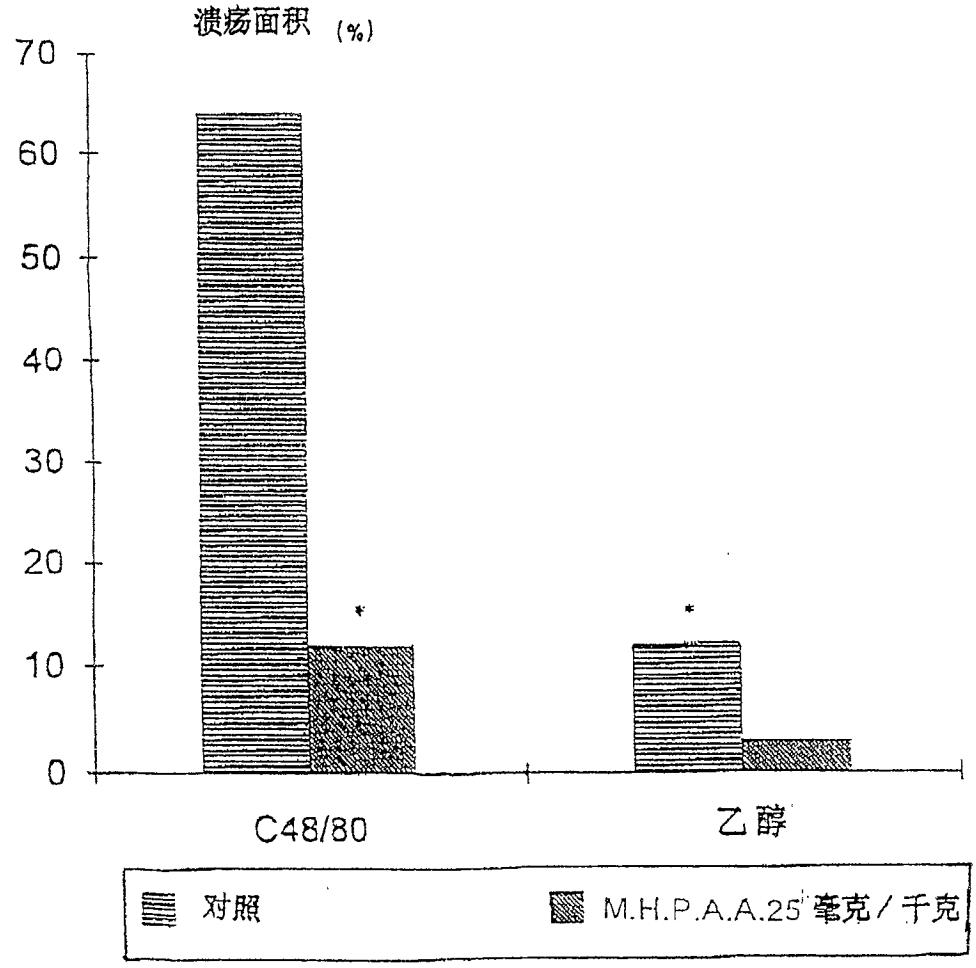


图 19