(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2009 年 9 月 11 日 (11.09.2009)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2009/109132 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 31/4152 (2006.01) *A61P 9/00* (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2009/070612

(22) 国际申请日: 2009 年 3 月 3 日 (03.03.2009)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
200810020387.1 2008 年 3 月 4 日 (04.03.2008) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): **江苏先声药物研究有限公司 (JIANGSU SIMCERE PHARMACEUTICAL R & D CO., LTD)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): **殷晓进 (YIN, Xiaojin)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。 **杨士豹 (YANG, Shibao)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。 **李晓强 (LI, Xiaoqiang)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。 **江征 (JIANG, Zheng)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。 **和健 (HE, Jian)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。 **张安元 (ZHANG, Anyuan)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。 **黄鑫 (HUANG, Xin)** [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武大道 699 号-18, Jiangsu 210042 (CN)。

(74) 代理人: **北京集佳知识产权代理有限公司 (UNITALEN ATTORNEYS AT LAW)**; 中国北京市朝阳区建国门外大街 22 号赛特广场 7 层, Beijing 100004 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: A PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND THE APPLICATION THEREOF IN THE PREPARATION OF MEDICINE FOR THE TREATMENT OF CEREBROVASCULAR DISEASES

(54) 发明名称: 一种药物组合物及其在制备治疗脑血管病药物中的应用

(57) Abstract: A pharmaceutical composition comprises 3-methyl -1-phenyl-2-pyrazolin-5-one and borneol, and can be used to prepare the medicine for treating cerebrovascular diseases.

(57) 摘要:

一种药物组合物，包括 3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片。该药物组合物可用于治疗脑血管疾病。

WO 2009/109132 A1

一种药物组合物及其在制备治疗脑血管病药物中的应用

本申请要求于 2008 年 3 月 4 日提交中国专利局、申请号为200810020387.1、发明名称为“一种含有3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮的组合物”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本发明涉及一种药物组合物及其在制备治疗脑血管病药物中的应用。

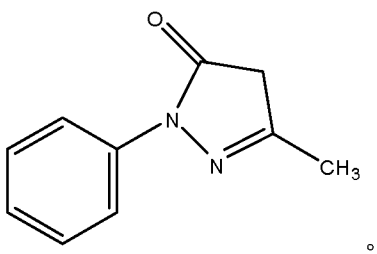
背景技术

脑血管病是一组严重危害人类健康的疾病，目前已成为人类致残和死亡的重要原因之一。

脑血管病(cerebrovascular disease, 简称 CVD)是指由于脑血管异常导致的脑部病变。脑卒中（stroke）一般指急性脑血管疾病。

脑血管病可简单分为两类，一类是由于血液流动的减少或断流造成的缺血性脑血管病，另一类是由于血管破裂造成出血性脑血管病。缺血性脑血管病主要是脑梗塞(包括脑血栓形成和脑栓塞)，除了脑梗塞以外，还有一种在 24 小时内可以完全恢复，不留任何后遗症的缺血性脑血管病，被称为短暂性脑缺血发作或一过性脑缺血发作，医生习惯简称为 TIA，也叫作小中风。出血性脑血管病也分为两类，一类是血管破裂，血液流入脑实质内，称为脑出血或脑溢血。另一类是血管破裂，血液流人包绕脑周围的蛛网膜下腔，称为蛛网膜下腔出血，医生简称为 SAH。

3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮，又称依达拉奉，其结构式为



。

分子式、分子量为：$C_{10}H_{10}N_2O$、174.19。

3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮是一种脑保护剂，可清除自由基，抑制脂质过氧化，从而抑制脑细胞、血管内皮细胞、神经细胞的氧化损伤。大鼠在缺血/缺血再灌注后静脉给予依达拉奉，可阻止脑水肿和脑梗塞的进展，并缓解所伴随的神经症状，抑制迟发性神经元死亡。3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮临床成人用量为 60mg/d（毫克/天），研究发现其有一定的副作用，如程度不明的急性肾功能衰竭、肝功能异常、血小板减少及弥漫性血管内凝血等不良反应。

冰片是一味常用的中药，具有“回苏开窍”、“芳香走窜”、“引药上行”之功，常作“引药”，以增加其他药物的治疗效果；《本草衍义》指出冰片“独行则势弱，佐使则有功”。

发明内容

本发明的目的是提供一种药物组合物，包括3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片，此药物组合物配合使用时具有协同作用，可以提高治疗脑血管病的效果。

优选地，3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片的重量比为4：1～1：4，优选的重量比为2：1～1：2。

所述的冰片包括天然冰片和合成冰片，优选使用天然冰片。天然冰片可以使用中华人民共和国《药典》2005年版一部中收载的天然冰片，即为右旋龙脑。

上述的药物组合物中还可以含有溶剂，可以是3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片更好地混合。所述溶剂可以选用水溶性有机溶剂、或者水溶性有机溶剂与水的混合物。常用的水溶性有机溶剂主要有醇类溶剂、醚类溶剂、酮类溶剂等。常用的醇类溶剂有乙醇、异丙醇、乙二醇、丙二醇等；常用的醚类溶剂有乙二醇单乙基醚、乙二醇单丁基醚等；常用的酮类溶剂有丙酮、N-甲基-2-吡咯烷酮。水溶性有机溶剂优选使用丙二醇。

本发明的另一个目的是提供一种将上述药物组合物用于制备治疗脑血管病药物中的应用。

优选地，将上述药物组合物用于制备治疗缺血性脑血管病或者脑梗塞药物中的应用。

本发明所提供的药物组合物，包括3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片，

在治疗脑血管病时，具有协同作用，可以显著增加治疗效果，可以减低3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮的起效剂量，并且毒性小。

具体实施方式

下面结合实施例加以说明。实施例中提及的依达拉奉是指3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮，天然冰片是指中华人民共和国《药典》2005年版一部中收载的天然冰片，即为右旋龙脑。

实施例 1

取依达拉奉 2g（克），加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml（毫升），即得。

实施例 2

取合成冰片 2g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 3

取天然冰片 2g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 4

取依达拉奉 2g，合成冰片 1g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 5

取依达拉奉 2g，天然冰片 1g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 6

取依达拉奉 1g，天然冰片 2g，加入 100g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 7

取依达拉奉 4g，天然冰片 1g，加入 400g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 8

取依达拉奉 1g，天然冰片 1g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 9

取依达拉奉 1g，天然冰片 2g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 10

取依达拉奉 2g，天然冰片 0.5g，加入 200g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 11

取依达拉奉 4.5g，天然冰片 0.5g，加入 400g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 12

取依达拉奉 2g，天然冰片 1g，加入 100g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 13

取依达拉奉 8g，天然冰片 4g，加入 500g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 14

取依达拉奉 2g，加入 100g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例 15

取依达拉奉 8g，加入 400g 的丙二醇溶液中，搅拌使完全溶解，缓缓加入注射用水使之溶解并至 1000ml，即得。

实施例16～19为效果对比实施例

实施例16

1 材料与方法

1.1 动物健康雄性 Wistar 大鼠，体重 280～320g。

1.2 药品与试剂 实施例 1 的依达拉奉注射液（2mg/ml），实施例 3 的

天然冰片注射液（2mg/ml），实施例 5 的依达拉奉+天然冰片注射液。

1.3 方法

1.3.1 局灶性脑缺血再灌注模型制备。主要步骤：10％水合氯醛（350mg/kg）腹腔注射麻醉大鼠，分离、结扎并切断右侧颈外动脉，由颈外动脉残端沿颈总和颈内动脉缓慢插人头端膨大的尼龙栓线约 18mm，阻塞大脑中动脉入口造成缺血。缺血 2h（小时）后拔除栓线进行 24h 再灌注；假手术组栓线只分离血管，其余步骤同模型组。动物苏醒后出现 Homer 征和对侧体运动障碍即为模型制备成功。

1.3.2 动物分组与给药　实验动物随机分为 5 组，即假手术组、模型组和药物组。实验动物于缺血前 30min（分钟）和再灌注后 12h 两次腹腔注射受试药物，假手术组和模型组分别注射等容积的生理盐水。

1.3.3 神经缺陷评分、脑梗塞体积及脑组织含水量的测定

神经缺陷评分，按照 Longa 5 分制评分标准于再灌注后 24h 进行行为学评分。

脑梗死体积测定，动物经末次神经功能缺损评分后，断头取脑。剔除嗅脑、低位脑干及小脑，剩余部分立即称取湿重，在冰上将脑沿冠状面切成厚度基本相同的 5 片，于 37℃红四氮唑染料中温浴 30min，正常脑组织呈玫瑰红，梗死区呈现白色。然后将脑片置 10%的甲醛中固定，将白色组织仔细挖下称重，以梗死组织重量占总脑重量的百分比作为梗死体积判定指标。

脑含水量测定，用干湿法测定脑含水量。动物处死后，取出全脑，去除嗅脑、低位脑于及小脑，立即称取脑湿重，置 120℃的烤箱中烘烤约 18 h 后称取干重。脑含水量按下列公式计算：脑含水量(％)=(脑湿重—脑干重)／脑湿重×100。

2 结果

2.1 对缺血再灌注后脑梗塞体积和神经缺陷评分的影响

与模型组比较，药物组均可明显缩小脑缺血再灌注大鼠梗塞体积（$P<0.01$）；对大鼠神经缺陷症状的影响，依达拉奉或天然冰片单用无明显作用，但依达拉奉和天然冰片合用显著改善神经缺陷症状，提示两药具有增效或协同作用。结果见表 1。

表 1 对缺血再灌注后脑梗塞体积和神经缺陷评分的影响（$\bar{x}\pm S$）（平均值±标准差）

组别	脑梗塞体积(%)	神经缺陷评分(分)
模型组	35.7±7.52	3.1±1. 05
依达拉奉组（1.0 $mg\cdot kg^{-1}$）	18.0±5.29**	2.5±1. 02
天然冰片组（0.5 $mg\cdot kg^{-1}$）	19.8±6.37**	2.0±0. 98
联合给药组（0.5 $mg\cdot kg^{-1}$ 依达拉奉 +0.25 $mg\cdot kg^{-1}$ 天然冰片）	18.1±3.61**	1.1±0. 69*

*P<0.05,**P<0.01, 与模型组比较。

2.2 对脑缺血再灌注大鼠脑含水量的影响

药物组均可明显减少缺血再灌注所引起的脑水含量，依达拉奉或天然冰片单用与模型组比较有显著性差异（P<0.05），依达拉奉和天然冰片合用与模型组比较有非常显著性差异（P<0.01），提示两药具有增效或协同作用。结果见表 2。

表 2 对缺血再灌注后脑含水量的影响（$\bar{x}\pm S$）

组别	脑含水量（%）
假手术组	78.41±1.15
模型组	82.19±1. 07
依达拉奉组（1.0 $mg\cdot kg^{-1}$）	81.65±1. 24*
天然冰片组（0.5 $mg\cdot kg^{-1}$）	81.25±0. 97*
联合给药组（0.5 $mg\cdot kg^{-1}$ 依达拉奉 +0.25 $mg\cdot kg^{-1}$ 天然冰片）	80.12±1. 43**

*P<0.05, **P<0.01,与模型组比较。

实施例 17

1 材料与方法

1. 1 动物健康雄性 Wistar 大鼠，体重 280 ~ 320g。

1. 2 药品与试剂 实施例 5、实施例 8、实施例 9 的依达拉奉+天然冰片注射液。

1. 3 方法

1.3.1 局灶性脑缺血再灌注模型制备：采用颈内动脉线栓法制备大脑中动脉阻塞（Middle cerebral artery, MCAO）脑缺血再灌注模型。动物用 10％水合三氯乙醛（3.5ml/kg）麻醉后，俯卧位固定于手术台上，消毒皮肤，颈部正中切开，分离右侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉，轻轻剥离迷走神经，结扎并剪断颈外动脉，循颈内动脉向前，结扎翼腭动脉。夹闭颈总动脉近心端，从颈外动脉的结扎线的远端作一切口，插入外径为 0.285mm（毫米）的尼龙线，进过颈总动脉分叉进入颈内动脉，然后徐徐插入至有轻微阻力为止（自分叉处约 20mm），阻断大脑中动脉的所有血供，用激光多普勒脑血流仪监测脑血流，右侧脑缺血 2.0h 后，轻轻拔出尼龙线，恢复血供进行再灌注，缝合头皮，消毒。假手术组仅分离血管，不插入尼龙线。整个手术使用大鼠加热板和 60W（瓦）的台灯维持大鼠的体温 37.0±0.5℃。

1. 3. 2 动物分组与给药　实验动物随机分为 6 组，即假手术组、模型组、阳性对照组和药物组（依达拉奉 + 天然冰片给药总剂量为 0.75mg/kg）。实验动物制备脑缺血模型后，将动物按机率均等单盲分配至各组。于脑缺血后立即给药 1 次，以后每分别于 2、4、24 小时给药一次,共给药 4 次。模型组: 给大鼠尾静脉注射等体积的生理盐水。假手术组给大鼠尾静脉注射等体积的生理盐水。阳性对照组尼莫地平注射液作为阳性对照，1.2mg/kg，共给药三次，单次给药剂量为 0.4 mg/kg。

1. 3. 3 神经缺陷评分、脑梗塞体积的测定

神经缺陷评分，采用改良 Bederson 5 分制法进行神经缺陷症状评价。采用单盲法评价脑外伤后大鼠的神经缺陷症状，即由试验设计者将动物按组标记，对神经缺陷症状进行评分的试验者不知道动物的分组情况，评分结束后，评分者将各种标记的评分结果呈交设计者，由设计者揭盲，获得各试验组每只动物的评分。

神经缺陷症状评分 Bederson 5 分制法的具体标准为:

0: 提尾悬空时，动物的两前肢均伸向地板方向，且无其他行为缺陷

1: 提尾悬空时，动物的手术对（左）侧前肢表现为腕肘屈曲、肩内旋、肘外展、紧贴胸壁

2: 将动物置于光滑平板上，推手术侧肩向对侧移动时阻力降低

3：动物自由行走时，向手术对侧环行或转圈

4：肢体软瘫，肢体无自发活动

脑梗死面积和脑损伤测定，动物用 10％的水合氯醛麻醉，断头取脑，去除嗅球、小脑和低位脑干，用生理盐水冲洗大脑表面血迹，吸去表面残留水迹，于－80℃放置 7min，取出后立即于视线交叉平面垂直向下作冠状切面，并向后每隔 2mm 切一片，将脑片置于用 0.2 mol/L（摩尔/升） pH 7.4～7.8 PBS 新鲜配制的 20 g/L TTC 染液中水浴(37℃ 90min)，正常脑组织染成深红色，缺血脑组织则呈苍白色，用生理盐水冲洗后，迅速将脑片从前向后按顺序排成一排，吸干表面残留水迹，拍照，分离左右脑组织分别称其脑重 W 左（左脑重量）和 W 右（右脑重量），向左右脑组织中各加入新鲜配置的提取液（DMSO（二甲基亚砜)：乙醇（ 1：1）15 毫升，于 25℃，避光 24 小时，充分提取生成的红色物质甲月替，至脑片呈白色。

1.用图像分析软件对照片进行统计，圈定右侧缺血面积(白色区域)和右侧总面积，用如下公式计算脑梗死面积的百分比。

$$\text{梗死面积}\% = 100 \times \frac{\text{缺血总面积}}{\text{右侧总面积}}$$

2.于 485nm（纳米）处分别测定提取物的吸光度（提取物 100μl（微升）+提取液 1900μl)，测定四次，取其均值，得 A 左 和 A 右 。用如下公式计算脑损伤程度的百分比。

$$\text{脑损伤}\% = 100 \times \left(1 - \frac{A_{右} \times W_{左}}{A_{左} \times W_{右}}\right)$$

1.3.4 统计学分析

定量资料表示为均值±标准差。脑梗死面积、神经缺陷症状评分采用单因素方差分析，Scheffe`s 检验测定两组间的差异显著性。动物死亡率的组间比较采用 X^2 检验，将差异 $P<0.05$ 定义为差异显著。

2、试验结果

2.1 对神经缺陷症状的影响

神经缺陷症状严重程度的评分见表 3，依达拉奉与天然冰片复方的各比例和尼莫地平组与模型组比较均能显著改善神经缺陷症状（$F_{4,35}$= 14.59，

P=0.000）。结果表明，依达拉奉与天然冰片复方用药能显著改善神经缺陷症状。

表 3 依达拉奉（A）与天然冰片（B）复方用药对神经缺陷症状的影响

组别	模型组	尼莫地平	A:B=2:1	A:B=1:1	A:B=1:2
均值±标准差	2.6±0.52	1.1±0.58*	0.81±0.26*	1.1±0.35*	1.5±0.76*

X±SD，n=8；*P<0.05，与模型组比较。

2.2 对脑梗死面积的影响

各组脑梗死面积见表 4，依达拉奉与天然冰片复方的 2:1、1:1、尼莫地平组与模型组比较能显著缩小脑梗死面积（$F_{4,35}$=5.38，P=0.002）。依达拉奉与天然冰片复方的 1: 2 与模型组比较具有缩小梗死面积的趋势（$F_{4,35}$=5.38，P=0.358）。

表 4 依达拉奉（A）与天然冰片（B）复方用药对脑梗死面积的影响

组别	模型组	尼莫地平	A:B=2:1	A:B=1:1	A:B=1:2
均值±标准差	27.4±13.4	8.8±4.0*	9.4±4.9*	10.8±5.0*	17.2±14.7

X±SD，n=8；*P<0.05，与模型组比较。

2.3 对脑损伤的影响

各组损伤见表 5，依达拉奉与天然冰片复方的 2:1、1:1 和尼莫地平组与模型组比较能显著降低脑损伤程度（$F_{4,35}$=5.36，P=0.002）。依达拉奉与天然冰片复方的 1:2 与模型组比较具有降低脑损伤程度的趋势（$F_{4,35}$=5.36，P=0.239）。

表 5 依达拉奉（A）与天然冰片（B）复方用药对脑损伤的影响

组别	模型组	尼莫地平	A:B=2:1	A:B=1:1	A:B=1:2
均值±标准差	33.2±14.8	11.6±5.0*	11.7±6.4*	11.1±6.8*	19.3±18.2

X±SD，n=8；*P<0.05，与模型组比较。

实施例 18

1 材料与方法

1.1 动物健康雄性 Wistar 大鼠，体重 280～320g。

1.2 药品与试剂 实施例 1 的依达拉奉注射液（2mg/ml），实施例 5、实施例 7、实施例 11 的依达拉奉+天然冰片注射液。

1.3 方法

实验方法及分析评价方法同实施例 13。

2 试验结果

2.1 对神经缺陷症状的影响

神经缺陷症状严重程度的评分见表 6，依达拉奉与天然冰片复方的各比例、依达拉奉组与模型组比较均能显著改善神经缺陷症状（$F_{4,35}$= 10.31，P=0.000）。结果表明，依达拉奉与天然冰片复方用药能显著改善神经缺陷症状。

表 6 依达拉奉（A）与天然冰片（B）复方用药对神经缺陷症状的影响

组别	模型组	依达拉奉（3mg/kg）	A:B=2:1	A:B=4:1	A:B=9:1
均值±标准差	2.7±0.5	0.94±0.46*	1.1±0.54*	1.3±0.87*	1.6±0.55*

X±SD，n=8；*P<0.05，与模型组比较。

2.2、对脑梗死面积的影响

各组脑梗死面积见表 7，依达拉奉与天然冰片复方的 2:1 组、依达拉奉 3mg/kg 组与模型组比较能显著缩小脑梗死面积（$F_{4,35}$=4.62，P=0.03）。依达拉奉与天然冰片复方的 4:1 组和 9:1 组与模型组比较具有缩小梗死面积的趋势（$F_{4,35}$=4.62，P=0.081）。

表 7 依达拉奉（A）与天然冰片（B）复方用药对脑梗死面积的影响

组别	模型组	依达拉奉（3mg/kg）	A:B=2:1	A:B=4:1	A:B=9:1
均值±标准差	25.4±14.8	9.7±4.6*	10.3±5.3*	14.6±10.9	16.5±11.0

X±SD，n=8；*P<0.05，与模型组比较。

2.3 对脑损伤的影响

各组损伤见表 8，依达拉奉与天然冰片复方的 2:1 组和依达拉奉 3mg/kg 组与模型组比较能显著降低脑损伤程度（$F_{4,35}$=5.78，P=0.04）。依达拉奉与天然冰片复方的 4:1 组和 9:1 组与模型组比较具有降低脑损伤程度的趋势（$F_{4,35}$=5.78，P=0.159）。

表 8 依达拉奉（A）与天然冰片（B）复方用药对脑损伤的影响

组别	模型组	依达拉奉（3mg/kg）	A:B=2:1	A:B=4:1	A:B=9:1
均值±标准差	32.2±15.1	11.6±9.7*	13.1±8.3*	22.3±17.7	23.9±19.8

X±SD，n=8；*P<0.05，与模型组比较。

实施例 19

1 材料与方法

1.1 动物新西兰兔，普通级，体重 2.0～3.0kg，36 只，♀♂（雌雄）各 18 只。

1.2 药品与试剂 实施例 12、实施例 13、实施例 14、实施例 15 得到的药剂；1，2-丙二醇，0.9%氯化钠注射液。

1.3 剂量分组

溶剂组	0.9%氯化钠注射液（重量比）	10ml/kg
溶媒组	40%丙二醇溶液（体积比）	10ml/kg
依达拉奉	80mg/kg（丙二醇含量 40%）	
依达拉奉	20mg/kg（丙二醇含量 10%）	
复方依达拉奉	120mg/kg（丙二醇含量 50%）	
复方依达拉奉	30mg/kg（丙二醇含量 10%）	

此实施例中的复方依达拉奉是指依达拉奉 + 天然冰片（重量比 = 2：1）。

以上各剂量组根据每只家兔的实际体重计算出每兔每天的给药量，分别按体重给予同等容量的受试物。

2 试验方法

取家兔 36 只，编号。按体重随机分成六个试验组，即“依达拉奉 + 天然冰片（重量比 = 2：1）” 120mg/kg、30mg/kg，“依达拉奉” 80mg/kg、20mg/kg 四个剂量组和溶媒组（40%丙二醇溶液）、溶剂组（0.9%氯化钠注射液），每组 6 只，雌雄各 3 只。试验前先驯养观察及适应 3 天，试验期间，每天上午同一时间给药一次，采用家兔耳缘静脉注射，连续给药，高剂量组 13 天，低剂量组、溶剂组及溶媒组 20 天。随体重增减调整给药量。以动物反应情况、注射部位的刺激程度和肾脏、注射部位病理组织学检查结果综合比较复方依达拉奉与依达拉奉对家兔的毒性情况。

3 试验结果

血尿：家兔轮换静脉连续给药期间，依达拉奉 80、20mg/kg 和复方依达拉奉 120、30mg/kg 剂量及 40%丙二醇溶液 10ml/kg 剂量，在给药后均出现一过性血尿，出现时间在给药后 30 分钟至 2 小时间，出现动物数为：依达拉奉

80mg/kg 剂量为 100%,依达拉奉 20mg/kg 剂量为 100%,;复方依达拉奉 120mg/kg 剂量为 100%; 复方依达拉奉 30mg/kg 剂量为 50%; 40%丙二醇溶液 10ml/kg 剂量为 100%, 而 0.9%氯化钠注射液组则未出现尿血。

大体观和病理组织学检查情况: 1）大体观检查: 依达拉奉 80mg/kg 剂量组有 3/6 只兔的肾脏外观色泽呈土黄色, 肿胀, 表面凹凸不平, 其中有一兔伴肝脏坏死, 呈土黄色, 质地硬; 20mg/kg 剂量组有 3/6 只兔的肾脏外观肿胀。复方依达拉奉 120mg/kg 剂量有 2/6 只兔的肾脏外观色泽淡, 肿胀; 30mg/kg 剂量组和 40%丙二醇溶液 10ml/kg 剂量对兔的肾脏未见明显外观变化。2）病理组织学检查: 依达拉奉 80、20mg/kg 和复方依达拉奉 120、30mg/kg 剂量对兔注射部位均出现不同程度的血管栓塞等刺激性变化; 对兔肾脏也有一定程度的损伤, 主要表现为肾进行性病变, 如肾小管损伤、间质炎性浸润和肾小球病变等。40%丙二醇溶液 10ml/kg 剂量对兔注射部位也出现血管栓塞等刺激性变化, 对兔肾脏仅表现为肾小管轻度浊肿和空泡变性。

综合试验结果, 在本试验剂量条件下: 1、对家兔注射部位的刺激作用: 依达拉奉与复方依达拉奉基本相似。2、对家兔血尿的出现: 依达拉奉大于复方依达拉奉。3、对家兔肾脏毒性: 依达拉奉大于复方依达拉奉。

以上所述仅是本发明的优选实施方式, 应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以做出若干改进和润饰, 这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

权 利 要 求

1、一种药物组合物，包括3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片。

2、根据权利要求1所述的药物组合物，其特征在于，所述3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片的重量比为4：1～1：4。

3、根据权利要求2所述的药物组合物，其特征在于，所述3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮和冰片的重量比为2：1～1：2。

4、根据权利要求1～3中任意一项所述的药物组合物，其特征在于，所述冰片为天然冰片。

5、根据权利要求1～3中任意一项所述的药物组合物，其特征在于，还包括溶剂。

6、根据权利要求5所述的药物组合物，其特征在于，所述溶剂为水溶性有机溶剂、或者为水溶性有机溶剂与水的混合物。

7、根据权利要求6所述的药物组合物，其特征在于，所述水溶性有机溶剂为丙二醇。

8、根据权利要求1～7中任意一项所述的药物组合物在制备治疗脑血管病药物中的应用。

9、根据权利要求8所述的应用，其特征在于，所述脑血管病为缺血性脑血管病。

10、根据权利要求8所述的应用，其特征在于，所述脑血管病为脑梗塞。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2009/070612

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT(Cprs), CTCMPD , CNKI Full-Text database, Chinese Medicine Abstract, WPI, EPODOC, PAJ, CA , Embase, Medline; edaravone, pyrazolone, pyrazolinone, radical, scavenger, resistant, inhibitor, antioxidant, berneol, linderol , borneol

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN1525856A(MITSUBISHI PHARMA CORP) 01 September 2004(01. 09. 2004) see description, page 1, line 25-page 2, line 5	1-10
A	LIANG, Meirong; et al. The Effect of Borneol on Evan's Blue Staining of Rabbit and Rat Brain Tissue. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine(Chinese), Vol. 10, No. 4, pages 211-213 ISSN 1007-3213	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
20 May 2009(20. 05. 2009)	**11 Jun. 2009 (11.06.2009)**
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer LEI,Yaolong Telephone No. (86-10)62411119

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2009/070612

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1525856A	01. 09. 2004	WO02092082A	21. 11. 2002
		CA2446837A	21. 11. 2002
		EP1386606A	04. 02. 2004
		EP20020724736	09. 05. 2002
		US2004162330A	19. 08. 2004
		US7211596B	01. 05. 2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2009/070612

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

A61K31/4152(2006. 01)i
A61K 31/045(2006. 01)i
A61P 9/00(2006. 01)i
A61P 9/10(2006. 01)i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2009/070612

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC：A61K，A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用）)

CNPAT(Cprs), 中国药物专利数据库(CTCMPD) , CNKI, 中国药学文摘， WPI, EPODOC, PAJ, CA, Embase, Medline; 依达拉奉，自由基，氧化，神经元，吡唑啉酮，冰片及其同义词，edaravone, pyrazolone, pyrazolinone, radical, scavenger, resistant, inhibitor, antioxidant, berneol, linderol , borneol

C. 相关文件

类　型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN1525856A(三菱制药株式会社) 01. 09 月 2004(01. 09. 2004) 参见说明书第 1 页第 25 行至第 2 页第 5 行	1-10
A	梁美蓉 等. 冰片对兔、大鼠脑组织依文氏蓝染色作用的观察. 广州中医学院学报，1993 年第 10 卷第 4 期，第 211-213 页. ISSN 1007-3213	1-10

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。　　☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
20. 05 月 2009(20. 05. 2009)	**11.6 月 2009 (11.06.2009)**
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号： (86-10)62019451	受权官员 雷耀龙 电话号码：(86-10) **62411119**

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2009/070612

检索报告中引用的专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1525856A	01. 09. 2004	WO02092082A	21. 11. 2002
		CA2446837A	21. 11. 2002
		EP1386606A	04. 02. 2004
		EP20020724736	09. 05. 2002
		US2004162330A	19. 08. 2004
		US7211596B	01. 05. 2007

主题的分类

A61K31/4152(2006. 01)i

A61K 31/045(2006. 01)i

A61P 9/00(2006. 01)i

A61P 9/10(2006. 01)i