



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1771978 B

(45) 授权公告日 2011.06.08

(21) 申请号 200410090606.5

(22) 申请日 2004.11.09

(73) 专利权人 成都华神集团股份有限公司制药厂

地址 610225 四川省成都市西南航空经济开发
区锦华路2段3号

(72) 发明人 万方 袁毓湘 李明劲

(74) 专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理有限公司 11112

代理人 张天舒

(51) Int. Cl.

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 36/258 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1628685 A, 2005.06.22, 权利要求1,4,

实施例.

CN 1424321 A, 2003.06.18, 全文.

CN 1414011 A, 2003.04.30, 权利要求1-4,
实施例.

苏雅等. 三七三醇皂甙对动物血小板功能及血栓形成的影响. 中草药 27
11.1996, 27(11), 666-668.

审查员 樊婵娟

权利要求书 1 页 说明书 9 页

(54) 发明名称

一种三七三醇皂苷组合物及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明属于中药领域,具体涉及中药三七的提纯物及其制备方法和制药用途。本发明提供的三七三醇皂苷组合物是由三七提纯得到的,其基本上由人参皂苷 Rg₁、Re 和三七皂苷 R₁组成,其中人参皂苷 Rg₁的含量为 30~70wt%,人参皂苷 Re 的含量为 4~15wt%,三七皂苷 R₁的含量为 7~25wt%,以及人参皂苷 Rg₁、Re 和三七皂苷 R₁的含量之和最高为 98wt%。本发明提供的三七三醇皂苷组合物对于血管栓塞性疾病的治疗具有更强的针对性。该组合物可以用于制备治疗血管栓塞性疾病的药物。

1. 一种三七三醇皂苷组合物,该组合物是由三七提纯得到的,其基本上由人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 和三七皂苷 R_1 组成,其特征在于,所述人参皂苷 R_{g_1} 的含量为 50 ~ 60wt%,所述人参皂苷 R_e 的含量为 6 ~ 9wt%,所述三七皂苷 R_1 的含量为 10 ~ 15wt%。

2. 根据权利要求 1 所述的三七三醇皂苷组合物,其特征在于,所述人参皂苷 R_{g_1} 的含量为 50 ~ 55wt%。

3. 权利要求 1 或 2 所述的三七三醇皂苷组合物,其为颗粒剂、合剂、片剂、散剂、蜜丸、胶囊、注射剂、滴剂或贴剂。

4. 权利要求 1 所述的三七三醇皂苷组合物的制备方法,该方法包括以下步骤:

(1) 用浓度为 55 ~ 70wt% 的乙醇浸泡提取三七,所用的乙醇量为所用三七重量的至少 3 倍,收集乙醇提取液;

(2) 使所述乙醇提取液通过苯乙烯型大孔树脂柱;和

(3) 用浓度为 35 ~ 45wt% 的乙醇对所述苯乙烯型大孔树脂柱进行洗脱,收集洗脱液;其特征在于,所述步骤 (1) 是如下完成的:

(a) 将三七粉碎,得三七粉;

(b) 采用浓度为 55 ~ 70wt% 的乙醇对所述步骤 (a) 所得的三七粉进行浸泡,所用的乙醇量为所用三七粉重量的至少 2 倍;和

(c) 采用浓度为 55 ~ 70wt% 的乙醇对所述步骤 (b) 所得的浸泡后的三七粉进行渗漉,所用的乙醇量为所用三七粉重量的至少 1 倍,收集渗漉液。

5. 根据权利要求 4 所述的三七三醇皂苷组合物的制备方法,其特征在于,在所述步骤 (b) 和步骤 (c) 中所用乙醇的浓度为 60wt%。

6. 根据权利要求 4 所述的三七三醇皂苷组合物的制备方法,其特征在于,在所述步骤 (3) 洗脱树脂用乙醇的浓度为 40wt%。

7. 根据权利要求 4-6 任一项所述的三七三醇皂苷组合物的制备方法,其特征在于,还包括以下步骤:将所述步骤 (3) 收集的洗脱液进行浓缩得三七三醇皂苷醇浸膏。

8. 根据权利要求 4-6 任一项所述的三七三醇皂苷组合物的制备方法,其特征在于,还包括以下步骤:将所述步骤 (3) 收集的洗脱液,采用柱层析或溶剂萃取的方法进行进一步纯化。

9. 根据权利要求 7 所述的三七三醇皂苷组合物的制备方法,其特征在于,还包括以下步骤:对所述三七三醇皂苷醇浸膏进行干燥。

10. 权利要求 1 或 2 所述的三七三醇皂苷组合物用于制备治疗血管栓塞性疾病的药物的应用。

一种三七三醇皂苷组合物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明属于中药领域,具体涉及中药三七的提纯物及其制备方法和制药用途。

背景技术

[0002] 三七 (*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen) 又称田七、人参三七、田三七、山漆、金不换和血参等,为五加科 (*Araliaceae*) 人参属 (*Panax* Linn) 多年生草本植物,因其播种后三至七年挖采而且每株长三个叶柄,每个叶柄生七个叶片,故名三七,其茎、叶、花均可入药,是中国特有的名贵中药材。据有关文献记载,三七使用历史近 600 年,栽培历史近 500 年。三七因其自古以来就被公认为具有显著的活血化瘀、消肿定痛功效而被誉为“金不换”、“南国神草”。

[0003] 中国专利申请 93105774(公开号:CN1083819A,公开日:1994年3月16日)公开了一种三七总皂苷的制备方法。中国专利申请 01108591(公开号:CN1334267A,公开日:2002年2月6日)也公开了一种三七总皂苷的制备方法。中国专利申请 02144840(公开号:CN1412162A,公开日:2003年4月23日)、02158727(公开号:CN1424321A,公开日:2003年6月18日)也都分别公开了一种从三七茎叶中提取三七总皂苷的方法。

[0004] 上述中国专利申请所描述的方法均在于提取或制备三七总皂苷。三七总皂苷属达玛烷型四环三萜类皂苷,按照其结构特点可进一步分为原人参二醇型和原人参三醇型两类。由于这两类皂苷结构的不同,它们的生物学活性也大不相同,人参二醇型皂苷具有较强的直接抗炎镇痛作用,而人参三醇型皂苷则具有较强的抑制血小板聚集、抑制血栓形成的作用。而目前基于这种三七总皂苷的药物制剂很难针对具体的病症发挥出更大的有针对性的药效。因此,人们需要从三七中分离出含有不同组分的有效部位,以便能提供出对具体的病症更加适合的三七药物。

发明内容

[0005] 本发明的一个目的是提供一种以人参皂苷 Rg_1 、 Re 和三七皂苷 R_1 为主要成分的三七三醇皂苷组合物。

[0006] 本发明的另一个目的是提供本发明三七三醇皂苷组合物的制备方法。

[0007] 本发明的又一个目的是提供本发明三七三醇皂苷组合物的制药用途。

[0008] 本发明的再一个目的是提供本发明三七三醇皂苷组合物用于治疗疾病的用途。

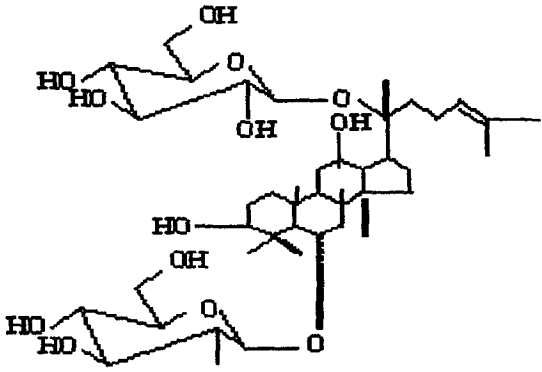
[0009] 为实现上述目的,本发明的一个技术方案提供了一种三七三醇皂苷组合物,该组合物是由三七提纯得到的,其基本上由人参皂苷 Rg_1 、 Re 和三七皂苷 R_1 组成;其中 Rg_1 的含量为 30 ~ 70wt%,优选为 40 ~ 65wt%,更优选为 50 ~ 65wt%,最优选为 55 ~ 65wt%;人参皂苷 Re 的含量为 4 ~ 15wt%,优选为 4 ~ 10wt%,更优选为 6 ~ 9wt%;三七皂苷 R_1 的含量为 7 ~ 25wt%,优选为 8 ~ 18wt%,更优选为 10 ~ 15wt%;以及人参皂苷 Rg_1 、 Re 和三七皂苷 R_1 的含量之和最高为 98wt%。

[0010] 本发明提供的三七三醇皂苷组合物的主要组分的分子式和结构式如下表 1 中所

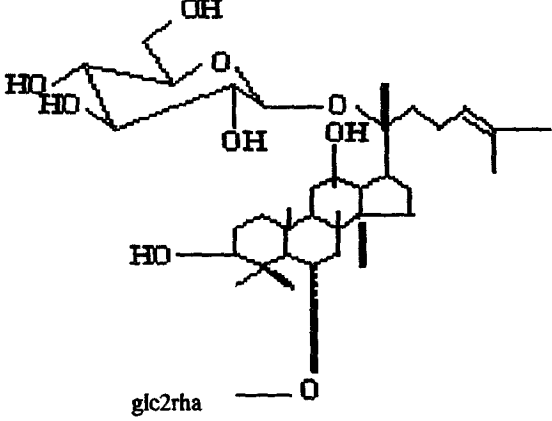
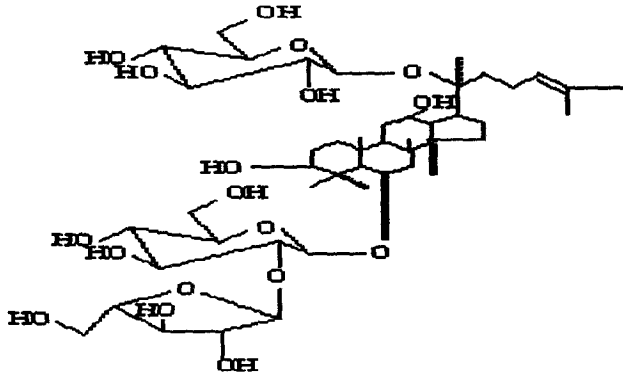
示：

[0011] 表 1.

[0012]

组分名称	分子式	分子量	结构式
人参皂苷 Rg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	801.02	 The chemical structure of ginsenoside Rg1 is shown. It consists of a steroid nucleus with a dammarane skeleton. The structure features a dammarane core with a methyl group at C-13, a methyl group at C-14, and a methyl group at C-15. The C-17 position is substituted with a prop-1-en-2-yl side chain. The C-20 position is substituted with a hydroxyl group. The C-26 position is substituted with a hydroxyl group. The C-27 position is substituted with a hydroxyl group. The C-28 position is substituted with a hydroxyl group. The C-29 position is substituted with a hydroxyl group. The C-30 position is substituted with a hydroxyl group. The C-31 position is substituted with a hydroxyl group. The C-32 position is substituted with a hydroxyl group. The C-33 position is substituted with a hydroxyl group. The C-34 position is substituted with a hydroxyl group. The C-35 position is substituted with a hydroxyl group. The C-36 position is substituted with a hydroxyl group. The C-37 position is substituted with a hydroxyl group. The C-38 position is substituted with a hydroxyl group. The C-39 position is substituted with a hydroxyl group. The C-40 position is substituted with a hydroxyl group. The C-41 position is substituted with a hydroxyl group. The C-42 position is substituted with a hydroxyl group. The structure is shown in a perspective view with the dammarane core and the side chains.

[0013]

组分名称	分子式	分子量	结构式
人参皂苷 Re	$C_{48}H_{82}O_{18}$	946	 <p>其中 glc2rha 表示 1 个 β-D-葡萄糖吡喃糖残基和 2 个 α-D-鼠李吡喃糖残基组成的短糖链</p>
三七皂苷 R ₁	$C_{47}H_{80}O_{18}$	933.14	

[0014] 在本发明的上述技术方案中所述三七三醇皂苷组合物还可含有微量的人参皂苷 Rg₂、人参皂苷 Rh₁、三七皂苷 R₂ 和 / 或三七皂苷 R₃。

[0015] 本发明提供的三七三醇皂苷组合物, 具有以下优点:

[0016] (1) 在药效学方面, 该组合物对于心脑血管栓塞性疾病的病理生理过程具有更强的针对性, 能够更有效地抑制血栓的形成和发展, 并促进血栓的溶解和血管的疏通;

[0017] (2) 在药理作用方面, 该组合物的针对性明显优于现有技术中的三七总皂苷制剂。

[0018] 本发明的另一个技术方案提供了本发明三七三醇皂苷组合物的制备方法, 该方法包括以下步骤:

[0019] (1) 用浓度为 50 ~ 90wt%、优选 55 ~ 70wt%、最优选约 60wt% 的乙醇浸泡提取三七, 所用的乙醇量为所用三七重量的至少 3 倍, 收集乙醇提取液;

[0020] (2) 使所述乙醇提取液通过苯乙烯型大孔树脂柱, 优选使用非极性或弱极性的苯

乙烯型大孔树脂,这些树脂包括但不限于 D101、D140、Dj-1 或 D201 ;

[0021] (3) 用浓度为 30 ~ 50wt%、优选 35 ~ 45wt%、最优选约 40wt% 的乙醇对所述苯乙烯型大孔树脂柱进行洗脱,收集洗脱液。优选的是,在用所述乙醇进行洗脱前,用水对苯乙烯型大孔树脂柱进行洗脱,以除去水溶性杂质。

[0022] 在本发明的上述技术方案中所述步骤 (1) 中使用乙醇的浓度约 60wt% 是指其浓度在可接受误差范围内,一般为 $60 \pm 3\text{wt}\%$ 。所述步骤 (3) 中使用乙醇的浓度约 40wt% 是指其浓度在可接受误差范围内,一般为 $40 \pm 2\text{wt}\%$ 。

[0023] 在上述步骤 (1) 和步骤 (3) 中,对所使用的乙醇量没有太多限制。但对于步骤 (1) 而言,一般所用的乙醇量为所用三七重量的 3 ~ 15 倍。如果所用的乙醇量太少,则浸泡提取不充分,但是如果用的乙醇量太多,将会导致乙醇的浪费并使后续的乙醇回收步骤的能源成本增加。同样对于步骤 (3) 而言,一般所用的乙醇量为所用三七量的 1 ~ 15 倍。如果所用的乙醇量太少,则洗脱不充分,但是如果用的乙醇量太多,将会导致乙醇的浪费并使后续的乙醇回收步骤的能源成本增加。

[0024] 为了提高提取的效率,在本发明三七三醇皂苷组合物的制备方法中所述步骤 (1) 用乙醇对三七进行浸泡提取前,从有利于后续步骤的效率考虑,需要将三七进行粉碎。优选将三七粉碎成粒径范围在《中国药典》2000 年版一部(化学工业出版社,2000 年 1 月出版)规定的最粗粉和粗粉之间,对于粉碎的方式没有任何限制。

[0025] 因此,本发明三七三醇皂苷组合物的制备方法中所述步骤 (1) 优选实施方式如下:

[0026] (a) 将三七粉碎,得三七粉;

[0027] (b) 采用浓度为 50 ~ 90wt%、优选 55 ~ 70wt%、最优选约 60wt% 的乙醇对所述步骤

[0028] (a) 所得的三七粉进行浸泡,所用的乙醇量为所用三七粉重量的至少 2 倍;和

[0029] (c) 采用浓度为 50 ~ 90wt%、优选 55 ~ 70wt%、最优选约 60wt% 的乙醇对所述步骤

[0030] (b) 所得的浸泡后的三七粉进行渗漉,所用的乙醇量为所用三七粉重量的至少 1 倍,收集渗漉液。

[0031] 在本发明的上述技术方案中所述步骤 (b) 和步骤 (c) 中使用乙醇的浓度约 60wt% 是指其浓度在可接受误差范围内,一般为 $60 \pm 3\text{wt}\%$ 。

[0032] 在上述步骤 (b) 中浸泡三七粉所用的乙醇量和步骤 (c) 中渗漉所用的乙醇量都没有太多限制。但浸泡三七粉的所用乙醇量的合理范围一般为所用三七粉重量的 2 ~ 4 倍,渗漉所用乙醇量的合理范围一般为所用三七粉重量的 1 ~ 15 倍。如果浸泡三七粉的所用乙醇量和渗漉所用乙醇量低于上述范围的下限的话,则不能充分有效地浸泡提取出三七中的有效成份,但如果所用的乙醇量超过上述范围的上限的话,提取效率也不会再有提高,而且还会导致乙醇的浪费并使后续的乙醇回收步骤的能源成本增加。

[0033] 如果需要,还可进一步将步骤 (3) 收集的洗脱液进行浓缩,得三七三醇皂苷醇浸膏,并对上述三七三醇皂苷醇浸膏进行干燥。所述的浓缩步骤可以采用任何常规的方法,但优选采用减压浓缩的方法。所述的干燥步骤可以采用各种手段,如喷雾干燥、减压干燥等。

[0034] 为了获得有效成分更高的三七三醇皂苷组合物,还可进一步对步骤 (3) 收集的洗

脱液、对步骤 (3) 收集的洗脱液的浓缩产物或浓缩干燥产物进行进一步的纯化精制,所述的纯化精制步骤可以采用各种手段,包括但不限于柱层析、溶剂萃取等。在采用柱层析进行纯化时,优选使用弱碱性阴离子交换树脂,这些树脂包括但不限于 BS-II、D301 或 D313。采用萃取方法时,可以使用的溶剂有:正丁醇或乙酸乙酯等。

[0035] 为了降低成本,在本发明三七三醇皂苷组合物的制备方法中,还可回收所述步骤 (1) 中收集的乙醇提取液、步骤 (c) 中收集的渗漉液或步骤 (3) 中收集的洗脱液中的乙醇,优选采用减压回收方式。

[0036] 本发明提供的三七三醇皂苷组合物的制备方法能够有效分离三七总皂苷中的三七三醇类皂苷有效成分;而且该制备方法所用的溶剂安全、廉价易得、无残留,并且溶剂也可回收利用,大大降低了制备成本。

[0037] 本发明的又一个技术方案提供了一种三七三醇皂苷组合物用于制备治疗血管栓塞性疾病的药物的应用,特别是用于制备治疗心脑血管栓塞性疾病的药物的应用。所述的心脑血管栓塞性疾病包括脑卒中、冠心病、心绞痛、心肌梗死、视网膜中央静脉阻塞等,中风症见半身不遂、口舌歪斜、言语蹇涩、偏身麻木等。

[0038] 本发明提供的三七三醇皂苷组合物可以被制成各种剂型,例如,颗粒剂、合剂、片剂、散剂、蜜丸、胶囊、注射剂、滴剂、贴剂等剂型。制备这些剂型的方法和所用的助剂是本领域的技术人员已知的,例如,可参见《中药药剂学》(上海科学技术出版社,1986年11月出版)、《药用辅料大全》(四川科学技术出版社,1995年1月出版)、《中国药典》2000年版一部(化学工业出版社,2000年1月出版)等。

[0039] 对于本发明药物单剂所含的本发明三七三醇皂苷组合物的含量没有具体的限制,例如,可在 50 ~ 500 毫克 / 剂。对于本发明药物制剂的给药途径也没有过多的限制,例如可以通过口服、灌胃、肌肉内注射、血管内注射、透皮、十二指肠给药、鼻内给药等方式。

[0040] 本发明的上述制剂具有活血化瘀,活络通脉,抗血小板聚集,防止血栓形成,改善微循环,降低全血粘度,增强颈动脉血流量的功效,因此可主要用于心脑血管栓塞性病症,例如中风、半身不遂、口舌歪斜、言语蹇涩、偏身麻木的治疗。

[0041] 本发明还提供了一种治疗血管栓塞性疾病的方法,其特征在于,给需要治疗的患者施用有效剂量的本发明三七三醇皂苷组合物。所述的血管栓塞性疾病包括但不限于心脑血管栓塞性疾病:例如,中风、半身不遂、口舌歪斜、言语蹇涩、偏身麻木等。所述的患者包括人,也包括猫、狗、猩猩、猴子等动物。所述的有效剂量会随患者的疾病严重程度、体重、体质、年龄、患病历史等因素有所变化。但是,医师或药剂师有能力为不同的患者确定出合适的服用量。例如,可在 1 ~ 15mg/kg 体重 / 天的范围内选择,优选在 2 ~ 10mg/kg 体重 / 天的范围内选择。

具体实施方式

[0042] 实施例 1

[0043] 使用万能粉碎机(购自上海天和制药机械厂,型号 GF-300)粉碎三七干燥根茎 150kg(产地:云南省文山州),至粒径范围 10 目 ~ 24 目的三七粗粉,用 2 倍药材重量的浓度为 60wt% 乙醇浸泡上述三七粗粉后填入渗漉桶,用 15 倍药材重量的浓度为 60wt% 7 醇对湿料进行渗漉,减压回收渗漉液中的乙醇后得三七总皂苷醇浸膏。将上述三七总皂苷醇浸

膏用纯化水配制成 10 倍药材重量的溶液,将所得水溶液上样到苯乙烯型大孔树脂 D140(购自成都中蓝晨光化工研究院)柱,先用 5 倍药材重量的纯化水洗脱,再对经纯化水洗脱的树脂柱用 9 倍药材重量的浓度为 40wt%乙醇洗脱,流速为 0.2 倍柱体积/小时,然后收集洗脱液。对上述洗脱液进行减压浓缩,回收乙醇得醇浸膏,并对所得醇浸膏喷雾干燥,即得 6kg 粉末状的三七三醇皂苷组合物。为简明起见,下文中有时将三七三醇皂苷组合物简称为 PTS。

[0044] 通过高效液相色谱法,采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈-水(体积比为 19.5 : 80.5)为流动相,检测波长为 210nm,分别测定实施例 1 制得的 PTS 中 R_{g_1} 含量为 60wt%、Re 含量为 7wt%、 R_1 含量为 12wt%。

[0045] 实施例 2 ~ 4

[0046] 按照与实施例 1 所述的相同的方法和步骤,采用不同浓度、不同重量的乙醇对三七粗粉进行浸泡、渗漉和洗脱,获得了下列本发明的组合物,结果如下表 2 所示:

[0047] 表 2.

实施例编号	所用三七药材重量	浸泡、渗漉用乙醇的浓度和用量	采用树脂、洗脱树脂用乙醇的浓度和用量	PTS 的重量和主要组分的含量
实施例 2	1kg	浸泡用乙醇浓度为 75wt%,用量为 2 倍药材重量 渗漉用乙醇浓度为 75wt%,用量为 9 倍药材重量	D101(购自天津农药厂) 50wt% 2 倍药材重量	PTS 的重量 :0.0735kg R_{g_1} :35.01wt% Re :4.445wt% R_1 :11.56wt%
实施例 3	1kg	浸泡用乙醇浓度为 60wt%,用量为 2 倍药材重量 渗漉用乙醇浓度为 60wt%,用量为 9 倍药材重量	D101(购自天津农药厂) 40wt% 1.5 倍药材重量	PTS 的重量 :0.0556kg R_{g_1} :60.72wt% Re :7.535wt% R_1 :12.23wt%

实施例 4	1kg	浸泡用乙醇浓度为 60wt%，用量为 2 倍药材重量 渗漉用乙醇浓度为 60wt%，用量为 9 倍药材重量	D140(购自成都中蓝晨光化工研究院) 30wt% 1.5 倍药材重量	PTS 的重量 :0.0184kg R _{g1} :47.415wt% Re :6.505wt% R ₁ :16.15wt%
-------	-----	--	---	---

[0048] 实施例 5

[0049] 取实施例 1 制得的干燥的 PTS 100g, 用 pH 值为 6 的乙酸缓冲液配制成 2.5L 溶液, 将所得溶液上样到弱碱性阴离子交换树脂 BS-II (购自成都中蓝晨光化工研究院) 柱, 树脂柱体积为 6L, 用 pH 值为 6 的乙酸缓冲液 12L 洗脱, 流速为 0.4 倍柱体积 / 小时, 收集洗脱液, 对所得洗脱液浓缩干燥, 即得 60g 粉末状的精制三七三醇皂苷组合物。

[0050] 通过高效液相色谱法, 采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以乙腈 - 水 (体积比为 19.5 : 80.5) 为流动相, 检测波长为 210nm, 分别测定实施例 5 制得的 PTS 中 R_{g1} 含量为 65wt%、Re 含量为 8wt%、R₁ 含量为 20wt%。水分含量约为 5wt%, 另外还含有约 2wt% 的杂质。

[0051] 实施例 6

[0052] 取实施例 1 制得的干燥的 PTS 100g, 溶于浓度为 50wt% 的乙醇中, 加淀粉 100g, 混匀, 用一步制粒机制粒, 充填制成胶囊 1000 粒。

[0053] 试验例 1 对血小板聚集功能和释放功能的影响

[0054] 采用比浊法, 利用 PAM-3 型双通道血小板聚集仪 (购自江苏省丹阳无线电厂), 对本发明组合物的抑制血小板聚集的功能进行体内实验评价。健康雄性 SD 大鼠, 分为大 (150mg/kg)、中 (75mg/kg)、小 (37.5mg/kg) 三个剂量组和 1 个阿斯匹林阳性对照组 (300mg/kg)。将实施例 1 制得的 PTS 粉末用生理盐水配成溶液, 按照预定的剂量十二指肠给药所制成的 PTS 溶液。给药一次, 1 小时后, 腹主动脉取血, 制备富血小板血浆, 加入浓度为 3×10^{-6} mol/L 的诱导剂二磷酸腺苷 (ADP)。实验结果表明: 实施例 1 制得的 PTS 能明显抑制由 ADP 诱导的大鼠血小板聚集, 并随剂量增加作用增强, 其抑制 ADP 引起的血小板聚集作用强度与阿斯匹林基本相当。

[0055] 采用比浊法, 利用 PAM-3 型双通道血小板聚集仪 (购自江苏省丹阳无线电厂), 对本发明组合物的抑制血小板聚集的功能进行体外实验评价。首先用生理盐水将实施例 1 制得的 PTS 粉末配成溶液, 浓度分别为 1、2、4mg/ml。取健康雄性家兔, 颈总动脉取血, 制备富血小板血浆后, 用等体积的所制成的 PTS 溶液稀释, 再向上述稀释后的血浆中加入浓度为 3×10^{-6} mol/L 的诱导剂 ADP, 诱导血小板聚集。实验结果证明: 实施例 1 制得的 PTS 具有明显抑制由 ADP 诱导家兔血小板聚集的作用, 该作用与剂量呈相关性, 与阿斯匹林比较, 与体内结果相似。

[0056] 试验例 2 对大鼠实验性血栓的影响

[0057] 取健康雄性 SD 大鼠 42 只, 体重 300g 以上, 分为 2 个对照组和 4 个实验组, 每组 7 只。用生理盐水将实施例 1 制得的 PTS 粉末配成溶液, 十二指肠给药所制成的 PTS 溶液, 4 个实验组的给药剂量分别为 25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、200mg/kg, 给药一次。阴性对

照组十二指肠给药和最大剂量实验组等容量的蒸馏水,阳性药物对照组灌胃给予阿司匹林(300mg/kg),给药一次。给药1小时后,采用动静脉旁路的方法进行手术,建立血循环。结果证明:实施例1制得的PTS 50mg/kg、100mg/kg、200mg/kg均能明显抑制大鼠实验性血栓的形成,剂量增加,作用增强。

[0058] 试验例3对小鼠出血时间的影响

[0059] 取健康雄性昆明种小鼠40只,分为1个对照组和3个实验组,每组10只。对照组腹腔注射给药阿斯匹林(150mg/kg,给药一次),3个实验组分别腹腔注射给药实施例1制得的PTS粉末的生理盐水溶液(浓度为50mg/ml),分为大(300mg/kg)、中(150mg/kg)、小(75mg/kg)三个剂量组,给药一次。给药20分钟后,将鼠尾尖部剪断,以滤纸接血滴,每30秒接一次,直到无出血为止,记录出血时间。结果证明:实施例1制得的PTS和阿斯匹林都有延长出血时间的趋势,但无明显差异。

[0060] 试验例4对沙土鼠实验性脑缺血的影响

[0061] 取沙土鼠50只,随机分为1个正常组、1个缺血对照组、1个阳性药物对照组、2个实验组,每组10只。正常组正常饲养,未给予任何药物,其余各组采用沙土鼠单侧颈总动脉结扎形成一侧脑半球梗塞的实验模型。实验组腹腔注射给药实施例1制得的PTS的生理盐水溶液(浓度为50mg/ml),分为大(150mg/kg)、小(75mg/kg)两个剂量组,每天给药一次,连续10天。缺血对照组腹腔注射给予和大剂量实验组等容量生理盐水,每天给药一次,连续10天。阳性对照药物组灌胃给予尼莫地平60mg/kg,每天给药一次,连续10天。末次给药1小时后,乙醚麻醉,观察实施例1制得的PTS对局部脑缺血引起的脑功能障碍和脑组织钾、钠离子的影响。按照Butterfield等(1973年全国冠心病座谈会资料选编,261页,人民卫生出版社1974)的方法对动物进行行为评分,结果表明实施例1制得的PTS使沙土鼠实验性脑缺血行为明显改善,阳性对照药物尼莫地平亦有明显作用。对脑组织采用火焰发射分光光度法测定钾、钠离子的含量。结果表明缺血对照组沙土鼠缺血侧大脑半球钠含量增加,钾含量降低。大剂量PTS(150mg/kg)组钾、钠含量无明显变化,小剂量PTS(75mg/kg)组除钾含量明显降低外,钠含量变化不显著。尼莫地平亦有这样对抗作用。

[0062] 综上所述,表明实施例1制得的PTS对沙田鼠试验性脑缺血具有一定保护作用。

[0063] 试验例5对大鼠中脑动脉阻塞致脑梗塞的保护作用

[0064] (1) 预防给药

[0065] 取雄性Wistar大鼠50只,随机分为缺血对照组、阳性药物对照组、大剂量(200mg/kg/天)实验组、中剂量(100mg/kg/天)实验组、小剂量(50mg/kg/天)实验组,每组10只。缺血对照组灌服蒸馏水4ml/kg/天,阳性对照药物组灌胃给予尼莫地平50mg/kg/天。将实施例1制得的PTS粉末用生理盐水配成悬浮液,对实验组动物按照预定的剂量灌胃给药。各组连续给药7天。于末次给药2小时后,对各组大鼠分别腹腔注射水合氯醛350mg/kg麻醉,灼断大鼠大脑中动脉引起脑梗塞。观察实施例1制得的PTS预防给药对局部脑缺血引起的脑功能障碍和梗塞范围的影响。结果表明:连续灌服给药7天(200、100、50mg/kg/天)实施例1制得的PTS,对阻断大鼠大脑中动脉所致脑梗塞有明显疗效,脑梗塞组织百分比减了54.2%。采用行为评分法,结果表明,与尼莫地平类似,高、中剂量实验组可明显改善其行为障碍。

[0066] (2) 治疗性给药

[0067] 取雄性 Wistar 大鼠 50 只,按体重随机分为缺血对照组、阳性药物对照组、大剂量 (200mg/kg/天) 实验组、中剂量 (100mg/kg/天) 实验组、小剂量 (50mg/kg/天) 实验组,每组 10 只。对各组大鼠分别腹腔注射水合氯醛 350mg/kg 麻醉,灼断大鼠大脑中动脉引起脑梗塞。将实施例 1 制得的 PTS 粉末用生理盐水配成悬浮液,对实验组动物按照预定的剂量灌胃给药。缺血对照组灌服蒸馏水 4ml/kg/天,阳性对照药物组灌胃给予尼莫地平 50mg/kg/天。各组连续给药 6 天,于末次给药 2 小时后,观察阻塞后治疗给药实施例 1 制得的 PTS 对局部脑缺血引起的脑功能障碍和梗塞范围的影响。结果表明:阻塞后连续灌服给药 6 天 (200、100、50mg/kg/天) 实施例 1 制得的 PTS,对阻断大鼠大脑中动脉所致脑梗塞的梗塞组织百分比减少了 37.1%,亦明显改善脑梗塞大鼠的行为障碍。

[0068] 综上所述,表明实施例 1 制得的 PTS 对大鼠局部脑缺血有保护作用。

[0069] 试验例 6 对大鼠血液粘度的影响

[0070] 取健康雄性 Wistar 大鼠 50 只,随机分为 2 个对照组和 3 个实验组,每组 10 只,3 个实验组分别为大 (80mg/kg)、中 (40mg/kg)、小 (20mg/kg) 三个剂量组。将实施例 1 制得的 PTS 粉末配成的生理盐水溶液,3 个实验组按照预定剂量腹腔注射给药所制得的 PTS 溶液,每天一次,共 10 天。阴性对照组腹腔注射给予和大剂量实验组等容量的生理盐水,阳性药物对照组腹腔注射给予卡兰 30mg/kg,每天一次,共 10 天。于最后一次给药后 1 小时用戊巴比妥钠 40mg/kg 腹腔麻醉,腹主动脉取血,以 3.8% 枸橼酸钠水溶液抗凝,按血液粘度测定法测定血液粘度。

[0071] 实验结果表明,多次腹腔注射实施例 1 制得的 PTS 粉末后可明显降低全血浓度,高剂量组降低显著 ($P < 0.05$),阳性对照药卡兰亦明显降低全血粘度。大剂量组使红细胞压积明显下降,对血浆比粘度和血沉无显著影响。

[0072] 试验例 7 急性毒性试验

[0073] 选体重为 18 ~ 22 克的健康 NIH 小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半。各组给药剂量分别为 4444.44mg/kg、4000.00mg/kg、3600.00mg/kg、3240.00mg/kg、2916.00mg/kg,剂距比为 1 : 0.9。用灭菌的生理盐水将实施例 1 制得的 PTS 粉末配制成 PTS 溶液,按照预定剂量给各实验组小鼠静脉注射给药所制得的 PTS 溶液,根据实验结果计算 LD_{50} (药物半数致死量:即在急性毒性实验中药物引起实验动物半数死亡的剂量) 为 3422.2mg/kg (3261.8 ~ 3590.6),死亡前出现短暂的抽搐、惊跳、呼吸抑制继而死亡。

[0074] 试验例 8 长期毒性试验

[0075] 将实施例 1 制得的 PTS 粉末用生理盐水配成浓的悬浮液,用灌胃针以 2g/kg 体重/天的剂量给大鼠灌胃给药,共 90 天。试验结束后,评价大鼠的生理情况。结果发现,试验大鼠饮食正常,体重增长正常,血液学、血液生化指标无明显影响,组织学检查各脏器未见明显病变。

[0076] 尽管结合优选实施例对本发明进行了说明,但本发明并不局限于上述实施例,应该理解,在本发明构思的教导下,本领域技术人员可进行各种修改和改进,所附权利要求概括了本发明的范围。