

[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 200610057543.2

[51] Int. Cl.

C07J 53/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008年3月26日

[11] 授权公告号 CN 100376596C

[51] Int. Cl. (续)

A61P 9/06 (2006.01)

[22] 申请日 2006.3.13

[21] 申请号 200610057543.2

[73] 专利权人 杭太俊

地址 210009 江苏省南京市童家巷 24 号
药物分析室

共同专利权人 张正行 梁秉文 袁厚亮
安登魁 刘洁 方泰惠

[72] 发明人 杭太俊 张正行 梁秉文 袁厚亮
安登魁 刘洁 方泰惠

[56] 参考文献

CN1435428A 2003.8.13

CN1613868A 2005.5.11

CN1379040A 2002.11.13

CN1519246A 2004.8.11

冠心病药 -- 黄杨木研究 (第三报). 梁秉文等. 中成药研究, 第 6 期. 1980

环维黄杨星 D 分离方法改进. 胡国强等. 中国天然药物, 第 2 卷第 3 期. 2004

审查员 彭晓琦

[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

代理人 刘洪勋

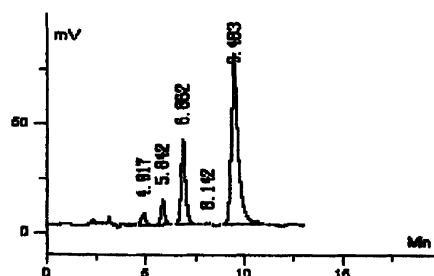
权利要求书 3 页 说明书 29 页 附图 10 页

[54] 发明名称

黄杨碱、黄杨碱盐酸盐及其制备方法和制成的制剂

[57] 摘要

本发明公开了一种黄杨碱, 基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成, 其重量含量分别为环维黄杨星 D60% ~ 95%、环黄杨碱 D1.0% ~ 30%、环常绿黄杨碱 C0.5% ~ 20%。还公开了这种黄杨碱的盐酸盐及其制备方法, 以及由黄杨碱或其盐酸盐制成的制剂。本发明的黄杨碱及其盐酸盐的组成及结构明确, 可进行有效的质量控制, 从而确保疗效稳定, 易于制成各种现代制剂, 而且制备工艺简便, 成本低。



1、一种黄杨碱，其特征在于：基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 60%~95%、环黄杨碱 D 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 0.5%~20%。

2、一种权利要求 1 所述的黄杨碱的制备方法，其特征在于：将黄杨木粉碎成粉末，加 8-12 倍量氨水溶液浸泡，加氯仿提取，将氯仿提取液减压回收氯仿，得残留物；加石油醚分散残留物，加稀盐酸溶液提取，提取液用活性炭脱色后，加氨水中和稀盐酸溶液至碱性，再用氯仿提取，将氯仿提取液减压蒸去大部分溶剂，待有大量固体析出时，加热回流并加氯仿适量使刚好溶解，然后冷处放置，析出结晶，滤过；用氯仿重结晶至少一次，减压干燥，得类白色至淡黄色黄杨碱结晶。

3、如权利要求 2 所述的黄杨碱的制备方法，其特征在于：所述的浸泡黄杨木粉末用的氨水为将浓氨水稀释至 2 倍体积后的氨水。

4、如权利要求 2 所述的黄杨碱的制备方法，其特征在于：所述的稀盐酸为 3M 的盐酸。

5、如权利要求 2 所述的黄杨碱的制备方法，其特征在于：所述的减压干燥操作温度为 80℃。

6、如权利要求 2 所述的黄杨碱的制备方法，其特征在于：所述的用氨水中和后溶液的 pH 值为 12。

7、一种黄杨碱盐酸盐，其特征在于：所述的黄杨碱盐酸盐基本

由环维黄杨星 D 的盐酸盐、环黄杨碱 D 的盐酸盐和环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 的盐酸盐 60%~95%、环黄杨碱 D 的盐酸盐 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐 0.5%~20%。

8、一种权利要求 7 所述的黄杨碱盐酸盐的制备方法，其特征在于：将基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成的黄杨碱溶于氯仿中，在搅拌情况下向氯仿溶液中通入过量干燥氯化氢气体，生成不溶于氯仿的黄杨碱盐酸盐沉淀，反应完成后，滤出沉淀，用乙醇洗涤沉淀，经减压干燥，用乙醇-氯仿重结晶，再减压干燥至恒重，得到黄杨碱盐酸盐。

9、如权利要求 8 黄杨碱盐酸盐的制备方法，其特征在于：所述的黄杨碱与氯化氢的摩尔比为 1:1~2。

10、一种黄杨碱制剂，其特征在于：该制剂由黄杨碱或其盐酸盐制成；

所述的黄杨碱基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 60%~95%、环黄杨碱 D 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 0.5%~20%；

所述的黄杨碱盐酸盐基本由环维黄杨星 D 的盐酸盐、环黄杨碱 D 的盐酸盐和环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 盐酸盐 60%~95%、环黄杨碱 D 盐酸盐 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 盐酸盐 0.5%~20%；

所述的制剂为注射剂或片剂、胶囊剂、丸剂、糖浆剂、颗粒

剂、散剂、口服溶液剂；所述的注射剂包括注射液和冻干制剂。

黄杨碱、黄杨碱盐酸盐及其制备方法和制成的制剂

技术领域

本发明涉及从黄杨木—小叶黄杨中提取分离和制备得到的含环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 三种主要生物碱成分的、具有协同心脑血管疾病治疗作用的生物碱有效部位—“黄杨碱”，及其盐酸盐的原料、和它们的药物制剂，以及它们的制备方法和质量分析控制方法。

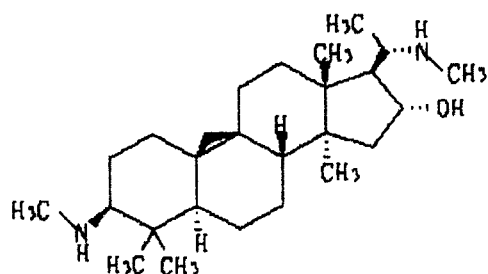
背景技术

黄杨木作为药用，为本草收载。环维黄杨星 D 为自黄杨木中分离得到的生物碱单体，环维黄杨星 D 原料及其制剂被《中国药典》2005 年版一部收载，分别为“环维黄杨星 D”原料和由环维黄杨星 D 原料制成的“黄杨宁片”。药典中记载的环维黄杨星 D 的原料及黄杨宁片采用的是环维黄杨星 D 单体。临床上用于与气滞血瘀所致的胸痹心痛、脉结代等症候相关的冠心病、心率失常等心血管疾病的的治疗。

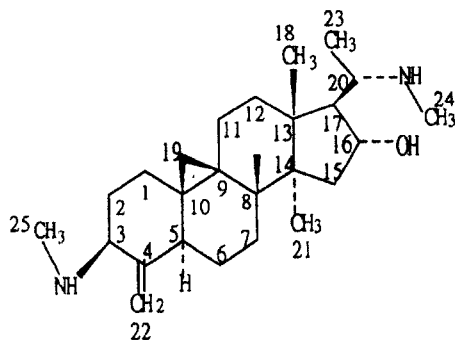
黄杨木中的生物碱有近八十种（梁秉文 张朝位 《黄杨碱与心脑血管疾病》，蓝天出版社 2000.5）。环维黄杨星 D

(Cyclovirobuxine D)、环黄杨碱 D (Cyclobuxine D) 和环常绿黄杨碱 C (Cyclovirobuxine C) 三种生物碱均是黄杨木的生物碱中的三种成分。

环维黄杨星 D (Cyclovirobuxine D) 的化学分子式为 $C_{26}H_{46}N_2O$ ，其分子量为 402.36，为类白色结晶性粉末，氯仿中易溶，水中不溶，结构式如下：

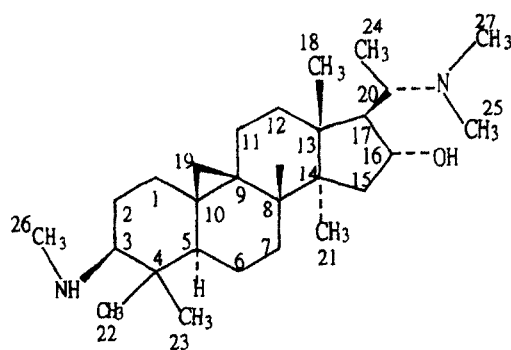


环黄杨碱 D (Cyclobuxine D) 的化学分子式为 $C_{25}H_{42}N_2O$ ，分子量为 386.36，为类白色粉末，氯仿中易溶，水中不溶，结构式如下：



下：

环常绿黄杨碱 C (Cyclovirobuxine C) 的分子式为 $C_{27}H_{48}N_2O$ ，分子量为 416.37，为类白色结晶性粉末，化学结构式为：



环维黄杨星 D 及其它生物碱难溶于水，环维黄杨星 D 单体的提纯比较困难，工艺复杂、成本高，虽然环维黄杨星 D 原料及其制剂被《中国药典》2005 年版一部收载，但由于采用了环维黄杨星 D 单体作原料，造成采用环维黄杨星 D 单体制备的药物成本高。并且，采用环维黄杨星 D 单体制成的药物的药效时间短。

发明内容

针对目前的环维黄杨星 D 单体原料及由这种单体原料制成的药品制剂存在的成本高的问题，本发明的目的在于提供一种黄杨碱，提取简便成本低，且具有协同的心血管病治疗活性。

本发明的另一个目的在于提供一种黄杨碱盐酸盐，以改善黄杨碱组合物的溶解性。

本发明的第三个目的在于提供一种黄杨碱、黄杨碱盐酸盐的制备方法。

本发明的第四个目的则在于提供一种黄杨碱、黄杨碱盐酸盐的制剂。

为了实现本发明的第一个目的，本发明提供的黄杨碱采用如下技术方案，一种黄杨碱，基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 60%~95%、环黄杨碱 D 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 0.5%~20%。

黄杨碱中还可以含有重量含量为 10%以下的其他生物碱。

由于黄杨碱中的生物碱难溶于水，不易被人体所吸收，为改善其溶解性能以便于制成易被人体吸收的制剂，将所述的黄杨碱制成盐酸盐，以实现本发明的第二个目的，其技术方案为：一种黄杨碱盐酸盐，所述的黄杨碱盐酸盐基本由环维黄杨星 D 的盐酸盐、环黄杨碱 D 的盐酸盐和环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 的盐酸盐 60%~95%、环黄杨碱 D 的盐酸盐 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐 0.5%~20%。

作为本发明的第三个目的，本发明还提供了一种简便易行的由黄杨木提取制备本发明的黄杨碱的方法：将黄杨木粉碎成粉末，加 8-12 倍量氨水溶液浸泡，加氯仿提取，将氯仿提取液减压回收氯仿，得残留物；加石油醚分散残留物，加稀盐酸溶液提取，提取液用活性炭脱色后，加氨水中和稀盐酸溶液至碱性，再用氯仿提取，将氯仿提取液减压蒸去大部分溶剂，待有大量固体析出时，加热回流并加氯仿适量使刚好溶解，然后冷处放置，析出结晶，滤

过；用氯仿重结晶至少一次，减压干燥，得类白色至淡黄色黄杨碱结晶。

黄杨碱盐酸盐则由生物碱与氯化氢反应制得，其制备方法为：将基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成的黄杨碱溶于氯仿中，在搅拌情况下向氯仿溶液中通入过量干燥氯化氢气体，生成不溶于氯仿的黄杨碱盐酸盐沉淀，反应完成后，滤出沉淀，用乙醇洗涤沉淀，经减压干燥，用乙醇-氯仿重结晶，再减压干燥至恒重，得到黄杨碱盐酸盐。

本发明还提供了一种黄杨碱制剂，该制剂由黄杨碱或其盐酸盐制成：

所述的黄杨碱基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 60%~95%、环黄杨碱 D 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 0.5%~20%；

所述的黄杨碱盐酸盐基本由环维黄杨星 D 的盐酸盐、环黄杨碱 D 的盐酸盐和环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐组成，其重量含量分别为环维黄杨星 D 盐酸盐 60%~95%、环黄杨碱 D 盐酸盐 1.0%~30%、环常绿黄杨碱 C 盐酸盐 0.5%~20%；

所述的制剂为注射剂(包括注射液和冻干制剂)或片剂、胶囊剂、丸剂、糖浆剂、颗粒剂、散剂、口服溶液剂。

本发明的有益技术效果是：黄杨碱及其盐酸盐基本由环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 生物碱组成，为由黄杨木中直接提取出的混合物，具有结构明确、含量稳定，可以进行有效的质量控制，能够保障疗效确切的特点；相对于环维黄杨星 D 来说提取工艺路线更加明确、简便、成本较低。特别是，三种生物碱还具有协同的心血管病治疗活性，黄杨碱、及其盐酸盐和它们相应的药物制剂，在临床上具有比环维黄杨星 D 单体更优的用于心脑血管疾病治疗的作用。主要应用领域为：冠心病治疗、心律失常治疗、脑血管病治疗。

将黄杨碱进一步制成其盐酸盐，使得其溶解性能好，利于制成各种制剂和人体的吸收。

附图说明

图 1 为黄杨碱 HPLC 分析典型图。

图 2 为黄杨碱盐酸盐 HPLC 分析典型图。

图 3 为环维黄杨星 D 对照品(峰 1)。

图 4 为 HPLC 测定环维黄杨星 D 图谱。

图 5 为 HPLC 测定黄杨碱盐酸盐图谱。

图 6 为黄杨碱的红外吸收谱。

图 7 为黄杨碱的粉末 X-衍射谱。

图 8 为黄杨碱的 DSC 热分析图。

图 9 为黄杨碱的 TG 热分析图。

图 10 为黄杨碱盐酸盐的红外吸收谱。

图 11 为黄杨碱盐酸盐的粉末 X-衍射谱。

图 12 为黄杨碱盐酸盐的 DSC 热分析图。

图 13 为黄杨碱盐酸盐的 TG 热分析图。

具体实施方式

下面结合附图和实施例对本发明作进一步说明。

实施例 1

黄杨碱制备：从黄杨木中提取分离精制包含环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 三种主要生物碱成分的生物碱有效部位—黄杨碱。

1.1 黄杨碱制备

黄杨木，粉碎成粉末，加 10 倍量氨水溶液(将浓氨水稀释至 2 倍量体积)浸泡 24 小时，加氯仿提取三次，合并氯仿提取液，减压回收氯仿，得残留物。加石油醚分散残留物，加稀盐酸溶液(3M)提取四次，合并稀盐酸溶液，活性炭脱色，加浓氨水中和稀盐酸溶液至碱性(pH12)，用氯仿提取三次，合并氯仿提取液，减压蒸去大部分溶剂。待有大量固体析出时，加热回流并加氯仿适量使刚好溶解。冷处放置，析出结晶，滤过。用氯仿重结晶 2 次，80℃减压干燥，得类白色至淡黄色黄杨碱结晶。其溶解性见表 1。

表 1 黄杨碱在常用溶剂中的溶解性

溶剂	供试取样量(g)	完全溶解溶剂用量(ml)	溶解性
氯仿	1.0	6	易溶
冰醋酸	1.0	9	易溶
甲醇	1.0	22	溶解
乙醇	1.0	28	溶解
丙酮	1.0	90	略溶
0.1mol/L HCl	1.0	50	略溶
水	1.0	>1000	几乎不溶

1.2 组成与含量测定

色谱条件与系统适用性试验 氨丙基硅烷键合硅胶为填充剂 (Lichrospher-NH₂, 250mm×4.6 mm, 5 μ m), 乙腈-0.4%磷酸氢二钾溶液(70:30)为流动相, 流速 1ml/min, 柱温 40℃, 检测波长 210nm。

黄杨碱供试品溶液 精密称取黄杨碱约 5mg, 置 10ml 量瓶中, 加流动相适量, 超声处理使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

测定方法 精密量取供试品溶液 20 μ l, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按面积归一化法计算, 即得供试品中各主要生物碱成分的含量。

在上述系统适用性色谱条件下, 黄杨碱原料药中的各生物碱均可基线分离。经研究分离分析鉴定, 确证本专利方法制得黄杨碱原料主要含环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C。

液相典型色谱见图 1，图中 $t_{R9.483}$ 峰为环维黄杨星 D； $t_{R6.862}$ 峰为环黄杨碱 D； $t_{R5.842}$ 峰为环常绿黄杨碱 C； $t_{R4.917}$ 峰为未经鉴定其它生物碱。表明主要含环维黄杨星 D (Cyclovirobuxine D)、环黄杨碱 D (Cyclobuxine D) 和环常绿黄杨碱 C (Cyclovirobuxine C) 三种生物碱成分。

黄杨碱 按重量计，含量在 95%以上(高氯酸非水溶液滴定法测定，中国药典附录方法)。主要含有环维黄杨星 D、环黄杨碱 D、环常绿黄杨碱 C 等生物碱成分。

1.3 黄杨碱中主要成分的含量比例

以游离碱计，各主要生物碱成分的含量比例如下表 2。

表 2 黄杨碱组成及含量

生物碱成分	含量比例%(wt)
环维黄杨星 D	95~60
环黄杨碱 D	1.0~30
环常绿黄杨碱 C	0.5~20
其它生物碱	0~10

1.4 黄杨碱中主要生物碱成分单体的分离鉴定

黄杨碱是从黄杨木中提取精制而得的生物碱有效部位。本发明经研究，利用高效液相制备色谱进行了黄杨碱成分的分离鉴定。分离条件：硅胶制备色谱柱；正己烷-氯仿-甲醇-三乙胺 (100:100:100:2) 流动相；ELSD 检测器。用此条件分离纯化制得环

维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 生物碱单体。

环维黄杨星 D 的结构鉴定 环维黄杨星 D 为类白色结晶性粉末，氯仿中易溶，水中不溶。其 EI-MS 质谱中，最高质量区的离子峰 m/z 402，为偶数，分子结构中含有偶数个氮原子。高分辨质谱得到其分子量为 MW402.36，分子式为 $C_{26}H_{46}N_2O$ ，KBr 压片 IR 光谱中在 $3414\text{ cm}^{-1}\sim 3100\text{ cm}^{-1}$ ， 1147.5 cm^{-1} 和 1032 cm^{-1} 有 -NH 及 -OH 特征吸收。确证为环维黄杨星 D。

环黄杨碱 D 的结构鉴定 环黄杨碱 D 为类白色结晶性粉末，氯仿中易溶，水中不溶。其 EI-MS 质谱中，最高质量区的离子峰 m/z 386，为偶数，分子结构中含有偶数个氮原子。高分辨质谱得到其分子量为 MW386.36，分子式为 $C_{25}H_{42}N_2O$ ，与环维黄杨星 D 相比分子量减少 16 即 CH_4 。甲醇中 UV 光谱分析表明仅有末端吸收 ($\lambda_{\max}=206.8\text{ nm}$)，表明分子结构中无共轭体系，只有杂原子胺基和羟基或未共轭的一个双键。KBr 压片 IR 光谱中在 $3414\text{ cm}^{-1}\sim 3100\text{ cm}^{-1}$ ， 1147.5 cm^{-1} 和 1032 cm^{-1} 有 -NH 及 -OH 特征吸收； 3092.2 cm^{-1} 和 3035.1 cm^{-1} 及 1642.8 cm^{-1} 和 1605.4 cm^{-1} 有与孤对双键 ($=C-H$) 相应的吸收。CDCl₃ 中 NMR 光谱分析，测得 $\delta_{\text{H}}4.583/\delta_{\text{H}}4.812$ 的烯氢及其 HSQC 耦合的 CH₂ 烯碳 ($\delta_{\text{C}}100.61$) 及 HMBC 相关的烯季碳 ($\delta_{\text{C}}153.55$)，证明该生物碱结构中含有一个双键。NMR 谱全面分析确证该生物碱为环黄杨碱 D (Cyclobuxine D)。

环常绿黄杨碱 C 的结构鉴定 环常绿黄杨碱 C 生物碱为类白色结晶性粉末。本品 EI-MS 质谱中，最高质量区的离子峰 m/z 为 416，为偶数，分子结构中含有偶数个氮原子。由高分辨质谱得到其分子量 MW 416.37，分子式为 $C_{27}H_{48}N_2O$ ，与环维黄杨星 D 相比分子量增加 14，即在环维黄杨星 D 分子结构上增加了一个甲基取代基。根据其

EI-MS 谱特征裂解碎片离子峰 $m/e71$ (基峰)、 $m/e58$ 和 $m/e346$ 峰, 分析证明, 与环维黄杨星 D 比较, 增加的 CH_3 在 20-位仲胺基上, 鉴定为环常绿黄杨碱 C。

1.5 黄杨碱的特征光谱图

黄杨碱的典型红外吸收谱、粉末 x-衍射谱、热分析图分别如图 6-图 9 所示, 表明其为特征结晶性粉末。

在黄杨碱的制备过程中, 工艺参数的不同, 对黄杨碱的收率有一定影响, 但基本不会影响到其品质。本实施例中选择的参数是一个优选的参数。

实施例 2: 黄杨碱盐酸盐

2.1 制备

取黄杨碱 2 克(按实施例 1 中方法提取), 溶于 50 毫升的氯仿中, 在搅拌情况下向氯仿溶液中通入过量干燥氯化氢气体, 按每摩尔生物碱(各成份)均与 1~2 摩尔的氯化氢反应的用量通入氯化氢气体, 即生成不溶于氯仿的黄杨碱盐酸盐沉淀, 反应完成后, 滤出沉淀, 用适量乙醇洗涤沉淀二次, $80^{\circ}C$ 减压干燥, 用乙醇-氯仿重结晶, $80^{\circ}C$ 减压干燥至恒重, 即得黄杨碱盐酸盐。

溶解性 测得黄杨碱盐酸盐在常用溶剂中的溶解性见表 3。与黄杨碱相比其在水中的溶解性显著增大。而在氯仿中的溶解性则显著减小。

表 3 黄杨碱盐酸盐的溶解性

溶剂	供试取样量(g)	完全溶解溶剂用量(ml)	溶解性
氯仿	0.010	200	几乎不溶
甲醇	0.1	50	微溶
冰醋酸	0.1	70	微溶
0.1mol/L HCl	1.0	20	溶解
水	1.0	25	溶解

2.2 黄杨碱盐酸盐组成

黄杨碱盐酸盐为黄杨碱与盐酸成盐制得。黄杨碱与盐酸成盐比例为：每 1 摩尔生物碱各成分，均与 1~2 摩尔氯化氢成盐，主要为二盐酸盐；并含有 0~2 分子的吸附和结晶水，主要含 1 分子结晶水。黄杨碱盐酸盐中主要生物碱的含量比例与黄杨碱相同，黄杨碱盐酸盐的 HPLC 分析的典型图见图 2，HPLC 测定环维黄杨星 D 图谱见图 3。

图 2 中峰 1 为未知有关生物碱，峰 2 为环常绿黄杨碱 C，峰 3 为环黄杨碱 D，峰 4 为环维黄杨星 D。

图 3 中环维黄杨星 D 对照品为峰 1。

黄杨碱盐酸盐一由黄杨碱与氯化氢反应制得。黄杨碱盐酸盐含量在 95%以上(高氯酸非水溶液滴定法测定，中国药典附录方法)。

主要含有环维黄杨星 D、环黄杨碱 D、环常绿黄杨碱 C 等生物碱成

分。

2.3 黄杨碱盐酸盐中主要成分的含量比例

黄杨碱盐酸盐中主要生物碱的含量比例与黄杨碱相同。以游离生物碱计，各主要生物碱成分的含量比例比例范围见表 4

表 4 黄杨碱盐酸盐组成及含量

生物碱成分	含量比例%
环维黄杨星 D	95~60
环黄杨碱 D	1.0~30
环常绿黄杨碱 C	0.5~20
其它生物碱	0~10

2.4 黄杨碱盐酸盐的特征光谱图

黄杨碱盐酸盐的典型红外吸收谱、粉末 x-衍射谱、热分析图分别见图 10-图 13。表明其为特征结晶性粉末。

实施例 3：黄杨碱注射剂

由黄杨碱及/或其盐酸盐制成的注射剂，包括注射小针溶液、静脉滴注用注射液、注射用无菌粉末、冷冻干燥品，等。黄杨碱采用实施例 1 中制备的黄杨碱，黄杨碱盐酸盐采用实施例 2 中制备的黄杨碱盐酸盐。

实施例 4：黄杨碱口服制剂

由黄杨碱及/或其盐酸盐制成的口服制剂，包括片剂、胶囊剂、丸剂、糖浆剂、颗粒剂、散剂、口服溶液剂。黄杨碱采用实施例 1

中制备的黄杨碱，黄杨碱盐酸盐采用实施例 2 中制备的黄杨碱盐酸盐。

药效学试验例

为说明本发明的有益效果，对其药效试验情况作进一步说明：

1、冠心病治疗

黄杨碱、及其盐酸盐和它们相应的药物制剂，舒张冠状动脉和抗心肌缺血作用机制与血管内皮细胞释放一氧化氮有关。静脉注射，可明显抑制心肌缺血后血液流变性异常，有利于改善心肌缺血。对心脏的正性肌力作用机制与促使心肌细胞外 Ca^{2+} 内流和心肌细胞内 Ca^{2+} 释放有关。而负性频率可能是黄杨碱、及其盐酸盐和它们相应的药物制剂对心脏的直接作用引起心率减慢，左室收缩功能增强则与一氧化氮释放有关。对冠心病的心绞痛、胸闷、心悸、气促等症状均有效。能显著降低冠心病心绞痛症状的发生率，明显改善缺血型心电图。增加老年冠心病心功能不全者内源性洋地黄因子浓度，在扩张冠状动脉、调节血压等综合作用下改善心功能。能增强心肌收缩力，扩张外周血管，减轻冠心病患者舒张期负荷，进一步改善心肌血液灌注，并能增强心肌顺应性和协调性，从而使冠心病患者心功能得以改善。

2、心律失常治疗

适用于室性早搏、心动过速和室颤等。并有降低血粘度的作用。尤对病程较短，未经其它抗心律失常药治疗者或单源早搏无心脏器质性损害者效果较好。

3、脑血管病治疗

对急性脑缺血、缺氧时的损害性病变有改善和保护作用。脑动脉硬化症、脑血管供血不足患者服用，颈动脉血流量明显增加。

一、黄杨碱盐酸盐与环维黄杨星 D 单体的药效比较

试验材料：环维黄杨星 D(白色粉末状结晶，批号 2K20526，含量>99.0%)。临用前用 0.9%的氯化钠注射液配制成所需浓度。HPLC 测定环维黄杨星 D 图谱见图 4。

黄杨碱盐酸盐（白色粉末状结晶，批号 2K2BHC1。环维黄杨星 D 的盐酸盐含量为 75%(wt)、环黄杨碱 D 的盐酸盐含量为 17%(wt)、环常绿黄杨碱 C 的盐酸盐含量为 5%(wt)、其它生物碱成分含量为 3%(wt))。临用前用 0.9%的氯化钠注射液配制成所需浓度。HPLC 测定黄杨碱盐酸盐图谱见图 5。

1. 对小鼠常压耐缺氧存活时间的作用

实验方法：取昆明种小鼠 120 只，雌雄各半，随机分为 6 组，即对照组（给予等容积的生理盐水）、阳性药物组（复方丹参

注射液 10.0g 生药/kg)、环维黄杨星 D 组 (2.0mg /kg)、黄杨碱盐酸盐大、中、小 (2.0、1.0、0.5mg /kg)。各组均通过尾静脉给药, 给药容积为 10ml/kg。静脉给药 10min 后, 将小鼠置于 125ml 密闭广口瓶中 (内置钠石灰 20g)。以小鼠张口呼吸停止为小鼠死亡标志, 记录小鼠的存活时间, 超过 60min 的以 60min 计。

黄杨碱盐酸盐对小鼠常压耐缺氧的保护作用试验结果见表 5。

表 5 黄杨碱盐酸盐对小鼠常压耐缺氧的保护作用 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	呼吸维持时间 (min)
对照组	-	20	18.9±7.4
复方丹参组	10.0g 生药/kg	20	25.2±5.0**
环维黄杨星 D 组	2.0	20	23.6±6.8*▲
黄杨碱盐酸盐小剂量组	0.5	20	24.4±9.8
黄杨碱盐酸盐中剂量组	1.0	20	24.9±7.3*
黄杨碱盐酸盐大剂量组	2.0	20	27.9±5.8**

与对照组比较: *P<0.05, **P<0.01; 与黄杨碱盐酸盐大剂量组比较: ▲: P<0.05。

表明: 黄杨碱盐酸盐高、中两个剂量组 (2.0、1.0mg /kg) 与环维黄杨星 D 组 (2.0mg /kg) 比较, 能明显延长小鼠常压耐缺氧存活时间。

2. 对垂体后叶素 (Pit) 所致大鼠急性心肌缺血的作用

实验方法 取健康 SD 大鼠 70 只, 雌雄各半, 体重 180~220g, 随机分为 7 组, 即: 正常组、模型组 (以上两组给予等容积的生理盐水)、阳性药物组 (硝酸甘油 0.5mg/kg)、黄杨碱盐酸盐

小剂量(0.25mg/kg)、中剂量(0.5mg/kg)、大剂量(1.0mg/kg) 3 个剂量组、环维黄杨星 D 组(0.5mg/kg)。实验前大鼠禁食不禁水 12h, 腹腔注射乌拉坦 1g/kg 麻醉, 取仰卧位, 针状电极小心刺入四肢皮下, 测定 II 导联心电图, 手术后稳定 30min, 并记录正常心电图。各组动物分别经尾静脉注射给药, 15min 后, 除正常对照组外, 各组分别经舌下静脉注射垂体后叶素 1.5u/kg, 注射时间不超过 5s。立即记录注射垂体后叶素后 15s、30s、1、2、3、5、7、10、15min 的心电图。观察指标主要定为 T 波高度变化、心率变化。T 波高度测量以 PR 段为基线, 每时间点测 5 个连续的波型, 取其平均值。记录并计算 T 波高度的变化值(无论升高或降低, 取变化的绝对值)。对于 T 波高度变化及心率等时序关系的动态观察指标, 在每个时间点上, 以用药后的变化值作组间 t 检验。

黄杨碱盐酸盐对垂体后叶素所致心肌缺血大鼠心电图 T 波位移的影响, 见表 6。

黄杨碱盐酸盐对垂体后叶素所致心肌缺血大鼠心率的影响, 见表 7。

表6 黄杨碱盐酸盐对垂体后叶素所致大鼠心电图T波的影响($\bar{X} \pm S$) (n=10)

组别	剂量 (mg/k g)	T (mv)												
		造模前					造模后							
		15s	30s	1min	2min	3min	5min	7min	10min	15min				
正常组	--	0.19±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04	0.20±0.04
变化率%		2.24±2.97	3.39±3.01	-2.19±13.42	-4.03±15.39	2.61±6.58	1.69±4.28	3.09±5.17	4.67±5.96	4.40±7.70				
模型组	--	0.19±0.04	0.54±0.14 ^m	0.20±0.04	0.14±0.05 [*]	0.22±0.06	0.24±0.04 [*]	0.23±0.05	0.23±0.06	0.24±0.05	0.23±0.06	0.23±0.05	0.23±0.06	0.24±0.05
变化率%		193.11±83.87 ^m	60.95±91.7.3 [*]	2.96±31.49	-5.71±21.40	17.53±38.53 [*]	26.89±21.86 ^m	22.91±24.91	23.29±35.91	25.98±29.08				
硝酸甘油组	0.5	0.19±0.07	0.25±0.11 ^{**}	0.18±0.12	0.19±0.06	0.20±0.06	0.23±0.05	0.21±0.04	0.23±0.05	0.22±0.05	0.23±0.05	0.21±0.04	0.23±0.05	0.22±0.05
变化率%		35.14±25.89 ^{**}	-9.99±46.36 [*]	13.43±42.57	10.22±39.37	10.05±24.73	33.75±37.04	22.47±31.03	28.03±25.45	22.90±23.31				
盐酸盐 小剂量组	0.25	0.20±0.04	0.50±0.09	0.22±0.08	0.18±0.06 [*]	0.21±0.07	0.22±0.08	0.21±0.08	0.23±0.07	0.24±0.08				
变化率%		147.51±50.75	11.59±24.65	-8.38±25.81	-13.03±24.93	1.65±28.58	10.60±40.43	2.73±36.62	12.77±37.21	15.03±32.88				
盐酸盐 中剂量组	0.5	0.20±0.05	0.34±0.12 ^{**}	0.20±0.03	0.18±0.05	0.21±0.03	0.22±0.03	0.23±0.04	0.23±0.04	0.23±0.04				
变化率%		64.91±38.62 ^{**}	-9.52±77.53	2.25±44.61	-4.63±32.48	10.41±35.68	12.74±35.01	19.75±44.05	21.62±45.59	21.84±45.44				
盐酸盐 大剂量组	1.0	0.19±0.05	0.26±0.10 ^{**}	0.20±0.05	0.20±0.05 [*]	0.21±0.05	0.23±0.06	0.22±0.06	0.23±0.06	0.23±0.07				
变化率%		37.51±29.21 ^{**}	6.05±23.90	7.12±36.75	3.34±33.46	17.21±22.31	26.94±25.00	17.66±22.62	23.91±26.92	26.24±28.44				
环磷酰胺组	0.5	0.20±0.05	0.41±0.11 [*]	0.24±0.05	0.21±0.06	0.22±0.08	0.25±0.05	0.24±0.06	0.24±0.06	0.25±0.06				
变化率%		110.98±45.84 [*]	20.22±21.86	3.14±35.41	-0.16±36.37	10.43±24.73	30.69±23.66	22.57±20.87	22.15±55.01	17.00±50.35				

与模型组比较 *P<0.05, **P<0.01; 与正常组比较 ^mP<0.05, ^{**}P<0.01

表 7 黄杨碱盐酸盐对垂体后叶素所致心肌缺血大鼠心率的影响($\bar{X} \pm S$) (n=10)

组别	剂量 (mg/kg)	心率 (beats/min)									
		造模前					造模后				
		15s	30s	1min	2min	3min	5min	7min	10min	15min	
正常组	--	395±43.84	395±43.84	395±43.84	394±36.80	394±36.85	398±39.24	396±43.70	397±40.8	397±41.78	
变化率%		0±0	0±0	0±0	-0.04±3.12	0.10±3.46	0.89±1.83	0.28±1.98	0.61±1.95	0.61±3.01	
模型组	--	417.4±29.35	175.0±62.25 ^m	196.5±60.55 ^m	238.5±53.76 ^m	244.2±59.53 ^m	251.1±46.99 ^m	263.0±47.24 ^m	275.4±51.80 ^m	290.7±40.04 ^m	
变化率%		-16.56±5.31 ^m	-57.89±4.90 ^m	-52.59±5.24 ^m	-42.74±2.36 ^m	-41.48±3.00 ^m	-39.80±0.16 ^m	-36.90±0.36 ^m	-33.92±1.94 ^m	-36.18±4.80 ^m	
硝酸甘油组	0.5	402.6±71.24	286.2±129.22 [*]	259.9±95.73	285.3±60.66	281.1±70.17	271.4±54.29	274.2±44.64	282.0±53.66	306.8±74.55	
变化率%		-3.68±8.78 [*]	-29.29±27.75 [*]	-35.51±19.17 [*]	-27.90±15.52 [*]	-29.66±13.19	-32.00±9.80	-31.08±8.83	-29.38±9.26	-23.20±14.48	
益融盐 小剂量组	0.25	392.4±48.11	202.9±42.85	228.3±44.41	250.3±29.14	267.6±44.71	266.4±30.09	270.6±30.52	289.8±43.91	315.0±63.39	
变化率%		-10.25±19.78	-48.23±10.36	-41.41±11.60	-35.70±7.96	-31.37±11.85	-31.63±8.39	-30.71±6.76	-25.59±12.15	-19.42±15.78	
益融盐 中剂量组	0.5	389.6±46.56	234.5±85.06	196.2±52.90	215.4±45.47	236.7±47.92	256.6±51.26	268.6±53.15	260.8±93.87	297.6±41.30	
变化率%		-14.55±10.08	-38.47±24.82 [*]	-48.58±16.96	-43.97±13.95	-38.92±12.42	-34.18±9.59	-30.96±10.97	-33.23±22.10	-23.34±8.66	
益融盐 大剂量组	1.0	389.1±30.62	262.5±101.14 [*]	240.2±61.88	254.6±56.58	262.7±54.99	259.5±48.11	284.5±49.72	296.5±48.59	321.2±55.79	
变化率%		-5.24±17.87	-32.48±25.51 [*]	-38.69±13.50 [*]	-34.99±12.01	-32.96±11.76	-33.53±10.82	-27.05±11.35	-24.05±10.28	-17.69±12.09 [*]	
环维黄新星 D 原药组	0.5	379.9±55.03	212.0±55.33	230.0±51.37	249.3±32.08	243.3±21.65	241.5±44.35	258.0±23.66	264.0±24.66	301.9±37.98	
变化率%		-13.87±11.16	-42.82±19.02	-37.78±18.45	-33.04±13.66	-34.84±10.73	-35.46±13.81	-30.93±10.49	-28.12±12.20	-19.43±13.07	

与模型组比较 * P<0.05 与正常组比较 ^m P<0.05, ^m P<0.01

结果表明：黄杨碱盐酸盐高、中两个剂量组能明显对抗垂体后叶素引起的心电图 T 段的变化，表明环黄杨碱盐酸盐具有一定的抗 Pit 所致心肌缺血的作用。正常对照组大鼠 iv Pit 后，可使大鼠心率明显减慢，至 10min 仍未恢复。黄杨碱盐酸盐有缓解 Pit 所致的心率减慢的倾向，但无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3. 对离体家兔心脏缺血再灌注损伤的作用

实验方法 体重 2.0-2.4kg 家兔 36 只，随机分为 6 组，即：正常组、模型组、阳性药物组(复方丹参注射液，0.04g 生药/ml)、黄杨碱盐酸盐小剂量(0.02mg/ml)、中剂量(0.04mg /ml)、大剂量(0.08mg /ml) 3 个剂量组。动物耳缘静脉注射肝素，15min 后击毙处死，开胸，将心脏迅速取出，移至贮有冷灌流洛氏溶液的培养皿中，尽量洗出心脏血液，修剪后，在液面下迅速把主动脉接于灌流的套管上，并以线结扎固定。立即通入 95%的 O_2 和 5% CO_2 的 Locke 液进行灌流。灌流瓶高距心脏 50~60cm，灌流液温度保持 $38^\circ C$ 。三根电极分别插于左右心耳和心尖部，连于二道生理记录仪，持续心率监测。心脏复跳及心率平稳后，稳定 15min，再进行实验。

造模采用停灌缺血再灌损伤：关闭主动脉套管，使心脏停灌而致心肌缺血，45min 后松开套夹，恢复自然灌流。

给药：药物用灌流液配制，于复灌的开始灌注药物，5min 后用灌流灌流。

黄杨碱盐酸盐高、中两个剂量组对心脏缺血再灌注损伤具有保护作用，能提高缺血再灌注心脏的冠脉流量，抑制缺血再灌注后心

脏中 CK 和 LDH 释放, 对抗缺血再灌注所造成的心肌的组织学损伤, 提示黄杨碱盐酸盐具有抗心肌缺血再灌注损伤的作用。见表 8 和表 9。

表 8 黄杨碱盐酸盐对离体兔心缺血再灌注心肌灌流液中 LDH 的影响 ($\bar{x} \pm S$) (n=6)

组别	剂量 (mg/ml)	LDH (u/L)						
		停灌前	复灌后					
			5 min	10 min	15min	30min	45min	60min
对照组	--	15.0 ±4.3	10.5 ±4.2	14.2 ±7.3	20.0 ±10.9	18.7 ±3.6*	22.8 ±9.4**	26.5 ±13.6**
变化率%			-21.2 ±48.5	-0.3 ±48.2	41.2 ±78.9	31.8 ±37.3*	49.4 ±28.4*	70.9 ±52.1**
模型组	--	28.8 ±15.8	37.2 ±28.9	24.5 ±15.0	88.2 ±128.6	1382 ±112.9	186.5 ±67.2	217.5 ±89.2
变化率%			87.7 ±163.4	17.4 ±82.6	243.5 ±399.3	494.5 ±411.6	802.2 ±610.6	770.4 ±287.3
复方丹参组	40.0	32.3 ±13.2	32.2 ±9.0	34.3 ±11.6	59.8 ±95.1	63.3 ±42.1	76.8 ±63.3*	100.0 ±87.0*
变化率%			15.9 ±57.1	15.3 ±40.0	59.1 ±202.6	96.3 ±139.0*	156.2 ±228.3*	231.2 ±305.7*
盐酸盐 小剂量组	0.02	14.2 ±10.5	7.8 ±7.3	13.3 ±10.6	19.3 ±18.6	29.3 ±24.0*	31.2 ±19.6**	39.8 ±22.9**
变化率%			-42.9 ±54.9	1.5 ±51.0	47.7 ±80.6	135.3 ±127.3	193.1 ±201.6*	267.3 ±267.9*
盐酸盐 中剂量组	0.04	18.7 ±12.8	26.7 ±55.7	33.2 ±64.8	35.5 ±48.4	41.8 ±39.5	52.8 ±51.1**	61.8 ±59.8**
变化率%			55.5 ±296.2	74.6 ±283.8	102.5 ±241.9	150.7 ±179.1	236.9 ±234.7	273.6 ±231.4*
盐酸盐 大剂量组	0.08	26.8 ±15.5	12.5 ±8.9	21.8 ±14.7	23.8 ±17.0	24.5 ±15.2*	33.7 ±21.4**	41.7 ±24.3**
变化率%			-57.2 ±12.8	-21.7 ±31.0	-10.9 ±56.6	23.9 ±101.3*	89.9 ±193.4*	143.9 ±256.0**

与模型组比较 * P<0.05, ** P<0.01

表9 黄杨碱盐酸盐对离体兔心缺血再灌注心肌灌流液中CK的影响

 $(\bar{X} \pm S)$ (n=6)

组别	剂量 (mg/ml)	CK (u/L)						
		停灌前	复灌后					
			5 min	10 min	15min	30min	45min	60min
对照组	--	99.5 ±22.0	101.2 ±19.7	87.8 ±27.8	92.3 ±34.7	115.8 ±42.2	94.0 ±14.2*	119.3 ±22.7*
变化率%			2.7 ±8.7	-13.6 ±16.3	-9.5 ±23.4	15.8 ±29.4*	-3.8 ±9.7**	21.2 ±9.0**
模型组	--	119.8 ±67.1	59.7 ±83.8	68.0 ±65.9	256.2 ±273.6	561.2 ±507.3	817.7 ±638.3	993.8 ±747.5
变化率%			-36.4 ±70.1	-31.1 ±57.1	92.6 ±146.3	368.4 ±277.7	695.0 ±454.4	928.1 ±691.2
复方丹参组	40.0	65.5 ±60.6	26.4 ±11.8	27.8 ±23.9	170.8 ±283.6	86.7 ±75.8*	95.7 ±88.0*	231 ±243.6*
变化率%			-60.4 ±31.7	-36.4 ±35.9	314.1 ±462.2	39.9 ±85.3*	77.4 ±101.8**	247.1 ±240.7*
盐酸盐 小剂量组	0.02	113.7 ±84.6	124.8 ±108.5	128.0 ±76.7	146.2 ±89.9	229.2 ±134.3	360.3 ±244.7	527.2 ±456.4*
变化率%			12.3 ±65.9	47.8 ±92.2	91.8 ±141.8	168.7 ±155.6	261.6 ±193.1	378.3 ±361.9
盐酸盐 中剂量组	0.04	56.8 ±28.2	85.7 ±44.8	62.8 ±33.5	63.5 ±25.5	73.5 ±30.2*	88.5 ±37.6*	157.5 ±189.9*
变化率%			53.1 ±54.4	25.3 ±70.6	47.0 ±120.3	60.9 ±121.1*	87.0 ±119.6*	205.8 ±305.6*
盐酸盐 大剂量组	0.08	133.2 ±87.1	140.3 ±103.9	118.0 ±24.1	120.7 ±18.9	128.7 ±23.3	150.3 ±48.7*	193.8 ±94.5*
变化率%			0.4 ±9.8	11.4 ±46.8	19.4 ±61.42	23.8 ±55.6*	45.9 ±77.5**	78.2 ±122.0*

与模型组比较 * P<0.05, ** P<0.01

4. 对麻醉犬冠脉结扎所致心肌梗塞的作用

试验分组与剂量

取杂种犬 35 只, 随机分为 7 组, 每组 5 只动物, 雌雄兼用。

(1) 假手术组给予等容积生理盐水。(2) 模型组给予等容积生理盐

水。(3) 阳性药物复方丹参注射液对照组 2g 生药/kg。(4) 黄杨碱盐酸盐小剂量组: 0.1mg /kg。(5) 黄杨碱盐酸盐中剂量组: 0.2mg /kg。(6) 黄杨碱盐酸盐大剂量组: 0.4mg /kg。(7) 环维黄杨星 D 组 0.4mg /kg。将各组动物所用药物溶于 0.9%氯化钠注射液中, 给药容积为 1ml/ kg。采用组间 t 检验法与模型组、大剂量组与环维黄杨星 D 组进行统计学比较。

试验方法 取家犬, 体重为 7~10Kg, 雌雄兼用。由前肢小隐静脉用 3%戊巴比妥钠(30mg/kg)麻醉后, 背位固定于手术台上, 剪去颈部、胸部和左后肢内侧的毛。将针状电极插入犬四肢皮下, 记录心电图(ECG)。分离气管并插入气管插管。分离左侧股动脉、股静脉, 分离股静脉插入静脉插管, 缓慢恒速输入生理盐水(约 1ml/min); 分离股动脉插入动脉插管(管内充满 500u/ml 的肝素生理盐水)并接压力换能器(TP-400T), 并经放大(AP-641G)测量动脉收缩压(SAP)、动脉舒张压(DAP)、平均动脉压(MAP), 定标灵敏度为 13.33kPa(100mmHg)/cm。联接记录仪的连线板直接由动脉压触发心率记数仪(AT-601G)记录心率(HR)。于左侧第四、五肋间开胸, 暴露心脏, 并接人工呼吸机。打开心包膜, 缝于胸壁, 做成荷包摇篮。暴露右心耳, 静注肝素 5~10mg/kg 使肝素化, 用心耳钳夹住右心耳, 作一荷包缝口, 将缝线穿于一小段橡皮管内, 用小钢丝将线勾入橡皮管, 于荷包口中心剪一小口, 迅速插入冠状窦插管(内径 4~5mm, 管口为斜角, 近管口处为圆形膨大, 斜角面避免管口与窦壁紧贴, 膨大部为使冠状窦血不致外溢), 将小橡皮管内荷包

缝线拉紧，靠小橡皮管顶住插管，以避免出血，迅速将插管准确插入冠状窦，结扎右心耳处荷包缝线，固定插管。该插管的远端连接一三通管以备取血。用 0 号丝线结扎左冠状动脉前降支中下 1/3 处，假手术组只穿线不结扎。选择梗塞区附近位置 12 个标测点缝置心外膜心电图电极，并在远离梗塞区选一对照点，用手持绝缘金属点状电极按标测点顺序进行标测，经传感器（JB-642G）、放大器（AB-621G），用八道生理记录仪记录心外膜心电图（EECG）（定标：1mm=1mv）。结扎 15min 后经股静脉恒流泵恒速给药（1ml/min），直接记录动脉收缩压（SAP）、舒张压（DAP）、平均动脉压（MAP）、心率（HR），并于八道生理记录仪描记 EECG 及动脉压（BP）曲线。记录结扎前、结扎 15min 和给药后 5、10、15、30、45、60、90、120min 的 EECG、SAP、DAP、MAP、HR。统计各标测点 EECG 的 ST 段偏移 Σ -ST，以及 ST 段抬高 $\geq 2\text{mv}$ 以上的 N-ST。各组分别于给药前和给药 60min 后，左心室取血测动脉血氧，冠状窦处取血测冠状窦血氧，两者氧差反映心肌耗氧；各组分别于结扎前、结扎 15min、给药 60min 后股静脉取血，用试剂盒测定血清 CK、LDH 值。实验结束后，立即取出心脏，用生理盐水洗去血液后，称取全心重和心室重量，并把心室横切成 5 片，置于 37℃ 1%TTC 溶液中染色 15min，剪去各心肌片被染色的非梗塞区，把未染色的梗塞区心肌称重，除以全心重或心室重分别得到梗塞范围占全心重或占心室重的百分率。

黄杨碱盐酸盐高、中两个剂量组可减慢麻醉犬的 HR（黄杨碱组

作用趋势，与生理盐水组比较差异显著($P < 0.05$)。黄杨碱盐酸盐组效果优于环维黄杨星 D 组($P < 0.05$, $P < 0.01$)，表 10)、降低麻醉犬冠脉结扎所致心肌梗塞 Σ —ST、N—ST、减少麻醉犬冠脉结扎所致心肌梗塞后血清中 CK、LDH 的释放、降低麻醉犬冠脉结扎后心肌耗氧量、减少麻醉犬冠脉结扎所致心肌梗塞梗塞范围，与生理盐水组比较差异显著($P < 0.05$, $P < 0.01$)，提示黄杨碱能明显减轻心肌缺血程度。

表 10 黄杨碱盐酸盐对麻醉犬冠脉结扎所致心肌梗塞心率 (HR) 的影响
($\bar{x} \pm S$) (n=5)

组别	剂量 (mg/kg)	HR(次/min)								
		给药 前	给药后 (min)							
			5	10	15	30	45	60	90	120
伪手术组	—	172.60 ±40.65	171.40 ±35.73	175.00 ±41.36	173.80 ±41.97	172.20 ±41.94	172.00 ±41.77	172.20 ±38.89	172.20 ±39.16	173.00 ±40.00
变化率%			-0.20 ±2.89	1.37 ±0.83	0.59 ±1.03	-0.35 ±4.87	-0.47 ±3.88	-0.04 ±4.72	-0.08 ±3.97	0.32 ±4.48
模型组	—	173.60 ±37.06	158.20 ±41.85	177.20 ±38.73	177.20 ±41.50	177.60 ±39.87	176.60 ±40.32	179.00 ±37.68	174.80 ±38.67	175.00 ±34.68
变化率%			-7.03 ±21.42	2.06 ±3.16	1.81 ±4.71	2.28 ±5.67	1.67 ±5.80	3.36 ±5.33	0.66 ±4.92	1.15 ±4.11
复方丹 参组	2000	171.40 ±16.54	169.80 ±17.06	167.80 ±16.78	168.20 ±15.00	169.60 ±15.79	170.00 ±13.50	171.00 ±15.67	168.60 ±21.49	167.00 ±21.61
变化率%			-0.94 ±1.95	-2.13 ±1.63*	-1.82 ±2.68	-1.00 ±3.27	-0.66 ±4.30	-0.18 ±3.89	-1.74 ±6.20	-2.71 ±6.34
小剂量 组	0.1	178.80 ±16.13	179.60 ±17.85	179.80 ±16.38	178.40 ±15.39	178.80 ±18.67	179.00 ±15.80	175.40 ±15.50	176.00 ±17.01	169.80 ±20.14
变化率%			0.42 ±2.96	0.57 ±1.80	-0.19 ±0.90	-0.09 ±2.39	0.15 ±2.29	-1.88 ±1.51	-1.59 ±2.27	-5.23 ±3.25

中剂量组	0.2	165.60	159.60	157.80	158.40	161.80	160.40	160.00	158.60	158.40
		±31.25	±31.51	±31.13	±33.14	±33.48	±34.07	±32.35	±32.28	±29.71
变化率%			-3.69	-4.81	-4.57	-2.48	-3.42	-3.56	-4.41	-4.33
			±3.22	±1.18**	±2.99*	±5.02	±2.39	±2.21	±2.17	±1.45
大剂量组	0.4	164.40	149.80	151.20	152.80	157.00	159.40	159.80	158.40	161.40
		±26.35	±28.50	±27.80	±27.16	±30.27	±31.69	±31.29	±33.77	±32.45
变化率%			-9.12	-8.20	-7.19	-4.76	-3.37	-3.13	-4.17	-2.19
			±4.82	±4.00**	±3.43**	±4.95	±5.27	±4.51	±5.01	±5.32
环维黄杨星 D	0.4	177.80	170.80	173.40	176.40	175.60	175.40	173.40	175.20	173.00
		±13.92	±13.92	±15.16	±16.38	±14.15	±16.67	±12.40	±12.40	±11.83
变化率%			-3.95	-2.51	-0.86	-1.24	-1.41	-2.40	-1.38	-2.53
			±1.34	±2.43 [△]	±2.71 [△]	±1.99	±4.01	±3.16	±3.15	±5.18

与生理盐水组比较 * P<0.05 **P<0.01

环维黄杨星 D 与大剂量组比较 [△] p<0.05

5. 对麻醉犬血流动力学的作用

实验方法 取 35 只犬，雌雄兼用，随机分为 7 组，每组 5 只，即

(1) 假手术组：给予等容积生理盐水；(2) 模型组：给予等容积生理盐水；(3) 阳性药物复方丹参注射液对照组：2g 生药/kg；(4) 黄杨碱盐酸盐小剂量组：0.1mg /kg；(5) 黄杨碱盐酸盐中剂量组：0.2mg /kg；(6) 黄杨碱盐酸盐大剂量组：0.4mg /kg；(7) 环维黄杨星 D 组：0.4mg /kg。将各组动物所用药物溶于 0.9%氯化钠注射液中，给药容积为 2ml/ kg。

用 3%戊巴比妥钠 30mg/kg 前肢皮下头静脉麻醉，背位固定于手术台上，剪去颈部、胸部和左后肢内侧的毛。分离气管并插入气管插管；分离股静脉插入静脉插管，缓慢恒速输入生理盐水(约 1ml/min)；分离股动脉插入动脉插管(管内充满 500u/ml 的肝素生

理盐水)，以测量动脉血压。人工呼吸下，于第4肋间开胸，剪开心包膜，缝于胸壁，分离升主动脉根部和左冠状动脉前降支，放置适宜内径的电磁血流量计探头(12mm, 2mm)，连接于电磁血流量计上测量心输出量(CO)和冠脉流量(CBF)。将左心室插管(管内充满肝素生理盐水)经左心室心尖部创口插入左心室内，测量左室内压(LVSP)、左室舒张末期压力(LVEDP)、室内压最大上升速率(LVdp/dtmax)；将针状电极插入犬四肢皮下，记录心电图(ECG)。待稳定后，用恒流泵经股静脉给药(1ml/min)，直接记录动脉收缩压(SAP)、舒张压(DAP)、平均动脉压(MAP)、心率(HR)、心输出量(CO)、冠脉流量(CBF)，并于八道生理记录仪上描记ECG、左室内压(LVSP)、LVdp/dtmax、LVEDP及动脉压(BP)曲线。测量并计算给药前后各时间段麻醉犬的BP(SAP、DAP、MAP)、HR、CO、CBF、LVSP、LVEDP、+dp/dtmax(心肌收缩参数)、-dp/dtmax(心肌舒张参数)、t~dp/dtmax(左室开始收缩至左室内压上升速率峰值时间)、射血时间、SV(每搏输出量)、CI(心脏指数)、SI(心搏指数)、LVWI(左室做功指数)、TTI(总耗氧指数)、TPVR(总外周血管阻力)。

计算公式：

$$CI(\text{心脏指数}) = CO / \text{体表面积}$$

$$SV(\text{每搏输出量}) = CO * 1000 / HR$$

$$SI(\text{心搏指数}) = CI * 1000 / HR$$

$$TTI(\text{总耗氧指数}) = MAP * HR * \text{射血时间}$$

$$TPVR(\text{总外周血管阻力}) = MAP / CO$$

$$LVWI \text{ (左室做功指数)} = CI * 1.025 * (SAP - 0.667) * 13.6 * 0.001$$

结果：由表 11 的结果可以看出，黄杨碱盐酸盐大剂量组能升高麻醉犬的 SAP，增加每搏输出量 (SV)、犬心搏指数 (SI)，减少麻醉犬总耗氧量 (TTI)；大、中剂量组能减慢心率，增加麻醉犬冠脉流量 (CBF，表 7)，减少总外周阻力 (TPVR)，与生理盐水组比较差异显著 (与生理盐水组比较， $P < 0.05$ ， $P < 0.01$)。部分时间点效果优于环维黄杨星 D 组。

表 11 黄杨碱盐酸盐对麻醉犬冠脉流量 (CBF) 的影响 ($\bar{x} \pm S$) (n=5)

组别	剂量 (mg/kg)	CBF(ml/min)								
		给药 前	给药后 (min)							
			5	10	15	30	45	60	90	120
生理盐水组	—	61.14 ± 12.04	61.18 ± 11.61	61.80 ± 11.47	61.32 ± 10.94	61.04 ± 11.93	61.18 ± 11.61	60.88 ± 11.45	61.52 ± 11.71	61.42 ± 11.19
变化率%			0.14 ± 1.94	1.24 ± 2.03	0.56 ± 2.50	-0.12 ± 2.95	0.20 ± 2.55	-0.30 ± 2.55	0.71 ± 2.23	0.69 ± 2.26
复方丹参组	2000	61.30 ± 4.17	63.96 ± 4.65	64.20 ± 4.82	64.14 ± 4.93	63.96 ± 4.27	64.28 ± 3.92	64.46 ± 3.54	63.26 ± 5.46	63.88 ± 4.79
变化率%			4.35 ± 2.96	4.70 ± 1.96	4.61 ± 3.02	4.38 ± 2.73	4.94 ± 3.14	5.27 ± 3.44	3.12 ± 3.60	4.20 ± 2.75
小剂量组	0.1	59.28 ± 3.49	60.92 ± 4.13	60.84 ± 4.13	60.72 ± 4.20	60.68 ± 4.35	60.94 ± 4.44	60.50 ± 4.69	59.92 ± 4.67	60.08 ± 4.63
变化率%			2.74 ± 2.28	2.60 ± 2.44	2.41 ± 2.98	2.32 ± 2.75	2.76 ± 2.86	2.02 ± 3.94	1.06 ± 4.68	1.34 ± 4.65
中剂量组	0.2	59.56 ± 3.11	61.98 ± 3.94	62.32 ± 3.34	62.00 ± 3.35	61.66 ± 2.19	61.70 ± 2.31	61.16 ± 2.46	61.08 ± 3.39	61.10 ± 3.45
变化率%			4.02 ± 1.44	4.64 ± 1.16	4.10 ± 1.51	3.60 ± 1.86	3.67 ± 2.37	2.74 ± 1.62	2.54 ± 1.34	2.57 ± 0.96
大剂量组	0.4	59.46 ± 3.54	62.74 ± 4.66	62.66 ± 4.53	59.46 ± 4.25	62.96 ± 4.21	62.62 ± 4.64	63.38 ± 4.32	63.16 ± 4.99	63.04 ± 4.76
变化率%			5.47	5.35	5.77	5.87	5.29	6.58	6.19	5.99

			±3.22'	±3.20'	±2.88'	±2.49**	±3.86'	±3.01**	±4.71'	±3.84'
环维黄杨星 D 组	0.4	59.66	61.10	61.74	60.74	60.70	60.64	60.48	61.08	60.80
		±8.65	±8.62	±9.04	±8.26	±8.60	±8.96	±8.85	±8.96	±9.23
变化率%			2.47	3.46	1.95	1.80	1.62	1.36	2.38	1.85
			±0.85	±0.51	±2.27'	±2.28'	±2.16	±1.76	±3.34	±3.11

与生理盐水组比较 *P < 0.05 **P < 0.01; 与大剂量组比较 * P < 0.05

6. 大鼠血浆药代动力学的比较

黄杨碱盐酸盐高、中、低剂量组(2.0、1.0、0.50mg/kg)大鼠药代动力学试验表明,其剂量吸收的线性相关性。与中剂量组环维黄杨星 D 相比,吸收更快(峰时间更短,峰浓度更高)相对生物利用度更高(187.5±72.9%)。表明其在临床心血管疾病治疗时的急救使用前景更好。

以上结果表明:黄杨碱盐酸盐具有改善心肌缺血和心功能作用;效果优于环维黄杨星 D。

通过试验表明,本发明的黄杨碱及其盐酸盐在实验中体现出的效果均优于环维黄杨星 D,表明本发明的组合物中环维黄杨星 D、环黄杨碱 D 和环常绿黄杨碱 C 以及它们的盐酸盐之间具有良好的协同作用,三种组分之间配比的变化虽然对效果有一定影响,但均优于环维黄杨星 D 单体,能够保证本发明目的的实现。

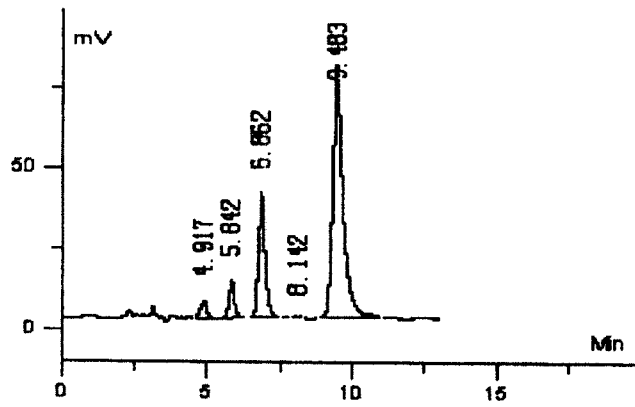


图 1

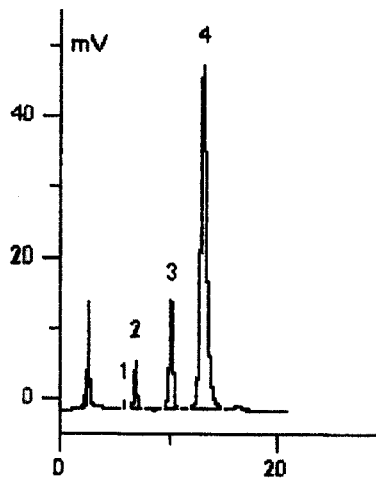


图 2

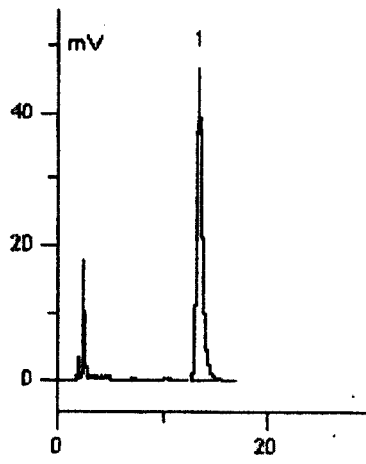


图 3

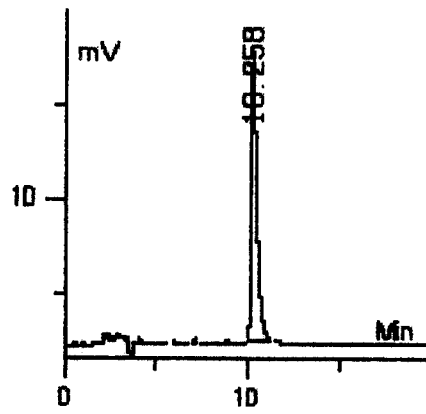


图 4

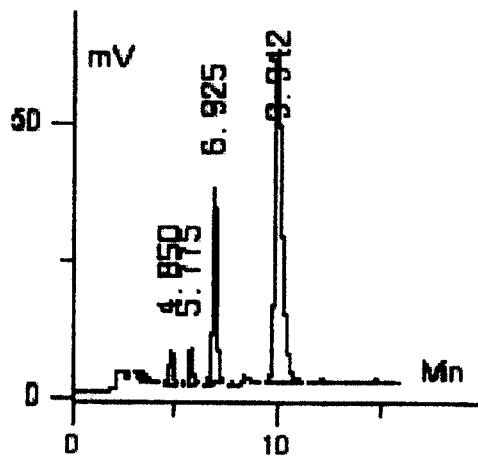


图 5

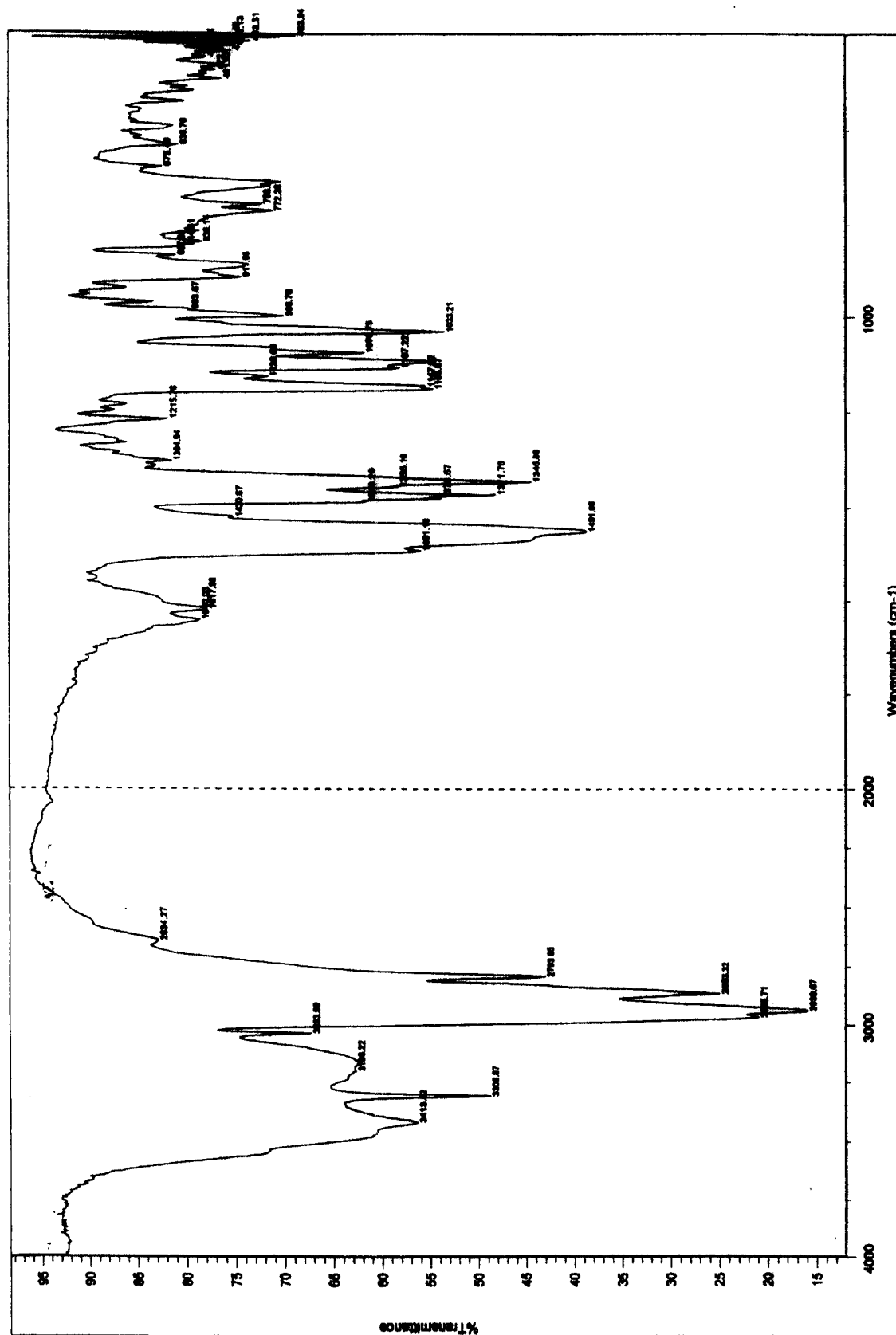
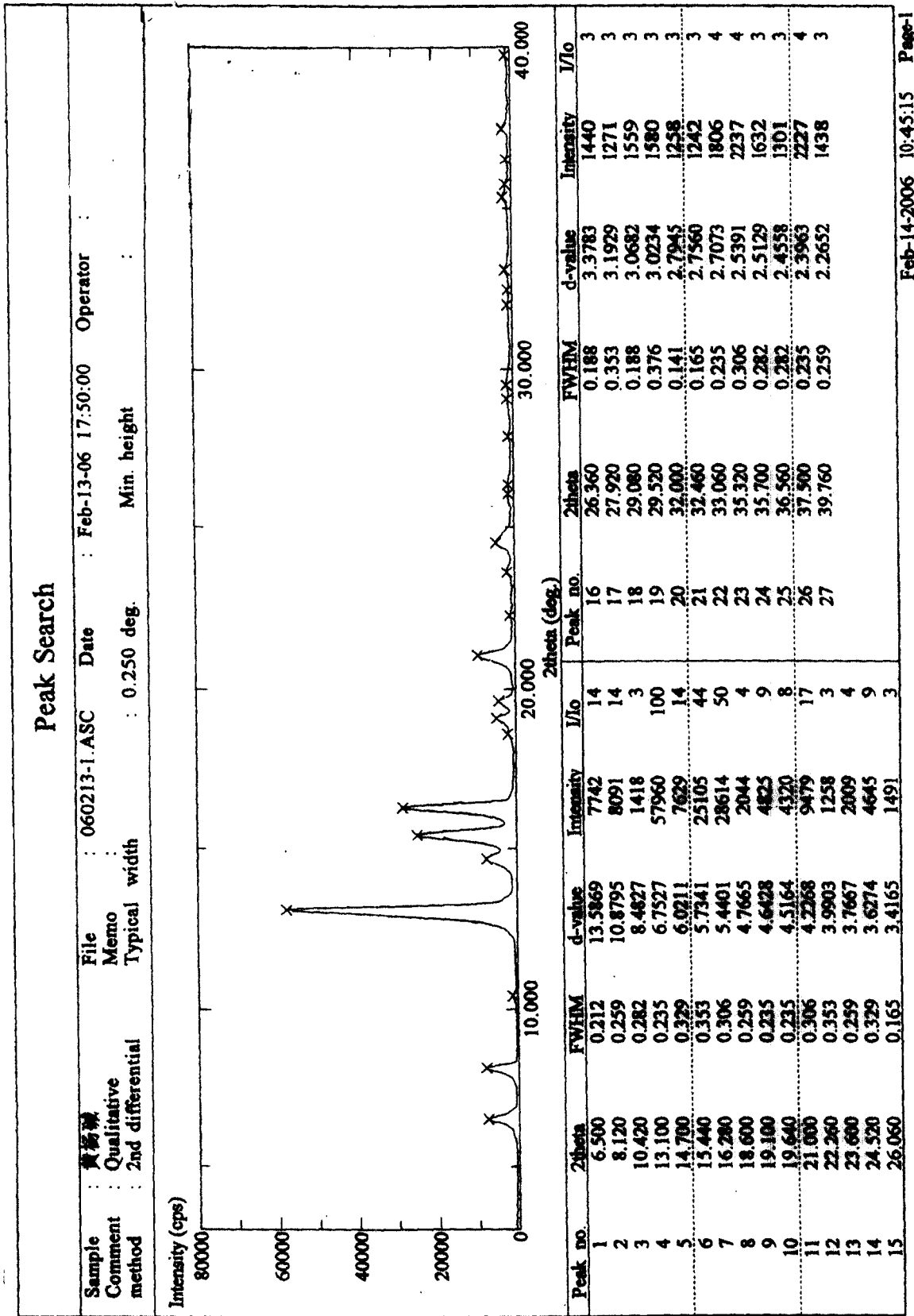


图 6



Feb-14-2006 10:45:15 Page-1

图 7

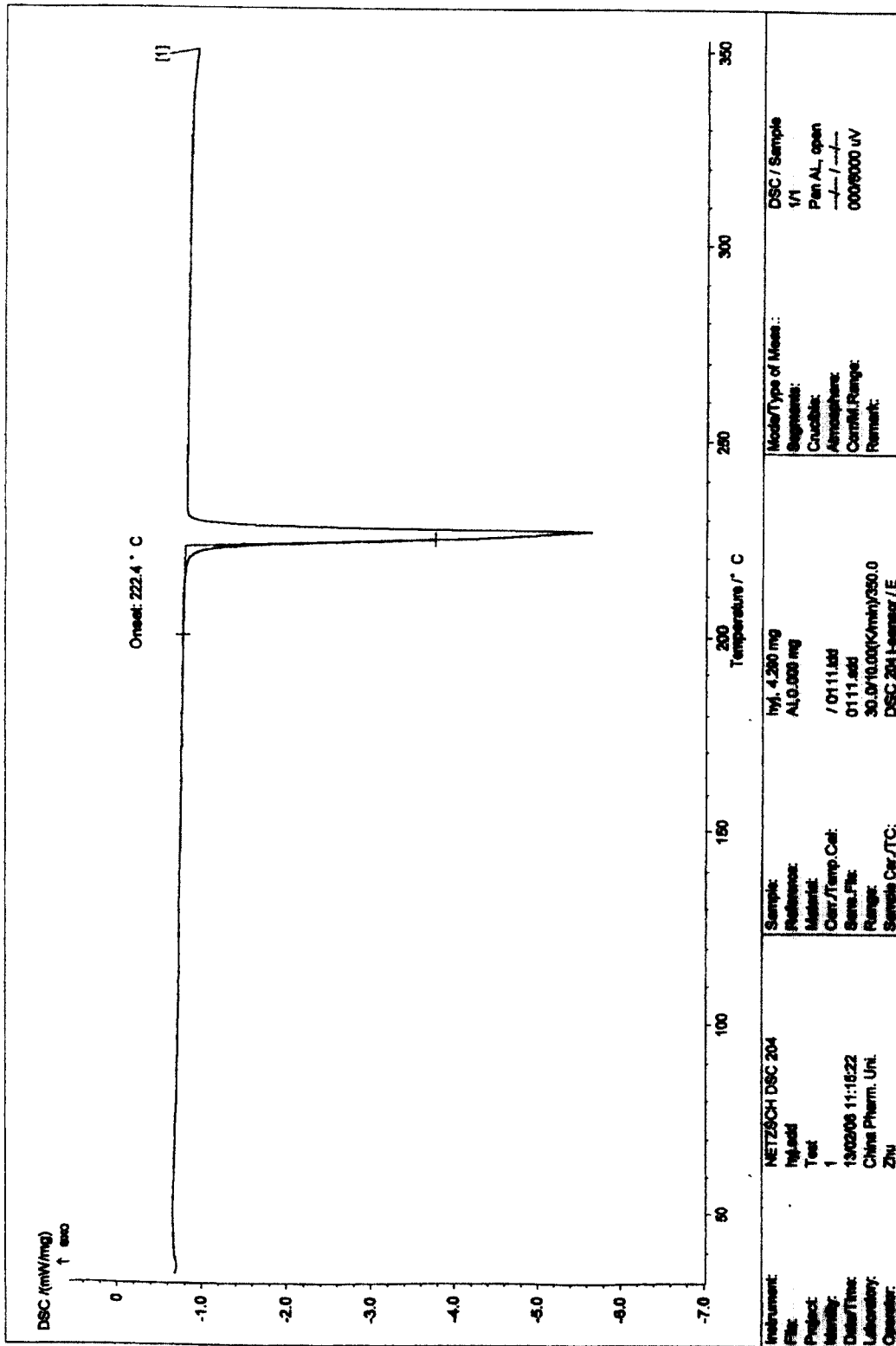


图 8

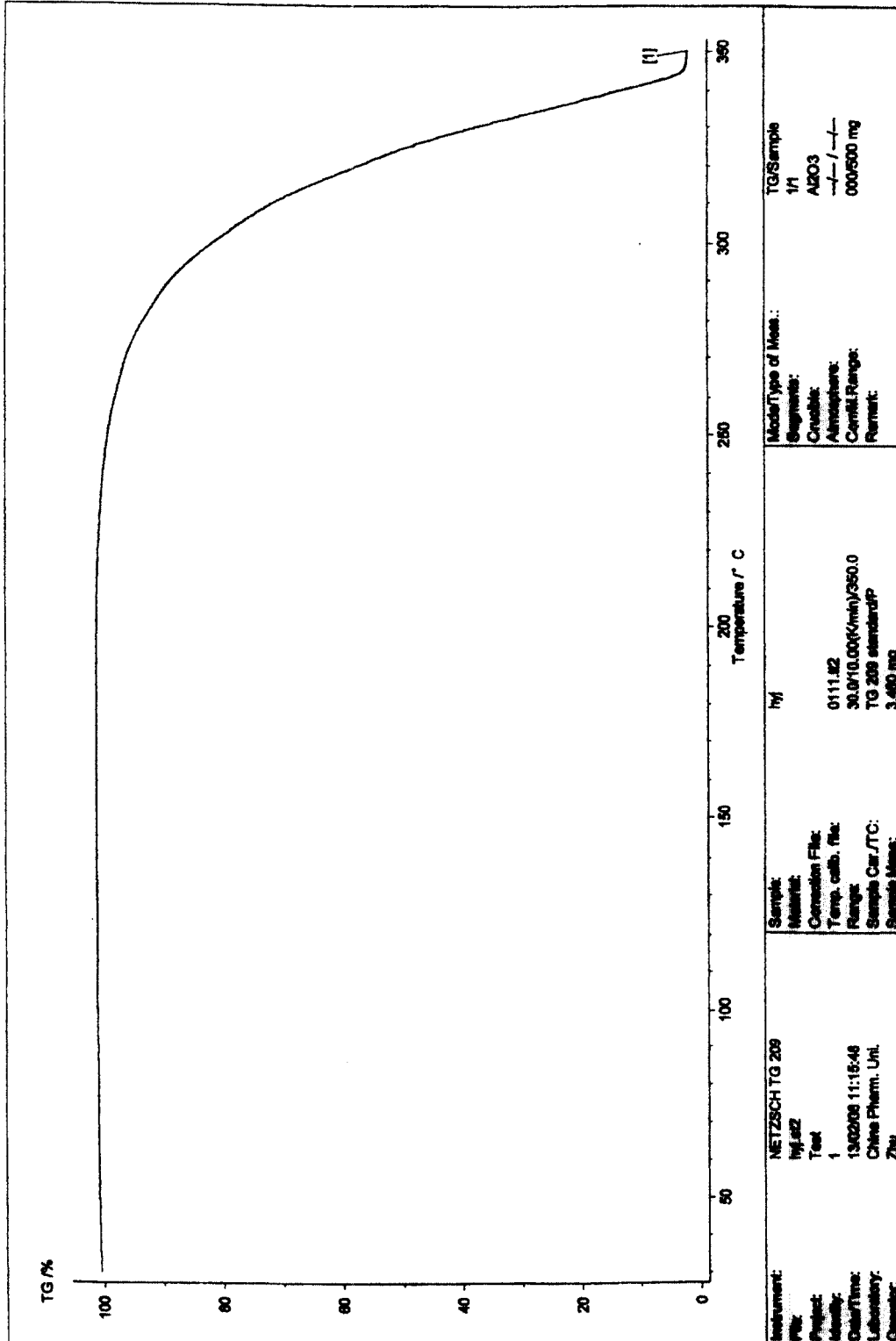


图 9

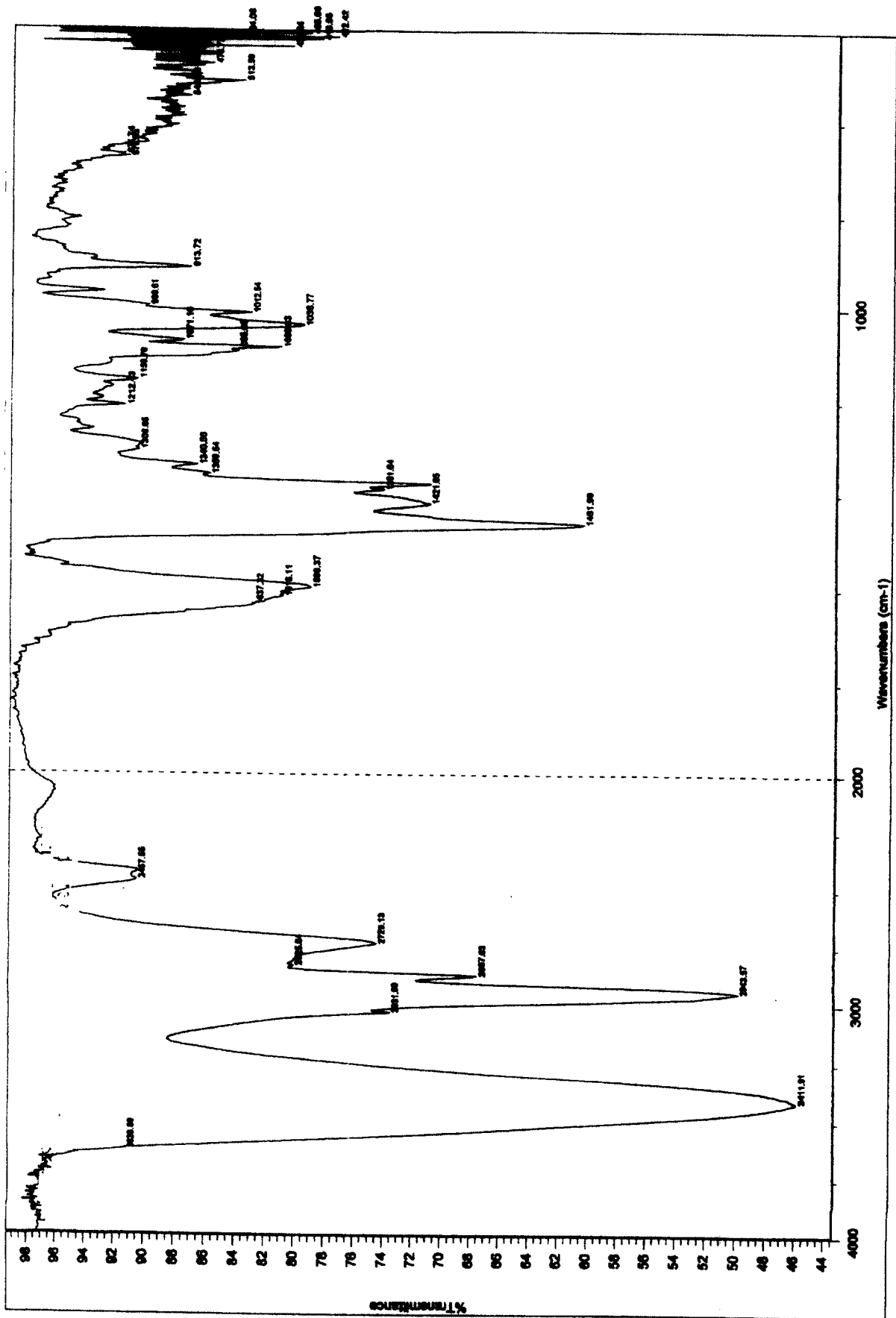
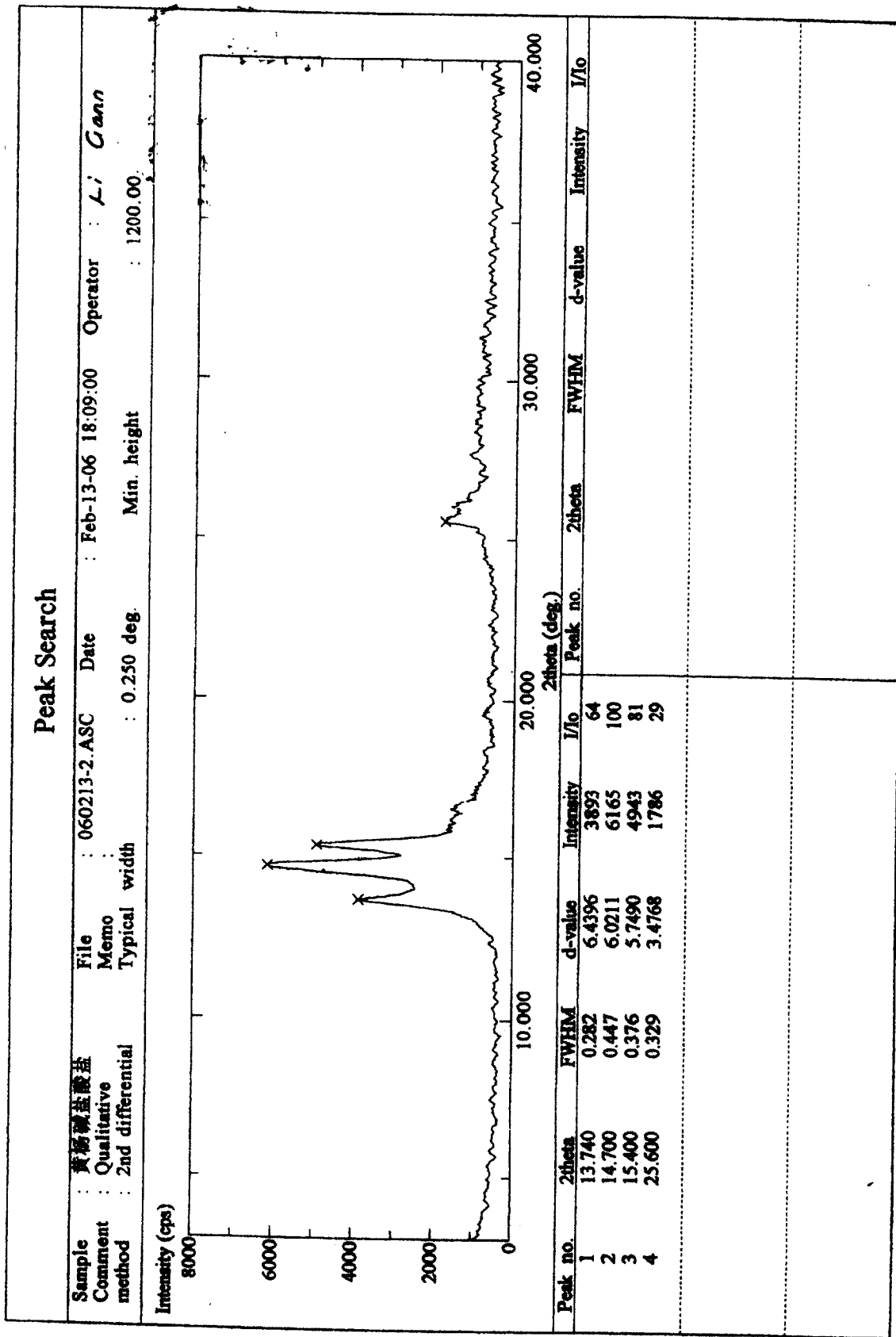


图 10



Feb-14-2006 10:46:47 Page-1

图 11

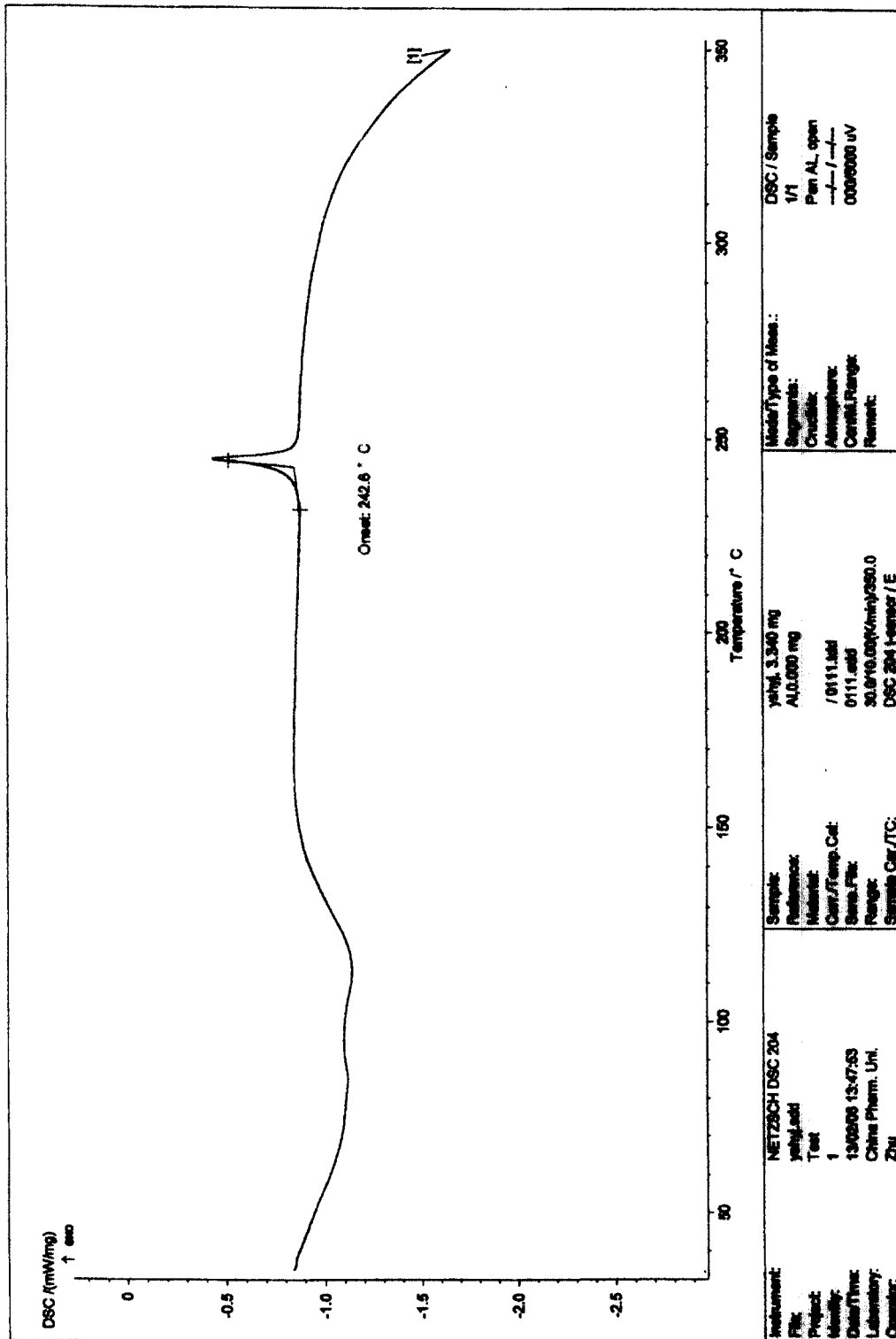


图 12

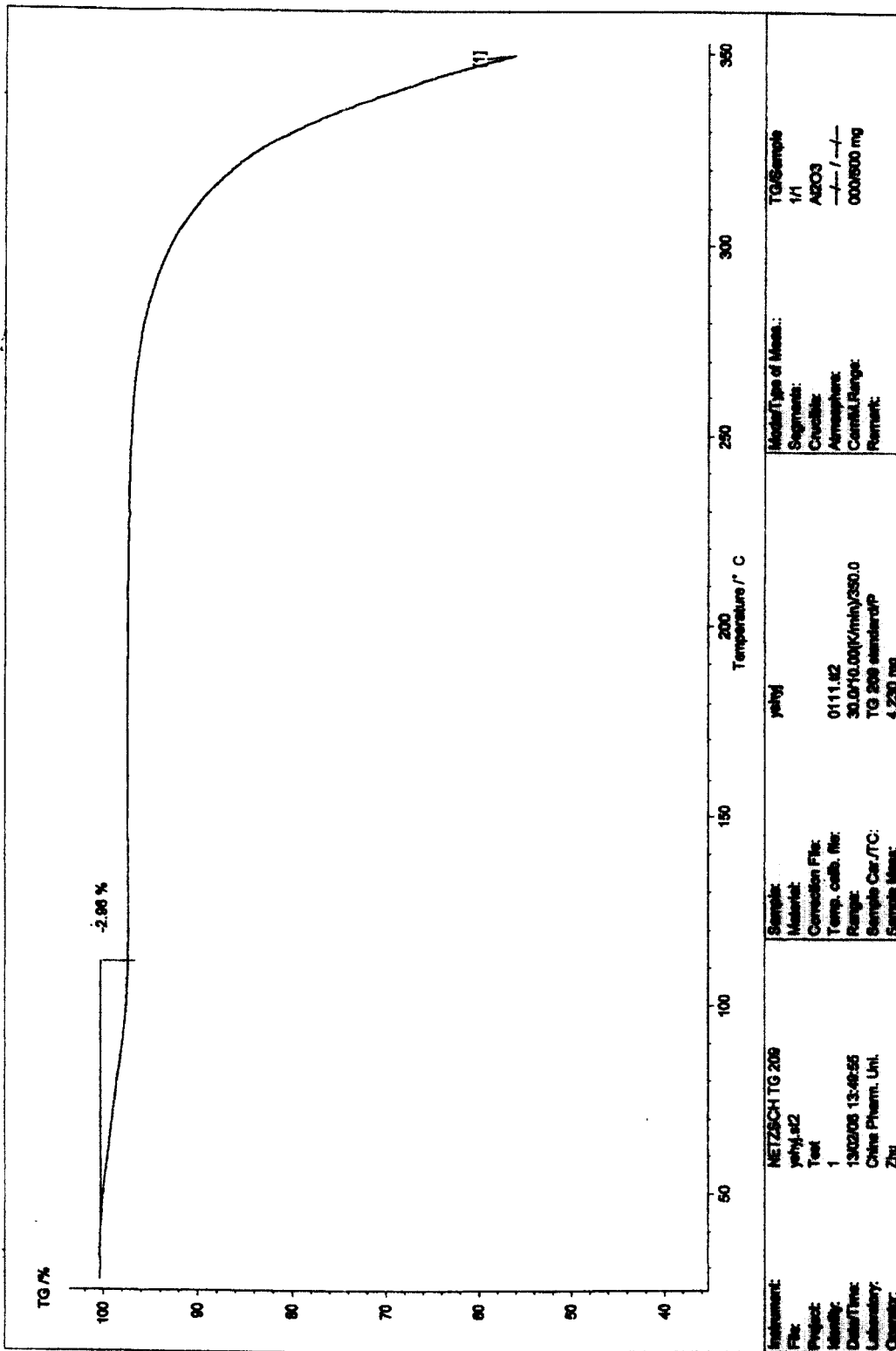


图 13