



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103735545 A

(43) 申请公布日 2014. 04. 23

(21) 申请号 201410024086. 1

(22) 申请日 2011. 11. 23

(62) 分案原申请数据

201110376607. 6 2011. 11. 23

(71) 申请人 重庆润泽医药有限公司

地址 400042 重庆市渝北区勤业路 9 号

(72) 发明人 叶雷

(74) 专利代理机构 重庆弘旭专利代理有限责任

公司 50209

代理人 李靖

(51) Int. Cl.

A61K 31/4015(2006. 01)

A61P 25/00(2006. 01)

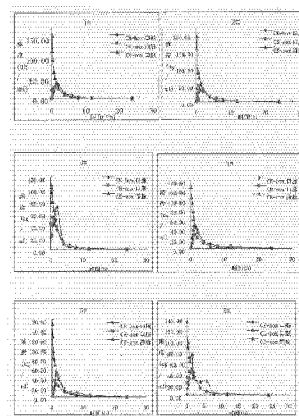
权利要求书1页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

左旋奥拉西坦、奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用

(57) 摘要

本发明提供了左旋奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用。实验结果表明左旋奥拉西坦对酒精中毒所致昏迷的促醒作用明显,而右旋奥拉西坦基本没有作用,左旋奥拉西坦的上述促醒效果为混旋奥拉西坦的 2 倍;左旋奥拉西坦对外伤、麻醉所致昏迷的促醒作用均显著。



1. 左旋奥拉西坦在制备预防或治疗外伤所致昏迷药物中的应用。
2. 如权利要求 1 所述的应用,其特征在于:所述含左旋奥拉西坦的药物为注射剂或口服制剂。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于:所述使用的左旋奥拉西坦原料药纯度为 99.3% 以上,以重量百分数计。
4. 奥拉西坦在制备预防或治疗外伤所致昏迷药物中的应用。
5. 如权利要求 4 所述的应用,其特征在于:所述含奥拉西坦的药物为口服制剂或注射剂。

## 左旋奥拉西坦、奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用

[0001] 本发明申请是申请号 2011103766076、申请日 2011 年 11 月 23 日,发明名称“左旋奥拉西坦、奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用”的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及左旋奥拉西坦、奥拉西坦的医药用途,具体涉及左旋奥拉西坦、奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用。

### 背景技术

[0003] 奥拉西坦 (oxiracetam),是由意大利史克比切姆公司于 1974 年首次合成的促智药,该药于 1987 年在意大利上市,奥拉西坦是由两种异构体 (S)-奥拉西坦 ((S)-oxiracetam) 和 (R)-奥拉西坦 ((R)-oxiracetam) 组成的消旋体;关于奥拉西坦的报道,其能促进脑内 ATP,促进乙酰胆碱合成并增强神经兴奋的传导,对缺氧所致的逆行性健忘有改进作用,可以增强记忆,提高学习能力,是治疗阿尔茨海默型痴呆 (AD)、脑血管性痴呆 (VD) 等病症的有效药物之一。

[0004] 左旋奥拉西坦 ((S)-4-羟基-2-氧代-1-吡咯烷乙酰胺) 是奥拉西坦 (Oxiracetam CAS62613-82-5) 的左旋体,为白色微晶状粉末,熔点 135 ~ 136°C,旋光度为  $-36.0^{\circ}$  (C = 1.00 in water),左旋奥拉西坦的溶解性明显优于混旋体。左旋奥拉西坦目前尚无单独作为药物应用的报道。

[0005] CN101367757A 公开了一种 (S)-4-羟基-2-氧代-1-吡咯烷乙酰胺的制备方法。它采用 (S)-4-卤-3-羟基丁酸酯为原料在极性溶剂和碱性条件下反应得到左旋奥拉西坦,其中的碱性条件下反应是通过在所述反应过程中分次加碱,滴加氯代物控制反应 pH 的方式,粗品经过阳离子交换树脂后得到产品的酸性水溶液,再采用阴离子交换树脂中和,中和液浓缩后得到粗产品,粗产品通过乙醇重结晶一次,再用甲醇 / 丙酮混合溶剂结晶一次或异丙醇重结晶一次的方法制备左旋奥拉西坦。

[0006] 昏迷是由于大脑皮质及皮质下网状结构发生高度抑制而造成的最严重的意识障碍,即意识持续中断或完全丧失最高级神经活动的高度抑制状态,是患者意识完全丧失的一种严重情况。酒精中毒 (alcoholism) 是昏迷发生的三大病因之一,随着现代化生活节奏加快和人们精神压力的加重,酗酒者日益增多,醉酒及酒精性中毒昏迷 (alcohol coma) 现象的出现越来越普遍;外伤所致昏迷为昏迷发生的三大病因之一,当今因车祸、坠落等外伤所致昏迷也较为普遍;手术麻醉所致昏迷为当今常见的医疗事故,有些病人经麻醉后长睡不醒、没有知觉,麻醉所致昏迷为昏迷三大病因之一。如何进一步提高昏迷的促醒治愈率、从而降低死亡率以及改善觉醒水平和认知功能是当今面临的重大课题,解决这一问题将具有重要的现实意义。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供奥拉西坦、左旋奥拉西坦在制药领域中的用途,具体在于提供奥拉西坦、左旋奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用。

[0008] 具体来说,本发明涉及左旋奥拉西坦作为制备预防或治疗酒精中毒所致昏迷药物中的应用;作为制备预防或治疗麻醉所致昏迷药物中的应用;作为制备预防或治疗外伤所致昏迷药物中的应用。本发明涉及奥拉西坦作为制备预防或治疗酒精中毒所致昏迷药物中的应用;作为制备预防或治疗麻醉所致昏迷药物中的应用;作为制备预防或治疗外伤所致昏迷药物中的应用。

[0009] 奥拉西坦、左旋奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用,具体来说可以制备成活性成分为奥拉西坦或左旋奥拉西坦的药物组合物,剂型可以是注射剂如注射用粉剂,注射液等剂型;口服制剂,如片剂,滴丸剂,粉剂,颗粒剂,胶囊剂等;以上剂型均可以按照常规方法制得。

[0010] 上述剂型优选为口服胶囊剂、片剂或注射剂。

[0011] 上述左旋奥拉西坦口服制剂的给药剂量为 5 ~ 30mg/kg/天,更优选为 10 ~ 20mg/kg/天,左旋奥拉西坦注射剂的给药剂量为 50 ~ 90mg/kg/次。上述奥拉西坦口服制剂的给药剂量为 10 ~ 60mg/kg/天,更优先为 20 ~ 40mg/kg/天,奥拉西坦注射剂的给药剂量为 100 ~ 180mg/kg/次。

[0012] 最优选地,左旋奥拉西坦或奥拉西坦在制备预防或治疗昏迷药物中的应用,最好是采用纯度是 99.3%以上(光学纯度)的左旋奥拉西坦作为活性成分,以重量百分数计。

[0013] 为了进一步验证本发明药用效果,发明人进行了以下试验。

[0014] (一) 左旋奥拉西坦动物体内药代动力学及绝对生物利用度研究

[0015] 以和混旋体奥拉西坦的药代动力学对比为前提的研究,确定 Beagle 犬的灌胃和静注给药剂量为 50mg/kg。

[0016] 取成年 Beagle 犬 6 条,雄雌各半,体重 10.0 ± 0.5kg。随机等分成三组,每组 2 只,雌雄各半。采用拉丁方三交叉实验(见下表 1),对 Beagle 犬的灌胃和静注给药,剂量为 50mg/kg。采用左旋奥拉西坦的纯度达 99.3%(光学纯)的样品进行研究,每种给药途径间隔一周。灌胃给药于动物禁食 12 小时后给药,给药后继续禁食 3 小时。给药前取空白血,灌胃给药后 0.083、0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0 小时;静注给药后 0.083、0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0 小时从前肢静脉取血 1mL 于肝素化试管中,离心取血浆,用 LC-MS-MS 法测定血浆中药物浓度。结果见下表 2-7。

[0017] 表 1 三周期三交叉拉丁方实验设计 Beagle 犬分组情况

[0018]

性别	ORT, p. o.		s-ORT, p. o.		s-ORT, i. v.	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
第一周期	1	4	2	5	3	6
第二周期	3	6	1	4	2	5
第三周期	2	5	3	6	1	4

[0019] 注:ORT 为奥拉西坦;s-ORT 为左旋奥拉西坦

[0020] 犬静注和灌胃 50mg/kg 奥拉西坦、左旋奥拉西坦后血浆中药物浓度分别列于表 2-4。

[0021] 表 2 Beagle 犬静注 50mg/kg 奥拉西坦后血浆中药物浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )

Time (h)	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	s
0.083333333	20.80	ND	19.80	ND	2.12	0.70	10.86	10.927932
0.25	18.50	4.02	20.90	4.02	3.19	11.10	10.29	7.8697914
0.5	19.90	12.60	23.30	22.00	7.52	19.90	17.54	6.1483711
0.75	17.20	28.70	38.80	36.70	15.00	28.80	27.53	9.7754113
1	30.80	35.30	43.40	45.60	23.30	40.20	36.43	8.3934895
[0022] 1.5	38.80	34.50	39.30	45.00	27.30	47.60	38.75	7.3055458
2	35.30	31.00	32.60	39.40	22.20	41.00	33.58	6.7676929
4	13.00	14.30	11.10	14.70	9.37	13.40	12.65	2.0381732
6	9.35	Abortion	6.49	9.00	6.50	6.57	7.58	1.4597842
8	3.95	3.56	3.93	5.43	8.10	4.14	4.85	1.7160118
12	1.51	1.27	1.46	2.56	2.74	2.15	1.95	0.6216564
24	0.05	0.05	0.64	1.18	ND	ND	0.48	0.54

[0023] ND : 低于  $0.5 \mu\text{g/mL}$ [0024] 表 3 Beagle 犬灌胃 50mg/kg 左旋奥拉西坦后血浆中药物浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )

Time (h)	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	s
0.083333333	ND	ND	42.00	ND	ND	21.90	31.95	14.21
0.25	1.51	38.50	39.60	1.42	1.17	31.50	18.95	19.46
0.5	10.30	23.90	42.20	10.60	5.52	31.30	20.64	14.32
0.75	27.50	5.45	52.60	17.00	17.30	43.20	27.18	17.76
1	24.70	46.60	48.40	27.00	34.00	42.90	37.27	10.17
[0025] 1.5	26.30	52.10	46.70	27.60	44.30	41.50	39.75	10.52
2	23.00	39.10	36.50	21.60	44.70	37.10	33.67	9.28
4	12.40	14.00	13.70	9.80	15.80	13.60	13.22	2.00
6	4.09	8.92	4.76	4.85	8.72	5.31	6.11	2.14
8	2.33	6.55	2.56	3.34	4.47	2.81	3.68	1.60
12	1.07	2.01	1.01	4.60	1.48	1.15	1.89	1.38
24	ND	ND	ND	1.47	ND	ND	1.47	ND

[0026] ND : 低于  $0.5 \mu\text{g/mL}$ [0027] 表 4 Beagle 犬静注 50mg/kg 左旋奥拉西坦后血浆中药物浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )

Time (h)	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	s
0.083333333	117.20	160.60	107.00	127.00	150.40	132.60	132.47	20.12
0.25	156.00	198.00	78.40	105.00	124.20	85.80	124.57	45.60
0.5	94.10	89.10	99.80	92.90	94.60	94.50	94.17	3.44
0.75	64.70	85.70	77.80	74.80	77.30	70.00	75.05	7.19
1	51.00	72.50	65.40	60.60	66.20	60.80	62.75	7.22
[0028] 1.5	37.00	51.20	50.60	43.40	49.00	74.20	50.90	12.62
2	26.40	38.90	69.80	33.20	36.60	32.00	39.48	15.46
4	9.13	13.90	9.33	11.60	13.30	24.10	13.56	5.53
6	3.79	4.88	5.03	4.97	5.99	24.90	8.26	8.18
8	1.79	2.65	2.19	2.73	2.75	2.28	2.40	0.38
12	0.82	1.18	0.64	0.92	1.11	0.75	0.90	0.21
24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[0029] ND : 低于  $0.5 \mu\text{g/mL}$ 

[0030] 表 5 Beagle 犬灌注 50mg/kg 左旋奥拉西坦后药代动力学参数

[0031]

统计距参数	No1	No2	No3	No4	No5	No6	均数	标准差	最小值	最大值
Tmax (h)	1.50	1.00	1.00	1.00	1.50	1.50	1.25	0.27	1.00	1.50
Cmax (mg/L)	38.80	35.30	43.40	45.60	27.30	47.60	39.67	7.55	27.30	47.60
AUC (0-tn) (mg/L*h)	159.73	148.16	161.50	195.78	118.22	161.36	157.46	25.03	118.22	195.78
AUC (0-∞) (mg/L*h)	159.90	148.34	166.74	207.03	137.18	171.07	165.04	24.02	137.18	207.03
MRT (0-∞) (h)	3.77	3.66	4.80	6.32	6.27	3.85	4.78	1.24	3.66	6.32
CL(L/h/kg)	0.31	0.34	0.30	0.24	0.36	0.29	0.31	0.04	0.24	0.36

[0032] 表 6 Beagle 犬灌胃 50mg/kg 左旋奥拉西坦后药代动力学参数

[0033]

统计距参数	No1	No2	No3	No4	No5	No6	均数	标准差	最小值	最大值
Tmax (h)	0.75	1.50	0.75	1.50	2.00	0.75	1.21	0.53	0.75	2.00
Cmax(mg/L)	27.50	52.10	52.60	27.60	44.70	43.20	41.28	11.29	27.50	52.60
AUC (0-tn) (mg/L*h)	103.10	178.87	170.95	143.12	162.18	159.69	152.98	27.23	103.10	178.87
AUC (0-∞) (mg/L*h)	106.77	187.21	174.16	166.96	167.17	163.52	160.97	27.86	106.77	187.21
MRT (0-∞) (h)	3.56	3.85	2.66	11.49	3.66	2.94	4.69	3.36	2.66	11.49
CL(L/h/kg)	0.47	0.27	0.29	0.30	0.30	0.31	0.32	0.07	0.27	0.47

[0034] 表 7 Beagle 犬静注 50mg/kg 左旋奥拉西坦后药代动力学参数

[0035]

统计距参数	No1	No2	No3	No4	No5	No6	均数	标准差	最小值	最大值
AUC (0-tn) (mg/L*h)	190.41	254.39	260.14	214.36	238.36	298.64	242.72	37.75	190.41	298.64
AUC (0-∞) (mg/L*h)	193.19	258.38	262.01	217.34	241.97	300.20	245.52	37.34	193.19	300.20
MRT (0-∞) (h)	1.92	2.03	1.91	2.10	2.12	2.58	2.11	0.25	1.91	2.58
绝对生物利用度	55.27%	72.46%	66.47%	76.82%	69.08%	54.47%	65.76%	9.12%	54.47%	76.82%

[0036] 由此可见:Beagle 犬灌胃 50mg/kg 奥拉西坦后,  $AUC_{0-\infty}$  为  $165.04 \pm 24.02h$ , 清除率为  $0.31 \pm 0.04L/h/kg$ , 达峰时间和达峰浓度分别为  $1.25 \pm 0.27h$ ,  $39.67 \pm 7.55 \mu g/mL$ ; 灌胃给药 50mg/kg 左旋奥拉西坦后,  $AUC_{0-\infty}$  为  $160.97 \pm 27.86h$ , 达峰时间和达峰浓度分别为  $1.21 \pm 0.53h$ ,  $41.28 \pm 11.29 \mu g/mL$ ; 静注给药后  $AUC_{0-\infty}$  为  $242.72 \pm 37.75h$  估算的绝对生物利用度为  $65.76 \pm 9.12\%$ , 具体参见附图 1 和附图 2。

[0037] 得出结论:左旋奥拉西坦保留原奥拉西坦的药代参数特征。

[0038] (二) 毒理试验

[0039] 在 GLP 实验条件下比较左旋奥拉西坦和奥拉西坦的 ICR 小鼠毒性, 设定剂量为  $5g/kg$ , 每组 20 只动物, 雌雄各半, 用 0.5% CMC 液配制后口服灌服。结果显示:两组动物活动正常, 无明显毒性呈现, 连续观察 14 天无一动物发生死亡两组间无明显的毒性差异。说明左旋奥拉西坦并没有药效的增加而同时增加毒性。

[0040] 奥拉西坦为市售药物, 其药代动力学、毒理等均为公知常识。

[0041] (三) 奥拉西坦、左旋奥拉西坦及右旋奥拉西坦对酒精所致小鼠昏迷影响的实验

## 研究

## [0042] 一、实验材料

[0043] 1、药品及试剂：左奥拉西坦、右奥拉西坦及混旋奥拉西坦；纳洛酮，购自重庆药友制药有限公司；无水乙醇，购自上海强顺化学试剂有限公司。生理盐水为市售，各药液现用现配。

[0044] 2、乙醇溶液的配制：取无水乙醇，以生理盐水稀释成 30%乙醇溶液，临用时现配。

[0045] 3、实验动物：雄性昆明种小鼠，体重 18-22 克。由四川省实验动物专委会养殖场提供，许可证：SCXK(川)2008-14。动物实验设施持续保持屏障环境标准。主要环境指标的控制范围：温度为 20.0-25.0℃，相对湿度为 40-70%。换气次数为 10-20 次/小时，光照明：暗 = 14h : 10h。动物饲养于标准盒内，每盒 5 只。

## [0046] 二、实验方法

[0047] 1、小鼠酒精性昏迷模型制备方法：参照文献 [1] (M. EL Yacoubi, C. Ledent, M. parmentier, et al. Caffeine reduces hypnotic effects of alcohol through adenosine A2A receptor blockade[J]. Neuropharmacology, 2003, 45(7) :977-985) 建立模型，方法为 30%乙醇溶液腹腔注射 (0.2ml/10g)。

[0048] 2、小鼠意识状态判别方法：

[0049] 参照文献 [2] (Jeffrey R. Stephens, Rene H. Levy. Effects of valproate and citrulline on ammonium-Induced encephalopathy[J]. Epilepsia, 1994, 35(1) : 164-171) 进行意识判别：1 级，在笼内活动减少；2 级，四肢活动减少伴共济失调；3 级，当背部放在笼的底部时能滚动（翻正反射存在），但不能站立；4 级，背部置于笼底不能矫正体位，但对伤害刺激的反应表现为肢体回缩；5 级，翻正反射消失 (Loss of Righting Reflex, LORR) 且缺乏对伤害刺激的反应。4、5 级视为动物处于昏迷状态。

## [0050] 3、实验分组及设计

[0051] 将 150 只动物随机分为 10 组：模型对照组（仅给予生理盐水）；混旋奥拉西坦设立三组，分别为：60、180、360mg/kg 组；右旋奥拉西坦设立两组，分别为：90、180mg/kg 组；左旋奥拉西坦设立三组，分别为：30mg/kg、90mg/kg 和 180mg/kg 组；纳洛酮一组，剂量为 1.5mg/kg。每组动物模型制备成功后，按随机表分组，翻正反射消失一分钟后尾静脉注射给药。观察小鼠翻正反射消失持续时间，即睡眠时间。实验结果统计学处理：实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示，各小组之间的比较均采用单因素方差分析和 q 检验，检验水准： $\alpha = 0.05$ 。

## [0052] 三、实验结果

[0053] 各组给药后小鼠的睡眠时间见表 8：

[0054] 表 8 奥拉西坦、左旋奥拉西坦及右旋奥拉西坦对酒精所致小鼠昏迷的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	体重 (g)	睡眠时间 (翻正反射消失持续时间 分)
左旋奥拉西坦	30	15	19.6±1.1	85.8±10.6*
	75	15	19.5±1.0	63.5±9.8**
	180	15	19.5±1.1	48.5±9.1**
右旋奥拉西坦	30	15	19.8±1.3	105.3±15.8
	180	15	19.3±1.2	98.8±11.6
混旋奥拉西坦	60	15	19.2±1.1	96.8±12.7
	150	15	19.5±1.2	86.1±9.4*
	360	15	19.4±1.3	65.1±10.2**
纳洛酮	1.5	15	19.3±1.0	60.5±7.8**
生理盐水	0.1mo/10g	15	19.7±1.3	116.6±10.1

[0056] 从以上结果可见,左旋奥拉西坦对酒精中毒所致昏迷的促醒作用明显,而右旋奥拉西坦基本没有作用;混旋奥拉西坦对酒精中毒所致昏迷的促醒也有一定作用,左旋奥拉西坦的促醒效果约为混旋奥拉西坦的 2 倍。

[0057] (四) 奥拉西坦、左旋奥拉西坦及右旋奥拉西坦对氯胺酮所致小鼠昏迷催醒实验研究

[0058] 氯胺酮由于具有镇静、遗忘、镇痛和麻醉特性,为典型的麻醉剂,在临床上被广泛应用,但发现氯胺酮镇静过深、持续时间过长,往往引起苏醒延迟或一直不苏醒,从而带来潜在生命危险。针对苏醒延迟或不苏醒,目前临床常用催醒药有纳洛酮,本文研究左旋奥拉西坦等对由氯胺酮致小鼠昏迷的催醒作用。

[0059] 1、材料和方法

[0060] 1.1 实验动物和分组昆明种小鼠 150 只,雄性,体重 (25.3±1.9)g,由四川省实验动物专委会养殖场提供,许可证:SCXK(川)2008-14。动物实验设施持续保持屏障环境标准。主要环境指标的控制范围:温度为 20.0-25.0℃,相对湿度为 40-70%。换气次数为 10-20 次/小时,光照明:暗=14h:10h。动物饲养于标准盒内,每盒 5 只。

[0061] 用氯胺酮 120mg/kg 腹腔注射致昏迷后,选择造模成功的小鼠 120 只按随机分层区组设计分为 10 组 (n=12):左旋奥拉西坦 30、75、180mg/kg 三组;右旋奥拉西坦 30、180mg/kg 二组;混旋奥拉西坦 60、150、360mg/kg 三组;纳洛酮 1.5mg/kg 一组;生理盐水组 (NS 组)。

[0062] 1.2 实验药品:左旋奥拉西坦(根据专利申请 CN101367757A 制备)、右旋奥拉西坦(市售产品,批号:20100205)及混旋奥拉西坦(市售产品,批号:20100105);盐酸纳洛酮注射液 1ml:0.4mg(重庆药友制药有限责任公司生产,批号 1001020);盐酸氯胺酮注射液 2ml:0.1g(江苏省恒瑞股份有限公司生产,批号 KH091201)。

[0063] 1.3 实验方法和观察指标小鼠腹腔注射氯胺酮 120mg/kg,待翻正反射消失后 1min,各组分别静脉注射左旋奥拉西坦 30、75、180mg/kg;右旋奥拉西坦 30、180mg/kg;混旋



奥拉西坦 60、150、360mg/kg 和纳洛酮 1.5mg/kg 及生理盐水 10ml/kg, 观察小鼠翻正反射消失持续时间 (恢复时间)。小鼠连续 3 次仰卧后 5s 不能恢复站立为翻正反射消失, 连续 3 次仰卧后恢复站立为翻正反射恢复。

[0064] 1.4 统计学处理数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用统计软件 SPSS12.0 进行数据分析, 各组比较采用单因素方差分析, 检验水准:  $\alpha = 0.05$ 。

[0065] 2、结果

[0066] 左旋奥拉西坦、右旋奥拉西坦及混旋奥拉西坦对氯胺酮所致的小鼠昏迷持续时间的的影响见表 9。

[0067] 表 9 左旋奥拉西坦、右旋奥拉西坦及混旋奥拉西坦对氯胺酮所致的小鼠昏迷持续时间的的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	体重 (g)	昏迷持续时间 (翻正反射消失持续时间 分)
左旋奥拉西坦	30	12	19.2±1.5	19.6±5.6*
	75	12	20.6±1.1	15.2±4.9**
	180	12	19.9±1.3	13.8±3.8**
右旋奥拉西坦	30	12	20.5±1.2	25.6±8.9
	180	12	19.8±1.3	22.8±6.5
混旋奥拉西坦	60	12	20.4±1.2	21.3±6.7
	150	12	19.8±1.3	15.3±6.4*
	360	12	19.6±1.3	14.2±6.2**
纳洛酮	1.5	12	20.2±1.1	13.5±4.2**
生理盐水	0.1ml/10g	12	20.3±1.4	23.5±5.5

[0069] 由上表可见: 左旋奥拉西坦在剂量 30-180mg/kg 范围内有显著的促醒作用, 混旋奥拉西坦在剂量 150-360mg/kg 范围内也有作用, 而与左旋奥拉西坦等剂量相同剂量下的右旋奥拉西坦无任何效果, 阳性参照药纳洛酮对昏迷小鼠也显示出明显效果。

[0070] (五) 左奥拉西坦对大鼠外伤性脑昏迷的促醒实验研究

[0071] 1、实验材料:

[0072] 1.1 试剂与药品

[0073] 左奥拉西坦 (根据专利申请 CN101367757A 制备); 盐酸纳洛酮注射液 1ml : 0.4mg (重庆药友制药有限责任公司生产, 批号 1001020)。

[0074] 2、实验方法

[0075] 2.1 动物造模与分组给药

[0076] 实验动物采用 SD 大鼠 50 只, 清洁级, 雄性, 实验时体重为 350 ~ 400g, 购自第三军医大学大坪医院医学实验动物中心, 生产许可证: SLXK (渝) 2007-0005。动物实验设施持续保持屏障环境标准。主要环境指标的控制范围: 温度为 20.0-25.0℃, 相对湿度为 40-70%。换气次数为 10-20 次 / 小时, 光照明: 暗 = 14h : 10h。动物饲养于标准盒内, 每盒 5 只。

## [0077] 2.2 动物模型建立

[0078] 大鼠外伤性脑昏迷模型的参照 Feeney 法建立大鼠实验性重型颅脑创伤模型。采用的实验力为  $6000\text{g}/\text{cm}$  [即撞击物的重量 (g)  $\times$  该撞击物下落的距离 (cm)]。以水合氯醛进行浅度麻醉后, 颅顶部脱毛、消毒; 将大鼠固定于立体定向仪上, 正中切口开颅, 以牙科钻在冠状缝后 3mm 与矢状缝右侧 3mm 交会处钻孔, 扩大骨窗至  $6\text{mm} \times 6\text{mm}$  (前至冠状缝, 左界为矢状缝右旁 2mm), 保持硬膜完整; 将重 30g 的圆柱状打击杆 (打击端直径 4.5mm) 沿垂直固定于立体定向仪上的套管内自 20cm 高度释放, 打击部位即为钻孔点; 打击后以明胶海绵局部止血, 至无活动性出血后缝合头皮。造模后剔除昏迷程度不深和当即死亡的动物, 昏迷 10 分钟以上的动物入选。

## [0079] 2.3 分组给药

[0080] 将经打击后造成昏迷的动物有 30 只动物入选, 随机分成三组, 每组 10 只。一组作为模型对照组, 给生理盐水,  $0.5\text{ml}/100\text{g}$ ; 第二组给左奥拉西坦,  $125\text{mg}/\text{kg}$ ; 第三组给盐酸纳洛酮注射液,  $1\text{mg}/\text{kg}$ 。各组均在昏迷后 10 分钟后给药, 给药后置笼内安静仰卧躺养。分别于给药后 1、2、4、8 小时观察动物昏迷状态, 按下评分分级进行打分。

## [0081] 2.4 大鼠昏迷状态分级方法

[0082] 1 级: 在笼内活动如常

[0083] 2 级: 在笼内活动减少

[0084] 3 级: 在笼内活动减少并运动失调

[0085] 4 级: 当背部放在笼的底部时能滚动 (翻正反射存在) 但不能站立

[0086] 5 级: 翻正反射消失但对疼痛刺激有肢体回缩反应

[0087] 6 级: 翻正反射消失. 对疼痛刺激无反应, 同时耳翼反射、角膜反射消失. 尾部挤压不能诱出逃避反应。

[0088] 其中 5、6 级被认为是昏迷状态。

## [0089] 3、实验结果

[0090] 左奥拉西坦对大鼠外伤性脑昏迷的作用见表 10。

[0091] 表 10 左奥拉西坦、盐酸纳洛酮对大鼠外伤性脑昏迷作用

[0092]

组别	动物数	剂量	外伤后观察时点 (h)				备注
			1	2	4	8	
对照组	10	5ml/kg	$5.8 \pm 0.42$	$5.4 \pm 0.52$	$4.8 \pm 0.78$	$4.2 \pm 1.01$	死亡 2 只
盐酸纳洛酮	10	1mg/kg	$4.4 \pm 0.96^{**}$	$3.6 \pm 0.84^{**}$	$3.0 \pm 0.92^{**}$	$1.9 \pm 0.88^{**}$	全存活
左奥拉西坦	10	125mg/kg	$5.1 \pm 0.88^*$	$3.8 \pm 0.78^{**}$	$3.0 \pm 0.82^{**}$	$2.0 \pm 0.67^{**}$	全存活

[0093] 注: \* 表示与对照组比较  $P < 0.05$  \*\* 表示与对照组比较  $P < 0.01$

[0094] 由上表可见: 模型组动物从脑损伤后至 8 小时分值维持的 4 分以上, 并且有 20% 动物出现死亡。给左奥拉西坦  $125\text{mg}/\text{kg}$  1 小时后大鼠状态开始明显好转, 评分均值 5.1, 和对照组比较有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 此后一直显示出明显的意识改善效果, 整个实验期间

该组无一动物发生死亡,说明左奥拉西坦对大鼠外伤性脑昏迷作用确凿。同样阳性药盐酸纳洛酮也呈现出良好的促醒作用,效果理想,这和临床应用效果相吻合。

#### 附图说明

[0095] 图 1:为各犬口服左旋奥拉西坦、奥拉西坦及静注左奥拉西坦后的药时曲线,是左旋奥拉西坦动物体内药代动力学及绝对生物利用度研究的试验,为每条犬灌胃 50mg/kg 奥拉西坦,及静注和灌胃 50mg/kg 左旋奥拉西坦后各犬的血浆中浓度-时间数据图,其中 CK-sox 为左旋奥拉西坦、CK-hox 为混旋奥拉西坦。

[0096] 图 2:为犬口服左奥拉西坦、奥拉西坦及静注左旋奥拉西坦后的平均药时曲线,是左旋奥拉西坦动物体内药代动力学及绝对生物利用度研究的试验中,为 Begale 犬灌胃 50mg/kg 奥拉西坦,及静注和灌胃 50mg/kg 左旋奥拉西坦后血浆中平均血药浓度-时间数据图,其中 CK-sox 为左旋奥拉西坦、CK-hox 为混旋奥拉西坦。

#### 具体实施方式

[0097] 下面将描述本发明的几个实施例,但本发明的内容并不局限于此。

[0098] 实施例 1:

[0099] 原料组成:

[0100] (a) 左旋奥拉西坦(纯度为 99.5%) 200mg/粒

[0101] (b) 乳糖 80mg/粒

[0102] (c) 微晶纤维素 70mg/粒

[0103] 以制成 1000 粒左旋奥拉西坦胶囊剂为例,具体制备方法是:先将原辅料过 80 目筛,称取处方量的左旋奥拉西坦、乳糖、微晶纤维素混合均匀,直接充填胶囊。

[0104] 实施例 2:

[0105] 原料组成:

[0106]

(a) 左旋奥拉西坦(纯度为 99.6%) 200mg/片

(b) 淀粉 34mg/片

(c) 微晶纤维素 60mg/片

(d) 滑石粉 6mg/片

(e) 2%羟丙基甲基纤维素(K4M 型号) 适量

[0107] 以制成 1000 片左旋奥拉西坦片剂为例,具体制备方法是:先将原辅料过 80 目筛,称取处方量的左旋奥拉西坦、淀粉、微晶纤维素混合均匀,加 2% HPMC 水溶液制软材,制粒,烘干,整粒,向颗粒中加入处方量的滑石粉,混合均匀,压片。

[0108] 实施例 3:

[0109] 原料组成:

[0110]

---

(a) 左旋奥拉西坦 (纯度为 99.3%)	200mg/粒
(b) 乳糖	80.8mg/粒
(c) 羧甲基淀粉钠	72mg/粒
(d) 滑石粉	7.2mg/粒
(e) 10%聚乙烯吡咯烷酮	适量

[0111] 以制成 1000 粒左旋奥拉西坦胶囊剂为例,具体制备方法是:先将原辅料过 80 目筛,称取处方量的左奥拉西坦、乳糖、羧甲基淀粉钠混合均匀,加 10% PVP 乙醇溶液制软材,制粒,烘干,整粒,向颗粒中加入处方量的滑石粉,混合均匀,充填胶囊。

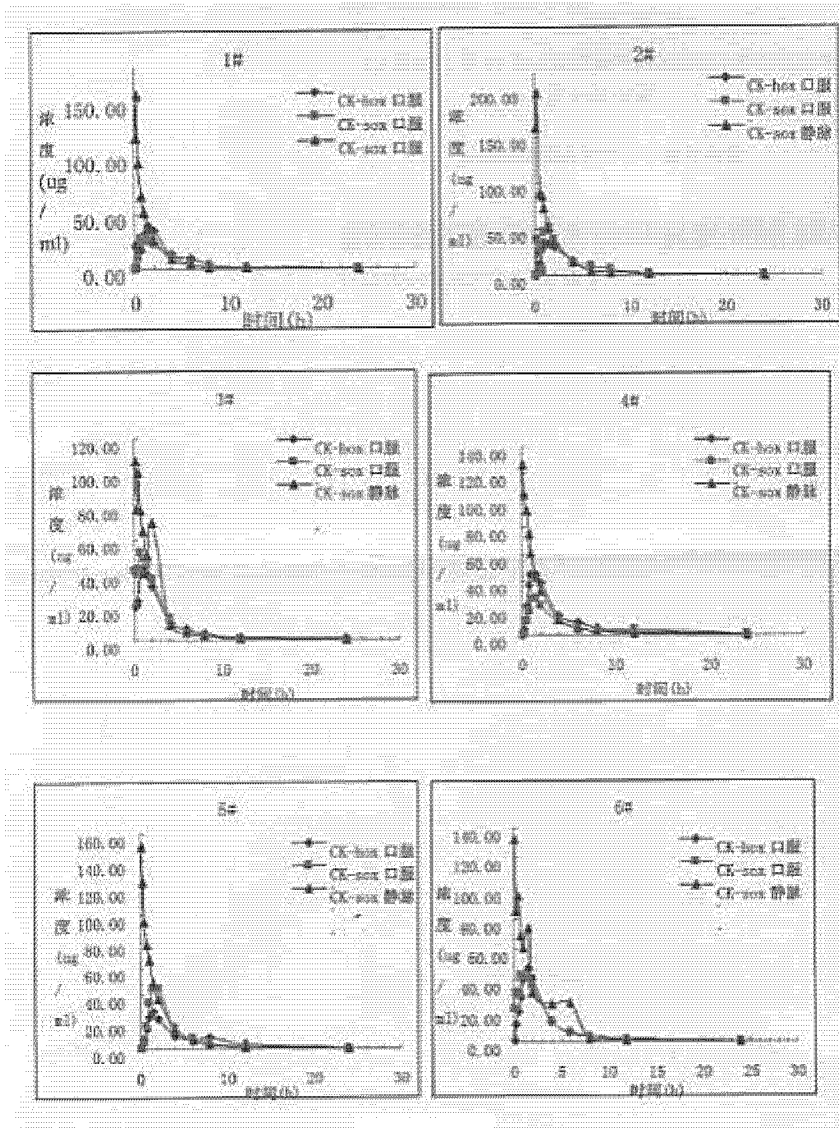


图 1

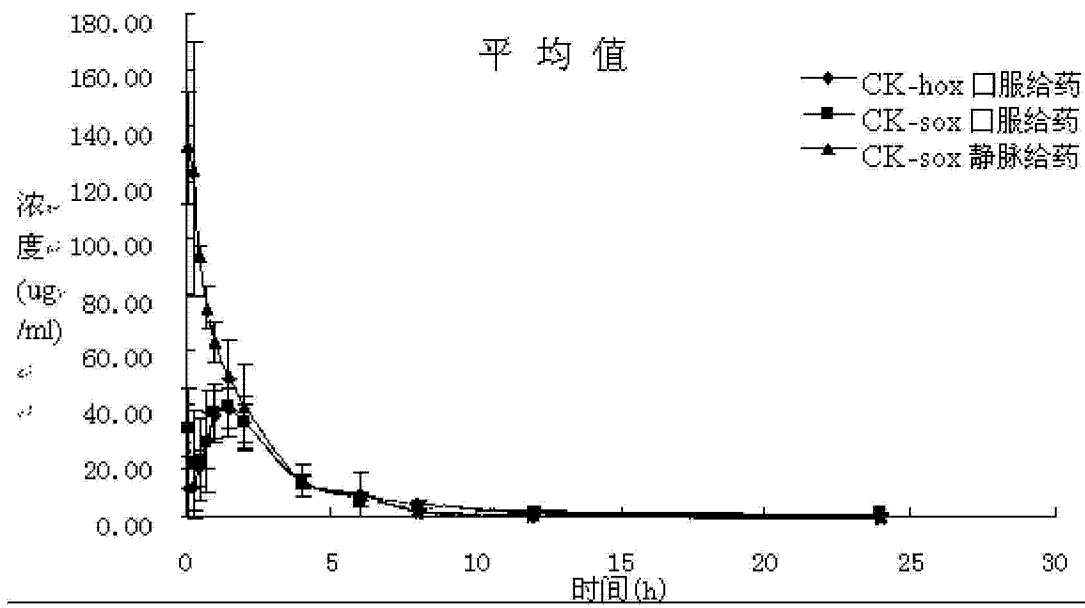


图 2