

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[ 51 ] Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 35/78

A61P 9/10 A61P 7/02



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03130861.9

[43] 公开日 2004 年 11 月 24 日

[11] 公开号 CN 1548130A

[22] 申请日 2003.5.20 [21] 申请号 03130861.9  
[71] 申请人 天津天士力制药股份有限公司  
地址 300402 天津市北辰科技园辽河东路 1 号  
[72] 发明人 张文生 黄芝娟 李德坤 岳洪水  
魏 峰

权利要求书 3 页 说明书 7 页 附图 1 页

[54] 发明名称 一种治疗冠心病心绞痛的药物及其药理作用

[57] 摘要

本发明公开了一种治疗冠心病心绞痛中药的制备方法，它是丹参制成的制剂，其中丹参采取水提、酸调节 pH 值、过滤、上大孔吸附树脂、低级醇洗脱、低温浓缩成干粉，制成制剂。本发明还公开了该中药的药理作用。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种丹参有效部位的提取方法，其特征在于包括：
  - a. 取粉碎后的丹参药材，加热水提取，滤过，合并滤液；
  - b. 滤液调节 pH 值，弃去沉淀，取上清液；
  - c. 上清液经大孔树脂吸附并用水除去杂质；
  - d. 用低级醇洗脱大孔树脂，收集洗脱液；
  - e. 浓缩洗脱液，成干粉。
2. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 a 中水提取两次，第一次加水量为药材量的 6~8 倍，提取时间为 1~3 小时，第二次加水量为药材量的 4~6 倍，提取时间为 1~2 小时。
3. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 a 中水提取两次，第一次加水量为药材量的 7 倍，提取时间为 2 小时，第二次加水量为药材量的 5 倍，提取时间为 1.5 小时。
4. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 b 中调节滤液 pH 值至 1~5。
5. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 b 中调节滤液 pH 值至 1~4。
6. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 b 中调节滤液 pH 值至 2。
7. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 b 中调节滤液 pH 值所用的酸为无机酸。
8. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 b 中调节滤液 pH 值所用的酸为盐酸。
9. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 c 中的大孔树脂为苯乙烯型多孔性吸附树脂。
10. 根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于步骤 d 中吸附于大孔树脂上的有效成分用含水的 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub> 的低级醇洗脱。
11. 根据权利要求 10 所述的制备方法，其特征在于步骤 d 中吸附于大孔树脂上的有效成分用含水的 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub> 的低级醇洗脱，洗脱浓度为 30~80%。

12. 根据权利要求 10 所述的制备方法, 其特征在于步骤 d 中吸附于大孔树脂上的有效成分用含水的 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub> 的低级醇洗脱, 洗脱浓度为 50~80%。
13. 根据权利要求 10 所述的制备方法, 其特征在于步骤 d 中吸附于大孔树脂上的有效成分用含水的乙醇, 洗脱浓度为 70%。
14. 根据权利要求 1 所述的制备方法, 其特征在于步骤 e 中浓缩洗脱液的温度为 60℃ 以下。
15. 根据权利要求 1 所述的一种丹参有效部位的提取方法, 其特征包括:
  - a. 取粉碎后的丹参药材, 加水提取两次, 第一次加 6 倍水, 加热 1 小时; 第二次加 4 倍量水分别加热 1 小时, 加热水提取, 滤过, 弃去沉淀, 取上清液;
  - b. 采用 10% 盐酸将上述滤液 pH 值调至 1.0, 滤过, 收集滤液,
  - c. 上清液经大孔树脂吸附并用水除去杂质;
  - d. 用 80% 甲醇洗脱大孔树脂, 收集洗脱液;
  - e. 55℃ 下减压浓缩洗脱液, 成干粉。
16. 根据权利要求 1 所述的一种丹参有效部位的提取方法, 其特征包括:
  - a. 取粉碎后的丹参药材, 加水提取两次, 第一次加 7 倍水, 加热 2 小时; 第二次加 5 倍量水分别加热 1.5 小时, 加热水提取, 滤过, 弃去沉淀, 取上清液;
  - b. 采用 10% 盐酸将上述滤液 pH 值调至 2.0, 滤过, 收集滤液,
  - c. 上清液经大孔树脂吸附并用水除去杂质;
  - d. 用 70% 乙醇洗脱大孔树脂, 收集洗脱液;
  - e. 50℃ 下减压浓缩洗脱液, 成干粉。
17. 根据权利要求 1 所述的一种丹参有效部位的提取方法, 其特征包括:
  - a. 取粉碎后的丹参药材, 加水提取两次, 第一次加 8 倍水, 加热 3 小时; 第二次加 6 倍量水分别加热 2 小时, 加热水提取, 滤过, 弃去沉淀, 取上清液;
  - b. 采用 10% 盐酸将上述滤液 pH 值调至 3.0, 滤过, 收集滤液,
  - c. 上清液经大孔树脂吸附并用水除去杂质;

- 
- d. 用 60%丙醇洗脱大孔树脂，收集洗脱液；
  - e. 45℃下减压浓缩洗脱液，成干粉。
18. 一种治疗冠心病心绞痛的药物，其特征在于含有权利要求 1~17 任何一种方法所制备的丹参有效部位。
19. 根据权利要求 1~17 所述任一方法制备的丹参有效部位在制备药物中的应用，其特征在于所说的药物具有改善急性心肌缺血和心肌梗塞的作用；具有减轻心肌缺血再灌注的损伤的作用；具有增加冠脉血流量，扩张血管、增加静脉血氧含量，降低心肌耗氧指数，改善心肌缺血的作用；具有抑制血小板聚集的作用；具有体外抑制血栓形成的作用。

## 一种治疗冠心病心绞痛的药物及其药理作用

### 技术领域

本发明涉及一种治疗冠心病心绞痛的药物，具体涉及以中草药为原料经特定工艺制成的制剂，本发明还公开了其药理作用。

### 背景技术

冠心病心绞痛是指由于冠状动脉硬化或痉挛导致心肌缺血、缺氧所引起的心绞痛，约占心绞痛患者的 90%。目前，西药治疗心绞痛的方法主要以扩张血管、降低血粘度、抗血小板聚集、抗凝血为主。应用的药物为硝酸酯、亚硝酸酯类、 $\beta$ -受体阻滞剂、钙拮抗剂、溶栓剂等，但由于其存在较大的毒副作用，不宜长期使用，且大多数药物为针对症状的治疗，对于病程的进展无较大的作用。

丹参为唇形科鼠尾草植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Beg.)干燥的根。在我国治疗冠心病心绞痛方面，已有近千年的使用历史，最早记载于东汉的《神农本草经》，并列为上品，具有行气止痛，宁心安神，清热凉血，活血化瘀等功效。

研究表明，丹参的活性成分主要有两类：一类是以丹参酮为代表的脂溶性有效部位；另一类则是以丹酚酸为代表的水溶性有效部位。近年来研究认为，水溶性有效成分是活血化瘀的有效成分。例如，丹酚酸 A 对缺血再灌注引起的心肌细胞损伤有明显的保护作用，总丹酚酸表现出较强的抗缺血再灌注性心律失常作用；丹酚酸 A、丹酚酸 B 以及总丹酚酸对小鼠脑缺血再灌注引起的脑损伤有保护作用，可以减少脑组织中 MDA 含量；丹酚酸抗血栓作用；丹酚酸对肝、肾的保护作用；丹酚酸具有很强的抗氧化作用，可以清除超氧阴离子和释基自由基，抑制脂质过氧化反应，等等。(杜冠华等，基础医学与临床，2000，20(5)：10~14)。

迄今为止，丹参水溶性部位的提取方法多为水提后过树脂柱，例如，Takashi Tanaka 等报道的丹参多酚酸盐的提取方法(*Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 1989, 37(2), 340~344)，另外，Koji Hase 等(*Planta Medica*, 1997, 63, 22~26)、徐亚明等(中国专利 CN1247855A, 2000

年3月公开)、刘平等(中国专利 CNI270809A, 2000年10月公开)、黎莲娘等(中国专利, 申请号 01142288.2, 申请日 2001年9月)亦采用类似的方法从丹参中提取酚酸类化合物。以上方法的共同缺陷之一是必须对水提取液进行浓缩, 由于丹参水溶性部位稳定性与处理时的温度高低和处理时间的长短等有较大关系, 故一般采用减压浓缩的方式, 但好的减压浓缩设备较为昂贵, 如工艺中反复的减压浓缩, 会使工艺复杂化, 造成工业生产成本很高, 严重阻碍其工业化生产的实现。另一缺陷是产率较低, 一般为2~3%, 低的产率亦限制了这些方法在工业上的应用。

本发明采用丹参水提取后, 加酸调节 pH 值, 过滤后, 经过树脂的分离纯化, 使其总酚酸含量达 70%以上, 与合适的辅料制成制剂。动物试验表明对预防和治疗冠心病心绞痛具有非常显著的效果。

### 发明内容

本发明的目的在于克服以上现有技术的不足, 提供一种疗效确切的治疗和预防冠心病、心绞痛的药物。

本发明的另一目的是提供该药物的药理作用。

本发明通过以下方案予以实施。

- a) 取粉碎后的丹参药材, 加热水提取, 滤过, 合并滤液;
- b) 滤液调节 pH 值, 弃去沉淀, 取上清液;
- c) 上清液经大孔树脂吸附并用水除去杂质;
- d) 用低级醇洗脱大孔树脂, 收集洗脱液;
- e) 浓缩洗脱液, 成干粉。

其中: 步骤 a)中, 水提取次数为两次, 第一次加水量为药材量的 6~8 倍, 提取时间为 1~3 小时, 第二次加水量为药材量的 4~6 倍, 提取时间为 1~2 小时; 其中优化条件为第一次加水量为药材量的 7 倍, 提取时间为 2 小时, 第二次加水量为药材量的 5 倍, 提取时间为 1.5 小时。

步骤 b)中, 调节滤液 pH 值至 1~5, 调节滤液 pH 值所用的酸为无机酸; 其中优选条件

为 pH 值调节至 1~4，最佳 pH 值为 2，调节滤液 pH 值所用的酸为盐酸。

步骤 d)中，吸附于大孔树脂上的有效成分用含水的 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub>的低级醇洗脱，洗脱浓度为 30~80%；其中 C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub>的低级醇分别为甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、戊醇、异戊醇，优选为乙醇；优选浓度为 50~80%，最佳浓度为 70%。

步骤 e)中，浓缩洗脱液的温度为 60℃以下，由于以酚酸类成分为代表的丹参水溶性部位高温容易氧化分解，所以选择此温度进行浓缩、干燥，对其有效成分不有影响，实际效果令人满意。

采用本发明方法制得的丹参水溶性有效部位提取物，可以制成任何一种药剂学上的剂型，也可以配合其他药物或组分一起制成制剂使用。

本发明与现有技术相比具有如下优势：

1. 工艺简捷。本发明丹参采用热水提取，经酸调节 pH 值后，滤过，滤液直接上大孔树脂柱进行分离。其中用酸调节 pH 值的方法来代替了现有技术中的浓缩、醇沉等一些看似简单而在工业生产上实际较为复杂的工艺程序，尤其是省却了对水溶液的浓缩，使工艺设备更为简单。同时，上柱前调节 pH 值，还可以去掉很多杂质，保证了干粉中丹酚酸 B 的含量不低于 60%。另外，从附图可以看出：图 1（采用对比例方法得到高效液相图谱）与图 2（采用本发明方法得到高效液相图谱）相比，其产物中的杂质峰 D，图 1 明显小于图 2；除此以外，峰 A 和 B 的比例发生了明显地改变；其中的峰 C 为指标成分丹酚酸 B，比较两种方法可以看出，本发明方法明显高于对比例方法。
2. 有效成分损失少。本发明避免了因浓缩过程中温度高、时间长等不利因素对丹参水溶性有效部位稳定性的影响，减少了有效成分的损失。
3. 产率高，且总酚酸含量高。从对比例和实施例 1~5 可以看出，现有技术的成品(丹参总酚酸干粉)收率一般为生药量的 3.6%，成品中总酚酸的含量为 72.1%，丹酚酸含量为 58.9%；而采用本发明方法得到的成品收率一般在 4.59~4.80%之间，成品中总酚酸的含量在 74.7~76.2%，丹酚酸含量为 62.9~65.3%，明显高于现有技术所采用的方法，杂质少，质量高。
4. 成本低。本发明由于省却反复浓缩、醇沉等所需的工艺设备(特别是水溶液的浓缩设备)，工业设备成本较低；本发明的丹参总酚酸产率高，且丹参总酚酸含量与现有技术的含量

相近或高于现有技术的含量，即同样的生药量可生产出更多质量相同或质量更高的产品，成本低而效益高。

5. 动物实验研究也说明了依本发明的方法制备的丹参水溶性有效部位的有益效果。

## 实验例

下面通过动物实验，观察通过本方法得到的丹参水溶性有效部位对麻醉犬心肌梗塞范围的影响，说明本发明的有益效果。

### 1. 试验材料

(1) 药物：受试药，采用本发明的方法所制得的丹参水溶性有效部位。

(2) 丹参片，上海中药三厂生产，批号：980605。

(3) 0.9%氯化钠注射液，北京双鹤药业股份有限公司生产，批号：9900210222。

### 2. 方法

动物经戊巴比妥钠(30m/kg)静脉麻醉，气管插管，连接 SC-2 型电动呼吸机；左侧第四肋间开胸，暴露心脏，剪开心包，做心包床；分离冠状动脉左旋支，放置电磁流量计探头，测定心脏冠脉血流量；分离冠状动脉前降支中段，穿线以备结扎，造成急性实验性心肌缺血模型；缝置多点固定式心外膜电极，连接多道生理记录仪，描记心外膜心电图。结扎冠脉 15 分钟，进行记录，作为给药前对照值，经十二指肠给予实验药物或生理盐水，于药后 15、30、45、60、90、120、180 分钟记录 30 个标测点心外膜心电图，以 S-T 段升高大于 2mV 为判断标准，计算心肌缺血程度(S-T 段升高总 mv 数  $\Sigma$ -ST)及心肌缺血范围(S-T 段升高总点数 N-ST)。

药后 180 分钟记录完毕，立即取下心脏，生理盐水冲洗，称量全心重，在心脏结扎线以下，平行于冠状沟均匀地将心室部分横切 5 片，然后，置于硝基四氮唑兰(N-BT)染液中，常温染色 15 分钟。以彩色病理图像分析系统(MPIAS-500)测量每片心肌双侧的梗塞区(N-BT 非染色区)与非梗塞区(N-DT 染色区)，计算每片心肌的面积，心室总面积和梗塞区总面积。计算梗塞区占心室及占全心脏的百分比。实验结果进行统计学处理，以 t 检验判断其显著性。

### 3. 结果

对犬急性心肌梗塞范围的影响



结果见下表，定量组织学 N-BT 染色法显示心肌梗塞范围，生理盐水对照组动物心肌梗塞区分别占心脏及心室的  $8.48 \pm 0.48\%$  和  $20.66 \pm 1.99\%$ ；受试药组动物心肌梗塞区域占心脏  $2.60 \pm 0.60\%$  及心室的  $7.71 \pm 0.81\%$ ，与生理盐水对照组比较均有非常显著的差异（均  $P < 0.001$ ），同时受试药组动物心肌梗塞程度低于丹参片组，具有显著差异（ $P < 0.01$ ）。

#### 各给药组对犬急性心肌梗塞范围的影响 (n=5)

组别	剂量/kg	心脏面积 mm <sup>2</sup>	心室面积 mm <sup>2</sup>	梗塞区面积 mm <sup>2</sup>	梗塞区/心脏	梗塞区/心室
生理盐水	3ml	13494.2±1091.4	5228.6±646.0	1110.05±218.01	8.48±0.48	20.66±1.99
丹参片	2g	12792.9±2272.0	5123.7±585.1	429.2±90.9***	3.17±0.88***	9.05±2.18***
受试药	2g	16328.3±6037.6	4983.1±529.5	367.2±55.8***	2.60±0.60***▲▲	7.71±0.81***▲▲

注：与对照组比较：\* $P < 0.05$ ；\*\* $P < 0.01$ ；\*\*\* $P < 0.001$ ；与丹参片组对比：▲▲ $P < 0.01$ 。

#### 附图说明

图 1 为采用对比例方法得到的丹参提取物的高效液相谱图；

图 2 为采用本发明实施例二方法得到的丹参提取物的高效液相谱图。

#### 具体实施方式

下面结合对比例和实施例对本发明作进一步的说明，下述该实施例仅用于说明本发明而对本发明没有限制。

##### 对比例

按专利申请文献(中国专利，申请号 01142288.2，申请日 2001 年 9 月)的方法制备丹参总酚酸

丹参 500g 粉碎成粗粉，加去离子水在 100℃加热提取 2 次。第一次加 7 倍量的水，加热 2 小时；第二次加 5 倍量水加热 1 小时。提取液在 50℃减压浓缩至 500ml，冷却，所得浓缩液通过大孔吸附树脂(D101 型)，用去离子水洗至流出液无  $\alpha$ -萘酚反应，继续用 50%乙醇洗脱得洗脱液 3000ml。洗脱液经减压浓缩，得干粉 18.0g，即丹参水溶性部位提取物。成品收率为生药量的 3.6%，经检测其成品含总酚酸 72.1%，丹酚酸 B 为 58.9%。

丹参总酚酸和丹酚酸 B 的检测方法：按专利申请文献(中国专利，申请号 01142288.2，

申请日 2001 年 9 月)的方法进行测定。

(1)丹酚酸 B: 用 HPLC 法测定, 检测波长 288nm, 标准品丹酚酸 B 由天津天士力集团现代中药研究所提供, 纯度 98.0%。

(2)丹参总酚酸: 含量= $F(A-B)+B$

其中: A 为分光光度法测定以丹酚酸 B 为对照计算的总酚酸含量

B 为高效液相色谱法测定的丹酚酸 B 含量

F 为校正因子 0.626

#### 实施例一

丹参 500g 粉碎成粗粉, 加去离子水在 100℃微沸状态下加热提取 2 次。第一次加 6 倍水, 加热 1 小时; 第二次加 4 倍量水分别加热 1 小时。合并提取液用 10%盐酸调 pH 值为 1 后, 滤过, 收集滤液, 上大孔吸附树脂 (D101 型), 用去离子水冲洗至中性, 继续用 80%甲醇洗脱, 待色带下来即收集此色带。55℃减压浓缩, 成干粉, 得丹参水溶性有效部位 24.05g, 成品收率为生药量的 4.80%。按专利申请文献(中国专利, 申请号 01142288.2, 申请日 2001 年 9 月)的方法进行测定, 成品含总酚酸 75.9%, 丹酚酸 B 为 64.9%。

#### 实施例二

丹参 500g 粉碎成粗粉, 加去离子水在 80℃加热提取 2 次。第一次 7 量倍水, 加热 2 小时; 第二次加 5 倍量水分别加热 1.5 小时。提取液用 10%盐酸调 pH 值为 2 后, 滤过, 收集滤液上大孔吸附树脂 (D101 型), 用去离子水冲洗至中性, 继续用 70%乙醇洗脱, 待色带下来即收集此色带。50℃减压浓缩, 成干粉, 得丹参水溶性有效部位 23.75g, 成品收率为生药量的 4.75%。按专利申请文献(中国专利, 申请号 01142288.2, 申请日 2001 年 9 月)的方法进行测定, 成品含总酚酸 76.2%, 丹酚酸 B 为 65.3%。

#### 实施例三

丹参 500g 粉碎成粗粉, 加去离子水在 100℃微沸状态下加热提取 2 次。第一次加 8 量倍水, 加热 3 小时; 第二次各加 6 倍量水分别加热 2 小时。提取液用 10%硫酸调 pH 值为 3 后, 滤过, 收集滤液上大孔吸附树脂 (AB-8 型), 用去离子水冲洗至中性, 继续用 60%丙醇洗脱, 待色带下来即收集此色带。45℃减压浓缩, 成干粉, 得丹参水溶性有效部位 22.95g, 成品收

率为生药量的 4.59%。按专利申请文献(中国专利, 申请号 01142288. 2, 申请日 2001 年 9 月)的方法进行测定, 成品含总酚酸 74.7%, 丹酚酸 B 为 64.2%。

#### 实施例四

丹参 500g 粉碎成粗粉, 加去离子水在 100℃微沸状态下加热提取 2 次。第一次加 7.5 量倍水, 加热 2.5 小时; 第二次各加 5.5 倍量水分别加热 2 小时。提取液用 10%盐酸调 pH 值为 4 后, 滤过, 收集滤液上大孔吸附树脂 (AB-8 型), 用去离子水冲洗至中性, 继续用 50%丁醇洗脱, 待色带下来即收集此色带。40℃减压浓缩, 成干粉, 得丹参水溶性有效部位 23.25g, 成品收率为生药量的 4.65%。按专利申请文献(中国专利, 申请号 01142288. 2, 申请日 2001 年 9 月)的方法进行测定, 成品含总酚酸 75.1%, 丹酚酸 B 为 63.8%。

#### 实施例五

丹参 500g 粉碎成粗粉, 加去离子水在 100℃微沸状态下加热提取 2 次。第一次加 7.5 量倍水, 加热 2.5 小时; 第二次各加 5.5 倍量水分别加热 2 小时。提取液用 10%盐酸调 pH 值为 5 后, 滤过, 收集滤液上大孔吸附树脂 (AB-8 型), 用去离子水冲洗至中性, 继续用 30%戊醇洗脱, 待色带下来即收集此色带。40℃减压浓缩, 成干粉, 得丹参水溶性有效部位 23.35g, 成品收率为生药量的 4.67%。按专利申请文献(中国专利, 申请号 01142288. 2, 申请日 2001 年 9 月)的方法进行测定, 成品含总酚酸 75.0%, 丹酚酸 B 为 62.9%。

图 1

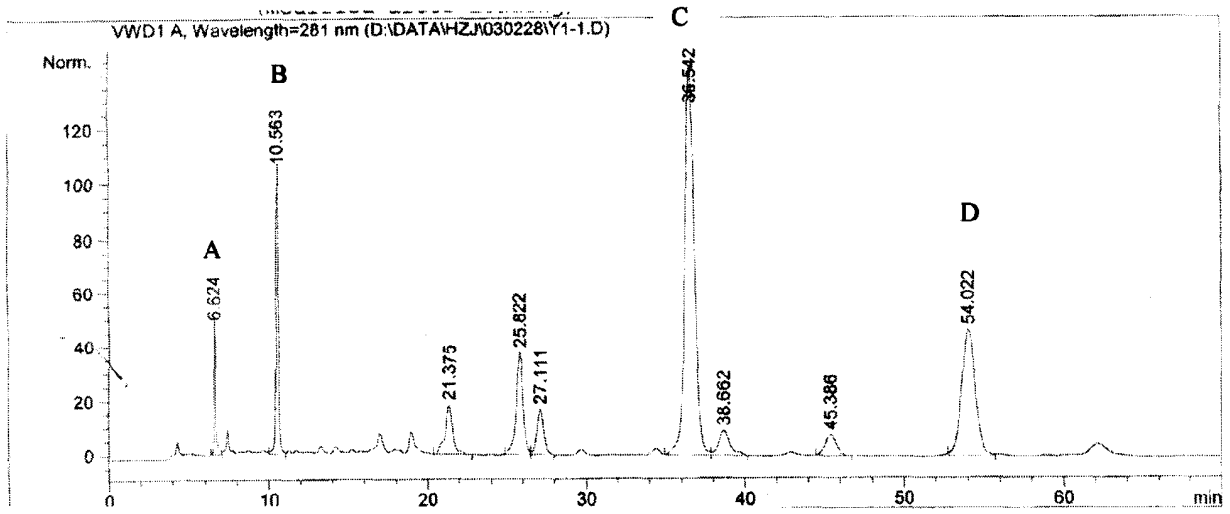


图 2

