



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **85065** (13) **C2**
(51) **МПК (2006)**

A61K 36/537 (2008.01)

A61K 36/258 (2008.01)

A61K 36/481 (2008.01)

A61K 31/125 (2008.01)

A61P 9/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ КАРДІОВАСКУЛЯРНИХ І ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

1

2

(21) а200603142

(22) 23.09.2004

(24) 25.12.2008

(86) PCT/CN2004/001085, 23.09.2004

(31) 03144311.7

(32) 23.09.2003

(33) CN

(46) 25.12.2008, Бюл.№ 24, 2008 р.

(72) ВЕЙ ФЕНГ, ЛІ ДЕКУН, ЛУО ЧОНГНІАН, ЮЕ ХОНГШУІ, ЧЕН КВІНГЧУАНГ, ХУАНГ ЖІДЖУАН

(73) ТЯНДЖІН ТЕСЛІ ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД.

(56) WANGLI ET AL.: "Effects observation of Fufang Danshen injection plus radix astragali injection for the treatment of coronary heart disease in 58 cases" TCM TECHNOLOGY OF CHINA vol. 9, no. 4, 2002, page 252

CAOLUYU ET AL.: "The treatment of coronary heart disease and angina by the way of WENYANGXINGYU" JOURNAL OF TIANJIN UNIVERSITY OF TCM vol. 12, no. 2, June 2002, page 35

(57) 1. Фармацевтична композиція, що містить:

5,0%-70,0% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*;

10,0%-85,0% екстракту кореня *Notoginseng*;

5,0%-70,0% екстракту кореня *Astragali* і

1,0%-15,0% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae*,

де згаданий екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* містить

45%-70% салвіанолової кислоти типу В,

2%-10% салвіанолової кислоти типу Е,

4%-20% розмаринової кислоти,

1%-10% літоспермової кислоти і

більш ніж 70 % салвіанолових кислот;

згаданий екстракт кореня *Notoginseng* містить

2%-10% нотогінзенозиду R1,

2%-6% гінзенозиду Re,

15%-40% гінзенозиду Rg1,

15%-40% гінзенозиду Rb1,

5%-12% гінзенозиду Rd і

більш ніж 70% сапонінів кореня *Notoginseng*;

згаданий корінь *Astragali* містить

5%-15% астрагалозиду I і

більш ніж 70% сапонінів кореня *Astragali*.

2. Композиція за пунктом 1, що містить:

15,0%-50,0% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*;

25,0%-65,0% екстракту кореня *Notoginseng*;

15,0%-50,0% екстракту кореня *Astragali* і

2,0%-12,0% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

3. Композиція за пунктом 2, що містить:

20,0%-30,0% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*;

30,0 %-55,0% екстракту кореня *Notoginseng*;

20,0%-30,0% екстракту кореня *Astragali* і

4,0%-10,0% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

4. Композиція за пунктом 3, що містить:

23% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*;

45% екстракту кореня *Notoginseng*;

23% екстракту кореня *Astragali* і

9% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

5. Композиція за пунктом 1, де згаданий екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* містить більш ніж 80 % салвіанолових кислот; згаданий екстракт кореня *Notoginseng* містить більш ніж 80% сапонінів кореня *Notoginseng*; і згаданий екстракт кореня *Astragali* містить більш ніж 80% сапонінів кореня *Astragali*.

6. Композиція за пунктом 1, 2, 3 або 4, що знаходиться у формі ін'єкції, таблеток, таблеток з уповільненим вивільненням, пілюль, гранул, порошку для ін'єкції, капсул або мікрогранул.

7. Композиція за пунктом 6, що являє собою ін'єкцію або порошок для ін'єкції.

8. Застосування композиції за будь-яким з пунктів 1-7, для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань.

(13) **C2**

(11) **85065**

(19) **UA**

Винахід стосується лікарської композиції. Зокрема, винахід стосується фармацевтичної композиції для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань.

Статистичні дані вказують на те, що захворюваність і смертність від кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань в Китаї постійно зростають протягом останніх п'яти десятиліть. Від 1950 до 1960 років кардіоваскулярні і цереброваскулярні захворювання посіли місце п'яте і шосте місце за поширеністю серед всіх захворювань, що викликають смерть. Однак починаючи з 1975 року вони піднялися до другого та третього місць відповідно і смерть від кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань посідає перше місце серед всіх інших захворювань, які приводять до смерті. По суті, смертність від кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань серед китайців в 2001 році складала 42,6% всіх смертей порівняно до 12,07% в 1975-му. У теперішній час ці захворювання викликають близько 2 мільйонів смертей щороку. Деякі пацієнти виживають, але більшість з тих, що залишилися в живих стали інвалідами і не в змозі піклуватися про себе у повсякденному житті що лягає тягарем на їх родини і суспільство.

У західних країнах кардіоваскулярні і цереброваскулярні захворювання також лідирують у списку причин смертності. За оцінками спеціалістів, які ґрунтуються на поточних епідеміологічних даних, до 2020 року, хвороба коронарної артерії і мозковий кроволив все ще будуть першою і другою причинами смерті людей, хоча порядок розташування причин смерті від захворювань значно зміниться. За прогнозами, в наші дні кількість смертей у світі від хвороби коронарної артерії зросте до 11 мільйонів порівняно до 6,3 мільйонів у 1990 році; і кількість смертей від мозкового кроволиву зросте від 4,4 мільйонів до 7,7 мільйонів. Протягом найближчих 30 років, смертність, викликана захворюваннями системи кровообігу, зросте до 59,6%. Смертність від хвороби коронарної артерії і інсульту зросте до 74,6% і 75% відповідно. Всі ці дані показують, що кардіоваскулярні і цереброваскулярні захворювання є не тільки головними захворюваннями, які шкодять людському здоров'ю; на сьогоднішній і в майбутньому вони також залишаються „близькими номер 1“, що призводять до смерті або інвалідності.

Якщо розглядати терапевтичні засоби для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань, то призначення лікарських засобів традиційної китайської патентованої медицини і західної медицини сфокусоване на різних аспектах; традиційні китайські патентовані лікарські засоби мають менше побічних ефектів, і тому завоювали добру частку ринку. Серед доступних традиційних китайських патентованих засобів для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань все більшу увагу до себе привертають ті, що містять у якості активних компонентів, активні інгредієнти біологічно ефективних частин лікарських рослин, такі як, наприклад, нотогінзенозид (notoginsenoside), салвіанолеву (salvianolic) кислоти, пуерарінові ізофлавоїди (puerarine), і піпеносиди

(gypenosides). Оскільки біологічно ефективні частини лікарських рослин, що застосовуються в традиційних китайських патентованих лікарських засобах для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань мають відповідну дію та ефект і впливають на різні аспекти, очікується, що вони матимуть широке застосування у комбінованому призначенні. З іншого боку, на сьогоднішній, традиційні китайські патентовані лікарські засоби базуються на одній біологічно ефективній частині лікарської рослини, особливо у формі розчинів для ін'єкцій, як наприклад препарати XUESAITONG, XUESHUANTONG (торгові назви), не задовольняють вимоги комбінованого призначення. До того ж, просте змішування декількох традиційних китайських патентованих лікарських засобів у формі розчинів для ін'єкцій без попереднього схвалення Державною Адміністрацією з Продовольства і Лікарських засобів представляє великий ризик виникнення неочікуваних несприятливих реакцій, таких, як наприклад швидке збільшення кров'яного тиску, лихоманка, і алергія. Тому, дуже важливо забезпечити більш ефективні і зручні композиції біологічно активних частин лікарських рослин для клінічних застосувань.

Завданням даного винаходу є забезпечення більш ефективної і зручної композиції з біологічно активних частин лікарських рослин і препарату на їх основі для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань, який надає можливість подолати недоліки традиційних китайських патентованих лікарських засобів, які містять лише біологічно активні частини лікарських рослин, і тому не можуть задовольнити клінічну потребу в комбінованому призначенні, і дозволить уникнути потенційних побічних ефектів пов'язаних із простим змішуванням препаратів.

Даний винахід може бути здійснений, як це наведено у наступних втіленнях.

Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу що містять:

Екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*,
Екстракт кореня *Notoginseng*,
Екстракт кореня *Astragali*, і
Борнеол або олію *Lignum Dalbergiae Odonferae*.

У переважному втіленні даного винаходу, композиція складається з:

5,0%-70,0% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*,
10,0%-85,0% екстракту кореня *Notoginseng*,
5,0%-70,0% екстракту кореня *Astragali*, і
1,0%-15,0% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odonferae*

У більш переважному втіленні даного винаходу композиція складається з:

15,0%-50,0% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*,
25,0%-65,0% екстракту кореня *Notoginseng*,
15,0%-50,0% екстракту кореня *Astragali* і
2,0%-12,0% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odonferae*

У ще більш переважному втіленні даного винаходу, композиція складається з:

20,0%-30,0% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*;

30,0%-55,0% екстракту кореня *Notoginseng*;

20,0%-30,0% екстракту кореня *Astragali*; і

4,0%-10,0% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

У найбільш переважному втіленні даного винаходу, композиція містить:

23% екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*;

45,0% екстракту кореня *Notoginseng*;

23% екстракту кореня *Astragali*, і

9% борнеолу або олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

У більш переважному втіленні композиції відповідно до даного винаходу, згаданий екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* містить 45%-70% салвіанолової кислоти типу В, 2%-10% салвіанолової кислоти типу Е, 4%-20% розмаринової (rosmarinic) кислоти, 1%-10% літоспермової (lithospermic) кислоти, і більш ніж 70% салвінолевих (salvinolic) кислот.

У більш переважному втіленні композиції відповідно до даного винаходу, згаданий екстракт кореня *Notoginseng* містить 2%-10% нотогінзенозиду R1, 2%-6% гінзенозиду (ginsenoside) Re, 15%-40% гінзенозиду Rg1, 15%-40% гінзенозиду Rb1, 5%-12% гінзенозиду Rd, і більш ніж 70%, переважно, більш ніж 80%, сапонінів кореня *Notoginseng*.

У більш переважному втіленні композиції відповідно до даного винаходу, згаданий екстракт кореня *Astragali* містить 5%-15% астрагалозиду (astragaloside) І і більш ніж 70% сапонінів кореня *Astragali*.

У найбільш переважному втіленні композиції відповідно до даного винаходу, згаданий екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* містить більш ніж 80% салвінолевих кислот; згаданий екстракт кореня *Notoginseng* містить більш ніж 80% сапонінів кореня *Notoginseng*, і згаданий екстракт кореня *Astragali* містить більш ніж 80% сапонінів кореня *Astragali*.

У більш переважному втіленні, композиції відповідно до даного винаходу знаходяться у вигляді ін'єкції, таблеток, таблеток з уповільненим вивільненням, драже, гранул, порошку для ін'єкції, капсул або мікрогранул.

У найбільш переважному втіленні, композиції відповідно до даного винаходу знаходяться у вигляді ін'єкції або порошку для ін'єкції.

Композиція відповідно до винаходу застосовується для лікування кардіоваскулярних і цереброваскулярних захворювань.

Екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*, який входить до згаданих вище фармацевтичних композицій може бути приготовлений за допомогою процесів, відомих з рівня техніки, наприклад, процесом, розкритим [у патентних заявках CN1352985A, CN1247855A, CN1242364A, CN1384090A, CN1459448A, і Guo Ying et al., The Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, 2001, 24(4): 6]. Він також може бути отриманий за допомогою процесів, подібних до згаданого вище з відповідними модифікаціями.

Досліджуваний екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* містить 45%-70% салвіанолової кисло-

ти типу В, 2%-10% салвіанолової кислоти типу Е, 4%-20% розмаринової кислоти, 1%-10% літоспермової кислоти, і більш ніж 70%, переважно, більш ніж 80%, салвінолевих кислот Незалежно від процесу виготовлення екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*, вираз "екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*", що використовується в цьому тексті, означає, що склад екстрактів знаходиться у межах наведених проміжків, і, для цієї мети, невідповідні екстракти можуть бути вдосконалені, наприклад концентрацією, щоб відповідати вимогам до вмісту компонентів. Компоненти і їх вміст можуть бути охарактеризовані і визначені як вказано нижче відповідно:

1. Визначення вмісту салвіанолової кислоти типу В, салвіанолової кислоти типу Е, розмаринової кислоти, і літоспермової кислоти в екстракті кореня *Salviae Miltiorrhizae* (BEPX)

а. Умови хроматографування

Наповнювач: октадецилсиліл-силікагель; Рухомо фаза ацетонітрил-вода-фосфорна кислота (23,5:76,5:0,02); Довжина виявлення хвилі: 288нм.

Кількість теоретичних тарілок, обчислена за піком салвіанолової кислоти типу В, - не менше 5000.

б. Приготування контрольних розчинів:

Контрольний розчин 0,2мг/мл салвіанолової кислоти типу В готували шляхом змішування контрольного зразка з рухомою фазою. Подібним чином готували контрольний розчин 0,02мг/мл салвіанолової кислоти типу Е, контрольний розчин 0,05мл розмаринової кислоти, і контрольний розчин 0,01мг/мл літоспермової кислоти.

с. Приготування пробних розчинів:

35мг екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* точно зважували в мірній колбі об'ємом 25мл. До колби додавали рухому фазу, щоб розчинити пробу. Одержаний розчин, далі доводили рухомою фазою до 25мл, одночасно струшуючи 5мл пробного розчину переносили у мірну колбу об'ємом 25мл, і додавали рухому фазу до 25мл, струшуючи одержаний розчин для досягнення однорідності.

д. Процедура дослідження

10мкл кожного контрольного розчину та пробних розчинів відповідно досліджували за допомогою рідинної хроматографії.

2. Визначення салвінолевих кислот в описаному вище екстракті кореня *Salviae Miltiorrhizae* (спектрофотометрія)

а. Приготування контрольних розчинів:

Розчин 20мкг/мл салвіанолової кислоти типу В готували шляхом змішування зразка з сумішшю ацетонітрил-вода-фосфорна кислота (23,5:76,5:0,02).

б. Приготування пробних розчинів:

25мг екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* точно зважували в мірній колбі об'ємом 50мл. До колби додавали суміш ацетонітрил-вода-фосфорна кислота (23,5:76,5:0,02). Одержаний розчин, розводили згадану сумішшю до 25мл одночасно струшуючи. 2мл пробного розчину точно переносили в мірну колбу об'ємом 50мл. Додавали згадану суміш до 25мл, струшуючи одержаний розчин для досягнення однорідності.

с. Процедура дослідження

Як розчин порівняння брали суміш ацетонітрил-вода-фосфорна кислота (23,5:76,5:0,02), ступінь поглинання контрольних розчинів і пробних розчинів визначали окремо методом спектрофотометрії при довжині хвилі 288нм (China Phamascoroeia, edition 1995, volume 1, appendix VA). Розрахунки проводили за наступною формулою:

Вміст салвінолевих кислот (%) = $f(A-B)/B$

де, f дорівнює 0,626 і є поправкою, A - вміст салвінолевих кислот, визначених спектрофотометрично відносно салвіанолевої кислоти типу В, B - вміст салвіанолевої кислоти типу В визначений за допомогою ВЕРХ

3. ВЕРХ спектр відбитків пальців згаданого екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*

Умови методу визначення співпадають з умовами для визначення салвіанолевої кислоти типів В і Е, розмаринової кислоти, літоспермової кислоти в згаданому вище пункті (1), на який робиться посилання Тривалість знімання складала 60 хвилин.

Серед всіх загальних піків відбитків пальців, пік салвіанолевої кислоти типу В, загальний пік що представляє собою відносно велику і стабільну площу під піком, був обраний піком порівняння Відносний час затримки і відносна площа під піком обчислювалась відносно часу затримки і піку порівняння В спектрі відбитків пальців згаданого вище екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* було 5-7 загальних піків, зазвичай - 6 загальних піків Відносні часи затримки 6 загальних піків складала 0,55-0,65 (пік салвіанолевої кислоти типу Е), 0,66-0,70 (пік розмаринової кислоти), 0,71-0,79 (пік літоспермової кислоти), 1 (пік салвіанолевої кислоти типу В), 1,03-1,12, 1,21-1,30 Серед всіх загальних піків, тільки для піка салвіанолевої кислоти типу В, піка порівняння, співвідношення площі під одним піком до повної площі під піками було більшим ніж 20%. Площа під піком салвіанолевої кислоти типу В складала 57%-87% повної площі під піками його відносна площа під піком була прийнята за 1 При відносному часі затримки 0,66-0,70, площа під загальним піком розмаринової кислоти складала 3%-18% повної площі під піками і його відносна площа під піком дорівнює 0,03-0,25. Загальна площа під піком не загального піка дорівнює менш ніж 10% повної площі під піками.

Екстракт кореня *Notoginseng*, що входить до складу згаданих вище фармацевтичних композицій може бути приготовлений з використанням процесів, відомих з рівня техніки, наприклад процесу, розкритого [в китайському патенті ZL1095363C, китайській патентній заявці CN1352985A, у Qian Tianxiang et al, Foreign Medical Sciences, Plant Medicine Section, 1997, 12(4), Tang Diguang, The journal of Chinese Traditional Patent Medicine, 1990, 12(8): 5, The Standard of Public Health Ministry of China WS3-B-3590-2001 (z)]. Він також може бути отриманий за допомогою процесів, подібних до згаданого вище з відповідними модифікаціями. Він також є комерційно доступним на ринку наприклад, у формі екстракту, що містить 95% (визначається за допомогою УФ-

спектроскопії) сапонінів кореня *Notoginseng* (Rb1 30%, Rg1 20%, R1 15%, визначається ВЕРХ).

Досліджуваний екстракт кореня *Notoginseng* містить 2%-10% нотогінзенозиду R1, 2%-6% гінзенозиду Re, 15%-40% гінзенозиду Rg1, 15%-40% гінзенозиду Rb1, 5%-12% гінзенозиду Rd, і більш ніж 70%, переважно, більш ніж 80%, сапонінів кореня *Notoginseng*. Незалежно від процесу виготовлення екстракту кореня *Notoginseng*, вираз "екстракт кореня *Notoginseng*", що використовується в цьому тексті, означає, що склад екстрактів знаходиться у межах наведених проміжків; і, для цієї мети, невідповідні екстракти можуть бути вдосконалені, наприклад концентрацією, щоб відповідати вимогам до вмісту компонентів. Компоненти і їх вміст можуть бути охарактеризовані і визначені як вказано нижче відповідно:

1. Визначення вмісту гінзенозиду Re, гінзенозиду Rd, нотогінзенозиду R1, гінзенозиду Rg1, і гінзенозиду Rb1 в екстракті кореня *Notoginseng* (ВЕРХ).

а. Умови хроматографування і випробування придатності системи

Наповнювач: октадецилсиліл-силікагель; Температура в колонці: 40°C; Швидкість потоку: 0,7мл/хвилину; Детектувальна довжина хвилі: 203нм; Градієнт рухомої фази як вказано нижче:

Час	Вода	Ацетонітрил
0	70	30
10	70	30
30	10	90

б. Приготування контрольних розчинів:

0,2мг/мл контрольного розчину гінзенозиду Re готували змішуванням контрольного зразка з метанолом. Так само приготували контрольний розчин 0,4мг/мл гінзенозиду Rd, контрольний розчин 0,2мг/мл гінзенозиду R1, контрольний розчин 0,4мг/мл нотогінзенозиду Rg1 і контрольний розчин 0,4мг/мл гінзенозиду Rb1 відповідно.

с. Приготування пробних розчинів:

20мг екстракту кореня *Notoginseng* точно зважували в мірній колбі об'ємом 50мл. До колби додавали рухому фазу, щоб розчинити пробу. Одержаний розчин, далі доводили рухомою фазою до 50мл, одночасно струшуючи.

д. Процедура випробування

10мкл кожного контрольного розчину та пробних розчинів вприскували в ВЕРХ-систему, і аналізували. Таким чином одержували ВЕРХ спектр екстракту кореня *Notoginseng* відповідно до даного виваходу.

(1) Визначення сапонінів кореня *Notoginseng* в згаданому вище екстракті кореня *Notoginseng* (спектрофотометрія)

(2) ВЕРХ спектр відбитків пальців згаданого екстракту кореня *Notoginseng*

Процедура визначення аналогічна наведеним в описі вище процедурі ВЕРХ (1) для гінзенозиду Re, гінзенозиду Rd, гінзенозиду R1, нотогінзенозиду Rg1 і гінзенозиду Rb1. Тривалість знімання складала 30 хвилин.

Серед всіх загальних піків відбитків пальців, пік гінзенозиду Rg1, що представляє собою відно-

сно велику і стабільну площу під піком, був обраний піком порівняння. Відносний час затримки і відносна площа під піком обчислювалась відносно часу затримки і піку порівняння. В спектрі відбитків пальців згаданого вище екстракту кореня *Notoginseng* було 9-12 загальних піків, зазвичай - 11 загальних піків. Відносні часи затримки 11 склали 0,77-0,85 (пік нотогінзенозиду R1), 0,87-0,97 (пік гінзенозиду Re), 1 (пік гінзенозиду Rg1, довідковий пік), 2,58-2,67, 0,68-2,76, 2,77-2,81, 2,82-2,91 (пік гінзенозиду Rb1), 2,95-3,03, 3,05-3,13, 3,15-3,22 (пік гінзенозиду Rd), 3,24-3,91. Серед всіх загальних піків, тільки для піка гінзенозиду Rg1 і піка гінзенозиду Rb1, співвідношення площі під одним піком до повної площі під піками було більшим ніж 20%. Площа під піком гінзенозиду Rg1, тобто, під піком порівняння, складала 20%-35% повної площі під піками; його відносна площа під піком була прийнята за 1. Площа під піком гінзенозиду Rb1 складала 30%-50% повної площі під піками; його відносна площа під піком дорівнює 0,85-2,50. Площа під піком нотогінзенозиду R1 складала 2%-8% повної площі під піками; його відносна площа під піком дорівнює 0,06-0,40. Площа під піком гінзенозиду Rd складала 5%-14% повної площі під піками; його відносна площа під піком дорівнює 0,14-0,70. Повна площа не загального піка дорівнює менш ніж 10% повної площі під піками.

Екстракт кореня *Astragal* згаданої вище фармацевтичної композиції може бути приготовлений за допомогою методів, відомих з рівня техніки, наприклад, розкритими [у китайських патентах CN1096269C, Yu Hao et al., West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 1993, 8(3):163, Teng Xinglong et al., Heilongjiang Medical Journal, 2002, 15(5): 340, Wang Zhijie et al., Journal of Zhejiang College of Traditional Chinese Medicine, 2001, 25(5): 43]. Також їх можна одержати за допомогою процесів, подібних до згаданих вище з відповідними модифікаціями. Вони також є комерційно доступними на ринку, наприклад, у формі екстракту, що містить 80%-98% (УФ-визначення) екстракту кореня *Astragal*.

Досліджуваний екстракт кореня *Astragal* містить 5%-15% астрагалозиду I і більше ніж 70%, або, переважно, більше ніж 80% сапонінів кореня *Astragal*. Незалежно від процесу виготовлення екстракту кореня *Astragal*, вираз "екстракт кореня *Astragal*", що використовується в цьому тексті, означає, що склад екстрактів знаходиться у межах наведених проміжків; і, для цієї мети, невідповідні екстракти можуть бути вдосконалені, щоб відповідати вимогам до вмісту компонентів.

Борнеол, для застосування у згаданій вище композиції, може бути сполукою природного походження, або синтезованим.

Олію *Lignum Dalbergiae Odoriferae*, яку використовують в згаданій композиції, можна одержати дистиляцією *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

Композиції відповідно до даного винаходу, можуть знаходитись у вигляді різних дозованих форм, шляхом поєднання з одою або більшою кількістю фармацевтично прийнятних допоміжних речовин. Згадана допоміжна речовина може вклю-

чати наступні сполуки,: крохмаль, декстрин, лактоза, мікрокристалічна целюлоза (avicel), гідроксипропілметилцелюлоза (HPMC), поліетиленгліколь, стеарат магнію, мікрокремнієвий гель, ксиліт, лактитол, глюкоза, гліцин, D-манітол і подібні, але не обмежується ними. Дана фармацевтична композиція, може знаходитись у формі ін'єкцій, таблеток, таблеток з уповільненим вивільненням, драже, гранул, порошку для ін'єкцій, капсул, мікрогранул та подібних. Перевага надається таблеткам, драже, порошку для ін'єкцій, і капсулам. Якщо композиції відповідно до даного винаходу виготовлені у вигляді ін'єкцій або порошку для ін'єкцій, повний вміст салвінолевих кислот, сапонінів кореня *Notoginseng* і сапонінів кореня *Astragal* складає переважно понад 80%.

Складові композиції відповідно до даного винаходу є легко доступними і це сприяє її комерційному виробництву. Дана композиція за бажанням може бути виготовлена у вигляді різних форм, що забезпечує зручніший і ефективніший сучасний китайський традиційний патентований лікарський засіб з високим рівнем контролю якості для клінічного застосування.

Даний винахід порівнює активність композицій відповідно до даного винаходу проти антицеребральну ішемію а саме салвінолеві кислоти плюс сапоніни кореня *Notoginseng* плюс борнеол або олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*, салвінолеві кислоти плюс сапоніни кореня *Notoginseng*, салвінолеві кислоти і сапоніни кореня *Notoginseng*, використовуючи модель локалізованої ішемії головного мозку викликаній місцевим застосуванням гексагідрату хлориду заліза (III) на середню мозкову артерію, шляхом визначення неврологічних симптомів і області/площі мозкового інфаркту. Результати показують що дана композиція має істотну активність при анти-церебральній ішемії. Її терапевтична активність є істотною, ніж активність взятих окремо салвінолевих кислот або сапонінів кореня *Notoginseng*, істотною, ніж активність композицій, що складаються з салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня *Notoginseng*, або з салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня *Notoginseng* плюс борнеол або олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*. Результати демонструють, що фармацевтична композиція відповідно до даного винаходу тобто комбінація екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* плюс екстракт кореня *Notoginseng* плюс екстракт кореня *Astragal* і борнеол або екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* плюс екстракт кореня *Notoginseng* плюс екстракт кореня *Astragal* і олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae* мають істотний синергічний ефект.

Фіг.1: ВЕРХ спектр відбитків пальців екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* (0-60 хвилин),

Фіг.2: ВЕРХ спектр відбитків пальців екстракту кореня *Notoginseng* (0-30 хвилин)

В описі даного винаходу всі відсотки якщо не зазначено інше є ваговими.

Винахід стане краще зрозумілим при посиланні на приклади які слідує нижче. Наступні приклади наведені з ілюстративною метою і не обмежують обсяг винаходу.

Приклад 1

Екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*:

Екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* був приготований методом розкритим [в китайській патентній заявці CN1459448A]. Отже 5кг кореня *Salviae Miltiorrhizae* подрібнювали до одержання грубого порошку а потім екстрагували 3 рази деіонізованою водою при 100°C при м'яких умовах кипіння. Для першої екстракції до порошку додавали 27,5л води і кипятили протягом 1 години, для другої та третьої екстракції, додавали 15л води і кипятили протягом 0,5 години відповідно. Кислотність екстракту доводили до рН2 додаванням 10% HCl а потім відфільтровували. Фільтрат виливали на колонку заповнену поліамідною смолою (кількість сухої смоли дорівнює кількості двох третини неочищеного екстракту). Колонку промивали деіонізованою водою кількістю, що дорівнювала п'яти об'ємам колонки, далі промивали п'ятьма об'ємами розчину 0,1% NaHCO₃. Елюат збирали. Після доведення рН розчину до 2 додаванням 10% HCl, елюат завантажували на колонку заповнену макропористою абсорбційною смолою D₁₀₁. Смоли промивали деіонізованою водою, поки елюат не став нейтральним. Потім колонку промивали 95% етанолом відбираючи забарвлену частину. Зібраний розчин випаровували у вакуумі досуха. Сухий залишок розчиняли у воді і залишали у холодильнику на ніч. Після фільтрування через 0,3мкм змішану целюлозну мікропористу фільтрувальну плівку одержували екстракт, що містить салвіанолеві кислоти рН розчину доводили до 6,0 2% розчином NaOH і негайно ліофілізували з одержанням 221г замороженого сухого порошку екстрактивного матеріалу кореня *Salviae Miltiorrhizae*. Вихід неочищеного матеріалу з кореня *Salviae miltiorrhizae* склав 4,4%.

Одержаний у такий спосіб екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* містив салвіанолеву кислоту типу А, салвіанолеву кислоту типу В, салвіанолеву кислоту типу С, салвіанолеву кислоту типу D, салвіанолеву кислоти типу Е, салвіанолеву кислоту типу G, мілтіонон (miltionone) I, розмаринову кислоту, літоспермову кислоту, 3,4-дипроксифенілмолочну кислоту (danshensu) і так далі. Вміст салвіанолової кислоти типу В складав 53,73%, салвіанолової кислоти типу Е складав 3,7%, розмаринової кислоти складав 5,2%, літоспермової кислоти дорівнював 1,7%, і вміст салвіанолевих кислоти - 83,94%. На ВЕРХ спектрі відбитків пальців екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* одержали 6 загальних піків (середнє значення для 10 партій). Середні величини відносних часів затримки для цих 6 загальних піків були наступними 0,60 (пік салвіанолової кислоти типу Е), 0,68 (пік розмаринової кислоти), 0,73 (пік літоспермової кислоти), 1 (пік салвіанолової кислоти типу В), 1,08, 1,26. Серед всіх загальних піків тільки для піка салвіанолової кислоти типу В, який був піком посилення, співвідношення площі під одним піком до повної площі під піками було більшим ніж 20%. Площа під піком салвіанолової кислоти типу В складала 72% (середнє значення) повної площі під піками і його відносна площа під піком була прийнята за 1; Площа під піком розмаринової кислоти

складала 10% (середнє значення) повної площі під піками і його відносна площа під піком дорівнювала 0,14 (середнє значення). Повна площа не загального піка дорівнює менш ніж 10% повної площі під піками. ВЕРХ спектр відбитків пальців кореня *Salviae Miltiorrhizae* показаний на Фіг.1.

Екстракт кореня *Notoginseng*:

Комерційно доступні сапоніни кореня *Notoginseng* були додатково вдосконалені, щоб одержати екстракт кореня *Notoginseng* бажаної якості. Одержаний екстракт містив гінзенозид Rd, гінзенозид Rb1, гінзенозид Re, гінзенозид Rg1, гінзенозид Rg2, гінзенозид Rg3, гінзенозид Rh1, гінзенозид Rh2, панакситриол (panaxatriol), нотогінзенозид R1, нотогінзенозид R2, нотогінзенозид R3, 20-глюкогінзенозид Rf. Вміст гінзенозиду Re складав 3,9%, гінзенозиду Rg1 - 34,3%, гінзенозиду Rb1 - 31,0%, гінзенозиду Rd - 8,8%, нотогінзенозиду R1 - 6,8%, і сапонінів кореня *Notoginseng* - 94%. На ВЕРХ спектрі відбитків пальців екстракту кореня *Notoginseng* одержали 11 загальних піків. Середні величини відносних часів затримки для цих 11 загальних піків були наступними: 0,82 (пік нотогінзенозиду R1), 0,94 (пік гінзенозиду Re), 1 (пік гінзенозиду Rg1 довідковий пік), 2,63, 2,74, 2,79, 2,85 (пік гінзенозиду Rb1), 2,99, 3,08, 3,18 (пік гінзенозиду Rd), і 3,28. Серед всіх загальних піків, тільки для піка гінзенозиду Rg1 і піка гінзенозиду Rb1, співвідношення площі під одним піком до повної площі під піками було більшим ніж 20%. Площа під піком гінзенозиду Rg1 (піка порівняння) складала 28% (середнє значення) повної площі під піками; і його відносна площа під піком була прийнята за 1. Площа під піком гінзенозиду Rb1 складала 39% (середнє значення) повної площі під піками; і його відносна площа під піком - 1,36 (середнє значення). Площа під піком нотогінзенозиду R1 вважається за 6% (середнє значення) повної площі під піками; і його відносна площа під піком дорівнювала 0,20 (середнє значення). Площа під піком гінзенозиду Rd складала 10% (середнє значення) повної площі під піками; і його відносна площа під піком дорівнювала 0,37 (середнє значення). Повна площа не загального піка дорівнює менш ніж 10% повної площі під піками. ВЕРХ спектр відбитків пальців кореня *Salviae Miltiorrhizae* показаний на Фіг.2.

Екстракт кореня *Astragali*:

Комерційно доступний екстракт кореня *Astragali* був додатково вдосконалий. Одержаний екстракт містив ацетиластрагалозид, астрагалозид I, астрагалозид II, астрагалозид III, астрагалозид IV, ізоастрагалозид I, ізоастрагалозид II, астрамембраннін (astramembrannin) II, циклоастрагенол (cycloastragenol), соєвий сапонін (soyasaponin) I, луеод (lupeod), β-ситостерол (β-sitosterol), даукостерін (daucosterin). Вміст астрагалозиду складав 9,5% а екстракту кореня *Astragali* - 88,9%.

75мг екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae*, 150мг екстракту кореня *Notoginseng* 75мг екстракту кореня *Astragali*, одержані як описано вище, і 30мг борнеолу добре перемішували. Потім суміш ліофілізували і одержували композицію відповідно до даного винаходу.

Приклад 18

67г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1352985A, Приклад 1], 180г екстракту кореня *Notoginseng* (Приклад 1 опису винаходу), 67г екстракту кореня *Astragali* (див. Приклад 1 опису винаходу), і 16г борнеолу добре перемішували з 40г мікрокристалічної целюлози. Для пом'якшення до суміші додавали 3% розчин повідон-етанолу. Суміш пропускали крізь сито №18 для формування гранул і висушували при 60°C протягом 30-45 хвилин. Одержані в такий спосіб гранули, додавали 4г тальку ретельно перемішували. Сформованими гранулами наповнювали капсули.

Приклад 19

50г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* (приготовленого методом водного екстрагування з наступним осадженням спиртом, [див. Guo Ying et al, The Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, 2001, 24(4): 6], 210г екстракту кореня *Notoginseng* [див. Qian Tian Xiang et al. Foreign Medical Sciences, Plant Medicine Section, 1997, 12(4)], 50г екстракту кореня *Astragali* (див. Приклад 1 опису винаходу), і 20г борнеолу розчиняли окремо у невеликій кількості фізіологічного розчину. Додавали відповідну кількість Tween 80. Кожну суміш тонко подрібнювали і знебарвлювали після додавання фізіологічного розчину. Розчин відфільтровували у вакуумі, поки він не ставав чистим і прозорим. Фільтрат збирали у контейнер, що містив фізіологічний розчин. Контейнер запечатували і стерілізували у киплячій воді. Всі три види прозорих розчинів змішували і доводили кислотність до 5. Додавали відповідний об'єм фізіологічного розчину. Процес фільтрування повторювали для одержання чистого і прозорого розчин. Таким чином одержували бажану ін'єкцію.

Приклад 20

60г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 80г екстракту кореня *Notoginseng* [Tang Di Guang, The Journal of Chinese Traditional Patent Medicine, 1990, 12(8): 5], 165г екстракту кореня *Astragali* (див. Приклад 1 опису винаходу), і 25г борнеолу добре перемішували з 40г мікрокристалічної целюлози. Для пом'якшення до суміші додавали 3% розчин повидон-етанолу. Суміш пропускали крізь сито №18 для формування гранул і висушували при 60°C протягом 30-45 хвилин. Одержані в такий спосіб гранули обробляли, додавали 4г тальку ретельно перемішували. Сформовані гранули спресовували у таблетки.

Приклад 21

90г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 150г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 82г екстракту кореня *Astragali* (див. Приклад 1 опису винаходу), і 8г борнеолу добре перемішували з 40г мікрокристалічної целюлози. Для пом'якшення до суміші додавали 3% розчин повидон-етанолу. Суміш пропускали крізь сито №18 для формування гранул і висушували при 60°C протягом 30-45 хвилин. Одержані в такий спосіб гранули обробляли, додавали 4г тальку ретельно перемішували.

Приклад 22

85г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 135г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 80г екстракту кореня *Astragali* [Teng Xing Long et al, Hei Long Jiang Medical Journal, 2002, 15(5) 340] і 30г борнеолу добре перемішували з 700г поліетиленгліколю-6000, і сплавляли. Потім виливали у низькоплавкий рідкий парафін, відбирали пілюлі і видаляли низькоплавкий рідкий парафін.

Приклад 23

17г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 280г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 17г екстракту кореня *Astragali* (Приклад 1 опису винаходу), [Екстракція: Yu Hao et al., West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 1993, 8(3): 163]; Очищення [Teng Xing Long et al, Hei Long Jiang Medical Journal, 2002, 15(5): 340]], і 16г борнеолу добре перемішували з 700г поліетиленгліколю-6000, і сплавляли. Потім виливали у низькоплавкий рідкий парафін, відбирали пілюлі і видаляли низькоплавкий рідкий парафін.

Приклад 24

67г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1352985A, Приклад 1], 180г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 67г екстракту кореня *Astragali* (див. Приклад 1 опису винаходу), і 16г олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae* добре перемішували з 40г мікрокристалічної целюлози. Для пом'якшення до суміші додавали 3% розчин повідон-етанолу. Суміш пропускали крізь сито №18 для формування гранул і висушували при 60°C протягом 30-45 хвилин. Одержані в такий спосіб гранули обробляли, додавали 4г тальку ретельно перемішували. Сформованими гранулами наповнювали капсули.

Приклад 25

60г екстракту [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1] кореня *Salviae Miltorrhizae*, 80г екстракту [Tang Di Guang, The Journal of Chinese Traditional Patent Medicine, 1990, 12(8): 5] кореня *Notoginseng*, 165г екстракту (див. Приклад 1 опису винаходу) кореня *Astragali*, і 25г олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae* добре перемішували з 40г мікрокристалічної целюлози. Для пом'якшення до суміші додавали 3% розчин повідон-етанолу. Суміш пропускали крізь сито №18 для формування гранул і висушували при 60°C протягом 30-45 хвилин. Одержані в такий спосіб гранули обробляли, додавали 4г тальку ретельно перемішували. Після обробляли, 4г тальку було додано і змішано цілком. Сформовані гранули спресовували у таблетки.

Приклад 26

90г екстракту кореня *Salviae Miltorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 150г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 82г екстракту кореня *Astragali* (див. Приклад 1 опису винаходу), і 8г олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae* добре перемішували з 40г мікрокристалічної целюлози. Для пом'якшення до суміші додавали 3% розчин повідон-етанолу.

Суміш пропускали крізь сито №18 для формування гранул і висушували при 60°C протягом 30-45 хвилин. Одержані в такий спосіб гранули обробляли, додавали 4г тальку ретельно перемішували. Одержані таким чином гранули обробляли і упаковували.

Приклад 27

85г екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 135г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 80г екстракту кореня *Astragali* [Teng Xing Long et al, *Hei Long Jiang Medical Journal*, 2002, 15(5): 340] і 30г олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae* добре перемішували з 700г поліетиленгліколю-6000, і сплавляли. Потім виливали у низькоплавкий рідкий парафін, відбирали пілюлі і видаляли низькоплавкий рідкий парафін.

Приклад 28

17г екстракту кореня *Salviae Miltiorrhizae* [див. китайську патентну заявку CN1384090A, Приклад 1], 280г екстракту кореня *Notoginseng* (див. Приклад 1 опису винаходу), 17г екстракту кореня *Astragali* (приклад 1 з винаходу, Екстракція: [Yu Hao et al., *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1993, 8(3): 163]; Очищення [Teng Xing Long et al., *Hei Long Jiang Medical Journal*, 2002, 15(5): 340], і 16г олії *Lignum Dalbergiae Odoriferae* добре перемішували з 700г поліетиленгліколю-6000, і сплавляли. Потім виливали у низькоплавкий рідкий парафін, відбирали пілюлі і видаляли низькоплавкий рідкий парафін.

Експеримент 1 - Активність досліджуваних фармацевтичних композицій проти локалізованої ішемії головного мозку у щурів

1. Матеріали

a. Тварини: Щури чоловічої статі лінії Sprague-Dawley (SD), вагою 180-200 грам, Сертифікат Контролю Якості №SCXK (Пекін) 2002-0003, виданий Beijing Weitong Lihua Experimental Animal Technology Co., Limited.

b. Засоби, що проходили випробування і хімічні реанти:

Засоби, що проходили випробування: композиція, відповідно до Прикладу 1 і Прикладу 2 опису винаходу; екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* відповідно до Прикладу 1; екстракт кореня *Notoginseng* відповідно до Прикладу 1; екстракт кореня *Astragali* відповідно до Прикладу 1; олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae* і борнеол. Препарат XUESAITONG (торгова назва) виробництва [Qunming Pharmaceutical Co., Limited, партія №20020922 03] придбали у вільному продажі.

Хімічний реагент: 2,3,5-трифенілтетразолію хлорид (TTX), порошок світло-жовтого кольору, продукт вироблений [Beijing Mashi Fine Chemical Co., Limited, партія №011102].

c. Експериментальне Обладнання: Стереоскопічний мікроскоп ХТТ, продукт Юннаньської фабрики оптичних інструментів; Електронні аналітичні ваги, модель AEG-220, продукт японської корпорації Shimadzu; Настільний набір стоматологічних інструментів 307-6, продукт Шанхайської фабрики стоматологічних медичних інструментів; Air Bath Vibrator HZQ-C, продукт Харбінської фабрики медичних інструментів Dongming.

2. Методи і Результати

a. Утворення груп і введення досліджуваних засобів: Тварини групувалися випадково, без урахування ваги. Введення всіх випробовуваних препаратів тваринам всіх груп відбувалося через під'язикову вену через 30 хвилин після операції. Досліджувані засоби також вводили шляхом внутрішньочеревинної ін'єкції через 2 години і через 23 години після операції. Всі досліджувані засоби розводили фізіологічним розчином до бажаної концентрації. Об'єм ін'єкції складав 0,4мл на кожні 100г маси тіла.

b. Моделювання емболії середньої мозкової артерії: Для знеболювання щурів внутрішньочеревинно вводили 10% розчин хлоральгідрату (350мг/кг) і зафіксували їх у положенні на правому боці. Посередині між зовнішнім кутом лівого ока і зовнішню частиною лівого слухового каналу зробили кривий надріз довжиною 1,5см. Відрізали скроневий м'яз, відкривали доступ до скроневої кістки, і під стереоскопічним мікроскопом, робили у кістці отвір діаметром 2,5мм у положенні на сполученні виличної кістки і лускатої виличної кістки, який знаходився на відстані 1мм від краю суглоба. Очищували від осколків і відкривали доступ до середньої мозкової артерії (розміщений між нюховим пучком і нижньою мозковою веною); Вміщували маленький шматок пластикової плівки, щоб захистити область, що оточує кровеносну судину. Потім над цим сегментом середньої мозкової артерії вміщували маленький шматок фільтрувального паперу, просоченого 10мкл 50% розчину хлориду заліза (III), через 30 хвилин, фільтрувальний папір прибирали, промивали оточуючі тканини фізіологічним розчином, і пошарово зашивали надріз. Щурів повертали до кліток і відтворювали нормальні умови перебування. Кімнатну температуру підтримували на рівні 24°C.

c. Критерії оцінки неврологічних симптомів

Оцінку поведінки проводили через 24 години після операції. Критерії оцінки були наступними:

(1). Спостерігали згинання передніх кінцівок в суглобах після того, як щурів піднімали за хвіст; Характеристикою 0 балів позначали стан, коли обидві кінцівки розпрямлялися вперед симетрично; 1 бал присуджували, якщо кінцівка була зігнута у плечовому суглобі, ліктьовому суглобі та/або у плечовому суглобі на боці, протилежному до оперованого.

(2). Розміщували щура на плоскій поверхні, натискали одночасно на обидва плеча у напрямку до протилежних сторін і оцінювали опір. Присуджували 0 балів, якщо опір однаковий і сильний з обох боків; 1 бал, якщо на боці, протилежному до оперованого опір був меншим.

(3). Розміщували кінцівки щура на металевій сітці і спостерігали напруженість м'язів. Стану давали оцінку 0 балів, якщо напруження м'язів з обох боків були однаково сильними; 1 бал, якщо напруженість м'язу кінцівки на боці, протилежному до оперованого опір була меншою.

(4). Давали оцінку в 1 бал, якщо щур безперервно обертався у напрямку протилежному до оперованого, коли його піднімали за хвіст. Заснована на наведених вище критеріях оцінки, вищий бал

дорівнював 4. Чим вищою була оцінка, тим більш сильним було порушення поведінки.

d. Визначення ступеня мозкового інфаркту після того, як оцінки поведінки були завершені, щурів відтинали голови. Збирали мозки. Відкидали нюховий пучок, мозочок і нижній мозковий стовбур, решту мозку сагітально розсікали на 5 шарів. Занурювали 5 шарів мозку в розчин барвника ТТХ (кожні 5мл розчину барвника містили 1,5мл 4% ТТХ, 0,1мл 1М K_2HPO_4 , до яких потім додавали дистильовану воду до мітки), інкубували при 37°C

в темноті протягом 30 хвилин, переносили шари мозку у 10% розчин формальдегіду і зберігали 24 години в темноті Після фарбування неішемічна область була забарвлена у рожево-червоний колір, а ішемічна область була білою Білі тканини ретельно вирізали зі шарів мозку і зважили. Масовий відсоток тканин, уражених інфарктом в цілому мозку і в ушкодженій частині мозку були розцінені, як ступінь інфаркту мозку.

е. Результати

Таблиця 1

Активність досліджуваних фармацевтичних композицій і екстрактів проти неврологічних симптомів у щурів (ОСМА) ($\bar{x} \pm s$)

Групи	Дозування (вага тіла мг/кг)	Число тварин	Оцінка неврологічних симптомів через 6 годин	Оцінка неврологічних симптомів через 24 години
Фармацевтична композиція за Прикладом 1 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + борнеол)	5+10+5+2	10	1,22±0,41**##&@	1,07±0,59**##&@
Фармацевтична композиція за Прикладом 2 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + олія <i>Lignum Dalbergiae Odonferae</i>)	5+10+5+2	10	1,32±0,45**##&@	1,13±0,56**##&@
Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня <i>Notoginseng</i> + борнеол	6+12+2	10	1,68±0,43**##&	1,61±0,63**##&
Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня <i>Notoginseng</i>	6,7+13,3	10	2,14±0,60***	2,14±0,59***
Салвінолеві кислоти	20	10	2,95±0,67*	2,57±0,42*
Сапоніни кореня <i>Notoginseng</i>	20	10	2,65±0,32*	2,52±0,51*
XUESAITONG	20	10	2,65±0,37*	2,56±0,54*
Контрольна Група		10	3,22±0,42	3,04±0,53

Примітка *P<0,05, **P<0,01 в порівнянні з контрольною групою;

#P<0,05, ##P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти або групою, якій вводили сапоніни кореня *Notoginseng*;

&P<0,05, &&P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня *Notoginseng*,

@P<0,05 у порівнянні з групою якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня *Notoginseng*+ борнеол.

ОСМА - Оклюзія Середньої Мозкової Артерії

Таблиця 2

Активність досліджуваних фармацевтичних композицій і екстрактів в області мозкового інфаркту у щурів (ОСМА) ($\bar{x} \pm s$)

Групи	Дозування (вага тіла мг/кг)	Число тварин	Уражена інфарктом тканина /Цілий мозок (%)	Уражена інфарктом тканина /Ушкоджена сторона мозку (%)
Фармацевтична композиція за Прикладом 1 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + борнеол)	5+10+5+2	10	1,28±0,74**##&@	2,57±1,41**##&@
Фармацевтична композиція за Прикладом 2 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + олія <i>Lignum Dalbergiae Odonferae</i>)	5+10+5+2	10	1,34±0,69**##&@	2,61±1,50**##&@

Продовження таблиці 2

Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня Notoginseng+ борнеол	6+12+2	10	1,66±0,69*** ^{##}	3,37±1,30*** ^{##}
Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня Notoginseng	6,7+13,3	10	2,32±0,84***	4,61±1,80***
Салвінолеві кислоти	20	10	3,21±0,86*	6,41±1,76*
Сапоніни кореня Notoginseng	20	10	3,02±1,21*	5,99±2,33*
XUESAITONG	20	10	2,99±1,11*	5,98±2,23*
Контрольна Група		10	4,33±0,81	8,69±1,59

Примітка *P<0,05, **P<0,01 в порівнянні з контрольною групою;

[#]P<0,05, ^{##}P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти або групою, якій вводили сапоніни кореня Notoginseng;

[&]P<0,05, ^{&&}P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня Notoginseng,

[@]P<0,05 у порівнянні з групою якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня Notoginseng+ борнеол.

Результати наведені в Таблиці 1 і 2 показують, що всі перевірені засоби мають істотну активність проти анти-церебральної ішемії. Серед всіх засобів, композиція розкрита у Прикладі 1 (екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*, екстракт кореня *Notoginseng*, екстракт кореня *Astragali* і борнеол) і композиція відповідно до Прикладу 2 (екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*, екстракт кореня *Notoginseng*, екстракт кореня *Astragali* і олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*) продемонстрували істотний терапевтичний ефект. Ефект від введення окремо салвінолевих кислот або сапонінів кореня *Notoginseng* подібний до ефекту від введення препарату XUESAITONG (торгова назва, позитивний контрольний лікарський засіб), Терапевтичний ефект від введення комбінації салвінолеві кислоти плюс сапоніни кореня *Notoginseng* плюс борнеол був кращим, ніж від введення салвінолевих кислот плюс сапонінів кореня *Notoginseng* або окремо салвінолевих кислот, або сапонінів кореня *Notoginseng* або препарату XUESAITONG (торгова назва), але гіршим за ефект від фармацевтичної композиції розкритої в Прикладі 1 і фармацевтичної композиції у Прикладі 2.

Використовуючи модель експериментального серцевого інфаркту у щурів і екстракорпоральний перфузійний метод, даний винахід порівнює активність проти ішемії міокарда фармацевтичної композиції відповідно до даного винаходу, салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня *Notoginseng* плюс борнеол або олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*, салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня *Notoginseng*, салвінолевих кислот і сапонінів кореня *Notoginseng*. Результати показують, що фармацевтична композиція відповідно до даного винаходу має істотну активність проти ішемії міокарду. Її терапевтичний ефект кращий, ніж ефект від застосування тільки салвінолевих кислот, сапонінів кореня *Notoginseng*, сильніший, ніж ефект від використання салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня *Notoginseng*, і кращий за ефект салвінолевої кислоти плюс сапоніни кореня *Notoginseng* плюс борнеол або олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*. Результати вказують на те, що фармацевтична композиція відповідно до да-

ного винаходу, тобто, екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* плюс екстракт кореня *Notoginseng* плюс екстракт кореня *Astragali* і борнеол, або екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae* плюс екстракт кореня *Notoginseng* плюс екстракт кореня *Astragali* і олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*, саме чотири з них мають сильний синергічний ефект.

Експеримент 2 Вивчення активності досліджуваних композицій проти ішемії міокарда

1. Утворення груп і введення досліджуваних засобів: 70 щурів лінії Wistar чоловічої статі, вагою 250,8±24,6 грам, випадково, без урахування ваги, розбили на сім груп за кількістю досліджуваних засобів: фізіологічний розчин, у якості контролю, препарат XUESAITONG, салвінолеві кислоти, сапоніни кореня *Notoginseng*, салвінолеві кислоти плюс сапоніни кореня *Notoginseng*, фармацевтичні композиції відповідно до Прикладу 1 і фармацевтичні композиції за Прикладом 2. Всі досліджувані засоби розводили фізіологічним розчином до бажаної концентрації; і, вводили по 4мл/кг маси тіла ін'єкцією хвостової вени.

2. Метод

а. Модель експериментального інфаркту міокарда у щурів: Щурів знеболити внутрішньочеревинним введенням пентабарбіталу натрію (45мг/кг), зафіксували у положенні лежачи на спині, вставили трахею трубку, і уздовж лівої сторони груднини і зробили подовжній надріз довжиною 2см. Після відкриття доступу до грудної порожнини, видалили третє і четверте ребра в хрящовій частині, що біля груднини, і підтримували дихання на апараті штучного дихання (об'єм вентиляції 2мл/100g, 50 разів/хвилину.). Відкривали мембрану перикарду і відкривали доступ до серця, під ліву низхідну коронарну артерію серця вміщували нитку лігатури і записували електрокардіограму з II стандартним відведенням. Стабілізували протягом 10 хвилин, потім накладали лігатуру на ліву, низхідну коронарну артерію серця і закривали грудну порожнину. Шприцем відмокнували з гортані виділення і повертали щурів до самостійного дихання. Через 15 хвилин після лігатури коронарної артерії, через вену вводили досліджувані засоби. Через 4 години після проведення лігатури корона-

рної артерії діставали серце і відділяли частину серця нижчу за нитку лігатури і розрізали на 5 шарів, фарбували шари серця нітроблакитним тетразолієм (NBT). Обчислювали відсоток площі інфаркту міокарда до площі шлуночків і до цілого серця, і аналізували за допомогою статистичного методу (t-тест).

b. Експеримент на перфузійно видаленому серці (за Langendorff): Див: "Experimental Methodology of Pharmacology" (edited by Shuyun Xu etc., People Health Press, third edition, January 2002)

3. Результати

a. Дію на область інфаркту міокарда у щурів, див. у Таблиці 3.

Таблиця 3

Дія досліджуваних фармацевтичних композицій і екстрактів на площу інфаркту міокарда у щурів (ОСМА) ($\bar{x} \pm s$)

Групи	Дозування (вага тіла мг/кг)	Число тварин	Площа інфарк- ту/Площа Тва- рин шлуночка (%)	Площа інфарк- ту/Ціле серце (%)
Фармацевтична композиція за Прикладом 1 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + борнеол)	5+10+5+2	10	12,53±4,57**##&@	10,96±3,35**##&@
Фармацевтична композиція за Прикладом 2 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + олія <i>Lignum Dalbergiae Odonferae</i>)	5+10+5+2	10	12,62±4,49**##&@	11,01±3,42**##&@
Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня <i>Notoginseng</i> + борнеол	6+12+2	10	16,72±6,43**##&	13,15±4,16**##&
Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня <i>Notoginseng</i>	6,7+13,3	10	20,51±6,58**#	14,03±5,18**#
Салвінолеві кислоти	20	10	24,08±8,56*	18,11±4,49*
Сапоніни кореня <i>Notoginseng</i>	20	10	25,97±4,65*	21,03±3,82*
XUESAITONG	20	10	25,02±5,72*	19,64±4,71*
Контрольна Група		10	33,67±7,85	26,48±5,11

Примітка *P<0,05, **P<0,01 в порівнянні з контрольною групою;

#P<0,05, ##P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти або групою, якій вводили сапоніни кореня *Notoginseng*;

&P<0,05, &&P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня *Notoginseng*,

@P<0,05 у порівнянні з групою якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня *Notoginseng*+ борнеол.

b. Дія на об'єм потоку в коронарній артерії і частоту скорочень на перфузійно видаленому серці свині гвінейської, див Таблицю 4.

Таблиця 4

Активність досліджуваних фармацевтичних композицій і екстрактів на об'єм потоку в коронарній артерії і частоту скорочень на перфузійно видаленому серці гвінейської свині ($\bar{x} \pm s$)

Групи	Дозування (вага тіла мг/кг)	Число тварин	Збільшення потoku коро- нарної артерії (мл/хвилини)	Зменшення частоти скоро- чень (уда- рів/хвилину)
Фармацевтична композиція за Прикладом 1 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + борнеол)	5+10+5+2	10	16,67±1,74**##&#	40±14**##&#
Фармацевтична композиція за Прикладом 2 (екстракт кореня <i>Salviae Miltiorrhizae</i> + екстракт кореня <i>Notoginseng</i> + екстракт кореня <i>Astragali</i> + олія <i>Lignum Dalbergiae Odonferae</i>)	5+10+5+2	10	16,76±1,68**##&#	41±15**##&#
Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня <i>Notoginseng</i> + борнеол	6+12+2	10	14,85±6,43**&	32±12**&

Продовження таблиці 4

Салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня Notoginseng	6,7+13,3	10	11,34±2,24*	21±9*
Салвінолеві кислоти	20	10	7,91±1,36	9±4
Сапоніни кореня Notoginseng	20	10	8,88±1,51	10±5
XUESAITONG	20	10	8,82±1,11	10±4

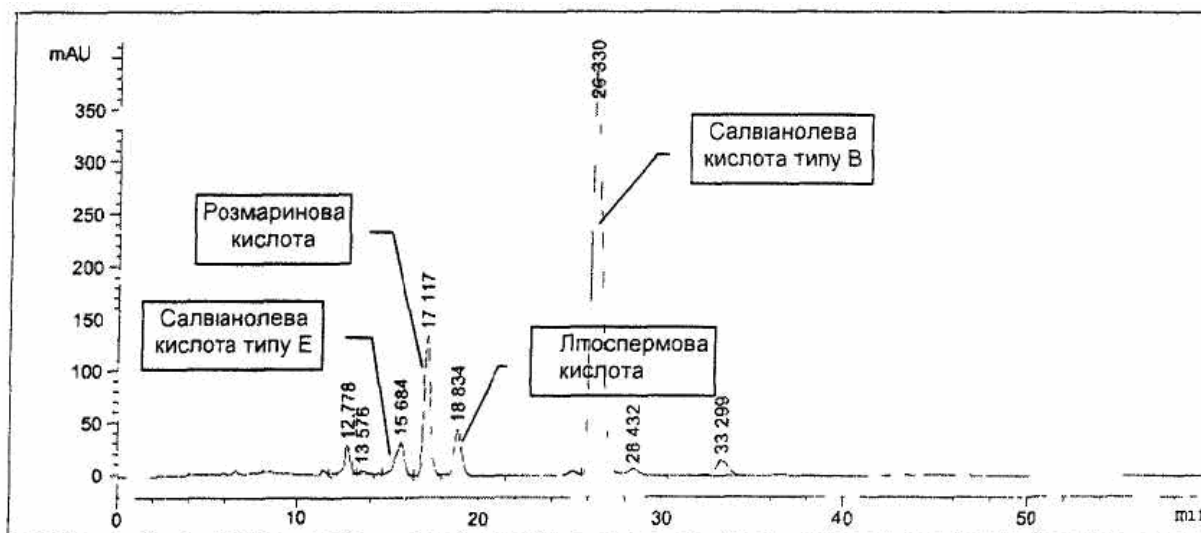
Примітка *P<0,05, **P<0,01 в порівнянні з контрольною групою; групою, якій вводили салвінолеві кислоти або групою, якій вводили сапоніни кореня Notoginseng;

[§]P<0,05, ^{§§}P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти+ сапоніни кореня Notoginseng,

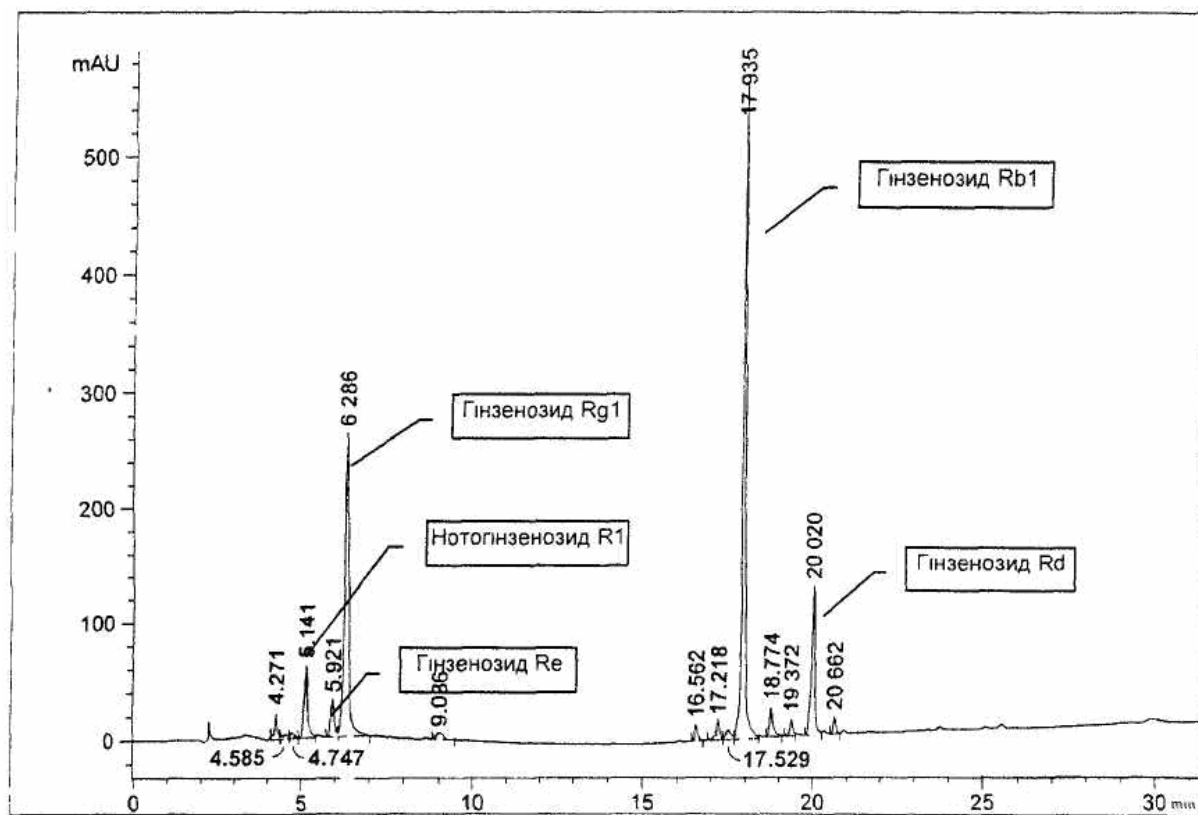
[#]P<0,05, ^{###}P<0,01, в порівнянні з групою, якій вводили салвінолеві кислоти або групою, якій вводили сапоніни кореня Notoginseng+ борнеол.

Результати з таблиці 3 і 4 показують, що всі перевірені засоби мають істотну активність проти ішемії міокарда. Серед всіх засобів, композиція, розкрита у Прикладі 1 (екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*, екстракт кореня Notoginseng, екстракт кореня Astragali і борнеол) і фармацевтична композиція, розкрита у Прикладі 2 (екстракт кореня *Salviae Miltiorrhizae*, екстракт кореня Notoginseng, екстракт кореня Astragali і олія *Lignum Dalbergiae Odoriferae*) показали найкращий терапевтичний ефект. Окреме призначення салвінолевих кислот або сапонінів кореня Notoginseng має ефект, поді-

бний до призначення препарату XUESAITONG (позитивний контрольний засіб); Терапевтичний ефект від призначення комбінації салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня Notoginseng плюс борнеол був кращим, ніж ефект від введення салвінолевих кислот плюс сапоніни кореня Notoginseng або окремо салвінолевих кислот, або сапонінів кореня Notoginseng, або препарату XUESAITONG, але гіршим, ніж ефект від введення фармацевтичної композиції, наведеної у Прикладі 1 або фармацевтична композиції з Прикладу 2.



Фіг. 1



Фіг. 2