



УКРАЇНА

(19) UA (11) 80674 (13) C2
(51) МПК
A61K 36/537 (2006.01)
A61K 36/258 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ТРАВ'ЯНИЙ СКЛАД ДЛЯ ЛІКУВАННЯ СТЕНОКАРДІЇ (ВАРІАНТИ)

1

(21) 2003076876
(22) 18.12.2001
(24) 25.10.2007
(86) PCT/US01/49396, 18.12.2001
(31) 60/258,057
(32) 22.12.2000
(33) US
(72) ЯН КСИЖУН, ВУ НАЙФЕН, ГУО ЖИКСИН, Е
ЖЕНГЛИАН, ЛЬЮ ЯН
(73) ТЬЯНДЖИН ТЕЙСЛІ ФАРМАСЕУТИКАЛ КО.,
ЛТД., ЧАЙНА
(56) US A 5401502 28.03.1995
CN A 1100657 29.03.1995
(57) 1. Склад, придатний для лікування хронічної
стабільної стенокардії, що містить екстракти Radix
Salviae Miltorrhizae, Panax Notoginseng і борнеол.
2. Склад за п. 1, який **відрізняється** тим, що
містить від 5 до 40% водорозчинної
фенолокислоти Radix Salviae Miltorrhizae, від 1 до
10% водорозчинного сапоніну Panax Notoginseng і
від 1 до 5% борнеолу.
3. Склад за п. 1, який **відрізняється** тим, що
містить від 10 до 30% водорозчинної
фенолокислоти Radix Salviae Miltorrhizae, від 2 до
6% водорозчинного сапоніну Panax Notoginseng і
від 1 до 3% борнеолу.
4. Склад, що містить екстракти Radix Salviae
Miltorrhizae, Panax Notoginseng і борнеол,
придатний для лікування хронічної стабільної
стенокардії, що містить активні фракції, які при
визначенні способом рідинної хроматографії
високої роздільної здатності (HPLC) утворюють на
хроматограмі вісім піків, як показано на фігурі 1,
при виконанні наступних операцій:
а) розчинення відповідної кількості зазначеного
складу в розчиннику з використанням як
внутрішнього стандарту пара-амінобензойної
кислоти,
б) використання Danshensu і протокатехового
альдегіду як стандартів,
в) проведення аналізу способом рідинної
хроматографії з високою роздільною здатністю
(HPLC), і
г) розрахунок відповідно до методики внутрішнього
стандарту.
5. Склад, придатний для лікування хронічної

2

стабільної стенокардії, який містить приблизно від
0,14 до 0,18 мг Danshensu на одну пігулку, більше
12,12 мкг саншиносиду R1 на одну пігулку і більше
56,26 мкг гінсеносиду Rg1 на одну пігулку.
6. Склад, придатний для лікування хронічної
стабільної стенокардії, отриманий у результаті
виконання наступних операцій:
а) роздільне екстрагування Radix Salviae
Miltorrhizae і Panax Notoginseng при зрошенні
гарячою водою і роздільне фільтрування,
б) роздільне концентрування фільтратів,
в) роздільне очищення концентратів за допомогою
колонки, що містить смоли, і концентрування з
одержанням очищеного водорозчинного екстракту
Radix Salviae Miltorrhizae і очищеного
водорозчинного екстракту Panax Notoginseng,
г) змішування очищених водорозчинних екстрактів,
отриманих на операції (в), з відповідною кількістю
борнеолу, з одержанням складу, придатного для
лікування хронічної стабільної стенокардії.
7. Склад, придатний для лікування хронічної
стабільної стенокардії, отриманий в результаті
виконання наступних операцій:
(1) екстрагування водорозчинних компонентів
Panax Notoginseng
а) розведення рослинної маси 5-7-кратною
кількістю води,
б) екстрагування водорозчинних компонентів
Panax Notoginseng шляхом кип'ятіння в баці при
тиску повітря 0,04 - 0,06 мПа протягом 2 годин,
в) повторне екстрагування при таких самих умовах
протягом 1,5 годин,
г) фільтрування екстрактів через сітку 100 меш,
д) очищення фільтрату шляхом елюювання
етанолом крупнопористої адсорбційної смоли,
концентрування елююваних екстрактів при
зниженому тиску подаваного повітря 0,04 - 0,06
мПа й у вакуумі під тиском -0,076 ~ -0,088 мПа до
щільності 1,33 - 1,35,
(2) екстрагування водорозчинних компонентів
Radix Salviae Miltorrhizae
а) розведення рослинної маси 5-7-кратною
кількістю води,
б) екстрагування водорозчинних компонентів Radix
Salviae Miltorrhizae шляхом кип'ятіння в баці при
тиску повітря 0,04-0,06 мПа протягом 2 годин,

(19) UA (11) 80674 (13) C2

в) повторне екстрагування при таких самих умовах протягом 1,5 годин,
 г) фільтрування екстракту через сітку 100 меш,
 д) концентрування фільтратів у вакуумі під тиском -0,076 ~ -0,088 мПа доти, поки 1 кг вихідної рослинної маси не буде займати об'єм 1 літр,
 е) осаджування концентратів етанолом,
 ж) фільтрація розчину з концентратами, осадженими етанолом, через сітку 100 меш,
 з) концентрування фільтратів при зниженому тиску подаваного повітря 0,04-0,06 мПа й у вакуумі під тиском -0,076 ~ -0,088 мПа,
 й) очищення концентратів шляхом елюювання етанолом хроматографічної колонки з поліамідом,
 к) концентрування очищених екстрактів до щільності 1,33-1,35,
 (3) виготовлення пігулки
 а) змішування екстрактів *Panax Notoginseng*, екстрактів *Radix Salviae Miltorrhizae*, синтетичного борнеолу і поліетиленгліколю 6000 у співвідношенні 4,0:20,6:1,9:79,5,
 б) плавлення суміші,
 в) виготовлення пігулок із розплавленої маси за допомогою дозуючого пристрою, при наступних умовах: постійна температура дозуючої посудини - 89-93°C, охолоджуючий розчин - вазелінове масло з температурою менше 8°C, внутрішній діаметр дозуючої насадки - 1,8 мм, зовнішній діаметр дозуючої насадки - біля 2,4 мм, відстань між дозуючою насадкою й охолоджувальним розчином - 15 см,
 г) центрифугування пігулок із швидкістю 800-1000 об/хв. протягом 15 хвилин для видалення олії.
 8. Склад за пп. 1-7, виготовлений у формі застиглої краплі, пігулки, гранули, таблетки, суспензії, розчину для ін'єкції, сиропу чи настоянки.
 9. Склад за пп. 1-7, придатний для лікування стабільної стенокардії, ослабленої стенокардії, лікування стенокардії різного виду й ступеня, викликаной ішемічною хворобою серця, який поліпшує ішемічну електрокардіограму, який знижує вживання нітрогліцерину, який заспокоює прискорене серцебиття, який знижує вміст холестерину і тригліцериду, який зменшує агрегацію тромбоцитів у крові, який поліпшує переносимість фізичних навантажень і дозволяє збільшити їхню тривалість, який збільшує інтервал між початком фізичного навантаження й приступом стенокардії, а також інтервал між початком фізичного навантаження і зменшенням сегмента ST, який захищає від окислювання і видаляє вільні радикали, забезпечує лікування ураження головного мозку, викликаного переокислюванням ліпідів, що викликають кисневмісні вільні радикали, який забезпечує лікування хронічного серцевого захворювання, викликаного переокислюванням ліпідів, що викликають кисневмісні вільні радикали, який

забезпечує лікування ішемічної хвороби серця, що викликають кисневмісні вільні радикали, який забезпечує лікування гіпертонічної хвороби, який забезпечує лікування й запобігання серцево-судинним захворюванням, який забезпечує лікування ішемічної хвороби серця, який забезпечує лікування ішемічної хвороби серця в сполученні з іншими препаратами, який забезпечує первинне запобігання ішемічній хворобі серця, який забезпечує первинне запобігання ішемічній хворобі серця в сполученні з іншими препаратами, який забезпечує вторинне запобігання ішемічній хворобі серця, який забезпечує вторинне запобігання ішемічній хворобі серця в сполученні з іншими препаратами, який знижує прийом гліцерину пацієнтами, що страждають стенокардією, і який зменшує вміст сироваткового холестерину.

10. Склад за пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що його приготують із застосуванням дозуючого пристрою, що містить наступні вузли:

- дозувальна посудина, у якій температура рідини складає 60-100 °C,
- засоби, які утримують охолоджувальний розчин вазелінового масла при температурі нижче 8 °C,
- дозуючу насадку, що має внутрішній діаметр 1,8 мм і зовнішній діаметр біля 2,35 мм, розташовану на відстані приблизно 15 см від поверхні охолоджувального розчину, при цьому зазначена дозуюча насадка забезпечує одержання більше 30 гранул у хвилину.

11. Склад за пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що активні фракції зазначеного складу визначають способом, що включає наступні операції:

- фракціонування фармацевтичного складу за допомогою рідинної хроматографії з високою роздільною здатністю (HPLC),
- порівняння часу утримування фракцій фармацевтичного складу з часом утримування сапоніну R1, сапоніну Rg1 і сапоніну Re, і
- визначення наявності у фармацевтичному складі фракцій, час утримування яких еквівалентний часу утримування сапоніну R1, сапоніну Rg1 і сапоніну Re.

12. Склад за пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що активні фракції зазначеного складу визначають способом, що включає наступні операції:

- фракціонування фармацевтичних складів за допомогою тонкошарової хроматографії (TCL),
- порівняння положення й кольору фракцій фармацевтичного складу з положенням і кольором 3,4-дигідроксифенілу молочної кислоти і протокатехового альдегіду, і
- визначення наявності у фармацевтичних складах фракцій, положення й колір яких еквівалентні положенню й кольору 3,4-дигідроксифенілу молочної кислоти і протокатехового альдегіду.

У даній патентній заявці наведені посилання на різні публікації, повний список яких представлений наприкінці опису, перед формулою винаходу. Зміст зазначених публікацій у всій їхній

повноті входить у посиланнях в описі цієї заявки для того, щоб дати найбільш повне уявлення про існуючий стан у даній галузі на дату подачі цієї заявки на винахід.

Хронічна стабільна стенокардія викликається перехідною ішемією міокарда. Аспірин, нітрати, препарати, що блокують бета-адреноцептор і антагоністи кальцію, використовували окремо або в сполученні один з одним, звичайно використовують для лікування стенокардії.

Аспірин у якості антитромботичного агента є симптоматичним засобом для лікування хронічної стабільної стенокардії.

Нітрати використовують для лікування приступу стенокардії, і їх можна успішно застосовувати для профілактики в пацієнтів із прогнозованими симптомами. Однак сильні головні болі в деяких чутливих пацієнтів можуть послужити перешкодою для застосування нітратів.

Препарати, що блокують бета-адреноцептор, хоча й вважаються наріжним каменем для лікування стенокардії, специфічно протипоказані пацієнтам з обструктивними захворюваннями дихальних шляхів і важкої вентрикулярної дисфункції, і відносно протипоказані при діабеті і периферійному судинному захворюванні, брадикардії або серцевій блокаді.

Антагоністи кальцію є безумовно, ефективними засобами при стенокардії, і їхня дія полягає в розслабленні гладких м'язів коронарних артерій і поліпшенні периферійної циркуляції, що підвищує приплив у міокард і зменшує його роботу.

Незважаючи на наявність прогресу в лікарському комбінованому лікуванні стенокардії, коли основна частина пацієнтів починає лікування з нітратів і препарату, що блокує бета-адреноцептор, або антагоніста кальцію, існує потреба в препараті для лікування хронічної стабільної стенокардії, який є дуже ефективним, може прийматися протягом тривалого часу і має дуже низьку токсичність.

У зв'язку з проблемами, пов'язаними з вищевказаними препаратами, докладалися помітні зусилля для того, щоб застосувати лікарські трав'яні засоби як альтернативу стандартному лікуванню хронічної стабільної стенокардії. Традиційна китайська медицина (ТКМ) внесла великий вклад у вивчення цього питання.

[Патенти США №5288485 і №5433957] відносяться до екстракту *hypericum erectum thunb* для лікування, або запобігання захворюванням, викликаним порушенням кровообігу, зокрема, стенокардії.

[Патент США №5776463] відноситься до перорального фармацевтичного складу, що містить пелюстки огуречника аптечного або екстракт пелюстків огуречника аптечного і призначеному для запобігання й лікування стресу, що зв'язаний із серцево-судинними захворюваннями, включаючи стенокардію.

Крім *hypericum erectum thunb* і пелюстків огуречника аптечного для лікування стенокардії використовували багато інших лікарських рослин. Одним із таких рослин є *Valeriana officinalis latifolia*. Yang GY et al (1994) повідомили, що 82 пацієнта, що страждають стенокардією, піддали лікуванню *Valeriana officinalis latifolia*, при цьому перед лікуванням у 50 випадках на ЕКГ мали місце ішемічні зміни ST-T. Загальна ефективність

лікування простої стенокардії (без ішемічних симптомів, що виявляються) склала 87,80%, а для стенокардії з ішемічними симптомами - 88,00%. Крім того, було встановлено, що *Valeriana officinalis latifolia* може також знижувати вміст ліпідів у плазмі. Токсичної дії на печінку, нирки і кровотворну тканину не знайшли. [1]

Wu Y (1990) повідомив, що в групі з 267 пацієнтів, що страждають стенокардією, для 93,3% пацієнтів ефективним виявилось лікування капсулою *xintongkang*.

Для лікування стенокардії використовували ще один рослинний препарат, що називається *Shenshao tongguan pian*. У 1990р. Hu JX et al. повідомили, що *Shenshao tongguan pian* складається головним чином, із сапоніну, отриманого зі стебел і листя женьшеню, *Radix Paconiae Alba* і т.п. Загальна ефективність лікування стенокардії склала 94,71%. Поліпшення ЕКГ склало 63,38%. Крім того, у результаті лабораторних досліджень встановили також, що *Shenshao tongguan pian* може сприяти викидові лівого шлуночка, знижувати в'язкість крові й перешкоджати агрегації тромбоцитів. Проведені тести на гостру й хронічну токсичність показали, що *Shenshao tongguan pian* не має токсичності і не спричиняє побічних ефектів.

Ще один рослинний препарат для лікування стенокардії являє собою гранулу *kuo-guan*. Li Y et al. (1990) повідомили про проведення вимірів вмісту в плазмі цинку, міді і глутатионпероксидази еритроцитів за допомогою атомної абсорбційної спектрометрії і DTNB із кольоровим проявом у 31 пацієнта, що страждає ішемічною хворобою серця зі стенокардією, до і після прийому гранул *Kuo-Guan* протягом одного місяця. Результати вимірів показують, що перед лікуванням у пацієнтів вміст у плазмі цинку і глутатионпероксидази еритроцитів був нижчий, а вміст міді - вищий, ніж у звичайної контрольної групи ($P < 0,01$), після лікування вміст у плазмі цинку і глутатионпероксидази еритроцитів збільшився, а міді - зменшився ($P < 0,01$). Це дозволяє припустити, що терапевтичний механізм гранули *Kuo-Guan* при ішемічній хворобі серця зі стенокардією може бути зв'язаний з регулюванням порушення вмісту мікроелементів в організмі.

Ще одним трав'яним складом для лікування стенокардії є сапонін із *Tribulus terrestris*.

Fufang Danshen Pian - народна назва таблетки *Dan Shen*, що показана для лікування хронічної стабільної стенокардії, викликаній ішемічною хворобою коронарної артерії, офіційно включається у видання Китайської Фармакопеї з 1977 року і протягом декількох десятиліть застосовується в клінічній практиці.

Fufang Danshen Pian містить кілька активних екстрактів рослин, включаючи *Danshen* (*Radix Salviae Miltiorrhizae*) і *Sanchi* (*Radix Notoginseng*). Обидві рослини вперше були описані в роботі *Shen Nong Ben Cao Jing* (Рослинна Фармакопея *Shen-nong*), закінченої в 200р. *Fufang Danshen Pian* містить також синтетичний борнеол, що представляє собою варіант природного борнеола (*Bingpian*). Природний борнеол був уперше описаний у *Tang Ben Cao* (Рослинна Фармакопея династії Тан), складеної близько 659р.

Li Cheng-zhu et al (1979) повідомили в Acta Acad Med Prim Shanghai про проведення експериментального дослідження ефективності пригнічення тромбозу за допомогою Radix Salviae Miltiorrhizae. Вивчали вплив у лабораторних умовах на тромбоз, функції тромбоцитів і коагуляцію, а також фібриноліз у кроликів. Після ін'єкції Radix Salviae Miltiorrhizae, встановили, що 3 фактори відіграють важливу роль у пригніченні тромбозу в лабораторних умовах: (1) пригнічення функції тромбоцитів, (2) пригнічення функції коагуляції і (3) стимулювання фібринолізу. Два перші з цих механізмів функціонують більш інтенсивно. Дані результати відповідають тим, які були отримані при лікуванні тромботичних хвороб, особливо артеріальних тромботичних хвороб.

Chiang WT et al (1982) описали в [Acta Acad Med Prim Shanghai] вплив "Danshensu" і двох інших водорозчинних компонентів salvia miltiorrhiza на ішемічний міокардит у собак і препарат, виділений зі свинячої коронарної артерії. Дія 3 нових водорозчинних компонентів, а саме, Danshensu (DS-182, D(+)-3,4-діоксифеніл молочної кислоти), протокатехового альдегіду (PCAD) і неочищеної дитерпенової кислоти (DS-187), виділених із Salvia miltiorrhiza Bunge, порівняли з дією дипиридамола. Результати, отримані на мишах, показали, що (1) DS-182 забезпечує істотний захист від гіпоксії, у той час як PCAD виявився неефективним; (2) DS-182 могла нівелювати ішемічне підвищення ST-T на електрокардіограмі, індуковане питуитрином, однак не робила впливу на знижену частоту серцевих скорочень. DS-187, PCAD і дипиридамол забезпечили неповний захист; (3) на моделі собаки з гострим ураженням, отриманим шляхом перев'язки передньої спадної вітки лівої коронарної артерії, користь, отримана від внутрішньовенної ін'єкції DS-182, показала перевагу останньої стосовно DS-187 і PCAD у частині лівої вентрикулярної функції, лівого вентрикулярного пікового систолічного кров'яного тиску (LVPSP) і лівого вентрикулярного кінцевого діастолічного кров'яного тиску (LVEDP). PCAD, навпроти, здійснював зворотній вплив на LVPSP і LVEDP.

Внутрішньовенне введення дипиридамола, хоча і не змінювало LVEDP, істотно пригнічувало LVPSP із помітним гіпотензивним ефектом. Усі ці компоненти шавлії і дипиридамола істотно зменшували кінцевий розмір інфаркту міокарда (визначення N-BT), при цьому найбільш ефективним був препарат DS-182, наступними були дипиридамол і DS-187, у той час як PCAD займав останнє місце; (4) у препараті виділеної перфузійної свинячої коронарної артерії DS-182 істотно зменшував опір коронарної судини, у той час як DS-187, PCAD або сульфатат натрію Tanshinone II-A (DS-201), інший компонент Salvia, збільшував його. Стискаючій дії морфію і пропанолола на препарат виділеної коронарної артерії протидіяло попереднє введення DS-182. Усе це припускає, що Danshensu може бути основним активним компонентом Salvia miltiorrhiza при лікуванні ішемічної хвороби серця і що його спільне застосування з пропанололом або морфієм буде корисним.

Li Cheng-zhu et al (1983) описали в [Chin J Integr Med] антикоагуляційний ефект Radix Salviae Miltiorrhizae. Danshensu - водорозчинний мономер, екстрагований з Radix Salviae Miltiorrhizae. Він є також основним інгредієнтом складу, що серійно випускається, для ін'єкцій Radix Salviae Miltiorrhizae. Дане дослідження підтвердило, що Danshensu у лабораторних умовах придушує тромбоз, агрегацію тромбоцитів (індуковану ADP), і внутрішню та зовнішню системи коагуляції, зменшує кількість тромбоцитів й сприяє розкладанню фібрину або фібриногену. Ці ефекти мали в кроликів пікове значення через 30 хвилин після однієї ін'єкції 20мг/кг, продовжувалися протягом 1 години і поступово зникали. Через 4,5 годин після ін'єкції всі параметри відновлювалися до нормальних значень за винятком лабораторного аналізу на тромбоз.

Chen Zhanghua (1987) описав у [Acta Acad Med Prim Shanghai] вплив "Danshensu" на штучні порушення мікроциркуляції і на концентрацію молочної кислоти в плазмі. Природний Danshensu являє собою водорозчинний мономер, екстрагований з Radix Salviae Miltiorrhizae (RSM). Порушення мікроциркуляції у кроликів викликали шляхом внутрішньовенної ін'єкції декстрана з високою молекулярною масою. Природний Danshensu (доза 4-6мг/кг) помітно збільшував кількість капілярних судин у кон'юнктиві очного яблука, а також зменшував концентрацію молочної кислоти у плазмі в кроликів. Мезентеріальне порушення мікроциркуляції викликали в мишей шляхом локального введення через крапельницю норадреналіну (4г). Природний Danshensu розширював артерії і збільшував швидкість потоку крові, усуваючи тим самим гемостаз мікроциркуляції. У наших експериментах попутно вивчили вплив синтетичного Danshensu. Результати показали відсутність істотного розходження між природним і синтетичним Danshensu в усуненні порушень мікроциркуляції.

Sun Xi-ming et al (1991) описали нову фармакологічну дію екстракту Danshen (Salvia miltiorrhiza). У роботі зазначено, що в результаті дослідження клітинних культур було встановлено, що екстракт Danshen (Salvia miltiorrhiza), що містить натрієві солі D(+)-(3,4-дигідроксифеніл) молочної кислоти, має новий фармакологічний ефект, зменшуючи біосинтез холестерину в клітинах і анти-ліпопротеїнове окислювання. У порівнянні з контрольними зразками його швидкість електрофоретичної міграції помітно понизилася, а вміст MDA (малондіальдегіда) й цитотоксичність істотно зменшилися. Ці результати показують, що солі D(+)-(3,4-дигідроксифеніл) молочної кислоти можуть бути ефективними для запобігання й лікування атеросклерозу.

Zheng Ruo-xuan et al (1992) описали в [Chin J Integr Med] консервуючий вплив Radix Salviae Miltiorrhizae на ішемію міокарда, викликану в мишей перев'язкою вільцевих судин. Очевидний консервуючий вплив на гостру ішемію міокарда, викликану перев'язкою в мишей вільцевих судин, можна одержати після внутріочеревинного введення водного екстракту Radix Salviae

Miltiorrhizae (5м лікарської сировини/кг): Підвищення сегмента S-T на ЕКГ унаслідок ішемії міокарда в лікувальній групі було набагато нижче, розмір ішемії лівого шлуночка був менше, а коефіцієнт виживання - вищий, ніж у контрольній групі.

Wu Yao-zhong et al (1995) описали в [Acta Nanjing Univ Trad Chin Mater Med] здатність Radix Silviae Miltiorrhizae підтримувати циркуляцію крові, усуваючи гомеостаз. Фармакологічні дослідження Radix Silviae Miltiorrhizae широко поширені. Однак реологічні дослідження Radix Silviae Miltiorrhizae, що використовують оцінку PGI₂, ET і TXA₂, які утворюються тромбоцитами, є рідкими. У даному дослідженні приведена оцінка дії Radix Silviae Miltiorrhizae на тромбоз, на зміни PT, KPTT, FG, ESR і НСТ і на агрегацію тромбоцитів у кроликів. Зроблено висновок про те, що Radix Silviae Miltiorrhizae зменшує синтез TXA₂ і знижує посилення агрегації тромбоцитів і тромбозу.

Shi Lin et al (1990) описали в [Acta Pharmacol Sin] вплив загального вмісту сапонінів Panax Notoginseng на збільшення PGI₂ у сонній артерії й зменшення TXA₂ у тромбоцитах. Усі сапоніни, що містяться в Panax notoginseng (PNS), вводили кроликам перорально в кількості 100мг/(кг·день) протягом 8 тижнів. При цьому утворення аортних атеросклеротичних бляшок було обмеженим у порівнянні з контрольною групою. Для дослідження впливу PNS на вміст простагліну в сонній артерії й тромбоксана A₂ у тромбоцитах у пацюків використовували радіоімунний аналіз. Пероральне введення PNS у кількості 25, 50, 100мг/(кг·день) протягом 10 днів викликало збільшення вмісту простагліну в сонній артерії і зменшення вмісту тромбоксана A₂ у тромбоцитах у порівнянні з контрольною групою. Ці результати показують, що анти-атеросклеротична дія PNS може бути результатом корекції дисбалансу між простагліном і тромбоксаном A₂.

Li Xing et al (1990) описали в [Acta Pharmacol Sin] захисний вплив сапоніну в Panax Notoginseng на штучне ушкодження міокарда, викликане ішемією і реперфузією у пацюків. Вплив загального сапоніну в Panax Notoginseng (PNS) і очищених гинсеносидів R_{b1} і R_{g1} із PNS на ушкодження міокарда, викликане ішемією хворобою серця і реперфузією, досліджували, використовуючи серця пацюків в організмі й у штучних умовах. У пацюків, підданих анестезії пентобарбіталом, попереднє введення PNS (100 і 200мг/кг) викликало істотне зменшення розміру інфаркту міокарда після перев'язки лівої спадної коронарної артерії (40хв.) і реперфузії (120хв.) у порівнянні з контрольною групою. PNS у кількості 12,5 і 25мг/л, R_{b1} 10мг/л і R_{g1} 10мг/л істотно зменшували виділення серцем CPK (креатинфосфокінази), послабляли накопичення міокардом Ca⁺⁺, зменшували утворення малондальдегіда (MDA) і запобігали зниженню активності супероксид дисмутази (SOD) у порівнянні з контрольною групою, що представляла собою перфузійні ізольовані серця пацюків із глобальної ішемією (40хв.) і реперфузією (15хв.). Результати показали, що PNS, R_{b1} і R_{g1} запобігали ішемічній хворобі серця,

а їхню дію пояснили зв'язком із пригніченням окислювання ліпідів з утворенням перекисних сполучень.

Huang Cong et al (1991) описали в [Chin Bull Pharmacol] вплив сапоніну Panax Notoginseng на ішемію міокарда і реперфузійне порушення в кроликів, що знаходяться у свідомості. Вплив сапоніну Panax Notoginseng (PNS) на ішемію міокарда і реперфузійне порушення в кроликів, що знаходяться у свідомості, досліджували, спостерігаючи зміни електрокардіограми (ЕКГ), активності креатинфосфокінази (CPK) і лактатдегідрогенази (LD), а також розміру ішемічної зони. Дози PNS 50мг/кг і 100мг/кг істотно зменшували розмір ішемічної зони міокарда. Ці результати дозволяють припускати, що PNS здійснює захисний вплив на ішемію міокарда і реперфузійне порушення.

Mo Qi-xian et al (1987) описали в [Prophet Trad Chin Med Res] динаміку ³H-борнеолу. Для визначення механізму, що викликає відновлення ступеню ароматизації борнеолу, провели іспит динаміки ³H-борнеолу при внутрішньовенній ін'єкції і пероральному введенні. Результати показали, що період напіврозпаду складає 2,8 хвилини після однієї внутрішньовенної ін'єкції ³H-борнеолу. Це дозволяє припустити, що після введення препарат швидко розподіляється між відповідними органами й тканинами і викликає негайний ефект. При розподілі в живому організмі препарат концентрується в органах й тканинах з інтенсивною кровотечею, зокрема, у серці, легенях, печінці, нирках, мозку і т.д. Це забезпечило можливість клінічного застосування до певної теоретичної бази. Після перорального введення препарату час напіврозпаду складає 5,3 години. Це дає підстави припускати, що перорально введений борнеол не забезпечує акумулювання, а відрізняється слабкою біологічною придатністю. Додаткові дослідження необхідні для вивчення зв'язку з дозою препарату і дозованою формою.

Chen Tie-feng et al (1990) описали в [Acta Pharmacol Sin] посилення поглинання тетраметилпіразина синтетичним борнеолом. Пацюкам Sprague-Dawley вводили внутрішньопорожнинно тетраметилпіразинфосфат (TMP) 5мг/кг із попереднім введенням борнеолу 5мг/кг або без нього. Концентрацію TMP у плазмі аналізували методом GC, а дані обробляли за допомогою програми NONLIN. C_{макс} складали 931 і 562нг/мл, відповідно, (p<0,01); у той час як AUC складали 68849 і 37174, відповідно, (P<0,05). Припускається, що борнеол підсилює поглинання TMP, але не забезпечує повного видалення.

Xu Wei et al (1995) описали в [Pharmacol Chin Med Clin] вплив ментолу і борнеолу на розподіл сульфадіазину натрію й Evan's blue у мозку пацюків і мишей. Ментол (1,5г/кг, внутрішньопорожнинно) і борнеол (1,5г/кг) продовжували час напіврозпаду Un розподіленого сульфадіазину натрію в пацюків. Вищевказані дози ментолу і борнеолу при пероральному введенні також збільшували концентрацію сульфадіазину натрію в мозку пацюків. Ментол

(внутрішньопорожнинно 0,5г/кг протягом 3 днів) і борнеол (внутрішньопорожнинно 0,5г/кг протягом 3 днів) сприяли концентруванню Evan's blue у мозку мишей, однак, концентрація була істотно нижче, ніж у мишей, що страждають ішемічно-реперфузійним порушенням. Результати дозволяють припускати, що ментол і борнеол можуть підсилювати перехід сульфадіазину натрію бар'єра між мозком і кров'ю без ушкодження зазначеного бар'єра.

У Сполучених Штатах Америки коронарні атеросклеротичні хвороби серця є найрозповсюдженішою причиною Інвалідності по серцево-судинних захворюваннях, а також - смерті.

Атеросклероз є артеріальним порушенням, що характеризується відкладенням жовтуватих бляшок холестерину, ліпідів і клітинних фрагментів у внутрішніх шарах стінок великих і середніх артерій. Процес починається з утворення смужок жиру і поступово приводить до виникнення волокнистих бляшок або атеросклеротичного ураження. Стінки кров'яних судин стають товстими, фіброзними й отверділими. Артеріальний просвіт звужується.

Багато атеросклеротичних бляшок залишаються незмінними або поступово розростаються. Інші можуть руйнуватися, викликаючи кровотечу, активацію тромбоцитів і, як наслідок - внутрісудинний тромбоз. Коронарний тромбоз викликає часткову або повну закупорку судин, порушує кровотечу, що викликає нестабільну стенокардію або інфаркт міокарда. Зруйновані бляшки можуть періодично відновлюватися, часто викликаючи більш важкий стеноз.

Фізичні і розумові навантаження збільшують потребу міокарда в кисні. При нормальних фізіологічних умовах підвищена потреба міокарда в кисні задовольняється за рахунок розширення артерій, у результаті якої потік крові збільшується. При наявності атеросклерозу максимальне розширення артерій може задовольнити тільки основну потребу. Розширені таким чином артерії можуть виявитися нездатними задовольняти підвищену потребу міокарда в кисні. Коли потреба в кисні перевищує забезпечення киснем, виникає ішемія міокарда. В альтернативному випадку сильна закупорка судин може обмежувати потік крові і викликати тим самим ішемію міокарда. Клінічним проявом перехідної ішемії міокарда є стенокардія, що виражається в приступках грудного болю, що часто поширюється в плечі, особливо в ліве плече, і супроводжується або не супроводжується відчуттям задиху й смерті, що насувається.

Стенокардію підрозділяють на два види: стабільний і нестабільний. Стабільну стенокардію в більшості випадків викликає підвищена потреба міокарда в кисні. Тому приступи стабільної стенокардії відбуваються з прогнозованою частотою й тривалістю після провокації, що збільшує потребу міокарда в кисні, зокрема, фізичне навантаження, розумова напруга і т.п. На відміну від цього приступи нестабільної стенокардії виникають без провокації і звичайно,

викликаються зменшенням надходження кисню в міокард. Руйнування бляшок, закупорювання тромбоцитами й коронарний тромбоз зменшують надходження кисню в міокард.

Лікування стенокардії проводять за допомогою різних препаратів, хірургічної операції, шунтування коронарної артерії, балонної ангіопластики, установки стентів і т.п. Терапія стабільної стенокардії полягає головним чином, у мінімізації потреби міокарда в кисні, а також у превентивних мірах. Терапія гострого синдрому нестабільної стенокардії в основному полягає в пригніченні активації тромбоцитів і розчиненні тромбу.

Сучасними терапевтичними агентами для хронічної стабільної стенокардії є нітрогліцерин, інші нітрати, антагоністи кальцію й препарати, що блокують бета-адреноцетор. Однак ці препарати, що вводяться як окремо, так і в сполученні з іншими ліками, тільки зм'якшують або запобігають приступам стенокардії, але не виліковують її.

Під час приступу стенокардії нітрогліцерин вводять сублінгвально, щоб пом'якшити симптоми.

Нітрогліцерин також приймають для запобігання приступів стенокардії, які викликають навантаження й стрес. Для запобігання приступів стенокардії приймають також нітрати. Нітрогліцерин і нітрати здійснюють свою дію, головним чином, шляхом розслаблення гладких м'язів судин і зниження активності міокарда, що призводить до зменшення потреби міокарда в кисні. При цьому побічними ефектами є пульсуючий головний біль, запаморочення, слабкість, ортостатична гіпотензія, тахікардія і т.п.

Препарати, що блокують бета-адреноцетор, зокрема, пропранолол, застосовують для запобігання стенокардії шляхом зниження потреби міокарда в кисні під час фізичного навантаження й стресу. Основними протипоказаннями є бронхоспастичні захворювання, брадикардія і явна серцева недостатність. У пацієнтів, що страждають астмою й іншими формами обструкції дихальних шляхів, бета-блокатори можуть викликати погіршення стану.

Антагоністи кальцію також застосовують для запобігання стенокардії шляхом зниження потреби міокарда в кисні. Для нормального функціонування міокардові потрібен приплив кальцію. Стримуючи приплив кальцію, антагоністи кальцію можуть розслаблювати гладкий м'яз кров'яної судини, знижувати активність міокарда, зменшувати потребу міокарда в кисні і тим самим запобігати стенокардії. Однак антагоністи кальцію викликають негативні побічні ефекти. М'якими побічними ефектами є приплив крові, набряк, запаморочення, нудота. Надмірне пригнічення припливу кальцію може викликати важкі побічні ефекти, зокрема, зупинку серця, брадикардію, артриовентрикулярну закупорку, застійну серцеву недостатність і т.д. У сполученні з бета-адренергічними препаратами побічні ефекти антагоністів кальцію часто підсилюються.

У Китаї *Panax Notoginseng* і *Radix Salviae Miltorrhizae* використовують для лікування серцево-судинних захворювань з 200р. н.е.

(Послинна Фармакопея Shen-nong). *Panax Notoginseng* використовують для лікування стенокардії. *Radix Salviae Miltiorrhizae* застосовують для поліпшення кровообігу й розсмоктування гемостазів. Численні передклінічні та клінічні дослідження показують ефективність і безпеку *Panax Notoginseng* і *Radix Salviae Miltiorrhizae*.

Традиційні китайські ліки являють собою відвар суміші з декількох трав. Модифікованою формою китайських ліків для лікування ішемічної хвороби серця є таблетка *Dan Shen Pill* (DSP). Таблетка *Dan Shen* являє собою крупну маслянисту кульку, діаметр якої часто досягає 1см. Таблетки *Dan Shen* виготовляють з екстракту *Radix Salviae Miltiorrhizae*, порошку *Panax Notoginseng* і синтетичного борнеолу, які включені в Китайську Фармакопею з 1977р. і протягом декількох десятиліть використовуються для лікування серцево-судинних захворювань.

Описувана в даній заявці пігулка *Dan Shen Pill* (DSP), що називається також кардіотонічною пігулкою, відноситься до китайських ліків нового покоління для лікування ішемічної хвороби серця. Ці китайські ліки складаються з різних трав, вид і пропорція яких обумовлені рецептом. Для забезпечення контролю якості DSP виготовляють із стандартним складом. Терапевтичні компоненти DSP являють собою водорозчинні екстракти *Radix Salviae Miltiorrhizae* - 10-30% і іноді приблизно 20% водорозчинних екстрактів *Panax Notoginseng* (2-6%) і борнеол (1-3%). Крім того, для швидкого пом'якшення стенокардії DSP виготовляють у формі мініатюрної пігулки, що негайно розчиняється під язиком і швидко надходить у міокард, відразу пом'якшуючи приступ стенокардії.

Передклінічні і клінічні дослідження довели, що DSP є нетоксичним і ефективним препаратом для запобігання й лікування серцево-судинного захворювання, викликаного ішемією коронарної артерії. Крім того, як у передклінічних, так і в клінічних дослідженнях показана більш висока ефективність DSP у порівнянні з таблетками *Dan Shen* при лікуванні порушень коронарної артерії.

DSP включена в додаткове видання Китайської Фармакопеї з 1998р., дозволена до застосування Міністерством охорони здоров'я Китаю, продається як ліки в Китаї з 1993р. і була використана більш ніж п'ятьма мільйонами чоловік.

Описувана пігулка *Dan Shen* (DSP) відноситься до китайських ліків нового покоління для лікування ішемічної хвороби серця і виготовляється зі стандартним складом. DSP має стандартний уміст екстрактів *Panax Notoginseng*, екстрактів *Radix Salviae Miltiorrhizae* і борнеолу.

Panax Notoginseng включений до складу для ослаблення й запобігання стенокардії. *Radix Salviae Miltiorrhizae* включений до складу для пригнічення активності тромбоцитів, запобігання коронарному тромбозу й поліпшенню кровообігу. Борнеол включений для забезпечення ефективної доставки терапевтичних компонентів у міокард.

DSP виготовляють у формі мініатюрної пігулки з масою близько 25мг, що при сублінгвальному введенні може бути негайно розчинена і, таким

чином, забезпечує швидку терапевтичну дію. Ефективність DSP для пом'якшення й запобігання стенокардії доведена передклінічними і клінічними дослідженнями.

У даному винаході описаний дозуючий пристрій (так званий генератор крапель), за допомогою якого можна виготовляти DSP або інші пігулки малого розміру.

Даний винахід описує також спосіб контролю якості медикаментів шляхом ідентифікації й визначення кількісного вмісту терапевтичних компонентів у медикаментах за допомогою аналітичних методів, зокрема, тонкошаровій хроматографії, рідинній хроматографії з високою розривальністю і т. п.

Нижче наведений докладний опис прикладених фігур.

Фігура 1. Партія №19990806

Фігура 2. Партія №19990815

Фігура 3. Партія №19990823

Положення піків на характеристичній хроматограмі: група I, що складається з піків 1 і 2 (час утримання в інтервалі від 7 до 15хв); група II, що складається з піків 3 і 4 (час утримання в межах від 15 до 20хв); група III, що складається з піків 5, 6, 7 і 8 (час утримання в межах від 20 до 40мін). В цілому, найбільша кількість піків у групі I, при цьому висота піка 1 близька до висоти піка 2. Піки у групі II розташовані поруч, мають майже однакову висоту і їхня кількість дуже невелика. Група III містить 4 піки, і їхня висота поступово збільшується. Ці три групи утворюють представницьку характеристичну хроматограму складу гранульованих пігулок *Danshen*.

У даному винаході описаний склад медикаменту, що представляє собою пігулку *Dan Shen Pill* (DSP) і містить:

(а) [водорозчинні] екстракти *Radix Salviae Miltiorrhizae*, [водорозчинні] екстракти *Panax Notoginseng* і [синтетичний] борнеол,

(б) *Radix Salviae Miltiorrhizae*, *Notoginseng*, борнеол і носії, і

(в) *Radix Salviae Miltiorrhizae*, *Panax Notoginseng*, борнеол і фармацевтичні носії.

В одному з варіантів реалізації вищевказаного медикаменту *Radix Salviae Miltiorrhizae* і *Panax Notoginseng* використовують у такий само спосіб, як це роблять у Китаї для лікування ішемічної хвороби серця з 200р. н.е. *Panax Notoginseng* застосовують для лікування стенокардії, а *Radix Salviae Miltiorrhizae* - для лікування кровообігу. Борнеол використовують, щоб забезпечити швидку доставку терапевтичних компонентів в орган-мішень. У Китаї природний борнеол використовують з 600року н.е. Оскільки природний борнеол майже вийшов з уживання, DSP містить синтетичний борнеол.

Даний винахід забезпечує застосування DSP для:

(а) лікування ішемічної хвороби серця,

(б) лікування ішемічної хвороби серця в поєднанні з іншими препаратами,

(в) первинного запобігання ішемічній хворобі серця,

(г) первинного запобігання ішемічній хворобі серця в поєднанні з іншими препаратами,

(д) вторинного запобігання ішемічній хворобі серця,

(е) вторинного запобігання ішемічній хворобі серця в поєднанні з іншими препаратами, а також для

(ж) зменшення прийому нітратів пацієнтами, що страждають стенокардією, і

(з) зниження концентрації сироваткового холестерину.

В одному з варіантів реалізації, DSP показаннями для коронарного атеросклерозу, зокрема, але без обмеження, є полегшення стенокардії, запобігання стенокардії, що викликана фізичним навантаженням і стресом і поліпшення кровообігу шляхом пригнічення агрегації тромбоцитів і, отже, запобігання утворенню коронарного тромбу. DSP можна застосовувати для зменшення прийому нітрогліцерину, який часто використовують для пом'якшення і запобігання стенокардії. DSP можна також застосовувати для зниження вмісту холестерину в плазмі, щоб запобігти таким чином утворенню нових атеросклеротичних порушень. Атеросклероз часто ініціюється прошарками холестерину, що осаджуються на стінках судин.

Даний винахід описує також спосіб контролю якості медикаментів шляхом стандартизації складу і концентрації терапевтичних речовин у медикаменті за допомогою аналізу й ідентифікації терапевтичних компонентів із використанням аналітичних способів, який включає наступні операції:

(а) фракціонування медикаменту за допомогою аналітичних способів і

(б) ідентифікацію і кількісне визначення терапевтичних речовин, що містяться в медикаменті, шляхом порівняння з аналітичним профілем відповідних очищених речовин, які використовують в якості стандарту.

В одному з варіантів вищевказаного винаходу прикладами способів аналізу є тонкошарова хроматографія, рідинна хроматографія з високою розрішальністю й інші. Очищеним стандартом терапевтичних компонентів є основні ідентифіковані активні компоненти медикаменту. Так, наприклад, очищеними стандартами активних компонентів для DSP є без обмеження сапоніни, фенолокіслота, зокрема, Danshensu, борнеол і т. п. Активні компоненти в DSP ідентифікують шляхом порівняння положення фракцій DSP, зокрема, за часом утримання в рідинній хроматографії з високою розрішальністю, або положення і кольорів фракцій DSP у тонкошаровій хроматографії і т.д., з характеристикою очищених стандартів. Кількісне визначення активних компонентів DSP виконують шляхом порівняння розміру активних фракцій DSP з відповідним розміром у стандартах з відомим умістом. Так, наприклад, вміст сапоніну, що міститься в DSP, визначають шляхом порівняння зі стандартною кривою зразка з відомим умістом очищеного сапоніну.

У другому варіанті реалізації DSP містить 5-40% водорозчинної фенолокіслоти Radix Salviae Miltorrhizae, 1-10% водорозчинного сапоніну Panax Notoginseng і 1-5% борнеола.

У наступному варіанті реалізації DSP містить 10-30% водорозчинної фенолокіслоти Radix Salviae Miltorrhizae, 2-6% водорозчинного сапоніну Panax Notoginseng і 1-3% борнеолу.

У даному винаході описаний дозуючий пристрій для виробництва мініатюрного медикаменту, який може легко розчинятися і тому швидко надходити до відповідних органів, при цьому зазначена машина містить наступні вузли:

(а) один або кілька дозуючих судин із температурою 60-100° С, краще 89-93° С,

(б) охолоджуючий розчин рідкого парафіну з температурою нижче 8° С,

(в) дозуюча насадка з внутрішнім діаметром 1.8 мм і зовнішнім діаметром 2,35мм, причому

(г) дозуюча насадка віддалена від поверхні охолоджуючого розчину приблизно на 15см.

В одному з варіантів реалізації, зазначеної машини виготовляють мініатюрні пігулки, що можуть розчинятися відразу після прийому. В іншому варіанті реалізації розмір пігулок складає:

(а) діаметр 0,33- 0,34см,

(б) маса 21,25-28,75мг і

(в) щільність 1,13-1,40мг/мм³.

Виготовлення пігулки Dan Shen (DSP)

DSP - мініатюрна пігулка масою близько 25мг, терапевтичні компоненти якої містять водорозчинні екстракти Notoginseng, водорозчинні екстракти Salviae і синтетичний борнеол.

Для виготовлення DSP Notoginseng і Salviae окремо екстрагують гарячою водою в циркуляційних системах, а потім фільтрують. Фільтрати конденсують при зниженому тиску, фільтрують і осаджують. Концентрати очищають за допомогою колонок з іонообмінної смолою і концентрують при зниженому тиску. Отримані таким чином очищені водорозчинні екстракти змішують із синтетичним борнеолом і фармацевтичними носіями. Суміш формують у мініатюрні пігулки за допомогою спеціального дозуючого пристрою. Якість DSP контролюють шляхом стандартизації кількості, а також співвідношення основних терапевтичних компонентів - сапоніну, фенолокіслоти, зокрема, Danshensu, і борнеолу. Для ідентифікації й кількісного визначення терапевтичних компонентів DSP використовують тонкошарову хроматографію, рідинну хроматографію з високою розрішальністю, хроматографічний двовимірний аналіз і інші способи аналізу.

Виготовлення DSP

1. Екстракція водорозчинних компонентів Panax Notoginseng

(а) Заливання рослини 5-7-кратною кількістю води.

(б) Екстракція водорозчинних компонентів Panax Notoginseng кип'ятінням у баці при тиску повітря 0,04-0,06мПа протягом 2 годин.

(в) Повторна екстракція при таких самих умовах протягом 1,5 годин.

(г) Фільтрація екстракту через сітку 100меш.

(д) Очищення фільтрату шляхом елюювання етанолом із крупнопористої адсорбційної смоли.

(е) Концентрування елююваних екстрактів при зниженому тиску повітря, що подається до 0,04-

0,06мПа і у вакуумі 0,076~0,088мПа до щільності 1,33-1,35.

2. Екстракція водорозчинних компонентів *Radix Salviae Miltorrhizae*

(а) Заливання рослини 5-7-кратною кількістю води.

(б) Екстракція водорозчинних компонентів *Panax Notoginseng* кип'ятінням у баці при тиску повітря 0,04-0,06мПа протягом 2 годин.

(в) Повторна екстракція при таких же умовах протягом 1,5 годин.

(г) Фільтрація екстракту через сітку 100меш.

(д) Концентрування фільтратів у вакуумі при тиску 0,076~0,088мПа доти, поки 1кг вихідної рослини не буде займати обсяг 1л.

(е) Осадження концентратів етанолом.

(ж) Фільтрація осаду, розчиненого в етанолі, через сітку 100меш.

(з) Концентрування фільтратів при зниженому тиску подаваного повітря до 0,04-0,06мПа і вакуумі 0,076~0,088мПа.

(и) Очищення концентратів способом хроматографії на поліаміді з елююванням етанолом.

(к) Концентрування очищених екстрактів до щільності 1,33-1,35.

3. Виготовлення DSP

(а) Змішування екстрактів *Panax Notoginseng*, екстрактів *Radix Salviae Miltorrhizae*, синтетичного борнеолу і поліетиленгліколя 6000 у відношенні 4.0:20.6:1.9:79.5.

(б) Плавлення отриманої суміші.

(в) Виготовлення DSP з розплавленої суміші за допомогою дозуючого пристрою при наступних умовах: постійна температура дозирочної судини 89-93°C, охолоджуючий розчин - рідкий парафін з температурою нижче 8°C, внутрішній діаметр дозуючої насадки - 1,8мм, зовнішній діаметр дозуючої насадки - 2,4мм, відстань між дозуючою насадкою і поверхнею охолоджуючого розчину - 15см.

(г) Центрифугування пігулок при швидкості 800-1100об/хв протягом 15 хвилин з метою видалення олії.

Контроль якості DSP.

DSP містить певні терапевтичні компоненти - протокатеховий альдегід і сапонін, а також різні інші компоненти. Вміст цих компонентів відрізняється в різних партіях рослин. Для стандартизації вмісту терапевтичних компонентів у DSP і, отже, для забезпечення можливості контролю якості DSP, розроблений спосіб ідентифікації і кількісного аналізу терапевтичних агентів у медикаментах. Приклад методики аналізу включає:

(а) Розчинення 30 DSP у 3мл метанолу й обробка ультразвуком протягом 10 хвилин.

(б) Центрифугування протягом 5 хвилин.

(в) Фракціонування надосадового шару рідини за допомогою стандартних аналітичних способів, включаючи тонкошарову хроматографію, рідинну хроматографію з високою розрешальністю і т. д.

(г) Ідентифікацію терапевтичних компонентів DSP, зокрема, Danshensu натрію, протокатехового альдегіду, сапоніну і т. д., шляхом порівняння

фракцій DSP із відповідними очищеними стандартами в частині позиції, розміру й кольору.

(д) Ідентифікацію і кількісний аналіз терапевтичних компонентів у DSP шляхом порівняння позиції, розміру й кольору фракцій DSP із позицією, розміром і кольором відповідних очищених стандартів.

(е) Ідентифікацію терапевтичних компонентів у DSP шляхом порівняння відносного часу утримання і відносної площі піків на характеристичній хроматограмі з відносним часом утримання і відносною площею піків на хроматограмі стандарту.

Ідентифікація компонентів DSP за допомогою тонкошарової хроматографії

Спосіб ідентифікації Danshensu натрію і протокатехового альдегіду в трав'яному складі, придатному для лікування хронічної стабільної стенокардії, за допомогою тонкошарової хроматографії, включає наступні операції:

а) підготовка до проведення аналізу, що включає наступні операції:

1. заливання 30 пігулок зазначеного складу 3мл метанолу й розчинення ультразвуком протягом 10хв. для одержання розчину,

2. центрифугування розчину протягом 5хв. і відбір надосадової рідини,

3. нанесення 10мкл розчину на гелеву пластину із силікону G, що містить 0,5% СМС-Na,

4. прояв пластини проявляючим розчином, що містить хлороформ, ацетон і метанову кислоту у відношенні 10:4:1.6;

5. сушіння, фумігація аміаком і витримка пластини протягом 15 хвилин,

6. контроль пластини в ультрафіолетовому світлі, при цьому пляма, яка представляє зазначений склад, повинна знаходитися у відповідній позиції стандартів і мати такий самий колір.

б). Використання Danshensu натрію і протокатехового альдегіду в якості стандартів.

Спосіб визначення гіпеносида в трав'яному складі, придатному для лікування хронічної стабільної стенокардії, за допомогою тонкошарової хроматографії включає наступні операції:

а) підготовка до проведення аналізу, що включає наступні операції:

1. заливання 30 пігулок зазначеного складу 5мл аміачного розчинника і розчинення ультразвуком для одержання розчину,

2. введення зазначеного розчину в колонку з крупнопористою адсорбційною смолою зі швидкістю 0,5/хвилину,

3. промивання колонки з крупнопористою адсорбційною смолою 20мл дистильованої води з наступним елююванням 2мл розчину метанолу,

4. відбір елюанту,

5. нанесення 10мкл розчину на гелеву пластину із силікону G, що містить 0,5% СМС-Na,

6. прояв пластини 10мл проявляючого розчину, що являє собою очищений нижній шар розчину хлороформу, ацетону і води у відношенні 6:3:1 через 2 години при 10°C,

7. сушіння і розпилення з 10% етанолсульфатом з наступним прожарюванням пластини при 105°C протягом декількох хвилин,

8. контроль пластини при нормальному висвітленні, при цьому пляма, що представляє зазначений склад, повинна знаходитися у відповідній позиції стандартів і мати такий самий колір.

б). використання загального гіпеносиду, сапоніну R1 і гінсеносиду Rg1 як стандартів.

Двовимірний хроматографічний аналіз кардіотонічної пігулки.

1. Одержання характеристичних хроматограм

(1) Хроматографічна система і придатність системи

Алкилсилан-зв'язуючий сіліко-18 використовували як нерухоме середовище, а суміш А і В - як рухливе середовище. А - метанол, а В - суміш води, N,N-диметилформаміда і крижаної оцтової кислоти (100: 45:4). Концентрація А змінюється з 5% до 30% при зміні часу градієнта елювання від 0 до 25 хвилин. Контрольну довжину хвилі установили рівною 281нм. При розрахунку піка Danshensu кількість теоретичних пластин колонки складала не менше 2000.

(2) Устаткування і реактиви

Хроматограф: рідинний хроматограф HP 1100

Детектор: ультрафіолетовий детектор типу HP VWD

Колонка: Alltech Company 5u, 250×4,6мм, колонка ODS

Передколонка: Alltech Company, передколонка Alltima C₁₈ 5u

Температура колонки: 30°C

(3) Одержання контрольного зразка

Сальвіанову кислоту В, Danshensu і протокатеховий альдегід окремо розчинили в метанолі, щоб одержати три контрольних розчини з концентрацією 50мкг, 40мкг і 10мкг у 1мл, відповідно.

(4) Одержання випробуваного зразка

10 кардіотонічних пігулок помістили в мірну колбу обсягом 25мл, додали 20мл метанолу, обробили ультразвуком протягом 20 хвилин, витримали до охолодження, розбавили розчин до мітки метанолом, відцентрифугували і відібрали надосадову рідину як випробуваний розчин.

(5) Процедура аналізу.

Увели в колонку точно по 10мкл кожного контрольного розчину і випробуваний розчин, відповідно, вклали хроматографічну таблицю і розраховували вміст.

2. Характеристичні хроматограми різних партій кардіотонічних пігулок Двадцять партій зразків кардіотонічних пігулок проаналізували вищеописаним способом. Статистичні дані представлені в таблиці 1, таблиці 2 і таблиці 3. Ці дані показують, що кардіотонічна пігулка має власну специфічну хроматограму, а характеристичні хроматограми містять вісім загальних піків, тобто ці піки повинні існувати одночасно в кожній партії DSP. Приймавши пік протокатехового альдегіду як стандартний пік, відносний час утримання якого дорівнює 1, відносний час утримання восьми піків одержали рівними 0.672, 1.000, 1.417, 1.512, 2.016, 2.235,

2.407, 2.757. Значення відносного часу утримання і відносної площі восьми піків були дуже стабільними, і серед восьми загальних піків пік №1 - Danshen.su, пік №2 - альдегід, пік №7 - сальвіанова кислота В, а відношення значень відносної площі складало 0.476 - 0.668:1: 0.391 - 0.641, відповідно.

Характеристичні хроматограми трьох партій кардіотонічних пігулок представлені також на фігурах 1-3.

Таблиця 1. Час утримання для піків і відносний час утримання для 20 партій DSP

Пік	Пік №1	Пік №2	Пік №3	Пік №4	Пік №5	Пік №6	Пік №7	Пік №8
№ партії	Час утримання	Відносний час утримання	Час утримання	Відносний час утримання	Час утримання	Відносний час утримання	Час утримання	Відносний час утримання
19990806	0.347	0.676	12.341	1.000	17.062	1.431	18.802	1.524
19990815	0.313	0.676	12.305	1.000	17.631	1.433	18.793	1.525
19990823	0.285	0.672	12.338	1.000	17.468	1.418	18.673	1.513
19990921	0.302	0.672	12.350	1.000	17.553	1.421	18.739	1.517
19990928	0.299	0.672	12.352	1.000	17.549	1.421	18.727	1.516
19991014	0.290	0.672	12.344	1.000	17.498	1.417	18.677	1.513
19991026	0.295	0.672	12.337	1.000	17.513	1.420	18.673	1.514
19991109	0.296	0.672	12.329	1.000	17.477	1.418	18.642	1.512
19991127	0.291	0.672	12.341	1.000	17.502	1.418	18.660	1.512
19991205	0.291	0.672	12.340	1.000	17.500	1.418	18.659	1.512
20000106	0.287	0.672	12.336	1.000	17.503	1.419	18.664	1.513
20000216	0.234	0.671	12.352	1.000	17.538	1.420	18.687	1.513
20000323	0.256	0.670	12.329	1.000	17.402	1.411	18.606	1.509
20000406	0.272	0.670	12.349	1.000	17.428	1.411	18.628	1.508
20000422	0.274	0.670	12.348	1.000	17.425	1.411	18.629	1.507
20000519	0.276	0.670	12.350	1.000	17.439	1.412	18.611	1.507
20000606	0.273	0.670	12.347	1.000	17.421	1.411	18.597	1.506
20000728	0.283	0.670	12.356	1.000	17.413	1.409	18.588	1.505
20000729	0.287	0.670	12.368	1.000	17.487	1.414	18.653	1.508
20000804	0.274	0.670	12.351	1.000	17.434	1.412	18.587	1.506
Середнє								
SD%	0.289	0.672	12.343	1.000	17.493	1.417	18.664	1.512
RS%	0.225	0.256	0.104	0.000	0.398	0.447	0.313	0.362

Таблиця 2. Значення площі піків і відносної площі для 20 партій DSP

Пік	Пік №1	Пік №2	Пік №3	Пік №4	Пік №5	Пік №6	Пік №7	Пік №8
№ партії	Площа	Відносна площа	Площа	Відносна площа	Площа	Відносна площа	Площа	Відносна площа
19990806	1044.003	0.668	1593.830	1.000	298.780	0.175	240.040	0.154
19990815	834.300	0.576	1448.900	1.000	359.890	0.248	347.080	0.240
19990921	1035.100	0.576	1800.300	1.000	409.900	0.227	334.900	0.186
19990928	980.810	0.568	1726.900	1.000	379.000	0.220	317.920	0.184
19991014	1086.000	0.548	1940.800	1.000	397.200	0.204	329.400	0.169
19991026	1084.095	0.581	1810.700	1.000	393.200	0.211	327.610	0.178
19991028	978.100	0.598	1759.800	1.000	364.500	0.196	325.500	0.181
19991109	974.300	0.603	1617.100	1.000	334.300	0.207	315.080	0.192
19991127	1093.600	0.560	1905.300	1.000	413.900	0.222	327.040	0.176
19991205	1096.600	0.564	1931.200	1.000	391.970	0.203	334.240	0.173
20000106	1130.800	0.571	1979.800	1.000	409.480	0.206	347.880	0.176
20000216	1114.900	0.548	2034.800	1.000	419.880	0.206	428.030	0.209
20000323	1080.000	0.568	1961.900	1.000	333.240	0.173	294.760	0.164
20000406	1152.000	0.583	1943.200	1.000	431.080	0.222	374.840	0.193
20000422	1124.400	0.598	2212.300	1.000	378.180	0.171	356.890	0.181
20000519	1088.200	0.584	1928.200	1.000	360.260	0.202	331.510	0.172
20000606	1033.200	0.575	1796.300	1.000	406.200	0.227	333.210	0.185
20000728	945.200	0.569	1730.200	1.000	382.510	0.221	322.210	0.188
20000729	1220.200	0.521	2148.500	1.000	410.620	0.191	385.540	0.179
20000804	831.300	0.577	1443.900	1.000	321.290	0.223	303.280	0.223
Середнє								
SD%	1084.275	0.572	1817.095	1.000	376.540	0.209	328.014	0.181
RS%	0.486	0.512	0.1402	0.030	0.6194	0.354	0.2353	0.1103

Таблиця 3. Статистичні дані по восьми пікам, отриманим із характеристичних хроматограм для 20 партій DSP

№ піка	Час утримання	Відносний час утримання	Вірогідність появи	Площа	Відносна площа	Межі відносності
1	08.289	0.672	100%	1034.276	0.572	0.572±0.096
2	12.343	1.000	100%	1817.065	1.000	1.000±0.000
3	17.493	1.417	100%	376.547	0.208	0.208±0.040
4	18.664	1.512	100%	328.011	0.181	0.181±0.059
5	24.883	2.016	100%	486.626	0.267	0.267±0.097
6	27.586	2.235	100%	525.432	0.289	0.289±0.052
7	29.714	2.407	100%	940.963	0.519	0.519±0.125
8	34.030	2.757	100%	1547.495	0.850	0.850±0.163

Кількісний аналіз Danshensu у DSP

Хроматографія й адаптивні умови системи, устаткування та реактиви:

1. Одержання характеристичних хроматограм.

(1) Параметри хроматограми і налаштування системи.

Алкилсилан-зв'язуючий сіліко-18 використовували в якості наповнювача, а суміш води, ацетонитрила і крижаної оцтової кислоти (87:12:1) - як рухливу фазу. Контрольну довжину хвилі установили рівною 281нм. При розрахунку піка Danshensu кількість теоретичних пластин колонки повинна бути не менш 2500, а ступінь відділення повинен задовольняти відповідним вимогам.

(2) Устаткування і реактиви.

Хроматограф: рідинний хроматограф HP 1100.
 Детектор: ультрафіолетовий детектор типу HP VWD.

Колонка: Alltech Company 5u, 250×4,6мм, колонка ODS.

Передколонка: Alltech Company, предколонка Alltima C18 5u.

Температура колонки: 30°C.

Ацетонітрил: хроматографічнол чистий, Tianjin Siyou Biomedical & Technical Co. Ltd.

Tianhe Крижана оцтова кислота: аналітично чиста, Tianjin Reagent Company.

(3) Одержання контрольного зразка

У якості контрольних зразків використовували 25,0мг сальвіанової кислоти і 5мг протокатехового альдегіду: обидва зразки точно зважили і помістили в мірні колби обсягом 50мм. Додали рухливу фазу для їхнього розчинення і розбавили розчини до мітки на колбі, потім ретельно перемішали струшуванням і зберегли як основні розчини. Точно зважили невелику кількість пара-амінобензойної кислоти, розчинили, одержавши розчин 0,2мг/мол з рухливою фазою і використовували його в якості внутрішнього стандартного основного розчину. Відібрали піпеткою відповідні кількості натрієвої солі сальвіанової кислоти А, протокатехового альдегіду і внутрішніх стандартних розчинів у точно вимірних обсягах, розбавили їх рухливою фазою, щоб одержати розчин, що містить 50мг натрієвої солі сальвіанової кислоти А, 10мг протокатехового альдегіду і 80мг пара-амінобензойної кислоти. Отриманий розчин використовували як контрольний розчин.

(4) Одержання випробуваного зразка

10 кардіотонічних пігулок і 1мл внутрішнього стандартного основного розчину помістили в мірну колбу обсягом 25мл, розчинили в рухливій фазі і розбавили розчин до мітки.

Відібрали по 10мл розчинів контрольного і випробуваного зразка, відповідно, зробили ін'єкцію і записали хроматографічну криву.

Одержання контрольного розчину: відібрали, точно зважили 0,25мг таншинола натрію і помістили його в мірну колбу. Додали рухливу фазу, розчинили і розбавили розчин до мітки. Перемішали розчин струшуванням і використали його в якості контрольного основного розчину. Зважили точну кількість пара-амінобензойної кислоти і розбавили її, одержавши розчин з концентрацією 0,2мл/мг із мобільною фазою. Даний розчин використовували в якості внутрішнього стандартного основного розчину. Відібрали відповідні дози контрольного основного розчину і внутрішнього стандартного основного розчину й одержали з них контрольний розчин, що містить 50мг таншинола натрію і 80мг пара-амінобензойної кислоти на мілілітр.

Одержання випробуваного розчину: відібрали 10 зазначених пігулок і 1 мл внутрішнього основного розчину. Помістили їх у мірну колбу обсягом 25мл, розбавили розчин до мітки і ввели у випробуваний розчин.

Відібрали по 10мл контрольного і випробуваного розчинів, відповідно, зняли

характеристичні хроматограми і розрахували результати.

Трав'яний склад, що містить DSP, повинний включати 0,14-0,18мг Danshensu в одній пігулці.

Кількісний аналіз гинсеносида Rg1 і санчиносида R1 у DSP.

(1) Хроматографічна система і придатність системи.

Алкилсилан-зв'язуючий силіко-18 використовували як нерухоме середовище, а суміш води й ацетонітрила - як рухливу фазу. Концентрація ацетонітрила складала 25% від 0 до 15 хвилин і 35% після 15-ої хвилини. Швидкість потоку газу-розпилювача установили рівною 2,5 літри у хвилину, а температуру простору дрейфу - 93,8°C. При розрахунку піка гинсеносиду Rg1 кількість теоретичних пластин колонки складала не менш 5000.

(2) Устаткування та реактиви.

Хроматограф: рідинний хроматограф Agilent 1100.

Детектор: детектор Alltech ELSD 2000 (випарний світлорозсіювачий детектор).

Колонка: Alltech Company 5u, 250×4,6мм, колонка ODS-C₁₈.

Предколонка: Alltech Company, пред колонка Alltima C₁₈ 5u. Температура колонки: 30°C.

(3) Одержання контрольного зразка.

Гинсеносид Rg1 і санчиносид R1 розчинили окремо в метанолі, щоб одержати два контрольних розчини, що містять 0,98мг/мл і 0,25мг/мл, відповідно.

(4) Одержання випробуваного зразка.

50 кардіотонічних пігулок помістили в мірну колбу обсягом 50мл, додали до мітки 4% розчину аміаку, обробили ультразвуком протягом 20 хвилин і ввели розчин у попередньо підготовлену мініатюрну колонку C₁₈ (колонка STRATA C18-E, виробництва Phenomenex Company, 500мг і трубка 3см³), елюювали 10 мілілітрами води, видалили елюат, потім елюювали 2 мілілітрами метанолу, відібрали елюат у мірну колбу, розбавили його до мітки метанолом і використали отриманий розчин у якості випробуваного.

(5) Процедура.

Ввели точно по 10мкл кожного контрольного розчину і випробуваного розчину, відповідно, зняли хроматографічну криву і розрахували вміст.

(6) Результат.

Зразки від двадцяти партій кардіотонічних пігулок проаналізували вищеописаним способом. Статистичні дані представлені в таблиці 4. Показаний у цій таблиці трав'яний склад, що містить DSP, уключав 0,401%-0,712%, у середньому 0,550% санчиносида R1 і 2,069%-4,044%, у середньому 2,847% гинсеносида Rg1.

Таблиця 4

Кількісний вміст
 гинсеносида Rg1 і санчиносида R1 у DSP

№ партії	Санчиносид (мкг/пігулка)	R1.Гинсеносид (мкг/пігулка)	Rg1
20000106	17,22	80,93	
20000216	16,92	80,78	

20000323	15,16	70,76	
20000406	13,65	62,51	
20000422	14,24	68,72	
20000513	15,27	71,16	
20000606	14,86	68,21	
20000726	14,59	72,35	
20000728	14,25	57,37	
20000804	15,30	70,55	
Середнє значення	15,15	70,33	
RSD%	7,53	9,67	
Не менше	12,12	56,26	

Отримана таким чином DSP має наступні характеристики:

(а) DSP містить 6-3,4-дигідроксифенілмолочну кислоту, danshensu натрію, сапонін і борнеол,

(б) негативна до бактерій: містить менше 1,000 бактерій,

(в) негативна до грибків: містить менше 100 грибків,

(г) негативна до важких металів: має менший вміст, ніж припустимо нормативами китайського уряду.

(д) Термін збереження DSP при кімнатній температурі складає чотири роки.

Клінічні дослідження DSP

Стан стенокардії визначається за допомогою історії хвороби, вмісту сироваткових ліпідів, електрокардіографії (ЕКГ), зміни електрокардіограм, сцинтиграфічного аналізу ішемії, коронарної ангіографії і т.д. По оцінці терапевтичної ефективності з використанням цих кінцевих точок DSP виявилася ефективною для лікування стенокардії.

Ефективність DSP для лікування стенокардії

157 пацієнтів з ішемічною хворобою серця перорально приймали 10 DSP щодня протягом 4 тижнів. По оцінці частоти, інтенсивності і тривалості приступів стенокардії, відчуття тиску в грудній клітці і прискореного серцебиття, симптоми зникли чи зменшилися в 95,3% пацієнтів.

Для полегшення стенокардії DSP більш ефективна, ніж таблетки Dan Shen.

Таблетка Dan Shen являє собою інший китайський медикамент, використовуваний у даний час у Китаї для лікування стенокардії. Проведено порівняння ефективності DSP і таблетки Dan Shen. Пацієнтів, що страждають ішемічною хворобою серця, випадковим образом розділили на дві групи. 107 пацієнтів лікували DSP, а 50 пацієнтів - таблетками Dan Shen. При порівнянні частоти приступів стенокардії і прийому нітратів DSP виявилася більш ефективною для лікування стенокардії, ніж таблетки Dan Shen. Див. таблицю 5.

Таблиця 5

Порівняння DSP і таблетки Dan Shen

Кількість пацієнтів		
	Усього	Сприйнятливих
DSP	107	102 (95,3%)

Таблетка Dan Shen	50	38 (76%)
-------------------	----	----------

Довівши, що DSP більш ефективна, ніж таблетки Dan Shen, ефективність DSP порівняли з різними препаратами, що використовують у даний час у США для лікування хронічної стабільної стенокардії.

Порівняння DSP і нітрогліцерину

Нітрогліцерин часто використовують для зм'якшення приступів стенокардії. Провели порівняння ефективності DSP і нітрогліцерину для ослаблення приступів стенокардії. Під час приступу стенокардії пацієнти приймали DSP чи нітрогліцерин, при цьому порівнювали час, що був потрібний для полегшення приступу. Обидва препарати - DSP і нітрогліцерин - полегшували приступ стенокардії у всіх пацієнтів протягом 15 хвилин. Ефективність DSP була трохи нижче, ніж у нітрогліцерину. Див. нижче таблицю 6.

Таблиця 6

Порівняння DSP і нітрогліцерину

Кількість сприйнятливих пацієнтів

протягом	1-5 хвилин	6-10 хвилин	11-15 хвилин
DSP	11	14	5
Нітрогліцерин	17	12	1

Разом: 30 пацієнтів у групі

DSP не змінює частоти серцевих скорочень

Дані показують, що DSP ефективно полегшує приступи стенокардії. Перевірили, чи відбувається це полегшення за рахунок збільшення частоти серцевих скорочень. Частота серцевих скорочень після лікування DSP була еквівалентна частоті до лікування. Це підтверджує, що DSP полегшує приступи стенокардії, не справляючи впливу на частоту серцевих скорочень (таблиця 7).

Таблиця 7

DSP не впливає на частоту серцевих скорочень

Частота серцевих скорочень

	До лікування	Після лікування
DSP	84,3±23,1	82,8±22,8

Порівняння ефективності DSP і нітрату - динітроізосорбіту

Довівши, що DSP полегшує приступи стенокардії так само ефективно, як нітрогліцерин, перевірили, чи може DSP запобігати приступам стенокардії. Порівняли ефективність DSP і нітрату, динітроізосорбіта. Динітроізосорбіт являє собою нітрат тривалої дії, що часто використовують у США для запобігання приступам хронічної стабільної стенокардії. Пацієнти приймали перорально або DSP три рази в день по 10 пігулок, або динітроізосорбіт три рази в день по 10мг. При цьому перевіряли серцеву функцію й електрокардіограму.

Серцева функція

Вплив DSP і нітратів на серцеву функцію визначали шляхом виміру ударного обсягу серця (CO), хвилинного обсягу серця (SV), фракції викиду крові (EF), частки скороченої частоти лівої вентрикулярної короткої осі (FS). DSP поліпшує серцеву функцію більш ефективно, ніж нітрати. Див. нижче таблицю 8.

Вплив DSP і нітратів на серцеву функцію

	DSP		Динітроіzosорбіт	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
SV	75,38±8,32	83,45±9,11	74,96±8,44	79,47±8,42
CO	5,61±1,34	6,94±1,36	6,54±1,36	6,12±1,41
EF	0,57±0,02	0,79±0,02	0,55±0,02	0,70±0,02
FS	17,14±3,4	16,69±3,6	17,32±3,1	18,46±4,2

DSP поліпшує ЕКГ

Ефективну пульсацію ST-T оцінювали за допомогою запису частоти зміни в сегменті ST-T. Як DSP, так і динітроіzosорбіт істотно зменшували частоту зміни в ST-T, однак, DSP була більш ефективною. Див. нижче таблицю 9.

Таблиця 9

Порівняльний вплив DSP і нітрату на ЕКГ

Частота зміни ST-T		
	До лікування	Після лікування
DSP	131	35
Динітроіzosорбіт	129	42

Порівняльний вплив DSP та аспірину на зменшення гомеостазу

Кровотеча в зоні атеросклеротичних порушень викликає активацію тромбоцитів, коронарний тромбоз і гомеостаз, що приводить до погіршення кровотока. Тому для поліпшення кровотока пацієнтам, що страждають стенокардією, рекомендують приймати аспірин, що є інгібітором активації тромбоцитів. Порівняли ефективність DSP і аспірину для поліпшення кровотока, визначаючи [гемоглобін, Lb, P і потік повітря]. DSP поліпшує кровоток так само ефективно, як і аспірин. Див. нижче таблицю 10.

DSP і аспірин поліпшують кровоток відповідно до китайського діагностичного стандарту для ішемічної хвороби серця, зі зміною від 1979р., одержувала Аспірин.

	DSP		Контрольний групу здорових людей не одержували ніякого лікування. Результати: рівень LPO у пацієнтів, що страждають ішемічною хворобою серця, істотно вище, ніж у здорових людей, у той час як вміст SOD - істотно нижче (p<0,01). після лікування пацієнтів кардіотонічними пігулками, їхній рівень LPO істотно зменшився (p<0,01), а SOD-істотно збільшився (p<0,01). див. нижче таблицю 13.
	До	Після лікування	
Hb	6,23±1,67	4,35±1,62	6,12±1,58
LB	10,92±2,21	8,30±1,08	8,21±0,3
P	1,95±0,08	1,77±0,08	1,89±0,12
Повітряний потік	1,79±0,13	1,39±0,11	1,82±0,17

Загальна кількість пацієнтів: 25 для DSP і 28 для аспірину.

DSP зменшує гомеостаз, придушуючи активацію тромбоцитів.

Тромбоксан В2 активує тромбоцити. Активовані тромбоцити виділяють різні речовини, включаючи β-тромбоцитний мікроглобулін, що викликає гомеостаз і порушує кровоток. Досліджували ефективність DSP при придушенні активації тромбоцитів. DSP зменшує концентрацію тромбоксана В2 і ефективно придушує агрегацію тромбоцитів. Динітроіzosорбіт, що, як відомо, не здатний придушувати агрегацію тромбоцитів, не використовувався як контрольний компонент, не придушував активації тромбоцитів. Див. нижче таблицю 11.

	DSP		Динітроіzosорбіт	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
β PM	62,44±14,37	45,65±12,25	59,89±1,5,42	54,36±13,18
Txβ2	1312±535	738±384	1315±507	1218±445

DSP знижує вміст холестерину в плазмі

Збільшення вмісту холестерину в плазмі сприяє ініціюванню атеросклерозу. Для запобігання утворенню нових атеросклеротичних поразок рекомендується зменшити вміст холестерину в плазмі шляхом зміни раціону чи харчування або за допомогою лікарських препаратів. Перевірили, чи зменшує DSP вміст холестерину в плазмі. Виявилось, що DSP знижує рівень холестерину в плазмі до 0,3ммоль/л, що є статистично значущим при P рівному 0.05. См. нижче таблицю 12.

Таблиця 12

DSP знижує вміст холестерину в плазмі

Вміст холестерину в плазмі (ммоль/л)		
	До лікування	Після лікування
DSP	5,15±0,16	4,84±0,2

Кількість пацієнтів: 80

Вплив кардіотонічної пігулки на LPO і SOD у сироватці крові в пацієнтів, що страждають ішемічною хворобою серця. Таблиця 10

Методика: дослідна група, що включає 24 пацієнтів, одержувала Аспірин. Таблиця 10

Висновок: кардіотонічна пігулка з антиокислювальною функцією, може зм'якшувати порівняння вмісту SOD і LPO у контрольному дослідженні (див. у перекисні сполуки і підвищувати протиокислювальну здатність

Групи	Число пацієнтів	SOD (нмоль/мл)	LPO (нмоль/мл)
Контрольна група	20	348,1±10,6	164±1,52
Дослідна група	24	Перед лікуванням 267,0±7,0	7,16±1,48*
		Після лікування 309±8,74	4,68±1,72***

Примітка: у порівнянні з контрольною групою *p<0,05! У порівнянні з групою лікування, в контрольній групі гіпертонічної чи серцевої, печінкової чи ниркової недостатності.

Висновок: хронічна ішемія серцевих м'язів у пацієнтів, що страждають ішемічною хворобою серця і гіпоксією тканин, приводить до зниження активності SOD, особливо позаклітинної SOD, і до збільшення кисневмісних вільних радикалів, що викликає підвищення рівня LPO і подальше поглинання SOD. після лікування пацієнтів кардіотонічними пігулками рівень LPO істотно знизився, а вміст SOD істотно зріс. Це доводить, що кардіотонічна пігулка здійснює сильну дію на усунення вільних кисневмісних радикалів, що представляє собою один з механізмів лікування ішемічної хвороби серця.

Дія кардіотонічної пігулки на активність LPO і антиоксидаз при лікуванні легенево-серцевої недостатності.

Методика: суб'єкти: 48 пацієнтів, що страждають легенево-серцевою недостатністю, випадковим образом розділили на 3 групи. У нормальній групі 16 пацієнтів лікували за допомогою комплексної терапії, зокрема, протизапальної терапії, анти-астматичної, кисневої інгаляції і т.п. У групі лікування кардіотонічними пігулками 14 пацієнтів приймали по 10 кардіотонічних пігулок 3 рази на день. У групі Gantangzhi 18 пацієнтам вводили внутрішньо через крапельницю 200мг Gantangzhi, розчиненого в 250мл 5% глюкози для ін'єкцій, 1 раз у день протягом 10 днів.

Результати: після лікування кардіотонічними пігулками величина GSH-Px підвищується, величина LPO знижується і, отже, GSH-Px/LPO підвищується. У порівнянні з групою, що одержувала нормальне лікування, є істотна відмінність, див. нижче таблицю 14.

(2) Порядок прийому ліків: пацієнти протягом двох тижнів припинили прийом західних чи традиційних китайських ліків (за винятком гіпотензивних засобів), а потім, на третьому тижні були проведені виміри їхнього кров'яного тиску і реологічних показників крові, а також зняті клінічні показання, використовували подвійний сліпий метод. У групі лікування кардіотонічними пігулками пацієнти приймали перорально по 10 пігулок 3 рази на день. У групі лікування таблетками складу Danshen пацієнти приймали перорально по 5 таблеток 3 рази на день. Особи в контрольній групі приймали плацебо, при цьому період лікування складав 6 тижнів.

Результати : (1) вплив в'язкості на цільну кров, після лікування в'язкість цільної крові в пацієнтів як із групи лікування кардіотонічними пігулками, так і з групи лікування таблетками складу Danshen помітно знизилася, однак, криві в'язкості групи лікування кардіотонічними пігулками при будь-якій швидкості зсуву мали більш різке падіння, ніж у групі лікування таблетками складу Danshen. див. нижче таблицю 15.

Вплив кардіотонічної пігулки на в'язкість цільної к

Групи	3,83с ⁻¹
Група лікування кардіотонічними пігулками (30 пацієнтів)	До лікування 18,27±2,8
	Після лікування 11,79±3,75***
Група лікування таблетками складу Danshen (30 пацієнтів)	До лікування 17,69±1,9
	Після лікування 14,68±3,41
Контрольна Група (15 пацієнтів)	До лікування 17,65±2,0
	Після лікування 18,02±2,3

Примітка: у порівнянні з показниками після лікування, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001. Порівняння з групою лікування кардіотонічними пігулками після лікування, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001. Порівняння з показниками контрольної групи після лікування, &p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

	GSH-P _x (U/мг Hb)	CAT (U/г Hb)	SOD (U/г Hb)	деформація еритроцитів (%)	GSH-P _x (U/мг Hb)	CAT (U/г Hb)	SOD (U/г Hb)	деформація еритроцитів (%)
Група здорових людей	140,6±35,2	312,7±58,1	5799,8±948,1	4,2±1,2	140,6±35,2	312,7±58,1	5799,8±948,1	4,2±1,2
Група звичайного лікування	До лікув.	101,3±23,6	300,4±107,7	5,7±1,9	101,3±23,6	300,4±107,7	5,7±1,9	5,7±1,9
	Після лікув.	120,6±20,6*	390±184,3	4,3±1,3	120,6±20,6*	390±184,3	4,3±1,3	4,3±1,3
Група лікування Кардіотонічними пігулками	До лікув.	108,8±28,3	233,1±101,2	5,3±1,0	108,8±28,3	233,1±101,2	5,3±1,0	5,3±1,0
	Після лікув.	158,2±40,7***	328,4±184,5	3,8±1,0	158,2±40,7***	328,4±184,5	3,8±1,0	3,8±1,0

Примітка: Порівняння показників до і після лікування, #p>0,05, ##p<0,05, *p>0,05, **p<0,05, ***p<0,001.

Вплив кардіотонічної пігулки на деформацію та агрегацію еритроцитів (мас). Деформація еритроцитів істотно зменшується, у той час як

Групи		Коефіцієнт агрегації еритроцитів	Коефіцієнт агрегації еритроцитів
Група лікування кардіотонічними пігулками (30 пацієнтів)	До лікування	0,4115±0,0008	0,4061±0,0039
	Після лікування	0,4274±0,0241	0,4110±0,0036
Група лікування таблетками складу Danshen (30 пацієнтів)	До лікування	0,4066±0,0200	0,3981±0,0034
	Після лікування	0,4180±0,0281	0,3641±0,0039
Контрольна Група (15 пацієнтів)	До лікування	0,4091±0,0370	0,4021±0,0034
	Після лікування	0,4001±0,0381	0,4011±0,0039

Примітка: у порівнянні з показниками тієї ж групи до лікування, *P<0,05, **P<0,01. Порівняння з групою лікування кардіотонічними пігулками після лікування, *P<0,05, **P<0,01. Порівняння з показниками контрольної групи після лікування, *P<0,05, **P<0,01.

(3) Вплив на кров'яний тиск, після лікування систолічний і діастолічний тиск у пацієнтів групи лікування як кардіотонічними пігулками, так і таблетками складу Danshen помітно знизився (p<0,01), при цьому істотної відмінності між обома групами не спостерігалось, див. таблицю 17.

(4) Вплив на симптоми гіпертензії, пацієнти групи лікування як кардіотонічними пігулками, так і таблетками складу Danshen мали істотне поліпшення таких симптомів, як головний біль, запаморочення й оніміння кінцівок (p<0,01), однак, у частині безсоння поліпшення не було. Див. таблицю 18.

Токсичність DSP є безпечною, не токсичним препаратом. У Китаї, більш ніж 5 мільйонів пацієнтів пройшли лікування DSP без важких побічних ефектів. За наявними повідомленнями лише в невеликій частині пацієнтів спостерігалися легкі побічні ефекти - головний біль чи запаморочення.

Узагальнення результатів клінічних досліджень

DSP - китайські ліки нового покоління, призначені для лікування ішемічної хвороби серця. Клінічні дослідження показують, що DSP полегшує, а також запобігає приступам стенокардії, поліпшує серцеву функцію, зменшує ішемію міокарда, придушує активацію тромбоцитів і тим самим зменшує гомеостаз, а також знижує вміст холестерину в плазмі. По терапевтичній ефективності DSP перевершує іншу форму китайського медикаменту - таблетки Dan Shen. Ефективність DSP відповідає ефективності препаратів, використовуваних у США. DSP полегшує приступи стенокардії так само

Вплив кардіотонічної пігулки на кров'яний тиск (мм рт.ст.). DSP полегшує приступи стенокардії так само

Групи		Систолічний тиск	Діастолічний тиск
Група лікування кардіотонічними пігулками (30 пацієнтів)	До лікування	135,00±8,00	80,00±7,00
	Після лікування	126,20±8,80**	78,50±7,93
Група лікування таблетками з'єднання Danshen (30 пацієнтів)	До лікування	152,93±9,59	92,59±8,30
	Після лікування	146,02±10,20**	88,55±7,22**
Контрольна Група (15 пацієнтів)	До лікування	154,06±7,05	90,90±9,10
	Після лікування	152,08±9,25	91,10±8,70

Примітка: у порівнянні з показниками тієї ж групи до лікування, *P<0,05, **P<0,01. Порівняння з показниками контрольної групи після лікування, *P<0,05, **P<0,01.

DSP полегшує приступи стенокардії, збільшуючи кровоток. Таблиця 18

Пацюкам Wistar, масою близько 260г, ввели інфузію гіпертензивних препаратів у грудну клітку, провели висічення серця і виконали перфузію

Вплив кардіотонічної пігулки на клінічні симптоми гіпертензії (висічення серця)

Групи		Головний біль	Діастолічний тиск	Частота серцевих скорочень	Частота серцевих скорочень
Група лікування кардіотонічними пігулками (30 пацієнтів)	До лікування	20	10	10	10
	Після лікування	7	23*	23*	23*
Група лікування таблетками складу Danshen (30 пацієнтів)	До лікування	22	8	8	8
	Після лікування	15	15*	15*	15*
Контрольна Група (15 пацієнтів)	До лікування	8	7	7	7
	Після лікування	7	8	8	8

Примітка: у порівнянні з показниками тієї ж групи до лікування, **P<0,01.

Таблиця 19

Висновок: реологічні властивості еритроцитів у пацієнтів, що страждають гіпертонічною хворобою,

DSP збільшує коронарний кровоток

	Доза (мг/мл)	Коронарний кровоток	
		До лікування	Після лікування
DSP	Нуль	7,0±1,1	7,1±0,97
	5,8	7,2±1,1	7,0±1,4
	290	6,7±1,6	8,7±1,4
	580	6,7±1,5	9,3±2,9
Таблетка DS	5,8	6,7±1,4	7,1±1,5
	290	7,3±1,7	9,1±2,1
	580	6,8±1,4	7,1±1,5

Визначили вплив DSP і таблеток Danshen на частоту серцевих скорочень. Ні DSP, ні таблетки Danshen не змінювали частоти серцевих скорочень. Див. нижче таблицю 20.

Таблиця 20

DSP не збільшує частоти серцевих скорочень

	Доза (мг/мл)	Частота серцевих скорочень	
		До лікування	Після лікування
DSP	Нуль	194±17	193±12
	5,8	180±11	189±9
	290	188±7	184±8
	580	173±14	167±13
Таблетка DS	5,8	180±11	189±9
	290	189±16	183±14
	580	186±23	171±8

DSP збільшує коронарний кровоток шляхом розслаблення гладкого м'яза судини, тим самим розширюючи судину.

Визначили дію DSP на викликану калієм вазоконтракцію частини аорти кролика. DSP розслаблювала гладкий м'яз, забезпечуючи тим самим істотне розширення судин. Аналогічні явища спостерігали в експериментах з використанням коронарного артеріального кола у свиней.

DSP придушує агрегацію тромбоцитів

Визначили вплив DSP на агрегацію тромбоцитів. Тромбоцити кроликів обробили DSP і перевірили агрегацію. DSP істотно придушила агрегацію тромбоцитів. Див. нижче таблицю 21.

Таблиця 21

DSP придушує агрегацію тромбоцитів

DSP (мг/мол)	Число тварин	Коефіцієнт агрегації (%)	Придушення (%)
0	6	6,7±4,4	0
1,8	6	42,7±2,5	8,3±4,5
3,5	6	33,4±3,4	23,6±6,7*
7	6	25,3±2,1	37,6±5,9*
14	6	15,8±3,0	69,0±6,9*

У таблиці 22 представлені мікроядерні показники в мишей через різні інтервали часу після введення трав'яного складу (8400 мг/кг) згідно цьому винаходу.

Час (години)	Поліхроматичні RBC	Мікроядерні клітини
12	6,000	9
24	6,000	11
36	6,000	11
48	6,000	11
72	6,000	13
Розчинник 24	6,000	9

У таблиці 23 показані мікроядерні показники в мишей через 24 години після введення DSP і CP.

Доза (мг/кг)	Поліхроматичні RBC	Мікроядерні клітини
8,400	6,000	12
840	6,000	9
84	6,000	11
Розчинник	6,000	9
CP (80мг/кг)	6,000	138

0* порівняння з розчинником P<0,01.

У таблиці 24 показані критерії оцінки ступеня випробуваних препаратів.

Ефективність/параметри	Дуже високий ефект	Високий ефект
Агрегація RBC	Відсутня	Невелика
Час початку дії	<90	90-180
Мікрокровоток	Краще нормального	Повернення до нормального
Тривалість (хв.)	>15	15-10

DSP поліпшує мікроциркуляцію

Вплив DSP на мікроциркуляцію випробували на китайських хом'яках. DSP поліпшувала мікроциркуляцію у всіх тварин на 23 хвилини через 111 хвилин після трансбукального введення. Див. таблицю 25.

Таблиця 25

DSP поліпшує мікроциркуляцію

	Час початку (хв.)	Тривалість (хв.)	Коефіцієнт ефективності (%)
DSP	111	23	100

У таблиці 26 показаний захисний вплив DSP на міокард у пацюків, індуковане пітуитрином (другий період).

(n=8)

Група	Доза (г/кг)	До лікування	Піс	
			Перед введенням пітуитрина	Післ К
Контрольна		Норма	Норма	

DSP	0,4	Норма	Норма	дієтрилентриамін пентауксусної кислоти, DMPO і ксантинооксидази, а потім провели аналіз за допомогою ЕПР. Отримані сигнали використали в якості контрольних, додали кардіотонічну пігулку в лікувальній групі.
	0,8	Норма	Норма	
	1,2	Норма	Норма	
DST	0,4	Норма	Норма	
	0,8	Норма	Норма	

У порівнянні з контрольною групою. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

У таблиці 27 показана інгібіторна дія DSP на ішемію міокарда, викликану у пацюків пітуїтрином.

Таблиця 27

Група	Доза (г/кг)	Інгібування (%)
DSP	0,4	71,4*
	0,8	85,7*
	1,2	71,4*
DST	0,4	42,8*
	0,8	85,7*

У порівнянні з контрольною групою. * $p < 0,05$.

У таблиці 28 показана інгібіторна дія DSP на ішемію міокарда, викликану у пацюків пітуїтрином (перший період).

Група	Доза (г/кг)	Зміна T-ST на ЕКГ (введення до першого періоду)		Описані ефекти
		До лікування	До введення пітуїтрину	
Контрольна		Норма	Норма	Після введення кардіотонічної пігулки збільшилася кількість радикалів, утворених системою $H_2O_2-Fe^{2+}$. 7
DSP	0,4	Норма	Норма	Вплив кардіотонічної пігулки на вільні радикали в тканині пацюків, ураженій реінфузійною церебральною ішемією. 1
	0,8	Норма	Норма	Методика: Відібрали 30 пацюків і випадковим образом розділили їх на 3 групи. Група 1 - симульована операція (операція виконувалася без лігування кров'яних судин і нервів), модельна група з реінфузією церебральної ішемії і група лікування кардіотонічною пігулкою (4г/кг). Після триденного безупинного інтраперитонеального (іп) введення і через дві години після введення на третій день пацюків приспали 20% етилуретаном, і їх артерії еластичного типу по обидва боки шиї і блукаючий нерв відокремили і перев'язали, після 30-хвилинної реінфузії пацюкам відокремили голови і витягли мозок, відібрали близько 500мг кортикальної тканини з лівих півкуль мозку і тканини гіпокампа з обох боків і помістили їх у рідкий азот для гомогенізації, після того, як їх перетворили в однорідну масу з замороженим фізіологічним розчином, отриману масу центрифугували, відібрали надосадову рідину і визначили активність CAT і SOD, а також вміст MAD і GSH.
	1,2	Норма	Норма	Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст
DST	0,4	Норма	Норма	
	0,8	Норма	Норма	

У порівнянні з контрольною групою. * $p < 0,05$.

Вплив кардіотонічної пігулки на очищення від кисневмісних вільних радикалів

Провели дослідження впливу кардіотонічної пігулки на очищення від кисневмісних вільних радикалів з використанням електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) і спінової сепарації, з перекисними аніонами і гідроксильними радикалами, отриманими за допомогою системи ксантин-ксантинооксидази і системи $H_2O_2-Fe^{2+}$, відповідно.

Методика: (1) Одержання гідроксильних радикалів. Одержали дослідну модель за принципом Фентона. Змішали H_2O_2 , сірчаноокисле залізо і DMPO (5,5-диметил-піролін-І-оксид), а потім провели аналіз за допомогою ЕПР. отримані сигнали використали в якості контрольних, додали кардіотонічну пігулку в лікувальній групі.

(2) Одержання перекисних аніонів. Одержали дослідну модель на основі реакції ксантина і ксантинооксидази. змішали ксантин,

дієтрилентриамін пентауксусної кислоти, DMPO і ксантинооксидази, а потім провели аналіз за допомогою ЕПР. Отримані сигнали використали в якості контрольних, додали кардіотонічну пігулку в лікувальній групі.

Провели випробування десяти зразків для кожної з чотирьох груп і розраховували середні значення результатів, виконали перевірку результатів методом статистичного аналізу з використанням критерію Ст'юдента.

Результати: (1) Вплив кардіотонічної пігулки на очищення від гідроксильних радикалів, утворених системою $H_2O_2-Fe^{2+}$. коли гідроксильний радикал захоплюється DMPO, утворюється адукт DMPO-ОН. Максимальне значення для адуктів у контрольній групі складало $11,8 \pm 0,6$ відносних одиниць, у той час як у групі, що приймає кардіотонічні пігулки, $4,1 \pm 0,5$ відносних одиниць. Між ними є значне розходження ($p < 0,01$), і рівень очищення кардіотонічною пігулкою перевищував 65%.

(2) Вплив кардіотонічної пігулки на очищення від перекисних аніонів, утворених системою ксантин-ксантинооксидази. коли перекисний радикал захоплюється DMPO, утворюється адукт DMPO-ООН. Максимальне значення для адуктів у контрольній групі складало $10,6 \pm 0,67$ відносних одиниць, у той час як у групі, що приймає кардіотонічні пігулки, спектральні сигнали зникли цілком. У порівнянні з контрольною групою мало місце значне розходження ($p < 0,01$), і рівень очищення кардіотонічною пігулкою склав 100%.

Після введення кардіотонічної пігулки збільшилася кількість радикалів, утворених системою $H_2O_2-Fe^{2+}$. 7

Вплив кардіотонічної пігулки на вільні радикали в тканині пацюків, ураженій реінфузійною церебральною ішемією. 1

Методика: Відібрали 30 пацюків і випадковим образом розділили їх на 3 групи. Група 1 - симульована операція (операція виконувалася без лігування кров'яних судин і нервів), модельна група з реінфузією церебральної ішемії і група лікування кардіотонічною пігулкою (4г/кг).

Після триденного безупинного інтраперитонеального (іп) введення і через дві години після введення на третій день пацюків приспали 20% етилуретаном, і їх артерії еластичного типу по обидва боки шиї і блукаючий нерв відокремили і перев'язали, після 30-хвилинної реінфузії пацюкам відокремили голови і витягли мозок, відібрали близько 500мг кортикальної тканини з лівих півкуль мозку і тканини гіпокампа з обох боків і помістили їх у рідкий азот для гомогенізації, після того, як їх перетворили в однорідну масу з замороженим фізіологічним розчином, отриману масу центрифугували, відібрали надосадову рідину і визначили активність CAT і SOD, а також вміст MAD і GSH.

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

Результати: див. таблицю 29. (1) Дія кардіотонічної пігулки на активність CAT і вміст GSH у тканинах мозку. Активність CAT кори головного мозку і тканин гіпокампа, а також вміст

GSH у корі головного мозку у тварин модельної групи з реінфузією церебральної ішемії були набагато нижче, ніж у групі із симульованою операцією. Активність CAT тканин гіпокампа і вміст GSH у корі головного мозку в групі, що піддавалася лікуванню кардіотонічними пігулками, були значно вище, ніж у модельної групи.

допомогою удосконаленого способу тιοбарбітурової кислоти.

Результати: див. таблицю 30. У модельної групи в порівнянні з нормальною групою активність SOD падає, а вміст MDA зростає, при цьому в групі, підданій лікуванню кардіотонічними пігулками, активність SOD збільшується, а вміст MDA зменшується, що повертає цю групу до нормальної.

Таблиця 29

Активність CAT і SOD і вміст MDA і GSH у тканинах мозку паціюків (міліпуази, $\bar{x} \pm s$) (n=10)

Групи	Активність (U/мг білку) CAT		GSH (мкмоль/мг білку)		Активність SOD (U/мг білку)		Активність SOD (U/мг білку)		Вміст MDA (нмоль/мг білку)		Кількість паціюків
	Кора мозку	Гіпокамп	Кора мозку	Гіпокамп	Кора мозку	Гіпокамп	Кора мозку	Гіпокамп	Кора мозку	Гіпокамп	
Група симульованою операцією	2,94±0,17	2,78±0,14	18,49±0,70	16,87±0,70	0,34±0,04	0,34±0,04	0,502±0,054	1,084±0,117			12
Модельна Група	2,17±0,24 ⁸	1,97±0,23 ⁸	14,76±1,12 ⁸	13,80±0,70	0,34±0,04	0,34±0,04	0,502±0,054	1,084±0,117			12
Група лікуванням кардіотонічними пігулками	2,55±0,35	2,79±0,21 ³	17,14±0,76	15,76±1,18	0,34±0,04	0,34±0,04	0,502±0,054	1,084±0,117			11

Примітка: у порівнянні з групою із симульованою операцією, $p < 0,05$.

(2) Вплив кардіотонічної пігулки на активність SOD і вміст MDA у тканинах головного мозку. Активність SOD у тканинах головного мозку в модельної групи була значно нижче, ніж у групі із симульованою операцією, а вміст MDA - значно вище, активність SOD кори головного мозку і тканин гіпокампа в групі, підданій лікуванню кардіотонічними пігулками, значно виросла, а вміст MDA - значно зменшився.

Висновок: після реінфузії церебральної ішемії вміст MDA у тканинах головного мозку збільшується, а вміст GSH зменшується, активність CAT і SOD, двох ферментів, важливих для очищення тканин від кисневмісних вільних радикалів значно зменшується. Це показує, що під час реінфузії церебральної ішемії з'являється велика кількість кисневмісних вільних радикалів через порушення функції системи очищення від вільних радикалів. У результаті відбувається окислювання ліпідів з утворенням перекисних сполук, а потім - ураження головного мозку. Кардіотонічна пігулка може істотно зменшувати вміст MDA у корі головного мозку і тканинах гіпокампа в паціюків, підданих реінфузії, а також істотно збільшувати вміст GSH і активності CAT і SOD. це показує, що кардіотонічна пігулка має здатність обмежувати реакції кисневмісних вільних радикалів, регулювати окислювання ліпідів і захищати клітини головного мозку, ушкоджені внаслідок реінфузії ішемії.

Протиокислювальна функція кардіотонічної пігулки при хронічному ураженні печінки.

Методика: Використовували модель легкого хронічного ураження печінки в паціюка Wister, яке викликано CCL4-high-fat-low-protein. У групі, що піддається лікуванню кардіотонічними пігулками, кардіотонічні пігулки вводили в шлунок паціюкам з дозою 4г/кг, у той час як нормальній і модельній групам вводили таку ж кількість фізіологічного розчину, активність SOD визначали за допомогою способу ксантиноксидази, а вміст MDA - за

Висновок. MDA є основним продуктом розкладання ліпідів, що утворюється в результаті окислювання ліпідів. MDA може серйозно ушкоджувати структуру клітинної мембрани, а потім - клітки печінки. SOD забезпечує очищення від перекисних аніонів і може обмежувати окислювання ліпідів, яке викликають вільні радикали. Кардіотонічна пігулка може істотно збільшувати активність SOD і зменшувати вміст MDA, що у свою чергу знижує рівень окислювання ліпідів і послабляє ураження печінки.

DSP не є мутагенним препаратом.

Для перевірки мутагенності DSP використовували тест Еймса. Встановили, що DSP не є мутагенним препаратом. Див. нижче таблицю 31.

Мутагенність DSP (тест Еймса)

	S9	Кількість колоній ±	
		TA97	TA98
DSP	-		
0.0	-	141±13	36±3
0.5	-	140±17	35±2
5	-	136±14	34±4
50	-	133±20	33±5
500	-	109±15	34±3
5000	-	67±8*	30±4
0.0	+	141±13	44±6
0.5	+	148±13	42±9
5.0	+	152±11	44±7
50.0	+	140±18	37±6
500.0	+	135±21	42±7
5000.0	+	119±17	38±7
Dexon			
50	-	2155±814	952±187
2-AF			
40	-	125±18	38±3*
	+	1404±644*	1598±124
DAN			
100	-	364±50	

	+	943±102*	стандартизацію посіву Dan Shen у великих
--	---	----------	--

Виробництво лікарської сировини.

1. Dan shen

(1) Контроль якості.

Зразки лікарської сировини препарату Dan Shen відбирали у всіх регіонах його виробництва в Китаї. У зазначених зразках проводили хімічний аналіз основних компонентів. Результати показали, що найкращу якість має Dan Shen з регіону Shangluo. При цьому виявилось, що клімату Shangluo є найбільш придатним для вирощування Dan Shen. Кількісний вміст активних інгредієнтів Dan Shen, зокрема, таншинуна і сальвіанової кислоти А, виявилися оптимальними.

(2) Рельєф

Shangluo має наступні географічні координати: 108°34'20"~111°1'25" східної довготи і 33°2'30"~34°24'40" північні широти, і розташований у середньому на висоті 900 метрів над рівнем моря. У регіоні є низькі і середні гори і відсутні забруднення. Незабруднене чисте повітряне середовище робить його ідеальним для вирощування лікарських рослин.

(3) Клімат

Регіон має теплий, помірно-вологий клімат, типовий для гірської місцевості перехідної зони від субтропіків до помірного пояса. Зазначаючи впливу північно-східних мусонів, клімат має чіткий поділ на пори року і характеризується рясними дощами. Кількість опадів у рік у даній місцевості оцінюється на рівні 733,9-899мм. Період сонячного світла складає близько 1874,1-2185 годин у рік, а річна енергія сонячного випромінювання - 119,57-124,36 кілокалорій/см². Температура повітря змінюється в межах 18°-40,8°. Безморозний період продовжується протягом 198-218 днів у році.

(4) Ґрунт

80% ґрунту в Shangluo є піщаним, основна частина орної землі складається з нейтрального і слабокислого ґрунту зі значенням р 6,5-8. У межах оброблюваного шару глибиною 0-20см поживні речовини ґрунту містять: 1,36% органічної речовини, 0,085% азоту, 18 промилів швидкодійного фосфору, 136 промилів швидкодійного калію і 60 промилів лужно-гідролізованого азоту. Вміст важких металів і інших токсичних речовин, що знаходяться в ґрунті, не перевищує нормативів вітчизняних сільськогосподарських стандартів. У регіоні багатий рослинний і тваринний світ. Місцеві селяни використовують органічні добрива.

(5) Важкі метали:

Концентрація восьми металів, включаючи свинець, кадмій, ртуть, миш'як і т.д., залишковий вміст пестицидів, повітря і води відповідають вітчизняним екологічним стандартам.

(6) Стандартизація

Посів і догляд за Dan Shen здійснюються відповідно до сільськогосподарського стандарту (GAP). Технологічні ноу-хау, що відносяться до вирощування Dan Shen, описані в буклетах і поширюються на базі серед селян, що вирощують Dan Shen. У сезони посіву агротехніки направляються в поля, щоб навчити селян на місці, надати їм технічну допомогу і забезпечити

масштабах, як на плантаціях.

(7) Виробнича база Shangluo розводить і вирощує 20 різних сортів Dan Shen. Протягом трьох років проводили спостереження за різними сортами Dan Shen і порівнювали їхній ріст, вихід, зовнішній вигляд і хімічні компоненти. Найвисокоякісніші сорти вибрали для великомасштабного розведення.

(8) Культивування тканини і вегетативне розмноження використовують при вирощуванні Dan Shen, щоб прискорити процес дозрівання і скоротити цикл росту.

(9) Після 30-денного періоду пророщення в пробірці виконується розширена процедура розмноження. Вона продовжується 40 днів до періоду розвитку коренів. Період розвитку коренів займає ще 10 днів, що необхідні рослині для того, щоб утворити і збагатити свої корені. Рівень проростання звичайно досягає 90% і більше. Потім рослину можна помістити в розплідник, де використовують сучасні дощувальні установки і регулюють умови за допомогою систем з комп'ютерним керуванням. Через місяць після культивування в розпліднику рослини можна пересадити у відкрите поле.

(10) Відповідно до висновку експертів, Dan Shen з нашої виробничої бази відрізняється не тільки високою якістю, але також продуктивністю, завдяки своїм добре розвинутим кореням (маса коренів на 50% більше, ніж у рослин з інших регіонів), і цінним хімічним складом (вміст активних лікарських інгредієнтів на 70% вище, ніж у зразків з інших місцевостей).

2. Природний борнеол

(1) Умови вирощування

Зоною вирощування природного борнеола є округ Xinhuang провінції Hunan, Китай, регіон, що має середні височини і розташований на висоті 300-600м над рівнем моря. 60% площі покривають ліси. Земля складається з жовтих і червоних піщаних ґрунтів з р 5-6. Забруднення повітря і води в регіоні не виявлені.

(2) Біологічні характеристики рослини

Надзвичайно сильна здатність росту, вирощують у полях у формі чагарнику, 300-400 рослин на 1му (дорівнює 666,7м²). Збирають верхні частини рослини, чистий вихід складає 1000кг на 1му.

(3) Розмноження і пересадження

Для розмноження використовують щеплення і черешки. Рослину вирощують у розпліднику протягом першого року, а потім навесні на другий рік пересаджують у поле. Поля необхідно періодично удобрювати і розпушувати.

(4) Рослина може вирости до 30см у висоту і мати максимальний діаметр 80-100см. Різні частини рослини містять природну камфору: листя, гілки, стовбур і корені. Найбільший вміст камфори має листя.

(5) Борнеольна амфора з Xinghuang являє собою одну з природних різновидів *Citratonium glanduliferum* (wall) Noes. Різні породи камфорного дерева мають різний вміст камфори і борнеола, у деяких - низький вміст борнеола і високий вміст камфори, в інші, навпаки - високий вміст борнеола

і низький вміст камфори. Провівши аналіз великої кількості зразків і безліч аналізів за допомогою рідинної хроматографії з високою розрешальністю, ми вибрали породу камфорного дерева, що містить більш 80% борнеола і менше домішок.

3. Radix Notoginseng

а. Насіння рослини

(1) Визначення Radix Notoginseng

За допомогою реакції PCR, що забезпечує мітку по молекулярній масі, Radix Notoginseng можна спостерігати міченим. Radix Notoginseng має характеристичну хроматограму ДНК.

(2) Форма і характеристики

Насіння Radix Notoginseng має круглу форму. Radix Notoginseng має насіння двох- і трирічного періоду росту. Дворічне насіння має діаметр 0,45-0,55см і масу 95-103г у висушеній формі. Трирічне насіння має діаметр 0,54-0,65см і масу 98-109г у висушеній формі.

(3) Придатна температура для пророщення насіння

Придатна температура для пророщення насіння складає 10-30°C, ідеальна температура 15-20°C.

(4) Вологість

Вміст вологи повинен складати 60-70%, при вологості нижче 20% протягом тривалого часу насіння гине.

(5) Стан спокою

Насіння має тенденцію до проходження через стан спокою протягом 45-60 днів після збору.

(6) Час життя

Після збору насіння знаходиться в природному стані протягом 15 днів.

(7) Вимоги до умов збереження насіння

Насіння для збереження варто збирати з рослин, що ростуть більше двох років, при цьому частини рослини, розташовані над землею, повинні бути добре розвинутими і не містити заражень сільськогосподарськими шкідниками. Рекомендується збирати насіння трирічних рослин.

(8) Обробка поля для резервування насіння

Поле для резервування насіння необхідно обробляти краще, ніж звичайні виробничі поля. Заражені рослини варто негайно знищувати, сільськогосподарські шкідники не повинні вступати в контакт із паростками ні при яких обставинах. У період росту бруньок і листів варто двічі обприскувати рослини біологічним добривом, 3000 промилів YunDa-120 і 400 частин розчину Yang Kang. Крім того, у період цвітіння і дозрівання рослини обприскують фітокиніном.

(9) Період збору насіння

Період збору насіння Radix Notoginseng триває з кінця жовтня до початку грудня.

(10) Способи збору насіння

Способи збору насіння вибирають у залежності від рівня зрілості насіння. Насіння рослин, що краще ростуть, збирають і зберігають окремо. База суворо забороняє збір з незрілих рослин.

(11) Обробка

Після збору рослини негайно промивають, видаляючи лущайки й уражене насіння. Після промивання рослини сушать на сонці.

(12) Зберігання

Насіння Radix Notoginseng обробляють протягом 30 хвилин 300 порціями розчину 58% металаксилмарганцевого цинку. Після висихання поверхні насіння зберігають у піску з вологістю 20%. Ця операція є критичною для всього процесу.

(13) Пакування

Готові продукти упаковують у чисті контейнери. Контейнери повинні містити маркування зі вказівкою дати збору, обробки і номерів партії продукту.

(14) Транспортування

Для транспортування варто використовувати чисті, вологозахиснені і вентильовані транспортні засоби, щоб виключити забруднення продукту токсичними речовинами. Якщо час транспортування перевищує 8 годин, продукт варто транспортувати з вологим піском.

(15) Перевірка життєздатності насіння

Використовували спосіб із застосуванням ТТС: зважили точно 1г порошкоподібного тетразола і розчинили його в 1000мл дистильованої води, щоб одержати 0,1% ТТС. Занурили зразок у розчин і витримали його 24 години, потім витягли, розрізали навпіл і помістили одну половину в пластину культури. Приготовленим розчином ТТС пофарбували зразок протягом 30 хвилин. Життєздатність насіння можна визначити по його кольору.

(16) Контроль відсутності сільськогосподарських шкідників

1. Візуальний контроль насіння: помістити на лист білого паперу чи на скло 500-1000 зразків насіння і оглянути неозброєним оком. При наявності незвичайних плям чи шкідників можна зробити висновок про зараження. Заражені зразки варто відокремити і проаналізувати, щоб визначити рівень зараження.

2. Розрізування і контроль: за допомогою скальпеля розрізати і розкрити 2 комплекти зразків по 10 насінин кожному. Розрахувати кількість заражених насінин, щоб визначити рівень зараження.

3. Контроль зразків по запаху: піднести зразки до носа і визначити, чи не мають вони запаху цвілі. Чи просто помістити зразок у чашку з гарячою водою (60-70°C), закрити на 2-3 хвилини, злити воду і визначити запах насіння. Від насіння повинний виходити тонкий аромат, у противному випадку вони можуть бути зараженими.

(17) Контроль кольору

Незаражене насіння повинне мати ясно-жовтий і білий колір

(18) Контроль під мікроскопом

Відібрати випадковим образом 5 зразків (кожен зразок повинний містити не менш 50 насінин), помістити зразки в пластинку з культурою на 24 години. Проконтролювати зразки під мікроскопом. У випадку виявлення патогенних бактерій розрахувати рівень зараження.

б. Вирощування саджанців

(1) Температура пророщення

Температура пророщення Radix Notoginseng складає 1-20°C, ідеальна температура 15°C.

(2) Вологість

Вологість ґрунту для вирощування саджанців: 20-25%

(3) Збереження

Цикл розвитку *Radix Notoginseng* від спочиваючої бруньки до пророщення складає 90 днів, протягом яких рослина знаходиться в стані спокою. Уведення 100 промилів гібереліну може сприяти скороченню періоду спокою *Radix Notoginseng*.

(4) Рафінування

Період рафінування *Radix Notoginseng* проходить з початку грудня до кінця січня. При рафінуванні до коренів варто ставитися з великою обережністю. Відразу після рафінування рослини необхідно висадити в ґрунт.

(5) Транспортування

Рослини *Radix Notoginseng* не можна транспортувати на великі відстані, у противному випадку вони можуть бути ушкоджені. У разі потреби транспортування *Radix Notoginseng* варто помістити в провітрюваний контейнер із ґрунтом і захистити від прямої дії світла.

(6) Контроль якості

1. Для контролю ваги рослин відібрати як зразки 300-500 саджанців, об'єднати по 100 саджанців у групу, зважити на вагах і розрахувати вагу однієї рослини.

2. Для контролю пестицидів: відібрати чотири групи зразків по 100 саджанців у кожній групі. Помістити зразки на скляний диск і проконтролювати зразки неозброєним оком чи за допомогою лінзи зі збільшенням 5-10 крат на наявність пестицидів.

3. Відібрати чотири групи зразків по 100 рослин у кожній групі, зробити зрізи зразків для контролю під мікроскопом.

в. Культура вирощування

(1) Польові умови

Саджанці *Radix Notoginseng* вирощують у місцевості, що володіє найкращими умовами. База використовує централізовану культуру і великомасштабний метод оброблення.

(2) Навколишнє середовище

Місцевість не містить ніяких забруднень. Якість повітряного середовища перевищує рівень 2 стандарти GB 3059-96.

(3) Водні ресурси

Водні ресурси включають дощову воду, підземну воду і природну проточну воду. Якість води контролюють відповідно до вимог стандарту GB 5084-92.

(4) Ґрунт

Radix Notoginseng не можна вирощувати на мулистому ґрунті, кількість важких металів у ґрунті, обраному для *Radix Notoginseng*, повинна бути в межах вимог відповідного вітчизняного стандарту.

(5) Ідеальний ґрунт

Для одержання гарних результатів ми вибрали кислий ґрунт (р 5,5-7,0) з кутом нахилу не більш 15°. Для висоти над рівнем моря не більш 1600м надходження сонячного світла повинне складати 8-12%, а для висоти більш 1600м -10-20%.

(6) Температура

У період вирощування температура повітря повинна складати 20-25°C, а температура ґрунту - 10-15°C. У період плодоношення оптимальна

температура повітря 20-25°C, а оптимальна температура ґрунту - 15-20°C.

(7) Вологість

Вологість ґрунту повинна складати 25-30%.

(8) Підготовка ґрунту

Перед посадкою саджанців ґрунт необхідно розпушити три рази і витримати під дією сонячного світла. Це допомагає видаленню з ґрунту шкідливих бактерій.

(9) Обробка ґрунту

Для запобігання ушкодженню кореневої системи перед пересадженням саджанців на кожен квадратний метр ґрунту вносять 75-100г вапна.

(10) Культивування й освітленість

На висоті 1,8м над рівнем ґрунту повинно бути створено затінення, а борозна повинна проходити на глибині 2м від рівня ґрунту. Оптимальне проникнення сонячного світла 8-10%, якщо висота над рівнем моря не перевищує 1600м, чи 10-15%, якщо вона перевищує 1600м. Ґрунт повинний мати плоску поверхню, глибокий шар землі має бути пухким, а поверхневий шар - твердим. Оптимальний сезон для посадки - з кінця грудня до кінця січня. Перед посадкою насіння варто занурити на 30-50 хвилин у розчин 58% металакислого цинку (500-800х) чи 1,5% антиміцину (200 промилів), витягти і дати висохнути. Це забезпечує захист рослини від хвороб (насіння з покриттям не вимагає проведення цієї процедури). Щільність посадки повинна складати 4х5см або 5х5см, що відповідає 100-200 тисячам саджанців на 1му ґрунті. Для створення борозен застосовують спеціальний інструмент, а посадку і догляд за рослинами здійснюють за допомогою машин або вручну. Насіння цілком покривають сипучим ґрунтом.

Після цього здійснюють удобрення, зрошення і прополку. Бур'яни необхідно видаляти постійно. Якщо конструкція, що затінює, ламається, її необхідно негайно відремонтувати і забезпечити правильне проникнення сонячного світла. Природні добрива включають пташиний послід, золу і кісткове борошно (екскременти людини не використовуються).

d. Культивування *Radix Notoginseng*.

(1) Топологія.

Оптимальним є ґрунт із помірним нахилом менше 15° і добре відкритий для сонячного світла.

(2) Будова ґрунту.

Найкраще, якщо ґрунт являє собою глибокий шар пухкого і піщаного ґрунту.

(3) pH ґрунту повинний складати 5,5-7.

(4) Попередні культури

На нових полях щоб уникнути руйнування ґрунту попередньо вирощують зернові, пшеницю і боби.

(5) Рівень моря.

Місцевість на висоті 1400-1800м над рівнем моря з нахилом близько 23,5° є найбільш придатною для вирощування *Radix Notoginseng*

(6) Сонячне світло.

Radix Notoginseng відноситься до рослин, що вимагають всего 8-20% сонячного світла. Кількість сонячного світла, що надходить, повинна змінюватися в залежності від періоду росту. Однак

надлишок сонячного світла викликає зів'янення рослин.

(7) Вологість.

Вологість ґрунту повинна складати 25-30%

(8) Добрива.

Органічні добрива використовують поряд зі складними мінеральними добривами, а також з добривами, що містять поживні речовини і мікроелементи.

(9) Температура.

У зоні вирощування *Radix Notoginseng* середньорічна температура складає 15-18°C. У період пророщення найбільш сприятлива температура повітря 20-25°, а температура ґрунту - 15°C. У період засвоєння поживних речовин і цвітіння температуру краще підтримувати на рівні 25°C. При температурі нижче 15°C погіршується цвітіння.

(10) Підготовка поля.

Перед посадкою поле необхідно зорати і розпушити три рази, щоб структура ґрунту стала порошкоподібною.

(11) Обробка ґрунту

З метою стерилізації перед посівом і пересадженням рослини варто внести в ґрунт 75-100г негашеного вапна.

(12) Стандартні розміри грядок.

Плоскі ґрунтові грядки повинні мати висоту 20-25см, а на схилах 15-20см. Грядки мають ширину 120-140см і форму черепиці. Ґрунт у нижній частині основи має бути пухким, а вгорі - щільним, щоб забезпечити краще проникнення вологи.

(13) Замочування насіння.

При посадці насіння замочують на 30-50 хвилин у 58% металаксилі (500-800х), а потім дають висохнути, щоб запобігти захворюванню рослини і появи сільськогосподарських шкідників.

(14) Щільність посадки.

Посадку варто робити на відстані 10×12,5см-10×15см. Це відповідає 26-32 тисячам рослин на один му.

(15) Методика пересадження

Саджанці саджають в одному напрямку для зручності догляду за ними. У випадку похилого ґрунту саджанці саджають від нижнього кінця до верхнього. Перший ряд саджанців звернений нагору, а другий ряд - униз. Паростки повинні бути також звернені назовні, а нижня частина - усередину.

(16) Покриття ґрунтом.

Саджанці цілком покривають порошкоподібним, пухким і вологим ґрунтом, не залишаючи на поверхні коренів чи паростків.

(17) Добриво.

Як спеціальне добриво застосовують пташиний послід, золу, кісткове борошно, кальцієво-магнієвий фосфат і т. п.

Література

1. US Pat. No. 5288485 "vasodilating agent".
2. US Pat. No. 5433957 "vasodilating agent".
3. US Pat. No. 5776463 "Method of reducing stress and circulatory heart disease with freeze-dried borage petal extracts".
4. Yang GY et al., "Clinical studies on the treatment of coronary heart disease with *Valeriana officinalis*

varlatifolia" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 14(9):540-2, 1994.

5. Wu Y, "Clinical study on Xintongkang capsule in treating angina pectoris of coronary heart disease" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 10(7):395-8, 1990.

6. Liu KY et al., "Clinical observation on treatment of 45 angina pectoris patients of coronary heart disease with taponin" Chung Hsi I Chieh HoTsaChih, 15(11):649-51, 1995.

7. Hu JX et al, "Clinical and experimental study of shenshao tongguan pian in treating angina pectoris of coronary heart disease" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 10(10):596-9, 1990.

8. Li Y et al., "Effects of Kuo-guan granule on plasma zinc, copper and erythrocyte GSH-Px (glutathione peroxidase) in patients with angina pectoris" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 10(6):348-50, 1990.

9. Wang B et al., "406 cases of angina pectoris in coronary heart disease treated with saponin of *Tribulus terrestris*" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 10(2):85-7, 1990.

10. Jin C et al., "Effect of *Astragalus membranaceus* on erythrocyte sodium content and sodium transport in the coronary heart disease" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 11(11):651-3, 1991.

11. Jiang HW et al., "Clinical study in treating qi-deficiency and blood-stasis syndrome of angina pectoris with qi xue granule" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 12(11):663-5, 1992.

12. Wang XF et al., "Clinical observation of wenxin decoction in treating 82 patients with spontaneous angina pectoris" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 16(4):201-3, 1996.

13. Lei ZY et al., "Action of *Astragalus membranaceus* on left ventricular function of angina pectoris" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 14(4): 199-202, 1994.

14. He W et al., "Effects of Kuo guan powder on immunologic functions in patients with ben-xu biao-shi syndrome in ischemic heart disease" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 9(4):213-5, 1989.

15. Chen K et al., "Clinical study on the effect of shuxuening tablet in treatment of coronary heart disease" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 16(1):24-6, 1996.

16. Zhang H et al., "Clinical study on effects of buyang huanwu decoction on coronary heart disease" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 15(4):213-5, 1995.

17. Zhang XL et al., "Preliminary study of rose shu-xin oral liquid in the treatment of angina pectoris in coronary heart disease" Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 12(7):414-6, 1992.

18. Hu JX et al., "Clinical and experimental study of shenshao tongguan pian in treating angina pectoris of coronary heart disease" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih.

19. Zhu W et al., "Protective effect of danshen during myocardial ischemia and reperfusion: an isolated rat heart study" American Journal of Clinical Medicine, 18(1-2): 19-24, 1990.

20. Li YY, "Clinical and experimental study on the effect of xue mai tong on coronary heart disease" Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 9(2):79-81, 1989.

21. Cai PY et al., "A clinical study of hehuantang in treating coronary heart disease" *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 16(4):204-6, 1996.
22. Lin QC, "A clinical study of guan mai le in the treatment of coronary heart disease" *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 9(5):280-2, 1989.
23. Li SQ et al., "Clinical observation on the treatment of ischemic heart disease with *Astragalus membranaceus*" *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 15(2):77-80, 1995.
24. Lu BJ et al., "Effect of sheng mai san on lipid peroxidation in acute myocardial infarction patients" *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 14(12):712-4, 1994.
25. Wang S et al., "Effects of *Codonopsis pilosulae* on the synthesis of thromboxane A2 and prostacyclin" *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 10(7):391-4, 1990.
26. Guan M et al., "Observation on the treatment of coronary heart disease by kuo guan qu yu ling" *Journal of Traditional Chinese Medicine* 10(1):49-53, 1990.
27. "Fufang Danshen Pian" *Pharmacopeia of the People's Republic of China*. English Edition 1997. Volume 1, 280.
28. Zhu HG, "Clinical study on xinkening in treating asymptomatic myocardial ischemia in coronary heart disease" *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 14(4):213-5, 1994.
29. Chiang WT et al., "Effects of "Danshensu" and other two water-soluble components of *salvia miltiorrhiza* on dog ischemic myocardium and isolated pig coronary artery" *Acta Acad Med Prim Shanghai* 1982; 9: 13-19.
30. Sun Xi-ming et al., "Studies on a new pharmacological action of an extract of *Danshen* (*Salvia miltiorrhiza*)" *Chin Med Herb* 1991;22:20-23.
31. Chen ZH et al., "Studies on effects of "Danshensu" on experimental microcirculatory disturbances and plasma lactic acid concentrations" *Acta Acad Med Prim Shanghai* 1987; 14: 25-29.
32. Huang C et al., "Effects of *Panax Notoginseng* Saponins on myocardial ischemia and reperfusion injury in conscious rabbit" *Chin Bull Pharmacol* 1991; 7: 190-3.
33. Shi L et al., "Effects of total saponins of *Panax Notoginseng* on increasing PGI2 in carotid artery and decreasing TXA2 in blood platelets" *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11: 29-32.
34. Xu W et al., "Effect of menthol and borneol on the distribution of sulfadiazine sodium and Evan's blue in the rat and mouse brain" *Pharmacol Chin Med Clin* 1995; (6): 31-33.
35. Chen TF et al., "Enhancement of absorption of tetramethylpyrazine by synthetic borneol" *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11:42-44.
36. Li X et al., "Protective effects of *Panax notoginseng* saponins on experimental myocardial injury induced by ischemia and reperfusion in rat" *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11:26-29.
37. Pan JG et al., "Chemical Studies on Essential oils from six *Artemisia* Species" *Chin J Chin Mater Med* 1992; 17: 741-6.
38. Wu YZ et al., "An assessment of *Radix Salviae Miltiorrhizae* in promoting blood circulation by removing blood stasis" *Acta Nanjing Univ Trad Chin Mater Med* 1995; 11:35-6.

39. Wang NS et al., "Experimental studies of "Benefits of Borneol as an Assistant or a guide", *J Trad Chin Med* 1994; 35:46-7

40. Li CZ et al., "Anti-coagulation effect of *Radix Salviae Miltiorrhizae*" *Chin J Integr Med* 1983; 3: 297-9.

41. Li CZ et al., "An experimental study on thrombotic inhibition effect of *Radix Salviae Miltiorrhizae*" *Acta Acad Med Prim Shanghai* 1979;6:145-9.

42. Mo QX et al., "Dynamics of 3H-Borneol" *Propriet Trad Chin Med Res* 1982; 8: 5-7.

43. Zheng RX et al., "Preservation effect of *Radix Salviae Miltiorrhizae* on myocardial ischemia induced by coronary ligation in mice" *Chin J Integr Med* 1992; 12:424-6.

