



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122198** (13) **C2**
(51) МПК**A61K 36/537** (2006.01)**A61K 9/16** (2006.01)**A61P 9/14** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

- (21) Номер заявки: **а 2016 00335**
- (22) Дата подання заявки: **17.06.2014**
- (24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **13.10.2020**
- (31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **201310237560.4, 201310237932.3**
- (32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **17.06.2013, 17.06.2013**
- (33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **CN, CN**
- (41) Публікація відомостей про заявку: **10.03.2016, Бюл.№ 5**
- (46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **12.10.2020, Бюл.№ 19**
- (86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **РСТ/CN2014/080077, 17.06.2014**

- (72) Винахідник(и):
**Янь Сіцзюнь (CN),
Чжан Шуньнань (CN),
Є Чженлян (CN),
Чжоу Ліхун (CN),
Дун Хай'оу (CN),
Чжан Веньшен (CN),
Чжан Хунбо (CN),
Ма Чанюй (CN),
Чжен Юнфен (CN),
Фань Ліцзюнь (CN)**
- (73) Володілець (володільці):
**ТАСЛІ ФАРМАСЬЮТИКАЛ ГРУП КО., ЛТД.,
Tasly Modern TCM Garden, Pu Jihe East Road No. 2, Beichen District, Tianjin 300410, China (CN)**
- (74) Представник:
Михайлюк Ганна Валентинівна, реєстр. №184
- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
Han J.Y. Compound Danshen injection improves endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat mesentery / J.Y. Han, Y. Horie, S. Miura et al. // World J Gastroenterol. – 2007 Jul 14. – No 26. – Vol. 13. – P. 3581-3591
Tian T. Effects of Salviae miltiorrhizae and salvianolic acid B on microcirculation of liver in mice with portal hypertension / T. Tian, L.M. Xu // Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao. – 2009 Feb. – No 2. – Vol. 7. – P. 151-156
CN 1827130 A, 06.09.2006
CN 102229627 A, 02.11.2011
CN 102846705 A, 02.01.2013
CN 102772487 A, 14.11.2014
Cai W. Study on Extraction And Refinement of Salvia Miltiorrhiza / W. Cai // Chinese archives of traditional chinese medicine. – Vol. 11. – No. 30. – pages 2565 - 2570, abstract
CN 103127220 A, 05.05.2013
CN 101773546 A, 14.07.2010
CN 102133194 A, 27.07.2011
CN 102229627 A, 02.11.2011
CN 1943618 A, 11.04.2007
CN 101040907 A, 26.09.2007

(54) ЕКСТРАКТ DANSHEN, СКЛАД НА ЙОГО ОСНОВІ У ФОРМІ МІКРОПЕЛЕТ, СКЛАД У ФОРМІ КАПСУЛИ З МІКРОПЕЛЕТАМИ, ОДЕРЖАНИЙ З НЬОГО, СПОСОБИ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ**(57) Реферат:**

Винахід належить до медицини, більш конкретно, до екстракту Danshen (Radix Salvia miltiorrhiza), складу на його основі у формі мікропелет, капсули з мікропелетами, що містить зазначений склад, способів одержання та застосування екстракту Danshen. Екстракт отримують екстрагуванням Danshen за допомогою етанолу та води, при цьому співвідношення в частинах

UA 122198 C2

за вагою його компонентів елемент Danshensu:розмаринова кислота:літоспермова кислота:сальвіанолова кислота В:криптотаншинон:таншинон ІІА: стахіоза становить (0,5-16):(0,5-15):(0,5-15):(5-140):(0,5-25):(1-50):(150-600). Об'єкт даного винаходу характеризується доброю стабільністю, містить малі кількості залишку розчинника, поліпшує мікроциркуляцію та зменшує рівні ліпідів у крові.

ГАЛУЗЬ ВІНАХОДУ

Даний винахід відноситься до галузі медицини, більш конкретно, до нового екстракту *Salvia miltiorrhiza* та складу на його основі у формі мікропелет, а також капсули з мікропелетами, одержаної з нього. Також даний винахід відноситься до складу, який містить вищевказаний екстракт *Salvia miltiorrhiza*, способів його одержання та його застосувань.

ПЕРЕДУМОВИ ДАНОГО ВІНАХОДУ

Radix salvia miltiorrhiza (китайська назва Danshen) являє собою висушений корінь, який отримують від рослини *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Його застосовують для лікування стенокардії при ішемічній хворобі серця (CHD) в Китаї протягом приблизно тисячолітньої історії. Перший запис про Danshen з'явився в класичній Shen Nong Materia Medica династії Хань, і там він описаний як першокласний засіб. В ньому стверджувалось, що він впливає на припинення болю шляхом циркуляції Ці, заспокоєння розуму шляхом заспокійливого впливу на серце, охолодження крові шляхом відведення тепла та усунення стази шляхом активації крові.

Починаючи з минулого століття, з розвитком способів хімічного розділення та виникненням сучасної біохімії рослин, хімічні складові Danshen стали досліджувати додатково.

Дослідження показали, що в Danshen існує, головним чином, дві групи біологічно активних складових: одна категорія являє собою жиророзчинну біологічно активну складову, представлену таншіноном, а інша являє собою водорозчинну біологічно активну складову, представлену сальвіаноловою кислотою. Було доведено, що серед багатьох жиророзчинних біологічно активних складових таншінон характеризується множинними антисептичними, протизапальними впливами, усуває стаз за допомогою активації крові та стимулює загоєння ран. В останні роки за результатами досліджень висунули припущення про те, що водорозчинна біологічно активна складову, імовірно, являє собою таку, що відіграє роль в усуненні стази за допомогою активації крові. Наприклад, сальвіанолова кислота А характеризувалася значним захисним впливом на спричинене I/R пошкодження міокардіальних клітин, в той час як сальвіанолові кислоти у сукупності демонстрували більш сильний вплив на аритмію, спричинену I/R. Було підтверджено, що сальвіанолова кислота А, сальвіанолова кислота В і сальвіанолові кислоти у сукупності характеризуються захисними впливами на спричинене I/R пошкодження головного мозку у щурів, яке могло б призвести до зменшення вмісту MDA в тканині головного мозку. Сальвіанолові кислоти характеризуються не лише протитромбозними впливами, але також захисним впливом на печінку та нирки. Крім того, вони характеризувалися сильним антиоксидантним впливом, внаслідок чого можуть видаляти супероксид-аніон та вільні радикали, перешкоджати перекисному окисненню ліпідів тощо. (Guanhua DU etc, Basic Medical Science and Clinics, 2000, 20(5): 10-14).

На даний момент спосіб екстрагування водорозчинної фракції Danshen зосереджений на способах екстрагування за допомогою води, а потім розділення за допомогою колонки зі смолою або колонки з поліамідним адсорбентом. Наприклад, у Takashi Tanaka та співавт. повідомлялося про спосіб екстрагування сальвіанолату (Chemical Pharmaceutical Bulletin, 1989, 37(2), 340-344). Крім того, KojiHase та співавт. (PlantaMedica, 1997, 63, 22-26), Yaming XU та співавт. (патент Китаю CN1247855A, опублікований у березні 2000 року), Ping LIU та співавт. (патент Китаю CN1270809A, опублікований у жовтні 2000 року) та Lianniang LI та співавт. (патент Китаю 01142288.2, опублікований у вересні 2001 року) розкривали подібні способи екстрагування сальвіанолових кислот з Danshen.

З попереднього рівня техніки відомо, що способи екстрагування Danshen зазвичай поділяли на наступні категорії:

1. Danshen екстрагували за допомогою води з одержанням водної екстракційної рідини, після чого проводили концентрування й осадження етанолом з одержанням надосадової рідини. Одержану надосадову рідину концентрували з одержанням первинного екстракту Danshen з сальвіаноловими кислотами у ролі основних складових.

2. Danshen настоювали на воді для одержання водної екстракційної рідини, після чого проводили концентрування й осадження етанолом з одержанням надосадової рідини. Одержану надосадову рідину певною мірою концентрували та пропускали через колонку з макропористою смолою або колонку з поліамідним адсорбентом. Колонку елюювали за допомогою води й етанолу, з одержанням елюата, який концентрували та висушували з одержанням екстракту з сальвіаноловими кислотами у ролі основних складових.

3. Danshen екстрагували за допомогою надкритичної рідинної екстракції з CO₂ з одержанням екстракту таншінону та залишок настоювали на воді й осаджували за допомогою етанолу з одержанням надосадової рідини. Одержану вище надосадову рідину пропускали через колонку зі смолою, яку елюювали водою та етанолом з одержанням розчинного у воді екстракту.

Згідно з вищевказаними способами у ролі біологічно активних складових зазвичай вибирають одну частину фракцій, наприклад, сальвіанолові кислоти або таншінони. Коефіцієнт використання Danshen є відносно низьким, оскільки іншу частину біологічно активних складових витрачають непродуктивно й екстрагують не всі складові Danshen. Це буде призводити до

5 непродуктивної витрати ресурсу лікарського препарату.

Незаповнена мікропелета є загальновідомим носієм під час одержання фармацевтичних препаратів, який застосовують для більшості комерційно доступних капсул. Спочатку незаповнену мікропелету завантажують лікарським засобом і наносять на неї покриття з одержанням цільової мікропелети, що характеризується певною властивістю вивільнення. Вона

10 має добру плинність, здатність до легкого завантаження у капсулу, малу кількісну різницю при заповненні, стабільне вивільнення тощо. Мікропелету широко застосовують в галузі фармацевтики. У ролі носія її можна як спресовувати в таблетку, так і завантажувати в капсулу. Мікропелета не лише покращує стабільність лікарського препарату, але також ефективно регулює швидкість вивільнення лікарського препарату. В ролі системи для доставки лікарського

15 засобу мікропелета характеризується своїми власними терапевтичними переваги, наприклад, меншим подразненням кишечника, зменшеним "вибуховим" ефектом лікарського засобу та підвищеною безпекою лікарського засобу.

Технологія завантаження незаповненої мікропелети лікарським засобом застосовується протягом багатьох років, але в цьому задіяно небагато продуктів традиційної китайської

20 медицини (ТСМ). Існують деякі недоліки в технології завантаження лікарським засобом ТСМ, наприклад, мала кількість завантаження лікарським засобом, нестабільність і незадовільний зовнішній вигляд тощо.

РОЗКРИТТЯ ДАНОГО ВИНАХОДУ

Для того, щоб ефективно використовувати лікарську сировину Danshen, що забезпечує

25 повний прояв фармакологічного ефекту Danshen, ціллю даного винаходу є одержанням екстракту Danshen з більш сильною фармакологічною активністю. Після технологічного поліпшення для вищевказаного екстракту Danshen була розроблена відповідна технологія завантаження лікарським засобом і додаткового одержання у формі мікропелети з Danshen.

У даному винаході екстракт Danshen визначають за будь-яким з наведених далі

30 пронумерованих пунктів.

1. Екстракт Danshen, який відрізняється тим, що зазначений екстракт містить наступні компоненти в частинах за вагою: Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон IIA: стахіоза = (0,5-16): (0,5-15): (0,5-15): (5-140): (0,5-25): (1-50): (150-600).

35 2. Екстракт за пунктом 1, який відрізняється тим, що зазначений екстракт містить наступні компоненти в частинах за вагою: Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон IIA: стахіоза = (1-8): (1-8): (1-8): (10-70): (1-10): (2-20): (250-500).

3. Екстракт за пунктом 2, який відрізняється тим, що зазначений екстракт містить наступні компоненти в частинах за вагою: Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон IIA: стахіоза = (2-5): (2-5): (2-5): (25-60): (2-6): (4-10): (300-450).

4. Екстракт за пунктом 3, який відрізняється тим, що зазначений екстракт містить наступні компоненти в частинах за вагою: Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон IIA: стахіоза = (2-4): (2-4): (2-4): (25-30): (2-5): (4-10): (330-400).

5. Екстракт за пунктом 4, який відрізняється тим, що зазначений екстракт містить наступні компоненти в частинах за вагою: Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон IIA: стахіоза = 3: 3: 3: 28: 4: 7: 370.

50 6. Склад у формі мікропелет, що містить будь-який з вищевказаних екстрактів Danshen за пунктами 1-5 у ролі активного фармацевтичного інгредієнта (API).

7. Мікропелета за пунктом 6, яка відрізняється тим, що об'ємна густина зазначеної мікропелети становить 0,6-1,3 г/мл, питома площа поверхні 0,005-0,05 м²/г і розмір частинки 0,5-1,8 мм.

55 8. Мікропелета за пунктом 6 або 7, яка відрізняється тим, що об'ємна густина зазначеної мікропелети становить 0,8-1,1 г/мл, питома площа поверхні 0,01-0,03 м²/г і розмір частинки 0,7-1,2 мм.

9. Спосіб одержання екстракту Danshen, який передбачає наступні етапи:

(1) Danshen екстрагують за допомогою спирту та фільтрують з одержанням спиртової екстракційної рідини та залишку А для подальшого застосування;

60

(2) залишок А екстрагують за допомогою води, фільтрують з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, який підлягає відкиданню;

(3) відповідно, спиртову та водну екстракційні рідини охолоджують і дають їм відстоятися, та обидві надосадові рідини збирають з одержанням спиртової та водної надосадової рідини, відповідно;

(4) вищевказану водну надосадову рідину концентрують з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додають спиртову надосадову рідину, об'єднують і концентрують з одержанням змішаного концентрованого розчину;

(6) до змішаного концентрованого розчину додають очищену воду, добре перемішують з одержанням екстракту Danshen.

10. Спосіб за пунктом 9, який відрізняється тим, що на етапі (1) спирт являє собою етанол з концентрацією, що становить 50-100 % (об'єм/об'єм), у кількості, що в 2-7 разів перевищує вагу лікарської сировини, а час екстрагування становить 0,5-4 години.

11. Спосіб за пунктом 9 або 10, який відрізняється тим, що на етапі (2) кількість води, яку додають, в 3-7 разів перевищує вагу залишку А, а час екстрагування становить 0,5-4 години.

12. Способи за будь-яким з пунктів 9-11, які відрізняються тим, що на етапі (3) зазначений спосіб охолодження та відстоювання передбачає наступні етапи: екстракційну рідину перемішують протягом 20-60 хв. і дають відстоятись протягом 6-24 годин при температурі, зниженої до 15 °С або нижче, перед збиранням надосадової рідини.

13. Способи за будь-яким з пунктів 9-12, які відрізняються тим, що на етапі (4) водну надосадову рідину концентрують до відносної густини, що становить 1,10-1,35, з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини.

14. Способи за будь-яким з пунктів 9-13, які відрізняються тим, що на етапі (6) до змішаного концентрованого розчину додають 10 л – 100 л очищеної води кількома порціями, по 5 л – 50 л щоразу, перемішують і концентрують під вакуумом з одержанням екстракту з відотною густиною, що становить 1,25-1,35 при 82,5±2,5 °С.

15. Способи за будь-яким з пунктів 9-14, які відрізняються тим, що зазначений спосіб передбачає наступні етапи:

беруть мелений Danshen, додають у неї 400±12 л етанолу (90±0,5 %), настоюють протягом 90±5 хв., фільтрують через сито 200 меш, перемішують і поміщають у бак для розділення. До одержаного залишку додають 500±15 л води для другого настоювання протягом 60±3 хв., фільтрують через сито 200 меш і залишок відкидають. Водну екстракційну рідину перемішують і поміщають в інші баки. Спиртову змішану екстракційну рідину та водну змішану екстракційну рідину вміщують в різні баки для розділення, через які пропускають холодну воду для охолодження, та дають відстоятись. Після 30 хв. перемішування екстракційну рідину охолоджують до 15 °С або нижче протягом 4 годин і дають відстоятись протягом 6-24 годин. Водну надосадову рідину та спиртову надосадову рідину переносять у відповідні баки. Спочатку водну надосадову рідину концентрують до водної концентрованої екстракційної рідини з відотною густиною, що становить 1,25-1,30 (82,5±2,5 °С), в яку поступово додають спиртову надосадову рідину, додатково перемішують і концентрують. Під час процесу концентрування густина концентрованого розчину становить не менше 1,15. Якщо густина змішаного концентрованого розчину становить ≥1,34, додають за два рази 10 л очищеної води, по 5 л щоразу (45±5 °С), перемішують, концентрують до відносної густини, що становить 1,33-1,35 (82,5±2,5 °С), і відразу фільтрують через сито 40 меш з одержанням екстракту Danshen.

16. Способи за будь-яким з пунктів 9-15, які відрізняються тим, що одержаний згідно з зазначеним способом екстракт Danshen містить наступні компоненти в частинах за вагою:

Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптантаншінон: таншінон ІІА: стахіоза=(0,5-16): (0,5-15): (0,5-15): (5-140): (0,5-25): (1-50): (150-600).

17. Спосіб за пунктом 16, який відрізняється тим, що одержаний екстракт Danshen містить наступні компоненти в частинах за вагою:

Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптантаншінон: таншінон ІІА: стахіоза=(1-8): (1-8): (1-8): (10-70): (1-10): (2-20): (250-500).

18. Спосіб за пунктом 17, який відрізняється тим, що одержаний екстракт Danshen містить наступні компоненти в частинах за вагою:

Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптантаншінон: таншінон ІІА: стахіоза=(2-5): (2-5): (2-5): (25-60): (2-6): (4-10): (300-450).

19. Спосіб за пунктом 18, який відрізняється тим, що одержаний екстракт Danshen містить наступні компоненти в частинах за вагою:

Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон ІІА: стахіоза=(2-4): (2-4): (2-4): (25-30): (2-5): (4-10): (330-400).

20. Спосіб за пунктом 19, який відрізняється тим, що одержаний екстракт Danshen містить наступні компоненти в частинах за вагою:

5 Danshensu: розмаринова кислота: літоспермова кислота: сальвіанолова кислота В: криптотаншінон: таншінон ІІА: стахіоза=3: 3: 3: 28: 4: 7: 370.

21. Спосіб одержання мікропелет, що містять екстракт Danshen, який передбачає наступні етапи:

10 (1) екстракт Danshen і незаповнену мікропелету у ваговому співвідношенні, що становить 1:5-5:1, беруть для подальшого застосування;

(2) подача та псевдозрідження: незаповнену мікропелету з визначеним дозуванням вносять у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої в псевдозрідженому шарі;

15 (3) завантаження лікарським засобом на ранній стадії: поки температура матеріалу не досягає 40-60 °С рідину розпилюють і наносять на поверхню мікропелети зі швидкістю 70-120 г/хв. Зазначена рідина, яку розпилюють, являє собою дрібні краплі, одержані шляхом дрібнодисперсного розбризкування заздалегідь приготованої суміші екстракту Danshen, одержаного шляхом розбавлення екстракту Danshen водою;

20 (4) стадія завантаження лікарським засобом: коли температура матеріалу досягає 40-60 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшують об'єм розпилення. Діаметр мікропелети та швидкість розпилення збільшують поступово з одержанням гранули з діаметром 0,5-1,8 мм.

25 22. Спосіб за пунктом 21, який відрізняється тим, що зазначений спосіб додатково передбачає етап (5): після розпилення завантаженої лікарським засобом мікропелету покривають шляхом розпилення покривної рідини; при цьому температура покривного матеріалу становить 40-60 °С, швидкість розпилення 40-300 г/хв., час нанесення покриття 1-4 години та концентрація покривної рідини 5-25 %.

23. Спосіб за пунктом 22, який відрізняється тим, що зазначений спосіб передбачає наступні етапи:

30 (1) екстракт Danshen і незаповнену мікропелету у ваговому співвідношенні, що становить 1:3-3:1, переважно 2:1-1:1, беруть для подальшого застосування;

35 (2) подача та псевдозрідження: при об'ємі повітря 600-1500 м³/год. незаповнену мікропелету вносять у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої в псевдозрідженому шарі. Однак псевдозрідження має бути не занадто сильним, аби запобігти стиранню та перетворенню незаповненої мікропелети на порошок. Через це, незаповнену мікропелету слід покривати краплями, що дрібнодисперсно розбризкуються за допомогою пістолета-розпилювача;

40 (3) завантаження лікарським засобом на ранній стадії: пістолет-розпилювач і тиск розпилення регулюють з одержанням рідин, що дрібнодисперсно розбризкуються у вигляді маленьких крапель. Екстракт подають у пістолет-розпилювач за допомогою насоса-дозатора. Рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлюють на 2,0-3,0 бар і 2,5-3,5 бар, відповідно. Температура матеріалу становить 50 °С. Поки температура матеріалу не досягла 45 °С розчин, що подається, починають розпилювати зі швидкістю 120 г/хв.;

45 (4) стадія завантаження лікарським засобом: коли матеріал сягає 45-55 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшують об'єм розпилення, але максимальна швидкість становить не більше ніж 400 г/хв. Об'єм повітря регулюють відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети;

50 (5) нанесення покриття: після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилюють для нанесення покриття. Спочатку температуру матеріалу встановлюють на 50 °С, а швидкість розпилення на 80 г/хв. Після 20 хв. нанесення покриття швидкість розпилення можна відрегулювати до 80-150 г/хв., температуру матеріалу контролюють на рівні 40-55 °С. Швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулюють відповідно до адгезивних властивостей мікропелети.

55 24. Спосіб за пунктом 23, який відрізняється тим, що розчин екстракту лікарського препарату готують шляхом розбавлення екстракту Danshen водою. Вагове співвідношення екстракту Danshen і води становить 100: 60-100, переважно 100: 70-90, більш переважно 100: 75-85.

25. Способи за будь-яким з пунктів 21-24, які відрізняються тим, що зазначена мікропелета являє собою мікропелету за будь-яким з пунктів 6-8.

26. Застосування екстрактів Danshen за будь-яким з пунктів 1-5 або складу у формі мікропелет за будь-яким з пунктів 6-8 в одержанні лікарських засобів для покращення мікроциркуляції або зниження рівня ліпідів у крові.

Згідно з даним винаходом, екстракт Danshen містить як водорозчинні, так і жиророзчинні складові Danshen. Завдяки регулюванню процесу водорозчинні та жиророзчинні складові рівномірно розподіляються у зазначеному екстракті Danshen. З іншого боку, в даному способі встановлюють порядок концентрацій і відносну густину, які будуть ефективно запобігати зменшенню концентрації таншінону, спричиненому тривалим концентруванням за високої температури. Жиророзчинні складові Danshen ефективно зберігаються після екстрагування Danshen за допомогою спирту, який може поліпшувати стабільність екстракту. Разом з цим, додавання води до концентрату на пізнішій стадії концентрування може зменшувати кількість залишкових органічних розчинників в екстракті.

Згідно з даним винаходом, як видно з результату перевірки на ефективність, екстракт Danshen проявляє свої ефекти, значно поліпшуючи ангіектазію капілярів мікроциркуляції у вушній раковині мишей, додатково поліпшуючи мікроциркуляцію. З іншого боку, як видно з результату перевірки на ефективність, екстракт Danshen впливає на зниження рівня ліпідів в крові.

Згідно з даним винаходом склад у формі мікропелет має меншу кількість носіїв і меншу одноразову дозу, зазвичай 0,1-4 г в кожному випадку. За морфологією він має правильну форму сферичної або кулястої частинки з гладенькою поверхнею. Зазначений склад у формі мікропелет характеризується відмінними фізичними властивостями, наприклад, доброю плинністю, рівномірно розподіленим розміром часток, компактною структурою та стійкістю до стискання, стійкістю до стирання, високою густиною (об'ємна густина: 0,6-1,3 г/мл), малою питомою площею поверхні (0,005-0,05 м²/г, переважно 0,01-0,03 м²/г) і короткотерміновою межею розпадання. Такі властивості можуть не лише поліпшувати дотримання пацієнтом призначеного йому режиму терапії, але можуть також полегшити фактичне застосування методики нанесення покриття, таким чином, вирішуючи проблеми легкої абсорбції вологи та нестабільності. Крім того, окрім застосування у ролі нормальної гранули, зазначену мікропелету за даним винаходом можна застосовувати у ролі безпосереднього продукту, гранул складу або завантажувати в капсули. На додаток до цього, зазначену мікропелету можна одержувати під час виготовлення різних видів лікарських форм з покриттям, складу з тривалим або контрольованим вивільненням або складу для доставки лікарського засобу до специфічного місця тощо.

ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

На фігурі 1 показана діаграма порівняння екстрактів Danshen, одержаних за допомогою двох різних способів концентрування: (1) адгезія на колбі після вивантаження екстракту Danshen; (2) промивання колби водою; (3) промивання колби 95 % спиртом. При цьому на (а) показано, що спиртову екстракційну рідину спочатку концентрували та до неї додавали водну екстракційну рідину; на (b) показано, що водну екстракційну рідину спочатку концентрували та до неї поступово додавали спиртову екстракційну рідину.

На фігурі 2 зображено покриття, одержане за допомогою двох різних способів концентрування.

На фігурі 3 показана крива залежності смертності даніо-періо від концентрації екстракту Danshen.

На фігурі 4 показана ділянка для кількісного аналізу ліпідів у крові даніо-періо, у якій рівень ліпідів у крові кількісно аналізували у ділянці, позначеній суцільною лінією.

На фігурі 5 показана фарбування судинного жиру у хвості даніо-періо через 48 годин після обробки за допомогою різних концентрацій.

На фігурі 6 показана гістограма зменшеного рівня ліпідів у крові, спричиненого дією екстракту Danshen, одержаного за допомогою різних способів концентрування у даніо-періо.

ВАРІАНТИ ЗДІЙСНЕННЯ

Згідно варіанту здійснення даного винаходу на етапі (3) способу одержання екстракту Danshen охолодження та відстоювання означає, що екстракт перемішують протягом 20-60 хв. при цьому його температура знижується до 15 °C або нижче, екстракт залишають відстоюватись протягом 6-24 годин і збирають надосадову рідину. За допомогою охолодження до кімнатної температури або нижче можна швидко видалити домішки, наприклад, частинки ґрунту. Низька температура може зменшувати час відстоювання, що потрібно для промислового виробництва, забезпечуючи стабільність таншінону та сальвіанолових кислот.

Згідно варіанту здійснення даного винаходу на етапі (5) способу одержання екстракту Danshen до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додають спиртову

надосадову рідину з етапу (3), об'єднують і концентрують під зниженим тиском з одержанням змішаної концентрованої рідини з відносною густиною $\geq 1,20$. Якщо спиртову надосадову рідину спочатку концентрувати окремо, то таншінони піддаватимуться випаданню в осад і злипанню зі зниженням концентрації спирту в рідині, насамкінець прилипаючи до стінки пристрою. Згідно з даним способом до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додають спиртову надосадову рідину, комбінують і концентрують, що змушує таншінони у спиртовій надосадовій рідині добре диспергуватися у водній концентрованій екстракційній рідині. Через це показано, що екстракт, одержаний способом концентрування за даним винаходом, має однаковий розмір частинок, які ефективно запобігають зниженню концентрації таншінонів, спричиненому довгостроковим концентруванням за високої температури, та зберігають відносно високий рівень вміст жиророзчинних складових, одержаних за допомогою спиртової екстракції. При фактичному одержанні екстракт характеризується простими вимогами щодо обладнання для очищення, є легким в користуванні та його можна виробляти в промислових масштабах. Більш важливо, він буде корисним для подальшого одержання складу. Наступним шагом, здійснюють експерименти для ретельного вивчення впливів різних способів концентрування на властивості екстрактів Danshen.

Згідно з варіантом здійснення даного винаходу, на етапі (6) способу одержання екстракту Danshen 10 л очищеної води додають до змішаного концентрованого розчину двічі, по 5 л щоразу, об'єднують, концентрують під зниженим тиском до відносної густини, що становить 1,25-1,35 при $82,5 \pm 2,5$ °C, і відразу ж відфільтровують з одержанням екстракту Danshen. Додавання води призначене для випаровування спирту, контролю залишкового спирту та поліпшення якості екстракту Danshen. Продукт, одержаний за допомогою способу за даним винаходом, може відповідати вимогам ЄС щодо залишкового спирту в екстракті ($\leq 0,5$ %).

Екстракт Danshen згідно з даним винаходом оцінювали за допомогою способу, розкритого у попередньому рівні техніки.

(1) Визначення вмісту таншінону IIA і криптотаншінону (посилання на підпункти в розділі Radix salvia miltiorrhiza у Китайській фармакопеї (2010))

Застосовували наступні хроматографічні умови та придатність системи: у ролі заповнювача застосовували колонку з C_{18} -модифікованим силікагелем; у ролі рухомої фази метанол-воду (75:25); довжина хвилі при детекції – 270 нм. Теоретичне число тарілок, розраховане для піку таншінону IIA, було не нижчим за 2000.

Одержання стандартного розчину: відповідну кількість криптотаншінону та таншінону IIA точно відважували, поміщали в коричневу мірну колбу та додавали метанол з одержанням стандартного розчину, що містить 16 мкг криптотаншінону та таншінону IIA на мл.

Одержання розчину зразка: брали приблизно 0,2 г екстракту Danshen, точно відважували та вміщали в 10 мл мірну колбу. Додавали метанол для розчинення за допомогою обробки ультразвуком протягом 30 хв., охолоджували до кімнатної температури, потім додавали метанол до об'єму, збовтували та пропускали через 0,22 мкм органічну мембрану з одержанням розчину зразка.

Спосіб аналізу: точно відбирали по 5 мкл стандартного розчину та розчину зразка, відповідно, вводили до системи ВЕРХ і вимірювали з одержанням результату.

(2) Визначення вмісту сальвіанолових кислот

Застосовували наступні хроматографічні умови та придатність системи: у ролі заповнювача застосовували колонку з C_{18} -модифікованим силікагелем (2,1×100 мм, 1,8 мкм); у ролі рухомої фази А 0,05 % (мл/мл) водний розчин сірчаної кислоти, у ролі рухомої фази В розчин ацетонітрилу шляхом градієнтного елювання згідно з таблицею 1; зі швидкістю потоку 0,4 мл/хв.; довжина хвилі при детекції становила 280 нм, температура колонки 40 °C і тривалість запису 12 хв. Теоретичне число тарілок, розраховане для піку Danshensu, було не нижчим за 8000.

Таблиця 1:

Градiєнтне елювання для визначення сальвіанолових кислот

Час	A (0,05 % розчин фосфорної кислоти) (%)	B (ацетонітрил) (%)
0-1,6	93→82	7→18
1,6-1,8	82→79,2	18→20,8
1,8-6,1	79,2→75	20,8→25
6,1-8,0	75→65	25→35
8,0-8,5	65→10	35→10
8,5-10,5	10	90
10,5-11,0	10→93	90→7
11,0-12,0	93	7

Одержання стандартного розчину: відповідну кількість Danshensu, розмаринової кислоти, літоспермової кислоти та сальвіанолової кислоти Б точно відважували та вміщували в 100 мл мірну колбу. Додавали 75 % метанол для розчинення до об'єму та збовтували з одержанням стандартного розчину з концентрацією, яка становила 0,03, 0,04, 0,04, 0,5 мг/мл.

Одержання розчину зразка: приблизно 0,1 г зразка речовини точно відважували, вміщали в 10 мл мірну колбу та додавали очищену воду для розчинення за допомогою обробки ультразвуком протягом 15 хв. Воду додавали для об'єму та пропускали через 0,22 мкм водну мембрану з одержанням розчину зразка.

Спосіб аналізу: точно відбирали по 2 мкл стандартного розчину та розчину зразка, відповідно, та вводили до системи ВЕРХ для визначення за допомогою методу із застосуванням зовнішнього стандарту.

(3) Визначення вмісту стахіози

Хроматографічні умови та придатність системи

Хроматографічні умови колонки з аміносілікагелем:

Hypersil-NH2 колонка з аміносілікагелем (4,6 мм×250 мм, 5 мкм), Dalian Elite, температура колонки 40 °C; у ролі рухомої фази застосовували ацетонітрил-воду (об'єм/об'єм=70:30) зі швидкістю потоку 1,0 мл/хв.

Одержання стандартного розчину: відповідну кількість стахіози точно відважували та вміщали в 10 мл мірну колбу. Додавали воду для розчинення до об'єму з одержанням вихідного розчину стахіози з концентрацією, що становить 5 мг/мл.

Одержання розчину зразка: 0,1 г речовини зразка точно відважували, вміщали в 10 мл мірну колбу та додавали очищену воду для розчинення за допомогою обробки ультразвуком протягом 15 хв. Додавали воду до об'єму та пропускали через 0,22 мкм водну мембрану з одержанням розчину зразка.

Спосіб аналізу: точно відбирали по 2 мкл стандартного розчину та розчину зразка, відповідно, та вводили до системи ВЕРХ для визначення за допомогою методу із застосуванням зовнішнього стандарту.

Згідно з варіантом здійснення даного винаходу незаповнена мікропелета, також відома як незаповнена пелета або лікарська пелета, відома з попереднього рівня техніки й є комерційно доступною. Ядра лікарських пелет переважно включають лікарську пелету (сахарозного типу), пелету з мікрокристалічної целюлози та крохмальну пелету тощо. Зазначена незаповнена мікропелета даного винаходу являє собою пелету, вибрану з крохмальної пелети, пелети з PEG-6000, сахарозної пелети або пелети з мікрокристалічної целюлози, переважно крохмальної пелети або пелети з PEG-6000. Ця пелета демонструє ряд переваг, що пов'язані з високим завантаженням лікарським засобом, легким нанесенням покриття, легким контролем і можливістю застосування в промислових масштабах.

Згідно з варіантом здійснення даного винаходу завантажену лікарським засобом мікропелету можна одержати у формі капсул з пелетами після додаткової обробки. Зазначену мікропелету покривають, просівають для одержання покритих мікропелет, які завантажують у порожні капсули з одержанням капсул з пелетами TCM.

ПРИКЛАДИ

Наступні експериментальні приклади запропоновані лише з метою додаткового ілюстрування даного винаходу, а не як обмеження даного винаходу.

Якщо не вказано інше, % та % у даному винаході стосуються вагового співвідношення.

Експеримент 1: Вплив різних способів концентрування на екстракт Danshen

Наступні експерименти здійснювали для дослідження впливу різних способів концентрування на ряд характерних властивостей, розподіл частинок і склад сальвіанолових кислот.

450 г Danshen точно відважували, екстрагували 4 рази 90 % етанолом протягом 1,5 години та фільтрували з одержанням розчину екстракту; одержані залишки кип'ятили в колбі зі зворотнім холодильником з додаванням 5-кратної кількості води протягом 1 години, фільтрували, таким чином, одержували спиртову екстракційну рідину та водну екстракційну рідину. Паралельну екстракцію повторювали двічі для кожного експерименту.

1-а схема: спиртову екстракційну рідину спочатку концентрували, після цього поступово додавали водну концентровану екстракційну рідину, об'єднували та концентрували з одержанням екстракту з градусом цукру 86 ± 2 %.

2-а схема: водну екстракційну рідину спочатку концентрували до градуса цукру 84 ± 2 %, після цього додавали спиртову екстракційну рідину, об'єднували та концентрували з одержанням екстракту з градусом цукру 86 ± 2 %.

Спочатку досліджували адгезію на колбі після вивантаження екстракту Danshen (фіг. 1(1)), промивання колби водою (фіг. 1(2)) і промивання колби 95 % спиртом (фіг. 1(3)) для порівняння переваг і недоліків двох схем. Одержували наступні результати:

Як показано на фіг. 1(1), рясна чорна зола й адгезія на колбі були значними за 1-ої схеми, а за 2-ої схеми зола була незначною й однорідною. Екстракт, одержаний за допомогою способу концентрування за 2-ою схемою, мав кращі характеристики.

Як показано на фіг. 1(2), рясна чорна зола й адгезія на колбі були значними за 1-ої схеми, а за 2-ої схеми адгезія на стінці була меншою. Спосіб концентрування за 2-ою схемою забезпечував кращий ефект від промивання обладнання водою.

Як показано на фіг. 1(3), рідина для промивання з 95 % етанолу була сильно забарвленою за 1-ої схеми та менш забарвленою за 2-ої схеми.

Підводячи підсумки, з точки зору зовнішнього вигляду екстракту Danshen та подальшого промивання механічного обладнання, спосіб концентрування за 2-ою схемою був кращим варіантом, а саме, спочатку концентрували водну екстракційну рідину, після цього поступово додавали спиртову екстракційну рідину, об'єднували та концентрували.

Як показано на фіг. 2, що видно з фотографії покриття з екстракту Danshen, було виявлено, що рясна та чорна зола осаджувалася в екстракті Danshen, одержаному за 1-ою схемою, та невелика кількість золи рівномірно розподілялася в екстракті Danshen, одержаному за 2-ою схемою, що спричиняло менший вплив на наступний склад.

Крім того, розподіл за розміром частинок у екстрактів Danshen, одержаних за двома схемами, вимірювали за допомогою фармакопейного сита.

Відповідно, брали по 50 г екстрактів Danshen з кожної партії, в які додавали 5-кратну кількість води для розчинення з одержанням рідин з екстрактом. Одержані рідини пропускали через фармакопейні сита № 1-8 (сита, послідовно розміщені одне над одним), промивали за допомогою приблизно 500 мл дистильованої води та спостерігали розподіл за розміром частинок на кожному ситі. Після цього частинки на кожному ситі змивали, збирали, фільтрували за допомогою повітряного насоса та сушили, зважували разом з фільтрувальним папером. Результати показані в таблиці 2.

Таблиця 2:

Аналіз розміру частинок в екстрактах Danshen, одержаних за допомогою двох способів концентрування

Фармакопейне сито	1-а схема (‰)	2-а схема (‰)
№ 1 (10 меш)	32,98	—
№ 2 (24 меш)	7,58	—
№ 3 (50 меш)	5,57	—
№ 4 (65 меш)	1,09	—
№ 5 (80 меш)	0,13	—
№ 6 (100 меш)	0,49	0,05
№ 7 (120 меш)	0,11	0,43
№ 8 (150 меш)	0,28	6,32
фракція меншого розміру за № 8, %	95,18 %	99,32 %

Як показано в таблиці 2, за розміром частинок і порядком появи більш великих частинок, екстракт Danshen, одержаний за 2-ю схемою, за характеристиками був кращим, ніж одержаний за 1-ю схемою. Таким чином, спосіб концентрування за 2-ю схемою був кращим варіантом. Водну екстракційну рідину спочатку концентрували, після чого поступово додавали спиртову екстракційну рідину, об'єднували та концентрували.

Приклади 1-6 представлені нижче, аби навести приклади одержання екстрактів Danshen.

Приклад 1: Одержання екстракту Danshen

Екстракт Danshen одержували за допомогою способу, що передбачає наступні етапи:

(1) Danshen кип'ятили в колбі зі зворотнім холодильником з 5-кратною кількістю етанолу (75 %) протягом 2 годин і фільтрували з одержанням етанолової екстракційної рідини, а залишок залишали для подальшого застосування;

(2) залишок А екстрагували за допомогою 5-кратної кількості води протягом 2 годин, фільтрували з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, що підлягає відкиданню;

(3) відповідно, етанолову екстракційну рідину, одержану на етапі (1), перемішували протягом 30 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 12 годин і збирали надосадову рідину з одержанням етанолової надосадової рідини; водну екстракційну рідину, одержану на етапі (2), перемішували протягом 30 хв, охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 12 годин і збирали надосадову рідину з одержанням водної надосадової рідини;

(4) водну надосадову рідину концентрували з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини з відносною густиною 1,20-1,30;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додавали етанолову надосадову рідину, одержану на етапі (3), об'єднували та концентрували при зниженому тиску з одержанням змішаного концентрованого розчину з відносною густиною $\geq 1,20$, під час концентрування відносну густина підтримували не меншою за 1,10;

(6) до змішаного концентрованого розчину додавали 50 л очищеної води за два рази, по 25 л щоразу, добре змішували, концентрували при зниженому тиску до відносної густини 1,25-1,35 ($82,5 \pm 2,5$ °C), відразу ж фільтрували з одержанням екстракту Danshen.

Приклад 2: Одержання екстракту Danshen

Екстракт Danshen одержували за допомогою способу, що передбачає наступні етапи:

(1) Danshen кип'ятили в колбі зі зворотнім холодильником з 2-кратною кількістю етанолу (50 %) протягом 0,5 години та фільтрували з одержанням етанолової екстракційної рідини, а залишок А залишали для подальшого застосування;

(2) залишок А екстрагували за допомогою 2-кратної кількості води протягом 0,5 години, фільтрували з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, що підлягає відкиданню;

(3) відповідно, етанолову екстракційну рідину, одержану на етапі (1), перемішували протягом 20 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 6 годин і збирали надосадову рідину з одержанням етанолової надосадової рідини; водну екстракційну рідину, одержану на етапі (2), перемішували протягом 20 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 6 годин і збирали надосадову рідину з одержанням водної надосадової рідини;

(4) водну надосадову рідину концентрували з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини з відносною густиною 1,20;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додавали етанолову надосадову рідину, одержану на етапі (3), об'єднували та концентрували при зниженому тиску з одержанням змішаного концентрованого розчину з відносною густиною $\geq 1,20$, під час концентрування відносну густина підтримували не меншою за 1,10;

(6) до змішаного концентрованого розчину додавали 10 л очищеної води за два рази, по 5 л щоразу, добре перемішували, концентрували при зниженому тиску до відносної густини 1,25 ($82,5 \pm 2,5$ °C), відразу ж фільтрували з одержанням екстракту Danshen.

Приклад 3: Одержання екстракту Danshen

Екстракт Danshen одержували за допомогою способу, що передбачає наступні етапи:

(1) Danshen кип'ятили в колбі зі зворотнім холодильником з 7-кратною кількістю етанолу (100 %) протягом приблизно 4 годин і фільтрували з одержанням етанолової екстракційної рідини, а залишок А залишали для подальшого застосування;

(2) залишок А екстрагували за допомогою 7-кратної кількості води протягом приблизно 4 годин, фільтрували з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, що підлягає відкиданню;

(3) відповідно, етанолову екстракційну рідину, одержану на етапі (1), перемішували протягом 60 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 24 годин

і збирали надосадову рідину з одержанням етанолової надосадової рідини; водну екстракційну рідину, одержану на етапі (2), перемішували протягом 60 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 24 годин і збирали надосадову рідину з одержанням водної надосадової рідини;

5 (4) водну надосадову рідину концентрували з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини з відносною густиною 1,30;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додавали етанолову надосадову рідину, одержану на етапі (3), об'єднували та концентрували при зниженому тиску з одержанням змішаного концентрованого розчину з відносною густиною $\geq 1,20$, під час концентрування відносну густина підтримували не меншою за 1,10;

(6) до змішаного концентрованого розчину додавали 100 л очищеної води за два рази, по 50 л щоразу, добре перемішували, концентрували при зниженому тиску до відносної густини 1,35 (82,5 \pm 2,5 °C), відразу ж фільтрували з одержанням екстракту Danshen.

Приклад 4: Одержання екстракту Danshen

15 Екстракт Danshen одержували за допомогою способу, що передбачає наступні етапи:

(1) Danshen кип'ятили в колбі зі зворотнім холодильником з 5-кратною кількістю етанолу (75 %) протягом приблизно 2 годин і фільтрували з одержанням етанолової екстракційної рідини, а залишок А залишали для подальшого застосування;

20 (2) залишок А екстрагували за допомогою 5-кратної кількості води протягом приблизно 2 годин, фільтрували з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, що підлягає відкиданню;

(3) відповідно, етанолову екстракційну рідину, одержану на етапі (1), перемішували протягом 30 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватись протягом 12 годин і збирали надосадову рідину з одержанням етанолової надосадової рідини; водну екстракційну рідину, одержану на етапі (2), перемішували протягом 30 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 12 годин і збирали надосадову рідину, з одержанням водної надосадової рідини;

(4) водну надосадову рідину концентрували з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини з відносною густиною 1,20-1,30;

30 (5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додавали етанолову надосадову рідину, одержану на етапі (3), об'єднували та концентрували при зниженому тиску з одержанням змішаного концентрованого розчину з відносною густиною $\geq 1,20$;

(6) до змішаного концентрованого розчину додавали 50 л очищеної води за два рази, по 25 л щоразу, добре перемішували, концентрували при зниженому тиску до відносної густини 1,25-1,35 (82,5 \pm 2,5 °C), відразу ж фільтрували з одержанням екстракту Danshen.

Приклад 5: Одержання екстракту Danshen

Екстракт Danshen одержували за допомогою способу, що передбачає наступні етапи:

40 (1) Danshen кип'ятили в колбі зі зворотнім холодильником з 5-кратною кількістю етанолу (75 %) протягом, приблизно, 2 годин і фільтрували, з одержанням етанолової екстракційної рідини, а залишок А залишали для подальшого застосування;

(2) залишок А екстрагували за допомогою 5-кратної кількості води протягом приблизно 2 годин, фільтрували з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, що підлягає відкиданню;

45 (3) відповідно, етанолову екстракційну рідину, одержану на етапі (1), перемішували протягом 30 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватись протягом 12 годин і збирали надосадову рідину з одержанням етанолової надосадової рідини; водну екстракційну рідину, одержану на етапі (2), перемішували протягом 30 хв., охолоджували до 15 °C або нижче, залишали відстоюватися протягом 12 годин і збирали надосадову рідину з одержанням водної надосадової рідини;

50 (4) водну надосадову рідину концентрували з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини з відносною густиною 1,20-1,30;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додавали етанолову надосадову рідину, одержану на етапі (3), об'єднували та концентрували при зниженому тиску з одержанням змішаного концентрованого розчину з відносною густиною $\geq 1,20$, під час концентрування відносну густина підтримували не меншою за 1,10;

(6) до змішаного концентрованого розчину додавали 50 л очищеної води за два рази, по 25 л щоразу, добре перемішували, концентрували при зниженому тиску до відносної густини 1,25-1,35 (82,5 \pm 2,5 °C), відразу ж фільтрували з одержанням екстракту Danshen.

Приклад 6: Одержання екстракту Danshen

Екстракт Danshen: нарізали Danshen. Зовнішній вигляд сирого лікарського препарату оглядали, та його відважували для подальшого застосування.

Послідовність обробки вихідних матеріалів: нарізали Danshen, вводили та, по перше, настоювали на 90±0,5 % етанолі та, по-друге, на RO-воді першого пропускання, у ролі розчинника для екстракції.

Екстрагування

Одна партія продукту включала два баки для екстрагування. Згідно з прописом по 100 кг нарізаного Danshen відповідно відважували, вміщали в кожний бак, настоювали на 400±12 л етанолу (90±0,5 %) протягом 90±5 хв. і фільтрували через сито 200 меш з одержанням екстракційних рідин. Рідини з двох баків об'єднували та вміщали в бак для розділення. Одержаний залишок екстрагували, по-друге, за допомогою 500±15 л води протягом 60±3 хв., фільтрували через сито 200 меш і залишок відкидали. Водні екстракційні рідини з двох баків об'єднували та вміщали у два різні баки для розділення.

Охолодження та відстоювання

Змішані етанолові та водні розчини Danshen вміщали в різні баки для розділення, які охолоджували шляхом пропускання холодної води та давали відстоятися з одержанням екстракційної рідини. Одержану екстракційну рідину перемішували протягом 30 хв., доки температура не знижувалась до 15 °C або нижче, залишали відстоюватись протягом 6-24 годин. Етанолові та водні надосадові екстракційні рідини Danshen, відповідно, вміщали в різні баки для розділення.

Концентрування

Водну екстракційну рідину Danshen спочатку концентрували до відносної густини 1,25-1,30 (82,5±2,5 °C), в яку поступово додавали етанолову надосадову рідину Danshen і концентрували. Під час концентрування відносна густин становила не менше за 1,15. Поки відносна густина змішаної екстракційної рідини Danshen становила ≥1,34, додавали 10 л очищеної води за два рази, по 5 л (45±5 °C) щоразу, об'єднували, концентрували до відносної густини 1,33-1,35 (82,5±2,5 °C), відразу ж фільтрували через сито 40 меш з одержанням екстракту Danshen.

Склад екстрактів Danshen з прикладів 1-6 визначали за допомогою способу за даним винаходом, і результати показані в таблиці 3.

Таблиця 3:

Визначення складу екстрактів Danshen

Приклад	Складові (мг/г)						
	Danshensu	розмаринова кислота	літоспермова кислота	сальвіанолова кислота В	крипто-таншінон	таншінон IIA	стахіоза
1	0,5	0,5	0,5	5,2	0,5	1,5	150,5
2	16,7	15,2	15,5	140,1	25,4	50,2	600,1
3	1,2	1,4	1,7	10,2	1,1	2,2	250,4
4	5,03	4,71	4,19	35,32	5,67	9,36	425,9
5	8,2	8,4	7,8	139,2	9,6	20,5	597,5
6	3,1	3,0	3,1	27,7	4,0	6,9	370,4

Екстракт Danshen з прикладу 6 застосовували в наступних прикладах 7-11 для одержання мікропелети з Danshen, виходячи з наступних умов:

Сировина:

Екстракт Danshen 32,5 кг

Незаповнена мікропелета з крохмалю або PEG-6000 16,0 кг

Opadry 85G66817 1,5 кг

Одержання рідини лікарського препарату екстракту Danshen: екстракт Danshen вміщали в бак для попереднього змішування, в яку додавали 0,7-0,9-кратну кількість води, перемішували протягом 30 хв. або більше з одержанням рідини екстракту лікарського препарату.

Завантаження лікарським засобом незаповненої мікропелети з крохмалю: тиск дрібнодисперсного розбризкування та пістолет-розпилювач регулювали для дрібнодисперсного розбризкування рідини лікарського препарату у вигляді дрібних крапель.

Приклад 7: Одержання завантаженої лікарським засобом мікропелети

Подача та псевдозрідження: незаповнену мікропелету вносили у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі при об'ємі повітря 600 м³/год. з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої у псевдозрідженому шарі; однак,

псевдозрідження було не занадто сильним, аби запобігти стиранню та перетворенню незаповненої мікропелети на порох.

Завантаження лікарським засобом на ранній стадії: пістолет-розпилювач регулювали так, щоб забезпечити можливість доброго дрібнодисперсного розбризкування. Екстракційну рідину подавали за допомогою насоса-дозатора в пістолет-розпилювач. Рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлювали на 2,0 бар і 2,5 бар, відповідно. Температура матеріалу становила приблизно 50 °С. Поки температури не зростала до 45 °С розчин, що подається, починали розпилювати зі швидкістю розпилення 70 г/хв.

Стадія завантаження лікарським засобом: коли матеріал сягав 50 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшували об'єм розпилення, але максимальна швидкість становила не більше ніж 400 г/хв. Об'єм повітря регулювали відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети.

Нанесення покриття: після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилювали для нанесення покриття. Спочатку температуру матеріалу встановлювали на 50 °С, а швидкість розпилення на 40 г/хв. Після 20 хв. нанесення покриття швидкість розпилення регулювали до 80 г/хв., температуру матеріалу контролювали на рівні 40 °С. Швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулювали відповідно до адгезивних властивостей мікропелети.

Екстракційну рідину лікарського препарату, при цьому, одержували з екстракту Danshen і води у ваговому співвідношенні, що становить 100:90.

Приклад 8: Одержання завантаженої лікарським засобом мікропелети

Подача та псевдозрідження: незаповнену мікропелету вносили у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі при об'ємі повітря 1500 м³/год. з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої в псевдозрідженому шарі.

Завантаження лікарським засобом на ранній стадії: пістолет-розпилювач регулювали так, щоб забезпечити можливість доброго дрібнодисперсного розбризкування. Екстракційну рідину подавали за допомогою насоса-дозатора в пістолет-розпилювач. Рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлювали на 3,0 бар і 3,5 бар, відповідно. Температура матеріалу становила приблизно 50 °С. Поки температури не зростала до 45 °С, розчин, що подається, починали розпилювати зі швидкістю розпилення 120 г/хв.

Стадія завантаження лікарським засобом: коли матеріал сягав 55 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшували об'єм розпилення, але максимальна швидкість становила не більше ніж 400 г/хв. Об'єм повітря регулювали відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети.

Нанесення покриття: після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилювали для нанесення покриття. Спочатку температуру матеріалу встановлювали на 50 °С, а швидкість розпилення на 80 г/хв. Після 20 хв. нанесення покриття швидкість розпилення регулювали до 150 г/хв., температуру матеріалу контролювали на рівні 55 °С. Швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулювали відповідно до адгезивних властивостей мікропелети.

Екстракційну рідину лікарського препарату, при цьому, одержували з екстракту Danshen і води у ваговому співвідношенні, що становить 100:70.

Приклад 9: Одержання завантаженої лікарським засобом мікропелети

Подача та псевдозрідження: незаповнену мікропелету вносили у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі при об'ємі повітря 1500 м³/год. з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої в псевдозрідженому шарі.

Завантаження лікарським засобом на ранній стадії: пістолет-розпилювач регулювали так, щоб забезпечити можливість доброго дрібнодисперсного розбризкування. Екстракційну рідину подавали за допомогою насоса-дозатора в пістолет-розпилювач. Рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлювали на 3,0 бар і 3,5 бар, відповідно. Температура матеріалу становила приблизно 50 °С. Поки температура не зростала до 45 °С, розчин, що подається, починали розпилювати зі швидкістю розпилення 120 г/хв.

Стадія завантаження лікарським засобом: коли матеріал сягав 55 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшували об'єм розпилення, але максимальна швидкість становила не більше ніж 400 г/хв. Об'єм повітря регулювали відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети.

Нанесення покриття: після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилювали для нанесення покриття. Спочатку температуру матеріалу встановлювали на 50 °С, а швидкість розпилення на 80 г/хв. Після 20 хв. нанесення покриття швидкість розпилення регулювали до 150 г/хв., температуру матеріалу контролювали на рівні

55 °С. Швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулювали відповідно до адгезивних властивостей мікропелети.

Екстракт Danshen у ролі екстракту та мікропелета з крохмалю у ролі незаповненої мікропелети, при цьому, знаходились у ваговому співвідношенні, що становить 2:1; рідину лікарського препарату готували з екстракту Danshen і води у ваговому співвідношенні, що становить 100:82.

Приклад 10: Одержання завантаженої лікарським засобом мікропелети

Подача та псевдозрідження: незаповнену мікропелету вносили у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі при об'ємі повітря 1500 м³/год. з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої в псевдозрідженому шарі; однак, псевдозрідження було не занадто сильним, аби запобігти стиранню та перетворенню незаповненої мікропелети на порошок.

Завантаження лікарським засобом на ранній стадії: пістолет-розпилювач регулювали так, щоб забезпечити можливість доброго дрібнодисперсного розбризкування. Екстракційну рідину подавали за допомогою насоса-дозатора в пістолет-розпилювач. Рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлювали на 3,0 бар і 3,5 бар, відповідно. Температура матеріалу становила приблизно 50 °С. Поки температура не зростала до 45 °С, розчин, що подається, починали розпилювати зі швидкістю розпилення 120 г/хв.

Стадія завантаження лікарським засобом: коли матеріал сягав 50 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшували об'єм розпилення, але максимальна швидкість становила не більше ніж 400 г/хв. Об'єм повітря регулювали відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети.

Нанесення покриття: після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилювали для нанесення покриття. Спочатку температуру матеріалу встановлювали на 50 °С, а швидкість розпилення на 80 г/хв. Після 30 хв. нанесення покриття швидкість розпилення регулювали до 150 г/хв., температуру матеріалу контролювали на рівні 55 °С. Швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулювали відповідно до адгезивних властивостей мікропелети.

Екстракт Danshen у ролі екстракту та мікропелета з крохмалю у ролі незаповненої мікропелети, при цьому, знаходились у ваговому співвідношенні, що становить 2:1; рідину лікарського препарату готували з екстракту Danshen і води у ваговому співвідношенні, що становить 100:90.

Приклад 11: Одержання капсул з мікропелетами з Danshen

Одержання рідини лікарського препарату екстракту Danshen: екстракт Danshen вміщали в бак для попереднього змішування, в яку додавали 0,82-кратну кількість очищеної води, перемішували протягом 30 хв. або більше, з одержанням рідини лікарського препарату.

Завантаження лікарським засобом незаповненої мікропелети з крохмалю: пістолет-розпилювач регулювали для забезпечення можливості доброго дрібнодисперсного розбризкування.

Подача та псевдозрідження: незаповнену мікропелету з крохмалю вносили в пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі при об'ємі повітря 1000 м³/год. з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої у псевдозрідженому шарі; однак, псевдозрідження не було занадто сильним, аби запобігти стиранню та перетворенню незаповненої мікропелети на порошок. Попередньо змішану екстракційну рідину подавали за допомогою насоса-дозатора в пістолет-розпилювач. Рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлювали на 2,5 бар і 3 бар, відповідно. На ранній стадії завантаження лікарським засобом температура матеріалу становила 50 °С. Поки температура не зростала до 45 °С, розчин, що подається, починали розпилювати зі швидкістю розпилення 120 г/хв.

Стадія завантаження лікарським засобом: коли матеріал сягав 50 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшували об'єм розпилення, але максимальна швидкість становила не більше ніж 400 г/хв. Об'єм повітря регулювали відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети. Під час процесу завантаження лікарським засобом зразки необхідно було забирати з отвору для взяття проб, при необхідності, для спостереження за адгезивними властивостями та перетворенням мікропелети на порошок. Залежно від результату спостереження регулювали швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу.

Нанесення покриття: Орадру 85G66817 та очищену воду перемішували до однорідного стану протягом не менше 45 хв. з одержанням 18 % покривної рідини для подальшого застосування. Після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилювали для нанесення покриття. Спочатку температуру матеріалу встановлювали на 50 °С, а швидкість розпилення на 80 г/хв. Після 20 хв. нанесення покриття швидкість розпилення регулювали до

100 г/хв., температуру матеріалу контролювали на рівні 50 °С. Швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулювали відповідно до адгезивних властивостей мікропелети. Після нанесення покриття температуру знижували до 35 °С для вивантаження матеріалу.

5 Просівання покритих мікропелет: пропусканню через сито піддавали покриті мікропелети проміжного етапу, а внутрішній діаметр комірки сита становив 1,8 мм. Меншими за цей розмір були не менше ніж 90 % мікропелет з Danshen.

Завантаження капсули: просіяні мікропелети з Danshen завантажували в капсулу за допомогою пристрою для завантаження капсул з одержанням капсули.

10 Об'ємну густину, питому площу поверхні та розмір частинок мікропелети, одержаної в прикладах 7-11, визначали за допомогою наступних способів.

Розмір частинки оцінювали за допомогою традиційного способу, наприклад, фармакопейного сита № 7, передбаченого згідно з вимірюваним параметром у поясненні в Китайській фармакопеї (I). Спосіб просіювання застосовували для оцінки розміру частинок.

15 Об'ємну густину оцінювали за допомогою традиційного способу вимірювання в'язкості, наприклад, за допомогою приладу для визначення комплексних характеристик порошку BT-1000 (розробленого спільно Dandong Better Apparatus Inc. і Qinghua University). Об'ємну густину частинок оцінювали згідно з технічними умовами обладнання.

20 Питому площу поверхні оцінювали за допомогою традиційного способу, наприклад, за допомогою аналізатора питомої площі поверхні SSA-3600 (Beijing Biaode Electronic Technology Inc.). Питому площу поверхні мікропелети оцінювали згідно з технічними умовами обладнання.

Одержані результати показані в таблиці 4.

Таблиця 4:

Об'ємна густина, питома площа поверхні та розмір частинок мікропелет

Приклад	Об'ємна густина (г/мл)	Питома площа поверхні (м ² /г)	Розмір частинок (мм)
7	1,02	0,02	1,01
8	0,62	0,005	1,83
9	1,25	0,05	0,48
10	0,81	0,01	1,22
11	1,09	0,03	0,69

25 Вплив екстракту Danshen за даним винаходом демонстрували в наступному випробуванні ефективності.

Приклад випробування 1: Вплив екстракту Danshen на мікроциркуляцію у вушній раковині мишей

30 Аби оцінити вплив екстракту Danshen на мікроциркуляцію, здійснювали випробування шляхом порівняння моделі спричиненого NA порушення мікроциркуляції у вушній раковині та нормальних мишей для оцінки впливу екстракту Danshen на мікроциркуляцію. Тестований лікарський засіб поділяли на три групи доз: 7, 14, 28 г сирого лікарського препарату/кг (2, 4, 8 г екстракту/кг), який вводили внутрішньошлунково протягом 7 днів. Внутрішній діаметр судин і швидкість потоку мікроциркуляції у вушній раковині мишей оцінювали за допомогою пристрою

35 для вимірювання мікроциркуляції після останнього введення.

1. Матеріали

1.1. Тестований лікарський засіб

Екстракт Danshen, одержаний згідно способу з прикладу 6, темно-коричневий екстракт (1 г екстракту відповідає 3,5 г сирого лікарського препарату)

40 1.2. Лікарський засіб позитивного контролю

Складена краплинна пілюля з Danshen (CDDP), 27 мг/пілюля, надана Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd.

1.3. Тварина

1.3.1. Вид, опис і джерело

45 ICR-мишей доброї якості, вагою 18-22 г, самців і самок нарівно, купували у дослідному медичному центрі університету Янчжоу, № сертифіката: SCXK 2012-0004.

1.3.2. Умови утримання

Мишей вирощували з кліток з індивідуальним вентиляванням (IVC) зі ступенем очищення повітря 10000. Температура у лабораторії становила 24±2 °С, вологість 60 % - 80 % і повітря

замінювали 10-15 раз/год. Період освітлення: 12 світло)/12 (темрява) годин. Самців і самок мишей вирощували окремо, не більше ніж 5 особин в кожній клітці.

Корм: повноцінний корм для мишей купували у Jiangsu Xietong Medical Bio-engineering Inc. Якість відповідала стандарту GB14924.1-2001 (Загальний стандарт якості для комбінованих кормів для лабораторних тварин (Laboratory animals General quality standard for formula feeds)).

Підстилка: стерилізовану підстилку з частинок купували у Jiangsu Xietong Medical Bio-engineering Inc.

Вода: питна очищена вода

1.4. Реактив

Ін'єкція адреналіну гідрохлориду, 1 мл:1 мг, партія №: 120915 Shanghai Hefeng Pharmaceutical Inc.

Уретан, 500 г/пляшка, аналітичної чистоти, придбаний у Shanghai Qingxi Chemical Technology Inc.

1.5. Обладнання

Точні електронні ваги BSA124S (0,1 мг-120 г), Sartorius, Німеччина

Електронні ваги KD-160, Dongguan Bailida Health Equipment Inc.

Повноколірний мультисайтний циркуляційний індикатор WXT-4, Xuzhou Hengda Optical Electronic Inc.

2. Спосіб

2.1. Визначення дози

Згідно з попереднім дослідженням, на базі попереднього експерименту, для тестованих лікарських засобів визначили три групи дози: 7, 14, 28 сирого лікарського препарату/кг (2, 4, 8 г екстракту/кг). Клінічна доза екстракту Danshen становила 10 г сирого лікарського препарату/особина/доба, еквівалентна доза, розрахована для мишей, становила 2 г сирого лікарського препарату/кг. Таким чином, три дози по даному дослідженню, відповідно, в 3,5, 7 і 14 разів перевищували клінічну еквівалентну дозу.

Згідно з відповідною літературою та відомими результатами визначали одну групу дози для лікарського засобу позитивного контролю (CDDP): 270 мг (10 пілюль)/кг.

2.2. Вплив на мікроциркуляцію у вушній раковині нормальних мишей

50 мишей випадковим чином розділили на 5 груп, по 10 мишей в кожній групі: група холостого контролю, група екстракту Danshen (2, 4, 8 г екстракту/кг) і група CDDP (270 мг/кг). Кожній групі вводили внутрішньошлунково відповідну кількість лікарського засобу, а групі холостого контролю давали дистильовану воду в тому ж об'ємі один раз на добу. На 6-й день після введення всіх мишей не кормили протягом ночі із забезпеченням вільного доступу до води. Після 7 днів введення для забезпечення анестезії вводили уретан (20 %, 0,1 мл/10 г) за допомогою внутрішньочеревинної ін'єкції. Шерсть вушної раковини вискубували за допомогою медичного клейкого пластиру та мишей розташовували в положенні на боці на підставку для спостереження. Після додавання рідкого парафіну краплями за допомогою маленької скляної палички вухо розтягували на тримачі для вуха з підкладкою. Вени та капіляри вушної раковини в одній ділянці відбирали для спостереження зміни внутрішнього діаметру судини та швидкості потоку мікроциркуляції у вушній раковині мишей за допомогою пристрою для вимірювання мікроциркуляції до введення та через 0,5, 2 і 4 години після введення, відповідно.

2.3. Вплив на спричинене NA порушення мікроциркуляції

60 мишей випадковим чином розділяли на 6 груп, по 10 мишей в кожній групі: група холостого контролю, модельна група, групи екстракту Danshen (2, 4, 8 г екстракту/кг) і група CDDP (270 мг/кг). Групі холостого контролю та модельній групі вводили дистильовану воду в одному об'ємі один раз на добу. На 6-й день після введення всіх мишей не кормили протягом ночі із забезпеченням вільного доступу до води. Після 7 днів введення для забезпечення анестезії вводили уретан (20 %, 0,1 мл/10 г) за допомогою внутрішньочеревинної ін'єкції. Шерсть вушної раковини вискубували за допомогою медичного клейкого пластиру та мишей розташовували в положенні на боці на підставку для спостереження. Після додавання рідкого парафіну краплями за допомогою маленької скляної палички вухо розтягували на тримачі для вуха з підкладкою. Вени та капіляри вушної раковини в одній ділянці відбирали та оцінювали за допомогою пристрою для вимірювання мікроциркуляції. Через 30 хв. після останнього внутрішньошлункового введення 5 групам, за винятком групи холостого контролю, відразу ж вводили ін'єкцією NA (100 мкг/кг) через хвостові вени. Спостерігали зміну внутрішнього діаметру судини та швидкості потоку мікроциркуляції у вушній раковині мишей до введення та через 5, 30 і 120 хв. після введення, відповідно.

2.4. Статистичний спосіб

Дані виражали у вигляді "M±SD" і t-критерій застосовували для порівняння груп.

3. Результати

3.1. Вплив на мікроциркуляцію у вушній раковині нормальних мишей

Порівняно з групою холостого контролю в один і той самий момент часу, діаметр вхідної частини та вихідної частини в кожний момент часу в групі з високою дозою екстракту Danshen значущо підвищувався ($P<0,05$, $P<0,01$). В групі з середньою дозою екстракту Danshen діаметр вхідної частини та вихідної частини в кожний момент часу значущо підвищувався ($P<0,05$, $P<0,01$) в межах 2 годин після введення. У групі з низькою дозою екстракту Danshen діаметр вхідної частини та вихідної частини в кожний момент часу помітно підвищувався зі статистичною значущістю порівняно з групою холостого контролю (таблиці 5 і 6).

В один і той же момент часу, порівняно з групою холостого контролю, швидкість потоку крові мікроциркуляції у вушній раковині значущо підвищувалася в межах 0,5 години після введення у групах з кожною дозою екстракту Danshen зі статистичною значущістю (таблиця 7).

Таблиця 5:

Вплив екстракту Danshen на діаметр вхідної частини мікроциркуляції у вушній раковині нормальних мишей (N=10, M \pm SD)

Групи	доза (г/кг)	Діаметр вхідної частини (мкм)			
		0 год.	0,5 год.	2 год.	4 год.
Група холостого контролю		21,3 \pm 6,9	23,1 \pm 3,4	26,4 \pm 5,8	26,8 \pm 8,0
Група CDDP	0,27	23,5 \pm 5,3	30,9 \pm 9,5*	31,6 \pm 7,7*	27,8 \pm 9,8
Низька доза екстракту Danshen	2	21,3 \pm 9,1	27,1 \pm 5,2*	29,9 \pm 5,8	29,5 \pm 7,1
Середня доза екстракту Danshen	4	22,0 \pm 8,1	29,2 \pm 7,3*	30,2 \pm 7,4*	29,1 \pm 5,6
Висока доза екстракту Danshen	8	22,0 \pm 4,1	33,7 \pm 11,0*	35,4 \pm 9,4*	27,4 \pm 4,0

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, порівняно з групою холостого контролю.

Таблиця 6:

Вплив екстракту Danshen на діаметр вихідної частини мікроциркуляції у вушній раковині нормальних мишей (N=10, M \pm SD)

Групи	Доза (г/кг)	Діаметр вихідної частини (мкм)			
		0 год.	0,5 год.	2 год.	4 год.
Група холостого контролю		40,1 \pm 14,9	50,2 \pm 22,3	51,4 \pm 14,8	49,8 \pm 20,6
Група CDDP	0,27	58,7 \pm 14,6*	88,9 \pm 20,5**	74,2 \pm 17,5**	56,5 \pm 17,8
Низька доза екстракту Danshen	2	49,0 \pm 16,1	66,4 \pm 18,5*	60,8 \pm 20,9	56,9 \pm 13,3
Середня доза екстракту Danshen	4	55,8 \pm 20,0	74,8 \pm 21,0*	73,7 \pm 21,6*	62,0 \pm 21,9
Висока доза екстракту Danshen	8	76,0 \pm 28,4**	99,6 \pm 32,8**	87,9 \pm 29,9**	81,3 \pm 21,4**

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, порівняно з групою холостого контролю.

Таблиця 7:

Вплив екстракту Danshen на швидкість потоку крові мікроциркуляції у вушній раковині нормальних мишей (N=10, M±SD)

Групи	Доза (г/кг)	Швидкість потоку (мкм/с)			
		0 год.	0,5 год.	2 год.	4 год.
Група холостого контролю		588,0±43,6	573,6±33,5	552,6±45,1	588,4±31,3
Група CDDP	0,27	590,6±44,0	619,7±32,3*	609,1±45,2	604,1±38,3
Низька доза екстракту Danshen	2	580,0±33,6	613,6±39,5*	562,6±75,1	588,4±51,3
Середня доза екстракту Danshen	4	590,0±24,4	637,3±52,2*	570,8±76,5	596,8±71,8
Висока доза екстракту Danshen	8	583,1±36,7	639,0±48,5*	611,8±55,5*	599,1±52,4

*P<0,05, порівняно з групою холостого контролю.

3.2. Вплив на спричинене NA порушення мікроциркуляції

5 Порівняно з групою холостого контролю в межах 30 хв. після створення моделі за допомогою NA діаметри вхідної частини та вихідної частини мікроциркуляції у вушній раковині мишей значущо знижувались (P<0,05, P<0,01), а швидкість потоку крові знижувалась частково. Через 120 хв. після створення моделі зміни у дрібних судинах поступово зникали.

10 Екстракт Danshen у групі кожної дози мав поліпшуваний вплив на спричинене NA зменшення діаметру вхідної частини та вихідної частини на різних рівнях (P<0,05, P<0,01), і певний вплив на підвищення швидкості потоку крові (таблиці 8, 9, 10).

Таблиця 8:

Вплив екстракту Danshen на діаметр вхідної частини мікроциркуляції у вушній раковині мишей, оброблених NA (N=10, M±SD)

Групи	Доза (г/кг)	Діаметр вхідної частини (мкм)			
		0 хв.	5 хв.	30 хв.	120 хв.
Група холостого контролю		27,6±7,5	28,4±4,7	27,4±7,0	27,9±5,5
Модельна група		30,1±7,9	20,0±5,1*	19,3±3,6**	24,8±5,1
Група CDDP	0,27	31,4±7,4	28,0±6,5#	29,3±10,3#	28,6±7,2
Низька доза екстракту Danshen	2	29,3±5,6	28,6±5,4#	23,1±4,1	24,0±10,2
Середня доза екстракту Danshen	4	35,4±9,8	28,5±7,3#	24,9±5,3#	24,0±6,3
Висока доза екстракту Danshen	8	31,8±10,7	27,0±8,2#	27,7±5,9##	26,9±4,9

15 *P<0,05, **P<0,01, порівняно з групою холостого контролю; #P<0,05, ##P<0,01, порівняно з модельною контрольною групою.

Таблиця 9:

Вплив екстракту Danshen на діаметр вихідної частини мікроциркуляції у вушній раковині мишей, оброблених NA (N=10, M±SD)

Групи	Доза (г/кг)	Діаметр вихідної частини (мкм)			
		0 хв.	5 хв.	30 хв.	120 хв.
Група холостого контролю		52,0±20,9	52,3±13,5	51,6±11,8	47,9±14,9
Модельна група		53,7±13,2	40,4±8,3**	38,0±11,9*	46,8±11,8
Група CDDP	0,27	56,5±20,9	50,9±15,8#	51,7±15,0#	50,1±8,6
Низька доза екстракту Danshen	2	58,4±17,1	50,1±14,7#	47,1±10,9#	49,6±19,2
Середня доза екстракту Danshen	4	56,8±11,1	54,5±10,9#	54,9±12,2#	52,9±21,9
Висока доза екстракту Danshen	8	59,8±19,5	61,9±23,5#	55,5±15,0#	51,1±12,6

*P<0,05, **P<0,01, порівняно з групою холостого контролю; #P<0,05, порівняно з модельною контрольною групою.

5

Таблиця 10:

Вплив екстракту Danshen на швидкість потоку крові мікроциркуляції у вушній раковині мишей, оброблених NA (N=10, M±SD)

Групи	Доза (г/кг)	Швидкість потоку (мкм/с)			
		0 хв.	5 хв.	30 хв.	120 хв.
Група холостого контролю		389,3±147,5	390,6±135,7	399,4±108,4	379,2±111,5
Модельна група		397,5±81,1	312,8±90,8	354,3±178,9	390,9±183,2
Група CDDP	0,27	367,1±143,2	420,2±131,9#	402,4±132,0	400,9±176,0
Низька доза екстракту Danshen	2	354,4±38,3	378,8±42,4	367,6±17,7	388,9±48,5
Середня доза екстракту Danshen	4	350,8±81,8	387,7±91,6	369,0±160,8	439,6±104,9#
Висока доза екстракту Danshen	8	408,5±145,3	420,1±134,4#	397,9±193,7	399,9±113,7

#P<0,05, порівняно з модельною групою.

Як показано в даному прикладі випробування, було підтверджено, що екстракт Danshen мав безумовний поліпшуваний вплив на діаметр вхідної частини та вихідної частини у нормальних мишей, а також певний вплив на підвищення швидкості потоку крові в дрібних судинах мікроциркуляції у вушній раковині.

Порівняно з нормальними мишами, в межах 30 хв. після створення моделі за допомогою NA, діаметр вхідної частини та вихідної частини мікроциркуляції в вушній раковині мишей значущо знижувався (P<0,05, P<0,01), швидкість потоку крові знижувалась частково. Через 120 хв. після створення моделі зміни у дрібних судинах поступово зникали. Екстракт Danshen в групі кожної дози мав поліпшуваний вплив на спричинене NA зменшення діаметру вхідної частини та вихідної частини на різних рівнях (P<0,05, P<0,01) і невеликий вплив на швидкість потоку крові.

Коротко, екстракт Danshen за даним винаходом безумовно міг підсилювати ангіектазію капілярів мікроциркуляції у вушній раковині та додатково покращувати мікроциркуляцію.

Приклад випробування 2: Вплив екстракту Danshen на зниження рівня ліпідів у крові модельних даніо-реріо

1. Реактив та обладнання

Тестований лікарський засіб: екстракт Danshen, одержаний згідно зі способом з прикладу 6, розчиняли в ультрарозчинній воді з одержанням вихідного розчину, який зберігали при -20 °C.

Обладнання та реактив: бінокулярний мікроскоп (SZX7, Olympus Inc), 6-лунковий планшет (Nest Biotech), MESAB (Sigma), метилцелюлоза (Sigma), ловастатин (Meilun Bio-tech Inc, Dalian,

партія №: 20111002, чистота >99 %, у вигляді порошку), корм з високим вмістом жиру (Huante Inc, Ханчжоу), масляний червоний (Sigma, партія №: 20120411).

Тварина: ембріони даніо-періо одержували за допомогою способу природного статевих схрещування. Для кожного схрещування готували 4-5 пар дорослих особин, і в середньому кожна пара даніо-періо давала 200-300 ембріонів. На 6-й годину після запліднення (6 hpf) і 24 hpf ембріони очищали (видаляли мертвих ембріонів) і придатні ембріони відбирали згідно зі стадією розвитку ембріона (Kimmel et al. 1995). Ембріони інкубували при 28 °C у воді для утримування риби, яка містила 200 мг швидко розчинної морської солі в 1 л води, одержаної за допомогою зворотного осмосу, з електропровідністю 480-510 мкСм/см, рН 6,9-7,2, жорсткістю 53,7-71,6 мг/л CaCO₃. Годування було потрібне з 9 дня після запліднення (9 hpf), оскільки ембріони могли отримувати поживні речовини з власного жовткового мішка. Після закінчення дослідження ембріонам на різних стадіях розвитку вводили надлишкову дозу трикаїну метансульфонату (TMS), для анестезії та умертвіння даніо-періо. Процедуру умертвіння проводили з урахуванням нормативної вимоги "умертвіння під дією анестезії" AVMA (Американське ветеринарне медичне співтовариство).

2. Спосіб

А. Визначення максимальної нелетальної концентрації (MNLC) екстракту Danshen

Для годування мальків даніо-періо лінії ALBINO застосовували їжу з високим вмістом жиру для створення модельних даніо-періо з високим рівнем ліпідів у крові.

Після годування модельних даніо-періо з високим рівнем ліпідів у крові обробляли екстрактом Danshen. Визначали декілька концентрацій та по 30 даніо-періо обробляли кожною концентрацією.

П'ять вихідних концентрацій екстракту Danshen становили, відповідно, 200 мкг/мл, 400 мкг/мл, 600 мкг/мл, 800 мкг/мл, 1200 мкг/мл і 2000 мкг/мл (приготовані за допомогою очищеної води).

Через 48 годин після обробки підраховували кількість загиблих даніо-періо та для розрахунку MNLC за допомогою статистичного програмного забезпечення GraPhPad Prism5.0 отримували криву оптимальна концентрація-ефект.

В. Кількісна оцінка впливу екстракту Danshen на зниження рівня ліпідів

Відповідно до результатів з частини А оцінювали вплив екстракту Danshen у трьох концентраціях (зазвичай за MNLC, 1/3 MNLC і 1/10 MNLC) на зниження рівня ліпідів, при цьому кожною концентрацією обробляли по 30 даніо-періо.

Для годування мальків даніо-періо лінії ALBINO застосовували їжу з високим вмістом жиру, для створення модельних даніо-періо з високим рівнем ліпідів у крові.

Після годування модельних даніо-періо з високим рівнем ліпідів у крові обробляли тестованим лікарським засобом протягом 48 годин.

Лікарський засіб позитивного контролю: ловастин за 0,08 мкг/мл.

Після обробки за допомогою тестованих лікарських засобів здійснювали фарбування жиру даніо-періо за допомогою жироспецифічного барвника.

По п'ятнадцять даніо-періо вибирали випадковим чином у кожній концентрації для спостереження інтенсивності фарбування жиру в крові хвоста даніо-періо, фотографували та зберігали.

Для аналізу зображень застосовували програмне забезпечення Image-Pro Plus 6.0 для аналізу зображень. Розраховували та кількісно аналізували інтенсивність (S) сигналу фарбування жиру в крові хвоста даніо-періо. Статистичні результати виражали як $\bar{X} \pm SE$.

Формула розрахунку ефективності екстракту Danshen щодо зниження рівня ліпідів у крові від була наступною:

$$\text{Ступінь зменшення рівня ліпідів у крові (\%)} = \left[1 - \frac{S(\text{лікарський препарат})}{S(\text{контроль})} \right] \times 100 \% (1)$$

Для статистичного аналізу застосовували дисперсійний аналіз і t-критерій Даннета, значуща відмінність характеризувалася $P < 0,05$.

3. Результати

3.1. Визначення MNLC екстракту Danshen

Рівень загибелі даніо-періо, індукованої екстрактом Danshen, проілюстрований у таблиці 11.

Дані з таблиці 11 застосовували для побудови кривої загибель-концентрація за допомогою GraPhPad 5.0 (фіг. 3). Після побудови кривої розраховували, що MNLC екстракту Danshen становить 540 мкг/мл (екстракт), що відповідає 1890 мкг/мл (сирий лікарський препарат).

Таблиця 11:

Рівень загибелі даніо-періо, індукований екстрактом Danshen (n=30)

Концентрація екстракту (мкг/мл)	Відповідна концентрація сирого лікарського препарату (мкг/мл)	Рівень загибелі (%)
0	0	0
200	700	0
400	1400	0
600	2100	3,3
800	2800	33,3
1200	4200	100
2000	7000	100

3.2. Кількісна оцінка впливу екстракту Danshen на зниження рівня ліпідів

Відповідно до експерименту з оцінювання загибелі вплив екстракту Danshen на зниження рівня ліпідів у крові оцінювали для трьох концентрацій (розраховано як сирий лікарський препарат): 1890 мкг/мл (MNLC), 630 мкг/мл (1/3 MNLC) і 189 мкг/мл (1/10 MNLC).

Після обробки за допомогою екстракту Danshen даніо-періо фарбували жироспецифічним барвником, спостерігали під мікроскопом, фотографували та зберігали (фіг. 4). Як показано на фіг. 4, цільовою областю для спостереження була область, оточена суцільною лінією. Інтенсивність забарвлення жиру кількісно аналізували за допомогою програмного забезпечення для аналізу зображень для розрахунку IOD (інтегральну оптичну щільність) у даніо-періо (див. у таблиці 12). Відповідно до IOD, ступінь зменшення рівня ліпідів у крові даніо-періо розраховували за допомогою формули (1) (див. у таблиці 12 і на фіг. 5) для оцінки ефективності екстракту Danshen щодо зниження рівня ліпідів у крові. Інтенсивність забарвлення жиру в хвості даніо-періо в групі позитивного контролю (ловастатин 0,08 мкг/мл) була набагато слабкішою, ніж у модельній групі, ступінь зменшення 26,3 % ($P<0,01$). Екстракт Danshen за концентрацій 189 мкг/мл, 630 мкг/мл і 1890 мкг/мл значно зменшував інтенсивність фарбування жиру в судинах хвоста даніо-періо ($P<0,001$, $P<0,001$, $P<0,001$), ступінь зменшення становив 32,7 %, 35,2 % і 36,2 %, відповідно.

Таблиця 12:

Вплив на зниження рівня ліпідів у крові через 48 годин після обробки за допомогою екстракту Danshen (середнє значення \pm SE)

Групи	Концентрація сирого лікарського препарату (мкг/мл)	IOD ліпідів у крові хвоста	Ступінь зменшення рівня ліпідів у крові, %
Модельна група	-	2906 \pm 131	-
Група ловастатину	0,081	2142 \pm 109*	26,3*
Екстракт Danshen	189	1955 \pm 149**	32,7**
	630	1884 \pm 158**	35,2**
	1890	1854 \pm 211**	36,2**

Порівняно з модельною групою, *: $P<0,01$, **: $P<0,001$

Як показано у даному прикладі випробування, екстракт Danshen за концентрацій 189 мкг/мл, 630 мкг/мл і 1890 мкг/мл значущо зменшував інтенсивність фарбування судинного жиру в хвості, зі ступенем зменшення рівня ліпідів у крові 32,7 % ($P<0,001$), 35,2 % ($P<0,001$) і 36,2 % ($P<0,001$), відповідно. Це вказувало на те, що екстракт Danshen мав ефект щодо зниження рівня ліпідів у крові, й ефективність досягала фази плато при 1/3 MNLC.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Екстракт Danshen, який **відрізняється** тим, що вказаний екстракт містить компоненти Danshensu, розмаринову кислоту, літоспермову кислоту, сальвіанолову кислоту В, криптотаншинон, таншинон ІІА і стахіозу, при цьому співвідношення в частинах за вагою Danshensu:розмаринова кислота:літоспермова кислота:сальвіанолова кислота

В:криптотаншинон:таншинон ІІА:стахіоза становить 0,5-16:0,5-15:0,5-15:5-140:0,5-25:1-50:150-600, причому екстракт Danshen виготовляють за методом, який включає наступні етапи:

(1) Danshen екстрагують за допомогою спирту та фільтрують з одержанням спиртової екстракційної рідини та залишку А для подальшого застосування, при цьому зазначеним спиртом є етанол;

(2) залишок А екстрагують за допомогою води, фільтрують з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, який підлягає відкиданню;

(3) відповідно, вищевказану спиртову та водну екстракційні рідини охолоджують і дають їм відстоятися при температурі, зниженій до 15 °С або нижче, та обидві надосадові рідини збирають з одержанням спиртової та водної надосадової рідини, відповідно;

(4) вищевказану водну надосадову рідину концентрують до відносної густини 1,10-1,35 з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додають спиртову надосадову рідину, об'єднують і концентрують з одержанням змішаного концентрованого розчину, при цьому під час концентрування відносну густину підтримують не меншою за 1,10; та

(6) до змішаного концентрованого розчину додають очищену воду, перемішують, концентрують при зниженому тиску з одержанням екстракту з відносною густиною 1,25-1,35 при 80-85 °С, фільтрують з одержанням екстракту Danshen.

2. Екстракт Danshen за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаний екстракт містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 1-8:1-8:1-8:10-70:1-10:2-20:250-500.

3. Екстракт Danshen за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаний екстракт містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 2-5:2-5:2-5:25-60:2-6:4-10:300-450.

4. Екстракт Danshen за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаний екстракт містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 2-4:2-4:2-4:25-30:2-5:4-10:330-400.

5. Екстракт Danshen за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаний екстракт містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 3:3:3:28:4:7:370.

6. Склад у формі мікропелет, який містить зазначений екстракт Danshen за п. 1 як активний інгредієнт.

7. Склад у формі мікропелет за п. 6, який **відрізняється** тим, що об'ємна густина зазначеної мікропелети становить 0,6-1,3 г/мл, питома площа поверхні 0,005-0,05 м²/г і розмір частинки 0,5-1,8 мм.

8. Склад у формі мікропелет за п. 6, який **відрізняється** тим, що об'ємна густина зазначеної мікропелети становить 0,8-1,1 г/мл, питома площа поверхні 0,01-0,03 м²/г і розмір частинки 0,7-1,2 мм.

9. Капсула з мікропелетами, що містить склад у формі мікропелет за п. 6.

10. Спосіб одержання екстракту Danshen за п. 1, який включає наступні етапи:

(1) лікарську сировину Danshen екстрагують за допомогою спирту та фільтрують з одержанням спиртової екстракційної рідини та залишку А для подальшого застосування, при цьому зазначеним спиртом є етанол;

(2) залишок А екстрагують за допомогою води, фільтрують з одержанням водної екстракційної рідини та залишку В, що підлягає відкиданню;

(3) відповідно, спиртову та водну екстракційні рідини охолоджують, дають їм відстоятися при температурі, зниженій до 15 °С або нижче, й обидві надосадові рідини збирають з одержанням спиртової та водної надосадової рідини, відповідно;

(4) водну надосадову рідину концентрують до відносної густини 1,10-1,35 з одержанням водної концентрованої екстракційної рідини;

(5) до водної концентрованої екстракційної рідини поступово додають спиртову надосадову рідину, об'єднують і концентрують з одержанням змішаного концентрованого розчину, при цьому під час концентрування відносну густину підтримують не меншою за 1,10;

(6) до змішаного концентрованого розчину додають очищену воду, перемішують, концентрують при зниженому тиску з одержанням екстракту з відносною густиною 1,25-1,35 при 80-85 °С, фільтрують з одержанням екстракту Danshen.

11. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що на етапі (1) зазначеним спиртом є етанол з концентрацією, що становить 50-100 % об./об., у кількості, що в 2-7 разів перевищує вагу лікарської сировини, а час екстрагування становить 0,5-4 години.

12. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що на етапі (2) кількість води, що додається, в 3-7 разів перевищує вагу залишку А, а час екстрагування становить 0,5-4 години.

13. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що на етапі (3) зазначене охолодження та відстоювання передбачає наступні етапи:

екстракційну рідину перемішують протягом 20-60 хв. і дають відстоятися протягом 6-24 годин при температурі, зниженій до 15 °C або нижче, перед збиранням надосадової рідини.

14. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що на етапі (6) до змішаного концентрованого розчину додають 10-100 л очищеної води за кілька разів, по 5-50 л щоразу, перемішують і концентрують при зниженому тиску з одержанням екстракту з відносною густиною 1,25-1,35 при 80-85 °C.

15. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що зазначений спосіб включає наступні етапи: беруть мелений Danshen, додають до нього 388-412 л етанолу 89,5-90,5 %, настоюють протягом 85-95 хв., фільтрують через сито 200 меш, перемішують і поміщають у бак для розділення; в одержаний залишок додають 485-515 л води для 2-го настоювання протягом 57-63 хв., фільтрують через сито 200 меш і залишок відкидають; водну екстракційну рідину перемішують і вміщують у різні баки; спиртову змішану екстракційну рідину та водну змішану екстракційну рідину вміщують у різні баки для розділення, через які пропускають холодну воду для охолодження, та дають відстоятися; після 30 хв. перемішування екстракційну рідину охолоджують до 15 °C або нижче протягом 4 годин і дають відстоятися протягом 6-24 годин; водну надосадову рідину та спиртову надосадову рідину переносять у відповідні баки; спочатку водну надосадову рідину концентрують до водної концентрованої екстракційної рідини з відносною густиною 1,25-1,30 при 80-85 °C, в яку поступово додають спиртову надосадову рідину, та додатково перемішують і концентрують; під час процесу концентрування густина концентрованого розчину становить не менше ніж 1,15; якщо густина змішаного концентрованого розчину становить 1,34 чи більше, то додають за два рази 10 л очищеної води, по 5 л щоразу при 40-50 °C, перемішують, концентрують до відносної густини 1,33-1,35 при 80-85 °C і відразу ж фільтрують через сито 40 меш з одержанням екстракту Danshen.

16. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що екстракт Danshen містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 1-8:1-8:1-8:10-70:1-10:2-20:250-500.

17. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що екстракт Danshen містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 2-5:2-5:2-5:25-60:2-6:4-10:300-450.

18. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що екстракт Danshen містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 2-4:2-4:2-4:25-30:2-5:4-10:330-400.

19. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що екстракт Danshen містить зазначені компоненти в частинах за вагою: 3:3:3:28:4:7:370.

20. Спосіб одержання складу у формі мікропелет, що містить екстракт Danshen, за п. 6, який включає наступні етапи:

(1) екстракт Danshen і незаповнену мікропелету у ваговому співвідношенні, що становить 1:5-5:1, беруть для подальшого застосування;

(2) незаповнену мікропелету з визначеним дозуванням вносять у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої у псевдозрідженому шарі;

(3) поки температура матеріалу не досягає 40-60 °C рідину розпилюють і наносять на поверхню мікропелети зі швидкістю 70-120 г/хв.; при цьому зазначена рідина, яку розпилюють, являє собою дрібні краплі, які одержують внаслідок дрібнодисперсного розбризкування заздалегідь приготованої суміші екстракту Danshen, одержаного шляхом розбавлення екстракту Danshen водою;

(4) коли температура матеріалу сягає 40-60 °C, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшують об'єм розпилення; при цьому збільшення діаметра мікропелети та швидкості розпилення відбувається поступово з одержанням гранули з діаметром 0,5-1,8 мм.

21. Спосіб за п. 20, який **відрізняється** тим, що вказаний спосіб додатково включає етап (5): після розпилення завантаженої лікарським засобом мікропелету покривають шляхом розпилення покривної рідини; при цьому температура покривного матеріалу становить 40-60 °C, швидкість розпилення 40-300 г/хв., час нанесення покриття 1-4 години та концентрація покривної рідини 5-25 %.

22. Спосіб за п. 21, який **відрізняється** тим, що зазначений спосіб включає наступні етапи: (1) екстракт Danshen і незаповнену мікропелету у ваговому співвідношенні, що становить 1:3-3:1, беруть для подальшого застосування;

(2) при об'ємі повітря 600-1500 м³/год. незаповнену мікропелету вносять у пристрій для нанесення покриття із сушінням у псевдозрідженому шарі з одержанням незаповненої мікропелети, повністю псевдозрідженої у псевдозрідженому шарі; однак псевдозрідження виконують із забезпеченням запобігання стирання та перетворення незаповненої мікропелети на порошок;

- (3) пістолет-розпилювач і тиск розпилення регулюють з одержанням рідин, що дрібнодисперсно розбризкуються у вигляді маленьких крапель; при цьому екстракт подають у пістолет-розпилювач за допомогою насоса-дозатора; рівні тиску верхньої та нижньої форсунки встановлюють на 2,0-3,0 бар і 2,5-3,5 бар, відповідно; температура матеріалу становить 50 °С;
- 5 поки температура матеріалу не досягає 45 °С, розчин, що подається, починають розпилювати зі швидкістю 120 г/хв.;
- (4) коли матеріал сягає 45-55 °С, зі збільшенням діаметра мікропелети поступово збільшують об'єм розпилення, але максимальна швидкість становить не більше ніж 400 г/хв.; при цьому об'єм повітря регулюють відповідно до псевдозрідженого стану мікропелети;
- 10 (5) після завантаження лікарським засобом покривну рідину безпосередньо розпилюють для нанесення покриття; при цьому спочатку температуру матеріалу встановлюють на 50 °С, а швидкість розпилення на 80 г/хв.; після 20 хв. нанесення покриття швидкість розпилення регулюють до 80-150 г/хв., температуру матеріалу контролюють на рівні 40-55 °С; швидкість введення, об'єм повітря та температуру матеріалу регулюють відповідно до адгезивних
- 15 властивостей мікропелети.
23. Спосіб за п. 22, який **відрізняється** тим, що вагове співвідношення екстракту Danshen і незаповненої мікропелети становить 2:1-1:1.
24. Спосіб за п. 22, який **відрізняється** тим, що розчин екстракту лікарського препарату готують шляхом розбавлення екстракту Danshen водою; при цьому вагове співвідношення екстракту
- 20 Danshen і води становить 100:60-100.
25. Спосіб за п. 24, який **відрізняється** тим, що вагове співвідношення екстракту Danshen і води становить 100:70-90.
26. Спосіб за п. 24, який **відрізняється** тим, що вагове співвідношення екстракту Danshen і води становить 100:75-85.
- 25 27. Застосування екстракту Danshen за п. 1 в одержанні лікарського засобу для покращення мікроциркуляції.
28. Застосування екстракту Danshen за п. 1 в одержанні лікарського засобу для зниження рівня ліпідів у крові.
29. Застосування складу у формі мікропелет за п. 6 в одержанні лікарського засобу для
- 30 покращення мікроциркуляції.
30. Застосування складу у формі мікропелет за п. 6 в одержанні лікарського засобу для зниження рівня ліпідів у крові.
31. Застосування капсули з мікропелетами за п. 9 в одержанні лікарського засобу для покращення мікроциркуляції.
- 35 32. Застосування капсули з мікропелетами за п. 9 в одержанні лікарського засобу для зниження рівня ліпідів у крові.



(1)



(2)



(3)

(a)

(b)

Fig. 1

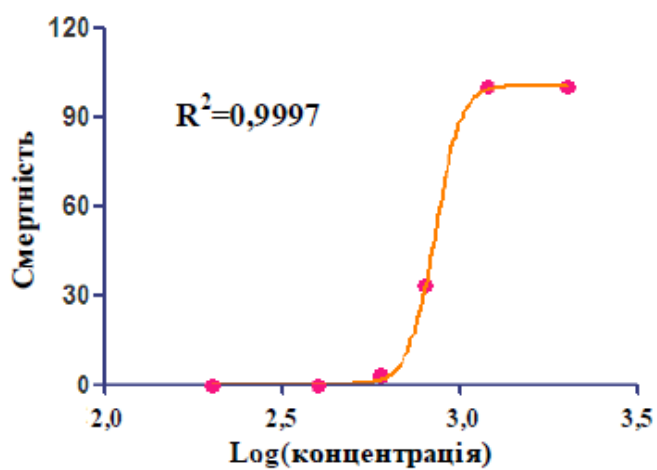


(a)

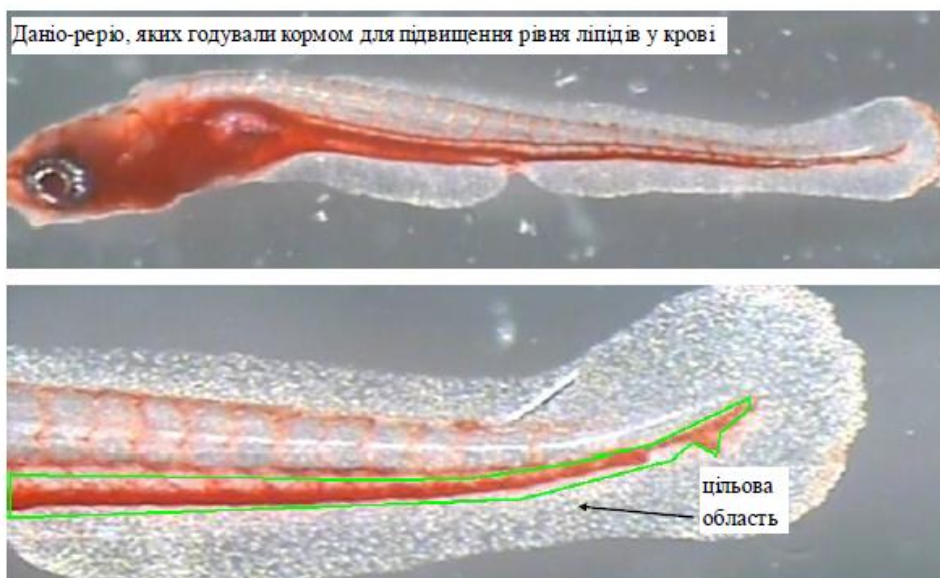
(b)

Fig. 2

Крива залежності смертності від концентрації екстракту Danshen E01



Фіг. 3



Фіг. 4

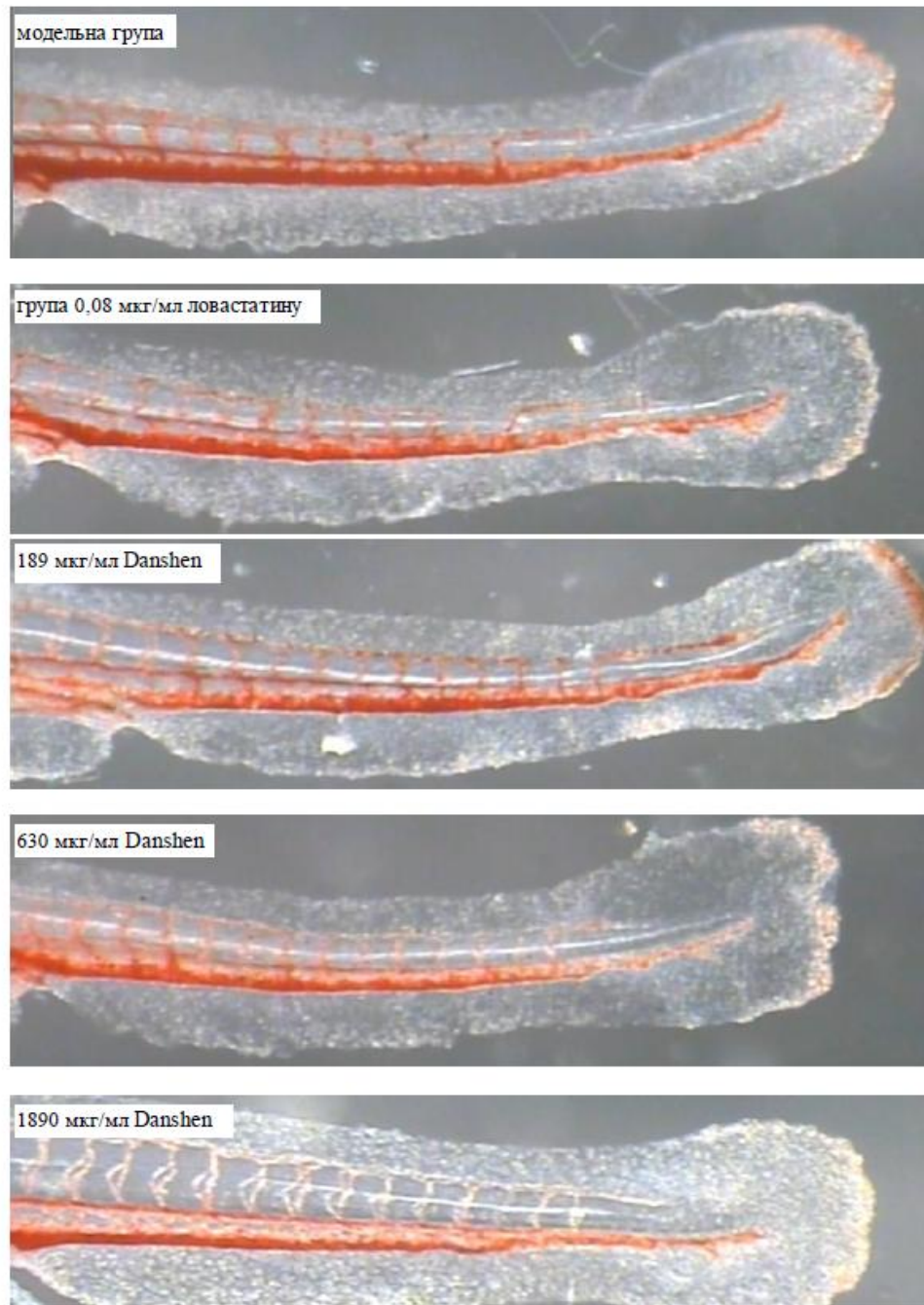
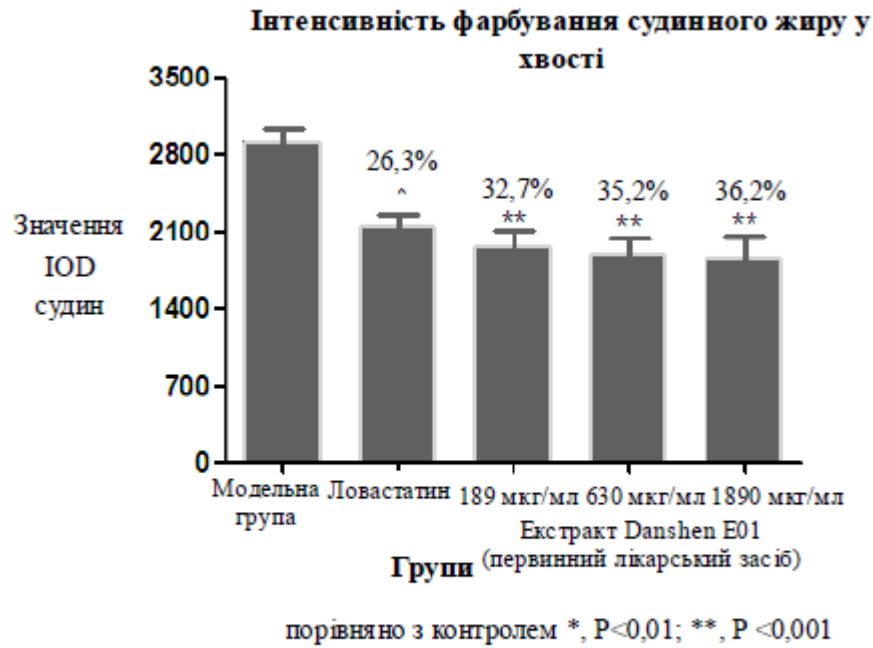


Fig. 5



Фіг. 6

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601