

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 515 891**

51 Int. Cl.:

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

A61K 36/258 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

A61P 9/06 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

C07J 63/00 (2006.01)

C07J 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2006 E 06761360 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.09.2014 EP 1905444**

54 Título: **Método de preparación de una composición farmacéutica que contiene glicósidos secundarios de ginseng**

30 Prioridad:

14.07.2005 CN 200510083855

14.07.2005 CN 200510083854

14.07.2005 CN 200510083852

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

30.10.2014

73 Titular/es:

**SHANGHAI HONGYITANG
BIOPHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO. LTD
(100.0%)**

**No. 699, North Huifeng Road, Fengxian District
Shanghai 201403, CN**

72 Inventor/es:

**SUN, CONGXIN;
LUO, HESHENG y
ZHAO, YONGLI**

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 515 891 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de preparación de una composición farmacéutica que contiene glicósidos secundarios de ginseng

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica que contiene ginsenósidos secundarios totales de *Radix ginseng*.

10 **Antecedentes de la invención**

Radix ginseng es uno de los fármacos más importantes para la suplementación del qi (energía vital) en la medicina tradicional china. Su sabor y naturaleza: sabor dulce y ligeramente amargo y de naturaleza neutra. Sus funciones e indicaciones: tiene efectos de reposición del qi, restauración del pulso y alivio del síndrome de colapso, refuerzo del bazo y los pulmones, promoción de la producción de líquidos corporales y tranquilización de la mente. Sus indicaciones: postración debida a deficiencia general, extremidades frías y pulso débil, apetito escaso debido a deficiencia del bazo, asma debida a deficiencia de los pulmones, sed debida a alteración de los líquidos corporales, diabetes debida a calor interior, debilidad general debida a enfermedad prolongada, palpitations, insomnio, impotencia, frialdad uterina, insuficiencia cardiaca y choque cardiogénico.

Las prácticas clínicas en la medicina tradicional china y su combinación con la medicina occidental han confirmado que el ginseng y las preparaciones del mismo tienen actividades farmacológicas para potenciar la fuerza de contracción del miocardio, expandir la arteria coronaria, aumentar el flujo sanguíneo de la arteria coronaria, reducir el consumo de oxígeno en el miocardio, proteger el músculo cardiaco frente a lesión por reperfusión, inhibir la agregación plaquetaria, actuar como antitrombina, etc., y se usan clínicamente para el tratamiento de opresión en el pecho y dolor cardiaco (cardiopatía coronaria), arteriosclerosis, etc.

Los motivos principales de la opresión en el pecho (obstrucción torácica) y de dolor cardiaco son que "el YANG QI está debilitado y no funciona bien en el pecho, y después de mucho tiempo, el YIN QI subyuga al YANG QI, formando de ese modo la obstrucción" ("Classification and Treatment of Symptoms --- Chest Impediment Chapter), o "frío patógeno ataca al cuerpo, se come comida fría, se acumula calor en el interior, existen flemas persistentes y sangre muerta durante mucho tiempo, o debido a que la rabia provoca negatividad del QI" ("Ancient and Modern Medicine --- Heart Pain Section).

Cuando la persona es de mediana edad, la opresión en el pecho y el dolor cardiaco pueden estar provocados por deterioro físico, debilidad gradual de cinco órganos sólidos, el trastorno de funciones de órganos ZANG FU, deficiencia innata de YANG QI en el cuerpo, QI caliente o frío patógeno que ataca al cuerpo, o comer y beber sin moderación, preferencia por las grasas y la comida dulce, o ansiedad y esfuerzos excesivos o emociones depresivas. El foco patógeno es el corazón, que se relaciona con pulmones, bazo, hígado y riñones. Los cambios patológicos son el desequilibrio del YIN y el YANG en ZANG FU y QI-sangre, deficiencia de sangre cardiaca, deficiencia del YANG cardiaco, dando como resultado de ese modo estancamiento del QI, acumulación de frío, flemas, congestión, etc. que pueden estancar el meridiano cardiaco de manera que el meridiano cardiaco obstruido, el QI estancado y la estasis sanguínea provocan enfermedad. La patogénesis subyacente es astenia en el origen y vigor en la superficie, en la que la astenia en el origen es deficiencia de qi cardiaco, sangre cardiaca, yin cardiaco o YANG cardiaco-renal, mientras que el vigor en la superficie es estancamiento del QI, acumulación de frío, flemas, congestión que puede estancar el meridiano cardiaco. Durante la patogénesis, astenia en el origen y vigor en la superficie son habitualmente causas y resultados mutuamente y agravan el estado patológico, presentando de ese modo síntomas complicados tanto en apariencia como en sustancia. El tratamiento de los mismos se refiere principalmente a armonización del YIN y el YANG, tonificación pirética de YANG-QI, y a promover el flujo del QI y de sangre. El QI controla la sangre, de manera que la circulación sanguínea depende del flujo de QI. Es una regla importante en el tratamiento de opresión en el pecho y dolor cardiaco vigorizar el QI y alentar el YANG, y activar la circulación sanguínea y disipar la estasis sanguínea.

Los resultados de investigaciones en la ciencia moderna indican que los componentes bioactivos principales de *Radix ginseng* son los ginsenósidos. Aunque tanto el ginseng rojo como el ginseng secado al sol contienen ginsenósidos, sus ginsenósidos son diferentes, es decir, el ginseng rojo contiene algunos ginsenósidos tales como ginsenósidos Rg2, Rg3, Rh1, Rh2, etc. que no existen en el ginseng secado al sol. Estos nuevos ginsenósidos son ginsenósidos secundarios generados mediante hidrólisis de ginsenósidos durante el procedimiento para procesar el ginseng, tales como etapas de escaldado y secado.

Estos ginsenósidos secundarios tienen muchas actividades nuevas, por ejemplo, los ginsenósidos Rh1, Rh2 y Rg3 tienen actividad anticancerígena significativa y pueden inducir la rediferenciación de células de cáncer, es decir, inducir a células de cáncer a rediferenciarse en células sanas, mientras que otros ginsenósidos no tienen tales efectos o sus efectos son relativamente débiles. El ginsenósido Rg3 presenta efectos inhibidores relativamente fuertes sobre la agregación plaquetaria inducida por colágeno o ADP. El ginsenósido Rh1 tiene efectos inhibidores significativos sobre la conversión de fibrinógeno en fibrina inducida por trombina.

Además, el metabolismo *in vivo* de ginsenósidos se ha estudiado mediante la farmacología en suero. Los resultados muestran que los ginsenósidos nativos tienen una tasa de absorción muy baja en el cuerpo humano (por ejemplo, la tasa de absorción de ginsenósido-Rb1 por administración oral es de sólo el 1%), y los componentes activos que se absorben realmente por el cuerpo humano son los ginsenósidos secundarios producidos a través del metabolismo de bacterias intestinales. Durante el estudio del metabolismo *in vivo* de ginsenósidos, el profesor Wang Benxiang encontró que tras la administración oral de ginsenósido-Rg1, los componentes bioactivos que se absorbieron en la sangre eran principalmente ginsenósido secundario Rh1 producido por el metabolismo de bacterias intestinales.

Durante el estudio de los componentes activos en "Bebida de Generación de Pulso (Shengmai Yin)", el profesor Yan Yongqing encontró que se obtuvieron mejores efectos terapéuticos cuando todos los componentes de la fórmula de compuesto "Bebida de Generación de Pulso (Shengmai Yin)" se hirvieron juntos que los logrados cuando se hirvieron estos componentes de manera individual. Después de hervirse juntos todos los componentes de la fórmula de compuesto, los ginsenósidos en la bebida eran principalmente ginsenósidos secundarios Rg2, Rg3 y Rh1, y todos los ginsenósidos nativos desaparecieron. Los resultados de este estudio mostraron que los componentes activos principales en el complejo "Bebida de Generación de Pulso (Shengmai Yin)" eran ginsenósidos Rg2, Rg3 y Rh1.

Sin embargo, el contenido natural de estos ginsenósidos es muy bajo. Por ejemplo, Rg3 es sólo el 0,0003% en ginseng blanco, aproximadamente el 0,03% en ginseng rojo, mientras que Rh2 y C-K no están presentes en ginseng natural en absoluto, y Rh2 es sólo aproximadamente el 0,001% en ginseng rojo. C-K son productos metabólicos de ginsenósidos producidos por bacterias intestinales. Puesto que estos ginsenósidos secundarios de ginseng son muy difíciles de obtener, es casi imposible realizar el desarrollo del fármaco que necesita una cantidad de compuesto a un nivel de varios kilogramos. Por tanto, es necesario desarrollar procedimientos novedosos para la producción de estos compuestos.

Los documentos CN 1092204 C y CN 1193038 C describen cada uno procedimientos para la preparación de ginsenósido Rg3 a partir de la saponina de panoxadiol mediante hidrólisis ácida.

Sumario de la invención

Un objeto de la presente divulgación es proporcionar una composición farmacéutica que contiene ginsenósidos secundarios con el fin de superar las desventajas de que los ginsenósidos nativos tienen una tasa de absorción muy baja y bioactividad relativamente débil en el cuerpo humano.

Un objeto de la presente divulgación se logra tal como sigue:

Una composición farmacéutica, que comprende ginsenósidos secundarios totales que es un extracto de ginsenósidos secundarios totales extraídos a partir de una planta de *Radix ginseng*;

Dicho extracto de ginsenósidos secundarios totales comprende los siguientes componentes:

(1) ginsenósidos con protopanaxadiol como aglicona, incluyendo ginsenósido-Rg3;

(2) ginsenósidos con protopanaxatriol como aglicona, incluyendo ginsenósido-Rg2 y ginsenósido-Rh1;

La suma de los ginsenósidos con protopanaxadiol o protopanaxatriol como aglicona es del 20% ~ 98% en peso.

Como para el extracto de ginsenósidos secundarios totales, su color y composición varía dependiendo del procedimiento para preparar ginsenósidos secundarios totales y del contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto, es decir, a medida que aumenta dicho contenido desde el 20% hasta el 98% (el término "ginsenósidos secundarios totales" usado en el presente documento es idéntico a "la suma de los ginsenósidos con protopanaxadiol o protopanaxatriol como aglicona" tal como se mencionó anteriormente), el contenido de componentes distintos de los ginsenósidos secundarios totales disminuye gradualmente. Tras hidrolizarse el extracto de la planta *Radix ginseng* con un ácido orgánico y luego concentrarse directamente hasta sequedad, el extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales es de color marrón oscuro, siendo el contenido de ginsenósidos secundarios totales del 20%-40%, y el 60%-80% residual comprende polisacáridos, pigmentos vegetales, flavonas y glicósidos de las mismas, esteroides y glicósidos de los mismos;

Tras hidrolizarse el extracto de la planta *Radix ginseng* con un ácido orgánico, se extrae el líquido hidrolizado con un disolvente orgánico, entonces puede concentrarse la fase orgánica hasta sequedad para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales; o el líquido hidrolizado puede absorberse haciéndolo pasar a través de una resina macroporosa, lavarse con agua hasta que se vuelve casi incoloro, entonces eluirse con un disolvente orgánico acuoso o un disolvente orgánico puro, se concentra el disolvente orgánico que contiene la parte eluida hasta sequedad para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales con un color amarillo, siendo el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el mismo del 40%-55%, y comprendiendo el 45%-60% residual pigmentos vegetales, flavonas y glicósidos de las mismas, esteroides y glicósidos de los mismos;

Tras hidrolizarse el extracto de planta *Radix ginseng* con un ácido orgánico, se extrae el líquido hidrolizado con un disolvente orgánico. Entonces se lava la fase orgánica con una disolución acuosa alcalina para eliminar la parte de ácido fenólico y entonces se concentra la fase orgánica hasta sequedad para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales; o el líquido hidrolizado se absorbe haciéndolo pasar a través de una resina macroporosa, se lava con una disolución acuosa alcalina para eliminar la parte de ácido fenólico, se lava con agua hasta que se vuelve neutro y casi incoloro, entonces se eluye con un disolvente orgánico que contiene agua o un disolvente orgánico puro. Se concentra el disolvente orgánico que contiene la parte eluida hasta sequedad para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales con un color amarillo claro, siendo el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el mismo del 50%-70%, y comprendiendo el 30%-50% residual pigmentos vegetales, esteroides y glicósidos de los mismos.

Tras hidrolizarse el extracto de planta *Radix ginseng* con un ácido orgánico, se extrae el líquido hidrolizado con un disolvente orgánico, se lava la fase orgánica con una disolución acuosa alcalina para eliminar la parte de ácido fenólico y entonces se concentra la fase orgánica hasta sequedad para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales; o el líquido hidrolizado se absorbe haciéndolo pasar a través de una resina macroporosa, se lava con una disolución acuosa alcalina para eliminar la parte de ácido fenólico, se lava con agua hasta que se vuelve neutro y casi incoloro, entonces se eluye con un disolvente orgánico que contiene agua o un disolvente orgánico puro, se concentra el disolvente orgánico que contiene la parte eluida hasta sequedad para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Un extracto de este tipo de ginsenósidos secundarios totales se separa mediante cromatografía usando una columna de gel de sílice, y se detecta mediante cromatografía en capa fina de gel de sílice. Se combinan las partes que contienen ginsenósido-Rg3, ginsenósido-Rg2 o ginsenósido-Rh1, se evapora la fase móvil para obtener un extracto de ginsenósidos secundarios totales con un color blanquecino. El contenido de ginsenósidos secundarios totales en el mismo es del 70%-98%, y el 2%-30% residual comprende principalmente esteroides y glicósidos de los mismos.

Dichos ginsenósidos con protopanaxadiol como aglicona incluyen además preferiblemente ginsenósido Rh2; y dichos ginsenósidos con protopanaxatriol como aglicona incluyen además ginsenósido Rh3, ginsenósido Rf, Notoginsenósido R2; la suma de ginsenósidos con protopanaxadiol o protopanaxatriol como aglicona es del 20%-98% en peso.

En una disposición preferida, dicho ginsenósido Rg3 es ginsenósido 20-(S)-Rg3 y/o ginsenósido 20-(R)-Rg3; dicho ginsenósido Rg2 es ginsenósido 20-(S)-Rg2 y/o ginsenósido 20-(R)-Rg2; dicho ginsenósido Rh1 es ginsenósido 20-(S)-Rh1 y/o ginsenósido 20-(R)-Rh1; dicho ginsenósido Rg3 es el 10-30%, dicho ginsenósido Rg2 es el 1-20% y dicho ginsenósido Rh1 es 1-10%, expresado en porcentaje en peso; la suma de ginsenósidos con protopanaxadiol o protopanaxatriol como aglicona es del 50%-98%, expresado en porcentaje en peso.

En una disposición preferida, en dicha composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales, dicho ginsenósido Rg3 es el 12-20%, dicho ginsenósido Rg2 es el 4-16% y dicho ginsenósido Rh1 es el 3-5%; la suma de ginsenósidos con protopanaxadiol o protopanaxatriol como aglicona es del 50%-98% en peso.

Dichas plantas para extraer ginsenósidos secundarios totales son plantas de *Panax*, incluyendo diversos ginsengs, ginsengs americanos, notoginseng, ginseng superior, preferiblemente raíz fibrosa de ginseng.

El procedimiento para preparar dicha composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales mediante extracción comprende una etapa de hidrólisis, en el que en la etapa de hidrólisis, se usa un ácido inorgánico o un ácido orgánico como catalizador de hidrólisis, preferiblemente, se usa ácido acético como catalizador de hidrólisis.

Dicha composición farmacéutica puede comprender una cantidad terapéuticamente eficaz del extracto de ginsenósidos secundarios totales, un aditivo, un excipiente y un portador farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales es una preparación de ginsenósidos secundarios totales obtenida hidrolizando un extracto de ginseng con un ácido débil. La derivación de sus componentes principales es tal como sigue: el ginsenósido Rg3 (ginsenósido secundario) se produce mediante la hidrólisis el grupo Rb de ginsenósidos (ginsenósidos nativo), el ginsenósido Rg2 (ginsenósido secundario) se produce mediante la hidrólisis del grupo Re de ginsenósidos (ginsenósidos nativo) y el ginsenósido Rh1 (ginsenósido secundario) se produce mediante la hidrólisis del grupo Rg1 de ginsenósidos (ginsenósidos nativo). Tras una serie de investigaciones, se determinaron las condiciones óptimas para la elución en gradiente en cromatografía de líquidos de alta resolución, en las que pueden aislarse muy bien 20-(S)-Rg3, 20-(R)-Rg3, 20-(S)-Rg2, 20-(R)-Rg2, 20-(S)-Rh1, 20-(R)-Rh1 de la presente invención.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento para preparar una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales.

El objeto se logra tal como sigue:

Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales, que comprende las etapas siguientes:

- 5 (1) preparación de un líquido de extracto de ginsenósidos totales: extraer una planta de *Panax* con agua o un disolvente orgánico, luego concentrar el líquido de extracto resultante;
- (2) preparación de líquido hidrolizado: hidrolizar el líquido de extracto concentrado anterior en presencia de un ácido inorgánico u orgánico como catalizador;
- 10 (3) absorción con resina: hacer pasar el líquido hidrolizado a través de una resina macroporosa para la absorción en columna;
- (4) eliminación de las impurezas: eluir la columna de absorción que ha absorbido el líquido hidrolizado con agua, con una disolución acuosa alcalina y con etanol a una concentración por debajo del 35% para eliminar las impurezas;
- 15 (5) elución, concentración, secado: tras la eliminación de las impurezas, eluir la columna de absorción con etanol a una concentración por encima del 35%, recoger el eluyente que se está eluyendo con etanol a una concentración por encima del 35%, concentrar el eluyente para obtener un extracto líquido y secar a vacío para obtener un extracto líquido, y secar a vacío para obtener una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales.
- 20

25 En una realización preferida de la presente invención, el catalizador de ácido inorgánico u orgánico usado en dicha etapa (2) se selecciona del grupo que consiste en ácido acético glacial, ácido propiónico, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico; dicha hidrólisis se realiza a 80-100°C durante 3-8 horas; y preferiblemente, la hidrólisis se realiza en presencia de ácido acético glacial a 99°C durante 5 horas.

30 En la presente invención, la resina macroporosa que se usa en la etapa (3) es una resina macroporosa de tipo estireno, que se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en resinas macroporosas de tipo estireno, resinas macroporosas de tipo etil-estireno y resinas macroporosas de tipo metil-estireno.

35 En una realización adicional preferida, la disolución acuosa alcalina usada en la etapa (4) es una disolución acuosa de un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio y carbonato de potasio a una concentración del 0,1-5,0%. Preferiblemente, el hidróxido de sodio es el 0,3-0,7%, el hidróxido de potasio es el 0,4-0,8%, el carbonato de sodio o carbonato de potasio es el 0,6-1,5%.

40 En una realización preferida adicional, el etanol usado en la etapa (4) para la eliminación de las impurezas tiene una concentración del 15-25%.

En la presente invención, el etanol usado para eluir la columna de absorción en la etapa (5) tiene una concentración del 60-80%.

45 También se da a conocer una preparación farmacéutica de extracto de ginsenósidos secundarios totales en diversas formas farmacéuticas diferentes dependiendo de las diferentes aplicaciones clínicas y los diferentes estados de los pacientes.

50 Para pacientes en estados normales, el extracto de ginsenósidos secundarios totales puede formularse como comprimidos de disgregación oral, comprimidos, cápsulas, gránulos, líquido oral, pastillas con forma de gota, inyecciones etc., para su administración.

55 Durante la preparación de comprimidos de ginsenósidos secundarios totales, se usan un polvo del extracto de ginsenósidos secundarios totales, esencia de menta, ciclamato de sodio, gel de sílice en micropolvo, polvo de talco, etc., y los comprimidos se preparan según un procedimiento convencional. El extracto de ginsenósidos secundarios totales es el 3%-85% basándose en el peso total del comprimido.

60 Durante la preparación de gránulos de ginsenósidos secundarios totales, pueden usarse un extracto de ginsenósidos secundarios totales, almidón, esencia de menta, agente edulcorante, gel de sílice en micropolvo, polvo de talco, etc., y los gránulos se preparan según un procedimiento convencional. El extracto de ginsenósidos secundarios totales es el 3%-85% basándose en el peso total de todo el gránulo.

65 Durante la preparación de un líquido oral de ginsenósidos secundarios totales, se usan un extracto de ginsenósidos secundarios totales, Tween, ciclamato de sodio, gel de sílice en micropolvo, hidroxibenzoato de etilo, hidroxibenzoato de propilo, etc. según un procedimiento convencional. El extracto de ginsenósidos secundarios totales es el 3%-85% basándose en el peso total de todo el líquido oral.

Durante la preparación de cápsulas de ginsenósidos secundarios totales, se usan un extracto de ginsenósidos

secundarios totales, almidón, gel de sílice en micropolvo, polvo de talco, cápsulas duras huecas, etc., y las cápsulas se preparan según un procedimiento convencional. El extracto de ginsenósidos secundarios totales es el 3%-85% basándose en el peso total de toda la cápsula.

5 La presente divulgación proporciona además comprimidos de disgregación oral de ginsenósidos secundarios totales. Este objeto se logra tal como sigue:

Un comprimido de disgregación oral de ginsenósidos secundarios totales, que comprende los siguientes componentes:

10 A) la composición farmacéutica mencionada anteriormente de ginsenósidos secundarios totales como principio activo;

15 B) un componente auxiliar, incluyendo un agente de carga; en el que el componente A) es el 3%-85% basándose en el peso de todo el comprimido de disgregación oral.

El componente auxiliar B) en el comprimido de disgregación oral de ginsenósidos secundarios totales puede comprender un clatrato preparado a partir de un agente enmascarador o una dispersión sólida.

20 Dicho agente de carga usado en los componentes auxiliares B) puede ser uno o más seleccionado del grupo que consiste en almidón, dextrina, lactosa, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado, xilitol, manitol, sorbitol, eritritol, sacarosa, glucosa, fructosa, trehalosa y maltosa.

25 Dicho componente auxiliar B) puede comprender además los siguientes componentes:

30 un agente disgregante: que es uno o más seleccionado del grupo que consiste en hidroxipropilcelulosa de baja sustitución, carboximetilalmidón de sodio, polivinilpirrolidona reticulada, carboximetilcelulosa de sodio reticulada, carboximetilalmidón de sodio reticulado;

un agente enmascarador: que se selecciona del grupo que consiste en ciclodextrina y derivados de la misma, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, polímero de ácido metacrílico;

35 un agente de unión: que se selecciona del grupo que consiste en una disolución de etanol, agua, una disolución de polivinilpirrolidona y una suspensión espesa de almidón;

un agente efervescente: que se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tartárico, ácido bórico, ácido fumárico, hidrogenocarbonato de sodio y carbonato de sodio;

40 un agente aromatizante: que se selecciona del grupo que consiste en esencia de menta, esencia de limón, ciclamato de sodio, aspartamo y esteviósido;

un deslizante: que se selecciona de gel de sílice en micropolvo;

45 un lubricante: que se selecciona del grupo que consiste en polvo de talco, estearato de magnesio y polietilenglicol;

50 la cantidad de cada uno de los componentes auxiliares en B) puede ser tal como sigue: 10-95 de un agente de carga, 0-50 de un disgregante, 0-50 de un agente enmascarador, 0-10 de un agente de unión, 0-60 de un agente efervescente, 0-20 de un agente aromatizante, 0-15 de un deslizante y 0-30 de un lubricante, en partes en peso en los componentes auxiliares B).

También se da a conocer un procedimiento para preparar un comprimido de disgregación oral de ginsenósidos secundarios totales, que se logra tal como sigue:

55 Un procedimiento para preparar un comprimido de disgregación oral de ginsenósidos secundarios totales, que comprende las etapas siguientes:

60 (1) preparación de un líquido de extracto de ginsenósidos totales: extraer una planta del género *Panax* con agua o un disolvente orgánico, luego concentrar el líquido de extracto resultante;

(2) preparación de líquido hidrolizado: hidrolizar el líquido de extracto concentrado anteriormente en presencia de un ácido inorgánico u orgánico como catalizador;

65 (3) absorción con resina: hacer pasar el líquido hidrolizado a través de una resina macroporosa para la absorción en columna;

(4) eliminación de las impurezas: eluir la columna de absorción que ha absorbido el líquido hidrolizado con agua, una disolución acuosa alcalina y etanol que tiene una concentración por debajo del 35%, para eliminar las impurezas;

(5) elución, concentración, secado: tras la eliminación de las impurezas, eluir la columna de absorción con una disolución de etanol que tiene una concentración por encima del 35%, recoger el eluyente eluido con etanol a una concentración por encima del 35%, concentrar el eluyente resultante para obtener un extracto líquido y secar a vacío para obtener una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales como componente A);

(6) mezclar homogéneamente el componente A de la composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales obtenida en la etapa (5) con los componentes auxiliares B), secar, pulverizar y comprimir de manera convencional para obtener el comprimido.

También se dan a conocer usos de una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cualquiera de las siguientes enfermedades:

uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de angina de pecho de cardiopatía coronaria;

uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de isquemia miocárdica;

uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de choque hemorrágico; y

uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de insuficiencia cardiaca.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los ejemplos que siguen, pero estos ejemplos no pretenden limitar el alcance de protección de la presente invención.

Ejemplos

[Ejemplo 1]

Se extrajeron 10 kg de raíz fibrosa de ginseng con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante 3 horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió un volumen igual de ácido acético glacial al 99%, y se realizó la hidrólisis a 97-99°C durante 3 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar a través de una columna de resina macroporosa de tipo D101. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con hidróxido de sodio al 0,5%, se eluyó con agua hasta que se volvió neutra, luego se eluyó con etanol al 20% y finalmente se eluyó con etanol al 70%. Se recogió el eluyente eluido con etanol al 70%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C para obtener 0,56 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió que el contenido de los diversos componentes activos mediante cromatografía de líquidos de alta resolución era: el 9,0% de 20-(S)-Rg3, el 9,0% de 20-(R)-Rg3, el 5,1% de 20-(S)-Rg2, el 5,1% de 20-(R)-Rg2, el 3,8% de 20-(S)-Rh1 y el 3,8% de 14 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales mediante colorimetría como el 62%. El residuo eran pigmentos vegetales y daucoesteroles.

Para 50 g de la composición farmacéutica obtenida de ginsenósidos secundarios totales, se pulverizaron por separado celulosa microcristalina y manitol, se tamizaron y se almacenaron para su uso; se disolvieron 15 g de polímero de metacrilato Eudragit E100 en una cantidad apropiada de una disolución de etanol, se añadieron lentamente los ginsenósidos secundarios totales con agitación, luego se continuó agitando hasta que los ginsenósidos secundarios totales se dispersaron de manera homogénea, se secaron a presión reducida, se pulverizaron y luego se tamizaron. Se añadieron 10 g de polivinilpirrolidona reticulada, 70 g de celulosa microcristalina, 190 g de manitol, 2 g de aspartamo, 17,5 g de gel de sílice en micropulvo y 1,5 g de estearato de magnesio, se mezclaron de manera homogénea, se midió para determinar su contenido, se calculó para determinar el peso del comprimido y entonces se comprimieron para obtener comprimidos de disgregación oral de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 2]

Se extrajeron 10 kg de comprimidos en decocción (o trozos en bruto) de ginseng con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 6 volúmenes de disolvente durante 3 horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió un volumen igual de ácido clorhídrico al 0,1% y entonces se hidrolizó la mezcla a 80-83°C durante 8 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo D2. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó

con hidróxido de potasio al 5,0%, seguido por agua hasta que se volvió neutra, se eluyó con etanol al 15% y finalmente se eluyó con etanol al 60%. Se recogió el eluyente eluido con etanol al 60%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C, dando como resultado 0,35 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se separó el extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales mediante cromatografía usando una columna de gel de sílice (200-300 de malla, 10 kg), siendo la fase móvil eluyente en gradiente de diclorometano-metanol y se detectaron los eluyentes mediante cromatografía en capa fina de gel de sílice. Se combinaron las fracciones que contenían ginsenósido Rg3, ginsenósido Rg2 y ginsenósido Rh1, se evaporaron para eliminar diclorometano-metanol, dando como resultado un extracto de ginsenósidos secundarios totales con un color blanquecino.

Se midió el contenido de los diversos principios activos en el mismo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución tal como sigue: el 25,0% de 20-(S)-Rg3, el 25,0% de 20-(R)-Rg3, el 4,2% de 20-(S)-Rg2, el 4,2% de 20-(R)-Rg2, el 4,7% de 20-(S)-Rh1 y el 4,7% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 98,5%. El residuo eran esteroides y glicósidos de los mismos.

Se disolvieron 10 g del extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales y 5 ml de Tween-80 en 1500 ml de agua para inyección, luego se añadió una cantidad apropiada de agua para inyección hasta que el volumen alcanzó 2000 ml, luego se filtró la disolución resultante, se alicuotó y se esterilizó para obtener una disolución para inyección de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 3]

Se extrajeron 10 kg de comprimidos en decocción de notoginseng con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante tres horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió un volumen igual de ácido acético glacial al 99%, entonces se hidrolizó la mezcla a 87-89°C durante 5 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo DM2. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con hidróxido de sodio al 3,5%, seguido por agua hasta que se volvió neutra, luego se eluyó con etanol al 25% y finalmente se eluyó con etanol al 80%. Se recogió el eluyente de etanol al 80%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C, dando como resultado 0,38 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió el contenido de diversos principios activos en el mismo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución tal como sigue: el 5,7% de 20-(S)-Rg3, el 5,7% de 20-(R)-Rg3, el 9,3% de 20-(S)-Rg2, el 9,3% de 20-(R)-Rg2, el 8,2% de 20-(S)-Rh1 y el 8,2% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 65%. El residuo eran pigmentos vegetales, β -sitoesterol y daucoesteroles.

Se pesaron 50 g de la composición farmacéutica obtenida de ginsenósidos secundarios totales, 30 g de almidón, 55 g de ácido cítrico, 55 g de ácido tartárico, 40 g de hidrogenocarbonato de sodio, 5 g de esencia de menta, 15 g de ciclamato de sodio, 45 g de gel de sílice en micropolvo y 5 g de polvo de talco y se mezclaron de manera homogénea, se midió para determinar su contenido, se calculó para determinar el peso del comprimido y luego se comprimieron, dando como resultado comprimidos de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 4]

Se extrajeron 10 kg de tallos y hojas de ginseng con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante tres horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió un volumen igual de ácido acético glacial y entonces se hidrolizó la mezcla a 90-93°C durante 7 horas. Se concentró el líquido hidrolizado a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C para obtener 0,71 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió el contenido de los diversos componentes activos mediante cromatografía de líquidos de alta resolución tal como sigue: el 3,5% de 20-(S)-Rg3, el 3,5% de 20-(R)-Rg3, el 0,5% de 20-(S)-Rg2, el 0,5% de 20-(R)-Rg2, el 0,4% de 20-(S)-Rh1 y el 0,4% de 20-(R)-Rh1. Usando ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 21%. El residuo eran polisacáridos de ginseng, pigmentos vegetales, flavonas y glicósidos de las mismas, β -sitoesterol y daucoesteroles.

Se pesaron 100 g del extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales, 50 ml de Tween-80, 1 g de hidroxibenzoato de etilo, 1 g de hidroxibenzoato de propilo, 5 g de sacarina de sodio y se disolvieron en 8000 ml de agua, luego se añadió una cantidad apropiada de agua hasta alcanzar un volumen de 10000 ml y se filtró la disolución resultante, se alicuotó para obtener un líquido oral de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 5]

Se extrajeron 10 kg de comprimidos en decocción de ginseng americano con etanol al 50% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 7 veces la cantidad de disolvente durante 2,5 horas. Se combinaron todos los líquidos de

extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió una cantidad igual de ácido acético glacial y entonces se hidrolizó la mezcla a 97-99°C durante 5 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo DS2. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con hidróxido de potasio al 0,8%, se eluyó con agua hasta que se volvió neutra, se eluyó con etanol al 20% y finalmente se eluyó con etanol al 80%. Se recogió el eluyente eluido con etanol al 80%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C para obtener 0,35 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió que el contenido de los diversos componentes activos mediante cromatografía de líquidos de alta resolución era tal como sigue: el 11,0% de 20-(S)-Rg3, el 11,0% de 20-(R)-Rg3, el 0,9% de 20-(S)-Rg2, el 0,9% de 20-(R)-Rg2, el 1,2% de 20-(S)-Rh1 y el 1,2% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales mediante colorimetría como el 57%. El residuo era pigmentos vegetales, β -sitoesterol y daucoesteroles.

Se pesaron 50 g del extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales, al que se añadieron 1500 g de almidón, 100 g de ciclamato de sodio, 250 g de celulosa microcristalina y 100 g de carboximetilcelulosa y se mezclaron de manera homogénea, se granularon, se secaron y se alicuotaron, dando como resultado gránulos de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 6]

Se extrajeron 10 kg de tallos y hojas de notoginseng con etanol al 60% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante 4 horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió un peso igual de ácido sulfúrico al 0,5%, entonces se hidrolizó la mezcla a 50-53°C durante 1 hora. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo XAD-1. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con hidróxido de potasio al 0,5%, se eluyó con agua hasta que se volvió neutra, luego se eluyó con etanol al 15% y finalmente se eluyó con etanol al 65%. Se recogieron los eluyentes con etanol al 65%, se concentraron a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secaron a vacío a 70°C para obtener 0,45 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió que el contenido de los diversos componentes activos mediante cromatografía de líquidos de alta resolución era: el 15,5% de 20-(S)-Rg3, el 15,5% de 20-(R)-Rg3, el 1,1% de 20-(S)-Rg2, el 1,1% de 20-(R)-Rg2, el 1,2% de 20-(S)-Rh1 y el 1,2% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 70%. El residuo eran pigmentos vegetales, esteroides y daucoesteroides.

Se pesaron 50 g del extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales y 450 g de polietilenglicol 6000. Se calentó el polietilenglicol 6000 hasta aproximadamente 100°C, entonces se añadió el extracto de ginsenósidos secundarios totales, se mantuvieron con calentamiento para disolver y se mezclaron de manera homogénea. La disolución de la mezcla se vertió en parafina líquida como líquido refrigerante, se enfrió para formar pastillas y se secó para obtener pastillas con forma de gota de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 7]

Se extrajeron 10 kg de tallos y hojas de ginseng americano con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante 3 horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió una cantidad igual de ácido propiónico y se hidrolizó la mezcla a 108-110°C durante 7 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo HP-30. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con carbonato de potasio al 5%, se eluyó con agua hasta que se volvió neutra, luego se eluyó con etanol al 35% y finalmente se eluyó con etanol al 95%. Se recogió el eluyente con etanol al 95%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C para obtener 0,23 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió que el contenido de diversos componentes eficaces en el extracto resultante mediante cromatografía de líquidos de alta resolución era: el 10,5% de 20-(S)-Rg3, el 10,5% de 20-(R)-Rg3, el 1,1% de 20-(S)-Rg2, el 1,1% de 20-(R)-Rg2, el 1,0% de 20-(S)-Rh1 y el 1,0% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 52%. El residuo eran pigmentos vegetales, flavonas, β -sitoesterol y daucoesteroides.

Se pesaron 50 g del extracto obtenido de ginsenósidos secundarios totales, al que se le añadieron 100 g de almidón y 5 g de estearato de magnesio, entonces se mezcló homogéneamente la mezcla, se granuló, se secó, y se cargó en 1000 cápsulas para obtener cápsulas de ginsenósidos secundarios totales.

[Ejemplo 8]

Se extrajeron 10 kg de comprimidos en decocción de ginseng secado al sol con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante 3 horas. Se combinaron todos los líquidos

de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió una cantidad igual de ácido propiónico y entonces se hidrolizó la mezcla a 97-99°C durante 9 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo XAD-5. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con hidróxido de sodio al 0,1%, se eluyó con agua hasta que se volvió neutra, luego se eluyó con etanol al 35% y finalmente se eluyó con etanol al 50%. Se recogió el eluyente con etanol al 50%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto, se secó a vacío a 70°C para obtener 0,18 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió que el contenido de diversos componentes activos en el extracto mediante cromatografía de líquidos de alta resolución era: el 8,5% de 20-(S)-Rg3, el 8,5% de 20-(R)-Rg3, el 2,0% de 20-(S)-Rg2, el 2,0% de 20-(R)-Rg2, el 1,6% de 20-(S)-Rh1 y el 1,6% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 58%. El residuo eran pigmentos vegetales y daucoesteroles.

[Ejemplo 9]

Se extrajeron 10 kg de comprimidos en decocción de ginseng rojo con etanol al 70% en condiciones de reflujo 3 veces, cada una con 5 veces la cantidad de disolvente durante 3 horas. Se combinaron todos los líquidos de extracto y se concentraron a presión reducida. Al líquido concentrado se le añadió una cantidad igual de ácido acético glacial y entonces se hidrolizó la mezcla a 97-99°C durante 5 horas. Al líquido hidrolizado se le añadió un volumen igual de agua y entonces se hizo pasar la mezcla a través de una columna de resina macroporosa de tipo HP-10. Tras cargarse completamente, se eluyó la columna con agua hasta volverse casi incolora, luego se eluyó con hidróxido de sodio al 0,3%, se eluyó con agua hasta que se volvió neutra, luego se eluyó con etanol al 20% y finalmente se eluyó con etanol al 70%. Se recogió el eluyente con etanol al 70%, se concentró a presión reducida para obtener un líquido de extracto y se secó a vacío a 70°C para obtener 0,25 kg de un extracto de ginsenósidos secundarios totales. Se midió que el contenido de diversos componentes eficaces en el extracto mediante cromatografía de líquidos de alta resolución era: el 8,8% de 20-(S)-Rg3, el 8,8% de 20-(R)-Rg3, el 2,2% de 20-(S)-Rg2, el 2,2% de 20-(R)-Rg2, el 1,9% de 20-(S)-Rh1 y el 1,9% de 20-(R)-Rh1. Usando el ginsenósido 20-(R)-Rg3 como referencia, se midió el contenido de ginsenósidos secundarios totales en el extracto mediante colorimetría como el 55%. El residuo eran pigmentos vegetales, β -sitoesterol y daucoesteroles.

Ejemplo de prueba 1: Efectos sobre la isquemia miocárdica inducida por ligación de arterias coronarias en perros anestesiados

Se dividieron perros de prueba en los siguientes 8 grupos, 6 perros por grupo: (1) grupo control de blanco, solución salina fisiológica 3 ml/kg; (2) grupo de diltiazem 5 mg/kg; (3) grupo de "Di'ao Xinxuekang" 200 mg/kg; (4) grupo de ginsenósidos totales de raíz de ginseng (denominados resumidamente ginsenósidos totales de raíz) 200 mg/kg; (5) grupo de ginsenósidos totales de tallo/hojas de ginseng (denominados resumidamente ginsenósidos totales de tallo/hojas) 200 mg/kg; (6) grupo de ginsenósidos secundarios totales 25 mg/kg; (7) grupo de ginsenósidos secundarios totales 50 mg/kg; y (8) grupo de ginsenósidos secundarios totales 100 mg/kg. Se formularon todos los fármacos de prueba con agua destilada para que tuviesen el mismo volumen (3 ml/kg), y se administraron a través del duodeno.

Se anestesió cada animal con pentobarbital sódico (30 mg/kg), se operaron para formar un lecho pericárdico; se separó la arteria circunfleja izquierda, se colocó una sonda de medición del flujo electromagnética en la misma para medir el flujo de sangre coronario cardiaco (CCBF); se separó la sección media de la arteria coronaria descendente anterior, se trenzó por ligación para crear un modelo de isquemia miocárdica aguda experimental; se suturó una derivación epicárdica fijada a múltiples puntos y se conectó con un electrofisiógrafo multicanal para registrar el electrograma epicárdico. Se ligó la arteria coronaria durante 15 minutos, y se registró como valor control antes de la administración de fármaco, fármaco de prueba o solución salina fisiológica por medio del duodeno, se registraron electrogramas epicárdicos de 30 puntos de mapeo a los 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 minutos tras la administración del fármaco, y se calcularon el grado de isquemia miocárdica (Σ -ST, aumento total del número mv en la sección S-T) y el intervalo de isquemia miocárdica (N-ST, aumento total del número de puntos en la sección S-T). Se tomaron muestras de sangre en un orificio de la vena del seno coronario mediante canulación por medio de la vena yugular externa antes de la isquemia, a los 15 minutos tras la isquemia (antes de la administración del fármaco) y a los 0, 30, 60, 90, 120, 180 minutos tras la administración del fármaco, se midió el contenido de oxígeno en la sangre venosa coronaria mediante oxihemógrafo; se realizó una canulación en la arteria carótida común, en donde se midió el contenido de sangre en la sangre arterial, que junto con el flujo de sangre coronaria se usaron para calcular consumo de oxígeno miocárdico (MOC). Se tomaron muestras de sangre a los puntos de tiempo mencionados anteriormente para medir los niveles de creatina cinasa (CK) y ácido láctico deshidrogenasa (LDH) en suero; y se midieron los niveles de endotelina (ET), tromboxano B₂ (TXB₂) y 6-ceto-prostaglandina F_{1a} (6-Keto-PGF_{1a}) en plasma sanguíneo mediante un contador γ automático radioinmunoquímicamente.

Se completó el registro a los 180 minutos tras la administración del fármaco, se extrajo el corazón inmediatamente, se seccionó transversalmente el ventrículo cardiaco paralelo al surco coronario por debajo de la ligadura del corazón para formar 5 cortes, que se colocaron en disolución de tinción N-BT y se tiñeron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se midieron la zona de infarto (zona sin tinción con N-BT) y la zona sin infarto (zona con tinción de N-BT) a

ambos lados de cada corte de músculo cardiaco usando un sistema de análisis de imágenes patológicas a color multimedia para calcular el área de cada corte de músculo cardiaco, el área total del ventrículo cardiaco y el área total de las zonas de infarto. Se calcularon los porcentajes de zonas de infarto basándose en el ventrículo cardiaco y en el corazón completo.

5 Se analizaron estadísticamente los resultados de prueba, y se usó la prueba de la t para determinar la significación.

10 Se muestran los resultados en la tabla 1, en la que el grado de isquemia miocárdica (Σ -ST) en el grupo control de solución salina fisiológica no cambió significativamente; los ginsenósidos totales de raíz y los ginsenósidos totales de tallo/hojas a la dosificación de 200 mg/kg pudieron inhibir significativamente la isquemia miocárdica y reducir Σ -ST; los tres grupos de dosificación de los ginsenósidos secundarios totales presentaron un grado reducido de isquemia miocárdica, que era significativa a los 90-180 minutos, y los ginsenósidos secundarios totales a la dosificación de 50-100 mg/kg redujeron Σ -ST a aproximadamente el mismo grado que, o un grado ligeramente superior que el logrado por los ginsenósidos totales de raíz y los ginsenósidos totales de tallo/hojas, todos superiores al 50%.

15 Los resultados anteriores indicaron que los ginsenósidos secundarios totales tuvieron una eficacia más fuerte que los ginsenósidos totales de raíz y los ginsenósidos totales de tallo/hojas.

20 Efectos sobre el intervalo de isquemia miocárdica (N-ST) en perros

25 Se muestran los resultados en la tabla 2, que indica que tras la administración de solución salina fisiológica, el intervalo de isquemia miocárdica (N-ST) en el grupo control no cambió significativamente. Los grupos con diversos ginsenósidos totales obtenidos de diferentes partes del ginseng no presentaron ningún cambio significativo, mientras que en los grupos de los ginsenósidos secundarios totales, había efectos significativos a los 90-180 minutos tras la administración a la dosificación de 100 mg/kg, y las diferencias eran significativas ($P < 0,05$) en comparación con los resultados obtenidos antes de la administración y con los del grupo control.

30 Los resultados anteriores indicaron que los ginsenósidos secundarios totales presentaban efectos de mejora significativos sobre la isquemia miocárdica aguda experimental en perros, podían reducir significativamente el grado de isquemia miocárdica (Σ -ST) y eran más eficaces que los ginsenósidos totales de las diversa partes del ginseng.

Ejemplo de prueba 2. Efectos sobre el intervalo de infarto de miocardio agudo en perros (medido mediante el método de tinción con N-BT)

35 Se muestran los resultados en la tabla 3, las zonas de infarto de miocardio en los animales del grupo de solución salina fisiológica fueron del $7,41 \pm 1,67\%$ y del $16,75 \pm 3,40\%$ basándose en el corazón y el ventrículo cardiaco respectivamente; los tres grupos de dosificación de ginsenósidos secundarios totales pudieron reducir el área de la zona de infarto de miocardio en los animales, y el área de la zona de infarto de miocardio fue del $3,20 \pm 1,85\%$ y del $7,85 \pm 4,74\%$ basándose en el corazón y el ventrículo cardiaco respectivamente, es decir, el área disminuyó en un 56,81% y un 53,13%, respectivamente, lo que era muy diferente significativamente del grupo control de solución salina fisiológica (ambos $P < 0,001$). Los ginsenósidos totales de raíz, tallo/hojas del ginseng también pudieron reducir significativamente el área de infarto de miocardio, pero fueron menos eficaces que los ginsenósidos secundarios totales, sin diferencia significativa.

45 Los resultados indicaron que los ginsenósidos secundarios totales a una dosificación inferior a la de los ginsenósidos totales de raíz y de tallo/hojas del ginseng pudieron alcanzar o incluso superar ligeramente la eficacia y los efectos de los dos últimos.

50 Ejemplo de prueba 3. Efectos sobre el flujo de sangre coronaria en perros con isquemia miocárdica experimental

55 Se muestran los resultados en la tabla 4, que indica que tras ligarse la arteria coronaria del perro anestesiado para formar isquemia miocárdica, el flujo de sangre coronaria presentaba un aumento compensatorio durante un corto periodo de tiempo a una amplitud de aproximadamente el 10%. Los ginsenósidos totales de raíz y los ginsenósidos totales de tallo/hojas pudieron aumentar ambos el flujo de sangre coronaria, y los ginsenósidos secundarios totales pudieron aumentar significativamente el flujo de sangre coronaria tras la administración, en la que los tres grupos de dosificación presentaron todos un aumento significativo en el flujo de sangre coronaria a los 15-180 minutos tras la administración, y el aumento del flujo de sangre coronaria durante 60 min-120 min fue el más significativo. En comparación con el de antes de la administración del fármaco ($P < 0,01$) y el del grupo de solución salina fisiológica ($P < 0,001$), la diferencia era significativa, y su eficacia era equivalentes a la de los ginsenósidos totales de raíz y los ginsenósidos totales de tallo/hojas.

60 Los resultados mostraron que los ginsenósidos secundarios totales a una dosificación inferior a la de los ginsenósidos totales de raíz y tallo/hojas del ginseng pudieron alcanzar la misma eficacia y efectos que los dos últimos.

Tabla 1. Efectos de los fármacos sobre el grado de isquemia miocárdica aguda (Σ -ST) en cada grupo de perros (mapeo de electrograma epicárdico) ($\bar{X}\pm$ DE)

Grupo	Dosis- ción mg/kg	Antes de la administración del fármaco Tasa de cambio (100%)	Tras la administración del fármaco (min)						
			15	30	45	60	90	120	180
Solución salina fisiológica (n=6)									
	3 ml	219,33±68,31 (100%)	197,33±41,74 86,08±35,65	223,83±46,18 100,38±41,16	258,17±64,44 115,10±58,03	264,33±63,11 116,33±52,02	306,17±74,08 141,84±63,86	327,17±128,01 148,33±63,70	301,50±122,58 139,96±56,56
Diltiazem (n=6)									
	5	291,00±40,39 (100%)	182,00±70,40## 61,01±20,89**	149,83±41,36## 48,75±9,99**	126,00±47,35## 42,43±8,97**	148,67±71,87## 47,78±10,82**	140,17±63,46## 54,98±18,57**	139,00±69,20## 52,21±19,91**	117,17±54,27## 45,99±18,90**
Di'ao Xinxuekang (n=6)									
	200	322,33±111,75 (100%)	208,67±73,44## 65,05±10,77	222,00±53,28# 72,17±17,79	215,33±105,47# 68,22±28,92	201,33±81,24# 66,64±33,55	182,83±88,06# 61,13±36,29*	180,00±95,61# 59,74±36,37*	140,83±71,17# 48,47±34,06**
Ginse-nósidos totales de raíz (n=6)									
	200	359,67±97,65 (100%)	279,50±100,03## 76,39±7,41	226,00±65,01# 63,08±7,31	226,50±79,16# 63,59±17,70	185,00±71,14## 50,75±7,30*	165,17±66,56## 45,49±11,59**	159,83±67,93## 43,43±9,22**	145,83±48,86## 41,03±8,40**
Ginse-nósidos totales de tallo/hojas (n=6)									
	200	339,17±86,98 (100%)	218,83±43,84# 67,24±16,45	205,50±45,01# 63,54±16,70	237,00±72,37 75,59±33,35	216,33±63,59# 66,21±20,64	223,50±64,054 69,25±26,66*	214,67±74,59# 65,94±26,94*	179,00±75,07## 53,59±21,16**
Ginse-nósidos secundarios totales (n=6)									
	25	303,83±93,38 (100%)	250,17±67,29## 83,25±5,61	253,83±98,13 83,74±15,13	295,67±150,22 95,20±21,10	303,17±127,18 99,83±20,84	322,50±147,34 103,87±25,75	267,83±119,66 86,28±15,00*	223,33±94,59## 72,52±16,36*
Ginse-nósidos secundarios totales (n=6)									
	50	339,17±161,96 (100%)	259,33±134,31# 77,37±18,84	250,00±83,31 77,79±18,50	228,17±51,09 73,40±20,49	226,50±55,82 74,18±28,28	211,67±88,49 65,63±22,93*	183,83±55,49# 53,50±21,37*	161,17±94,28# 45,77±20,75*
Ginse-nósidos secundarios totales (n=6)									
	100	375,67±127,18 (100%)	299,67±103,55# 80,34±10,15	254,33±47,55# 74,35±31,02	244,33±52,65# 69,04±18,25	225,67±92,25# 60,78±20,51*	203,00±104,24## 52,77±13,68**	190,67±95,41## 48,76±22,34**	148,33±79,84## 40,32±14,27**

Nota: en comparación con los resultados antes de la administración del fármaco: # P<0,05, ## P<0,01; en comparación con el grupo control: * P<0,05, ** P<0,01

Tabla 2. Efectos de los fármacos sobre el grado de isquemia miocárdica aguda (Σ -ST) en cada grupo de perros (mapeo de electrograma epicárdico) ($\bar{X}\pm$ DE)

Grupo	Dosificación mg/kg	Antes de la administración del fármaco Tasa de cambio (100%)	Tras la administración del fármaco (min)						
			15	30	45	60	90	120	180
Solución salina fisiológica (n=6)	3 ml	27,83±3,06 (100%)	27,50±3,73 100,13±4,41	26,50±4,37 95,61±8,04	25,67±4,46 92,77±10,83	26,67±3,88 95,71±4,09	27,00±4,10 96,35±5,19	26,17±3,66 92,92±2,75	
Diltiazem (n=6)	5	28,67±0,82 (100%)	24,83±2,04# 89,60±8,40*	25,33±4,08 89,53±15,49	23,17±5,91 86,82±14,83	23,50±4,85 87,48±15,08	21,50±5,86# 81,41±14,31*	20,00±6,00# 77,22±16,49*	20,67±5,99# 75,89±19,59*
D'ao Xinxuekang (n=6)	200	29,67±0,82 (100%)	26,50±4,93 89,01±14,88	26,83±4,58 90,16±13,62	26,17±5,19 87,90±15,90	26,17±5,60 87,94±17,46	25,50±4,55 85,75±13,94	24,00±5,02 80,71±15,77	22,50±5,01# 77,21±16,52*
Ginsenósidos totales de raíz (n=6)	200	29,17±1,60 (100%)	28,50±1,97 97,67±2,78	26,83±3,71 91,69±9,03	26,67±3,72 91,13±9,26	25,33±4,13# 86,58±11,06	24,83±4,75 85,19±15,63	24,33±5,16 83,51±17,25	24,00±6,03 82,40±20,65
Ginsenósidos totales de tallo/hojas (n=6)	200	29,83±0,41 (100%)	29,50±0,84 98,89±2,72	29,50±0,84 98,91±3,47	29,33±0,82 98,35±3,53	29,33±0,82 98,35±3,53	28,50±1,05 95,56±4,04	28,33±1,97 95,00±6,91	27,17±3,66 91,11±12,59
Ginsenósidos secundarios totales (n=6)	25	29,17±1,17 (100%)	28,83±1,47 98,83±1,82	28,50±1,38 97,72±2,76	28,67±1,03 98,31±1,85	29,17±0,75 100,06±2,23	28,83±0,41 98,95±2,84	29,00±0,63 99,51±2,63	28,67±1,03 98,31±1,85
Ginsenósidos secundarios totales (n=6)	50	29,67±0,52 (100%)	29,00±1,26 97,76±4,04	29,17±0,98 98,31±2,80	29,33±0,82 98,87±1,75	29,33±0,52 98,89±1,72	29,50±0,55 99,46±2,55	29,00±0,89 97,80±4,07	26,33±3,44 88,81±11,95
Ginsenósidos secundarios totales (n=6)	100	29,67±0,52 (100%)	29,50±0,55 99,44±1,36	28,67±0,52 98,00±3,00	27,67±0,52 97,00±5,56	26,50±0,55 89,44±7,36	25,17±0,75# 85,33±2,79*	24,33±3,14# 80,76±0,89*	22,00±4,47# 78,09±15,44*

Nota: en comparación con los resultados antes de la administración del fármaco: # $P<0,05$ ## $P<0,01$ ### $P<0,001$; en comparación con el grupo control: * $P<0,05$, ** $P<0,01$

Tabla 3. Efectos de los fármacos sobre el intervalo de isquemia miocárdica aguda en cada grupo de perros ($\bar{X} \pm \text{DE}$)

Grupo	Dosificación mg /kg	Animales n	Área del corazón (mm ²)	Área del ventrículo cardíaco (mm ²)	Área de la zona de infarto (mm ²)	Zona de infarto/corazón	Zona de infarto/ventrículo cardíaco
Solución salina fisiológica	3 ml	6	11857,4±1306,8	5193,6±186,1	865,50±151,0	7,41±1,67	16,75±3,40
Diltiazem	5	6	12221,5±1980,9	5070,3±405,8	266,25±63,4***	2,27±0,83***	5,36±1,70***
Dí'ao Xinxuekang	200	6	12150,2±1694,3	5179,2±574,4	410,52±163,6**	3,43±1,39**	8,01±3,04**
Ginsenósidos totales de raíz	200	6	11872,7±1532,4	5224,4±529,2	438,42±112,2**	3,75±1,12**	8,39±2,11**
Ginsenósidos totales de tallo/hojas	200	6	12146,4±1227,6	5177,1±227,2	417,17±125,5**	3,48±1,16**	8,07±2,40**
Ginsenósidos secundarios totales	25	6	13694,6±3738,3	5374,8±891,4	374,92±132,8**	2,76±0,87*	6,90±2,05**
Ginsenósidos secundarios totales	50	6	11995,9±1681,4	5182,7±683,5	407,17±170,0**	3,44±1,38**	7,87±2,85**
Ginsenósidos secundarios totales	100	6	12403,5±1994,1	4974,3±585,3	402,50±277,2**	3,20±1,85**	7,85±4,74**

Nota: en comparación con el grupo control: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

Tabla 4. Efectos de los fármacos sobre el flujo de sangre coronario ($\text{ml}/100 \text{ g min}^{-1}$) en cada grupo de perros ($\bar{X} \pm \text{DE}$)

Grupo	Dosis- ción mg/kg	Antes de la isquemia (valor normal)	Tras la administración del fármaco (min)					
			Antes de la administración del fármaco Tasa de cambio (100%)	30	60	90	120	180
Solución salina fisiológica (n=6)	3 ml	80,55±40,05	89,95±44,44 112,35±1,81	89,11±42,82 100,65±8,14	89,91±43,71 98,94±6,98	85,94±42,76 96,29±8,55	89,45±44,48 99,50±8,12	86,46±41,5 98,01±5,12
Diltiazem (n=6)	5	92,07±46,98	101,82±54,71# 110,34±4,17	110,36±58,20## 108,70±3,32*	119,11±61,62### 117,06±5,17***	122,97±64,44## 120,06±7,27***	119,15±65,51## 116,97±7,33**	112,10±60,59## 112,21±6,46**
D'iao Xinxuekang (n=6)	200	96,17±53,08	101,42±57,33# 105,38±2,81**	108,13±62,25# 106,03±1,75	114,89±65,73## 113,30±2,55**	117,77±65,44## 113,19±8,94**	119,80±64,02## 117,06±11,85*	113,36±60,08### 111,59±7,95**
Ginsenósidos totales de raíz (n=6)	200	110,44±71,44	117,29±76,87## 106,13±0,76**	127,53±78,74### 111,06±5,41*	133,70±82,69### 115,91±9,55**	135,24±83,14### 117,44±8,88**	129,37±80,37## 111,77±12,97	124,35±75,67## 109,03±8,94*
Ginsenósidos totales de tallo/hojas (n=6)	200	95,79±44,50	105,83±48,01### 111,48±3,20	114,65±52,81### 109,66±4,02*	123,56±56,42## 115,79±9,94**	120,63±55,54### 114,95±7,18**	117,05±54,41## 112,88±8,61*	117,79±56,25# 114,09±17,39
Ginsenósidos secundarios totales (n=6)	25	113,94±57,50	124,38±63,82## 108,94±2,94*	135,95±70,34## 110,07±6,09*	135,86±65,92### 112,06±8,89*	135,86±61,84## 110,42±11,42*	131,63±63,45## 108,64±9,96	124,93±60,68# 103,71±9,24
Ginsenósidos secundarios totales (n=6)	50	92,24±46,30	98,6651,19# 106,71±5,31*	110,98±54,98## 113,49±9,85*	115,63±55,33### 119,85±14,12**	117,29±57,01### 120,00±13,48**	115,60±57,54## 120,60±10,18**	108,23±52,50## 113,52±9,17**
Ginsenósidos secundarios totales (n=6)	100	80,57±36,29	89,09±39,27## 111,49±5,86	97,74±43,57## 108,54±7,03	100,52±44,64## 112,38±8,56*	100,78±46,23## 112,47±10,80*	102,45±47,39# 113,48±16,72	97,91±43,69# 108,57±13,08

Nota: en comparación con los resultados antes de la administración del fármaco: # $P < 0,05$ ## $P < 0,01$ ### $P < 0,001$; en comparación con el grupo control: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$

Ejemplo de prueba 4. Efectos sobre la insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico en ratas

5 Se dividieron aleatoriamente 50 ratas SD sanas macho que pesaban 250-350 g en 5 grupos: grupo control (al que se le administró el mismo volumen de disolvente que de control), grupo de ginsenósidos totales de raíz (200 mg/kg), grupos de ginsenósidos secundarios totales a dosificaciones alta, media y baja (200, 100, 50 mg/kg, respectivamente). Se les administró a las ratas a través de infusión intragástrica, de manera continua durante 7 días, en el que cada grupo tenía 10 ratas, y el volumen del fármaco administrado fue de 5 ml/kg.

10 Se anestesió cada rata con pentobarbital sódico al 3%, se operó para separar la arteria carótida común derecha y la vena y arteria femoral izquierda, se realizó canulación arterial y se conectó con los sensores de presión de un fisiógrafo de ocho canales. Se conectó la derivación electrocardiográfica II. Se registraron los valores normales de los siguientes índices: presión sistólica del ventrículo izquierdo (LVSP), dP/dt , $t-dP/dt$, tensión arterial sistólica (SBP), tensión arterial diastólica (DBP), frecuencia cardiaca (HR). Se instilaron 0,5 ml de pentobarbital sódico al 3% a 15 0,15 ml/min usando un aparato de microinfusión, entonces se instilaron 3-5 ml de pentobarbital sódico al 0,2% a 0,15 ml/min hasta que la tensión arterial disminuyó hasta el 50% y dP/dt disminuyó hasta aproximadamente el 30%, se mantuvo la rata durante 10 minutos para inducir insuficiencia cardiaca, y se registraron los índices bajo insuficiencia cardiaca. Se administró el fármaco de prueba a las ratas por medio del duodeno durante 15 minutos, y se registraron los índices a los 20, 30, 45, 60 y 90 minutos tras la administración del fármaco. Se calcularon las desviaciones estándar del valor medio para cada índice, y se realizó una prueba de la t entre cada punto de tiempo y 20 el grupo control para determinar la significación de las diferencias.

Resultados:

25 1. Efectos sobre LVSP de ratas con insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico

Los resultados en la tabla 5 indicaron que los ginsenósidos totales de raíz pudieron dar como resultado un aumento significativo en LVSP en el plazo de 45-90 minutos; la LVSP de todos los animales con insuficiencia cardiaca en los grupos a los que se les administraron los ginsenósidos secundarios totales aumentó en el plazo de 20-90 minutos 30 tras la administración del fármaco, y en comparación con el grupo control, el resultado a cada punto de tiempo presentó una diferencia significativa ($P<0,05$, $P<0,0$). La acción a la dosificación más alta era rápida, persistente e intensa, lo que indica que los ginsenósidos secundarios totales pueden potenciar la fuerza de contracción del ventrículo izquierdo, potenciar la eyección de sangre y facilitar la recuperación de la función cardiaca; y se mostró que, a la misma dosificación, la duración de la acción de los ginsenósidos secundarios totales era más corta que la 35 de los ginsenósidos totales de raíz, y la acción intensa era más alta que la de los ginsenósidos totales de raíz.

2. Efectos sobre SBP de ratas con insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico

Los resultados en la tabla 6 muestran que, tras la administración, los ginsenósidos secundarios totales a 50- 40 200 mg/kg pudieron elevar el valor de SBP durante diferentes periodos de tiempo ($P<0,05$ o $P<0,01$), y en el grupo de dosificación de 200 mg/kg, pudieron lograrse efectos significativos en el plazo de 30-90 minutos, eran superiores a los ginsenósidos totales de raíz a la misma dosificación en cuanto a intensidad y duración de la acción.

3. Efectos sobre DBP de ratas con insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico

Los resultados en la tabla 7 muestran que, tras la administración, la DBP en los grupos a los que se les administraron los ginsenósidos secundarios totales a diferentes dosificaciones de 50-200 mg/kg aumentó en todos, y en comparación con el grupo control, el aumento en el grupo de dosificación alta presentó diferencia significativa 50 ($P<0,05$, $P<0,01$) en el plazo de 30-90 minutos. Los grupos de dosificación media y baja mostraron un aumento hasta un cierto grado, pero no tenían una diferencia significativa en comparación con el grupo control. Los ginsenósidos totales de raíz también dieron como resultado un aumento significativo en DBP en el plazo de 60-90 minutos.

Los resultados anteriores indicaron que los ginsenósidos secundarios totales pudieron potenciar la fuerza de 55 contracción del ventrículo izquierdo, potenciar la eyección de sangre, mejorar la función cardiaca, aliviar la insuficiencia cardiaca y la intensidad y duración de la acción de los ginsenósidos secundarios totales eran superiores a los ginsenósidos totales de raíz a la misma dosificación.

Tabla 5. Efectos sobre LVSP de ratas con insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico

60

Grupo	Control de disolvente	Ginsenósidos totales de raíz 200 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 200 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 100 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 50 mg/kg
Punto de tiempo					

Normal	21,34±1,57	20,57±1,60	22,10±1,42	22,68±1,45	21,3±1,80
Insuficiencia cardiaca	10,98±1,16	12,39±3,66	10,29±2,20	11,17±1,19	11,15±1,96
Tras el final de la administración	10,05±1,45	12,29±2,15	11,88±1,97	11,65±1,65	11,38±1,50
20 min	10,11±1,43	12,99±1,64	12,37±1,90**	11,92±1,57	11,53±1,36
30 min	10,10±1,38	13,45±1,59	12,97±1,44**	12,43±1,40**	11,95±1,13
45 min	10,20±1,36	14,03±1,21**	14,98±1,46**	13,13±1,15**	12,18±1,06**
60 min	10,24±1,44	14,28±1,15**	15,82±1,52**	14,08±0,93**	12,77±1,52**
90 min	10,37±1,44	14,23±1,25**	16,22±1,59**	14,98±1,35**	12,65±1,46**

Nota: en comparación con el grupo control, *P<0,05, **P<0,01

Tabla 6. Efectos sobre SBP de ratas con insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico

Grupo	Control de disolvente	Ginsenósidos totales de raíz 200 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 200 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 100 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 50 mg/kg
Punto de tiempo					
Normal	20,12±1,46	19,41±1,65	20,14±2,86	18,97±4,08	17,39±1,74
Insuficiencia cardiaca	9,12±2,10	8,89±2,20	8,79±2,61	8,68±4,69	8,47±3,01
Tras el final de la administración	9,55±2,24	9,19±2,37	9,65±2,15	9,31±2,49	9,04±2,77
20 min	9,71±2,21	9,66±2,47	10,84±2,29	10,59±1,95	9,01±2,56
30 min	9,50±2,22	9,96±2,11	12,60±2,42*	10,64±1,48	9,01±2,74
45 min	9,86±2,32	10,84±1,71	12,95±2,54*	11,13±0,95	9,04±2,33
60 min	9,82±2,66	12,53±1,52*	13,78±2,53**	12,60±0,77*	10,27±3,08
90 min	10,01±2,51	12,87±2,05*	14,07±2,05**	12,91±0,77*	11,51±3,41*

5

Tabla 7. Efectos sobre DBP de ratas con insuficiencia cardiaca inducida por pentobarbital sódico

Grupo	Control de disolvente	Ginsenósidos totales de raíz 200 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 200 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 100 mg/kg	Ginsenósidos secundarios totales 50 mg/kg
Punto de tiempo					
Normal	14,81±1,89	15,23±1,85	15,20±3,37	14,97±2,22	13,48±1,83
Insuficiencia cardiaca	4,51±0,96	5,13±1,83	4,76±3,32	4,89±1,22	4,77±2,26
Tras el final de la administración	4,91±1,06	5,45±2,12	5,38±2,28	5,51±1,91	4,95±2,36
20 min	4,69±1,26	5,75±2,17	6,07±1,94	5,61±1,23	5,10±2,10
30 min	5,02±1,27	5,99±1,89	6,82±1,46*	5,69±1,56	5,16±2,48
45 min	5,23±1,17	6,52±1,76	7,90±1,37**	6,18±1,73	5,69±2,43
60 min	5,12±1,39	6,99±1,39**	8,12±1,31**	8,16±5,25	5,72±2,48
90 min	5,57±1,54	7,36±1,71**	8,95±1,47**	7,19±2,05	6,10±3,40

Ejemplo de prueba 5. Efectos sobre perros con choque hemorrágico

10 Se usaron 36 perros híbridos sanos, incluyendo machos y hembras, y se dividieron aleatoriamente en 6 grupos: grupo control de blanco (al que se le administra el mismo volumen de agua destilada), un grupo al que se le administra inyección de Shenmai 10 mg/kg, un grupo al que se le administra ginsenósidos totales de raíz de ginseng 200 mg/kg (denominados resumidamente ginsenósidos totales de raíz) y grupos a los que se les administran dosificaciones alta, media y baja de los ginsenósidos secundarios totales respectivamente (concretamente 200, 100, 50 mg/kg). Se anestesió cada perro mediante inyección intravenosa de pentobarbital sódico (30 mg/kg), se fijó en decúbito supino y se cateterizó la tráquea, entonces se conectó un electrofisiógrafo de ocho canales. Se realizó la canulación en la arteria femoral derecha, y se conectó un convertidor de presión para medir la tensión arterial sistólica (SBP) y tensión arterial diastólica (DBP) en las arterias. Se separó la vena femoral derecha para extraer sangre, y se realizó la canulación a través de la arteria carótida común derecha hasta el ventrículo izquierdo, y se conectó con un convertidor de presión para medir la presión sistólica del ventrículo izquierdo (LVSP) y la tensión arterial diastólica del ventrículo izquierdo (LVDP), y se conectó la derivación electrocardiográfica II. Tras haberse

15

20

estabilizado, se registraron los valores normales de los índices. Se realizó la extracción de sangre a través de la vena femoral derecha y se detuvo cuando la presión media en la arteria descendió hasta menos de 2/3 del valor normal, es decir, un estado de choque, y se registraron los índices tras haberse estabilizado. Se realizó una incisión de aproximadamente 4 cm en la región lumbar derecha para exponer el duodeno para la inyección de cada disolución de fármaco de prueba (2 ml/kg), y entonces se suturó la incisión. Se registraron los índices a los 10, 20, 30, 40, 60, 90 y 120 minutos tras la administración del fármaco.

Resultados:

Los resultados en la tabla 8 muestran que, en comparación con el grupo control, el grupo de inyección de Shenmai a diversos puntos de tiempo dentro de 30-120 minutos, el grupo de dosificación alta de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 30-120 minutos y el grupo de dosificación media de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 60-120 minutos presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$, $P < 0,01$); y en comparación con los ginsenósidos totales de raíz, los grupos de dosificación alta y media de los ginsenósidos secundarios totales presentaron efectos significativos en el aumento de la tensión arterial ($P < 0,05$).

Los resultados en la tabla 9 muestran que a todos los puntos de tiempo, la tensión arterial diastólica de los grupos a los que se les administró el fármaco era más alta que la del grupo control; en comparación con el grupo control, el grupo de inyección de Shenmai a diversos puntos de tiempo dentro de 40-120 minutos, el grupo de ginsenósidos totales de raíz a diversos puntos de tiempo dentro de 60-120 minutos, el grupo de dosificación alta de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 20-120 minutos y el grupo de dosificación media de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 40-120 minutos presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$); y en comparación con el grupo de ginsenósidos totales de raíz, los grupos de los ginsenósidos secundarios totales a las dosificaciones alta y media presentaron efectos significativamente superiores en el aumento de la tensión arterial ($P < 0,05$).

Los resultados en la tabla 10 muestran que, a todos los puntos de tiempo, la presión sistólica del ventrículo izquierdo de los grupos a los que se les administra el fármaco era más alta que la del grupo control; en comparación con el grupo control, el grupo de inyección de Shenmai a diversos puntos de tiempo dentro de 30-120 minutos, el grupo de ginsenósidos totales de raíz a diversos puntos de tiempo dentro de 40-120 minutos, el grupo de dosificación alta de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 20-120 minutos, el grupo de dosificación media de ginsenósidos secundarios totales a diferentes puntos de tiempo dentro de 30-120 minutos y el grupo de dosificación baja de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 60-120 minutos presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,01$). En comparación con el grupo al que se le administran los ginsenósidos totales de raíz, el grupo de dosificación alta de los ginsenósidos secundarios totales presentó una presión sistólica del ventrículo izquierdo más alta, con una diferencia significativa a los puntos de tiempo de 20 y 30 minutos ($P < 0,05$), y el grupo de dosificación media presentó una presión sistólica del ventrículo izquierdo equivalente a la del grupo de ginsenósidos totales de raíz.

Los resultados en la tabla 11 muestran que, a todos los puntos de tiempo, la presión diastólica del ventrículo izquierdo de cada grupo al que se le administra el fármaco era inferior a la del grupo control. En comparación con el grupo control, el grupo de inyección de Shenmai y el grupo de ginsenósidos totales de raíz a diversos puntos de tiempo dentro de 40-120 minutos, los grupos de dosificación alta y media de ginsenósidos secundarios totales a diversos puntos de tiempo dentro de 30-120 minutos y el grupo de dosificación baja de ginsenósidos secundarios totales a los puntos de tiempo de 90 y 120 minutos presentaron diferencias significativas ($P < 0,01$ o $P < 0,01$). Y en comparación con el grupo de ginsenósidos totales de raíz, el grupo de dosificación alta de los ginsenósidos secundarios totales presentó una presión diastólica del ventrículo izquierdo más baja, con una diferencia significativa a los puntos de tiempo de 20 y 30 minutos ($P < 0,05$), y el grupo de dosificación media presentó una presión diastólica del ventrículo izquierdo equivalente a la del grupo de ginsenósidos totales de raíz.

Los resultados anteriores indicaron que los ginsenósidos secundarios totales tenían una actividad de mejora de la hemodinámica tal como aumento de la tensión arterial, y presentaban efectos significativamente terapéuticos sobre el choque hemorrágico. Los ginsenósidos secundarios totales funcionaban más rápido y más intensamente que los ginsenósidos totales de raíz.

Tabla 8. Efectos de ginsenósidos secundarios totales sobre la tensión arterial sistólica en perros anestesiados como modelos de choque hemorrágico ($\bar{x}\pm s$), unidad: kPa

Grupo	Grupo control		Inyección de Shenmai (10 mg/kg)	Ginsenósidos totales de raíz (200 mg/kg)	Dosificación alta (200 mg/kg)	Dosificación media (100 mg/kg)	Dosificación baja (50 mg/kg)
Punto de tiempo							
Antes del choque	19,57±0,73		19,28±1,02	21,04±1,54	19,25±2,33	17,82±2,07	18,11±2,65
Tras el choque	13,60±1,56		13,25±1,39	12,37±1,31	12,67±2,49	11,75±1,44	12,24±1,35
10 min	13,74±1,44		12,61±1,32	12,43±1,25	13,85±1,78	12,61±1,37	12,68±0,92
20 min	13,45±1,57		13,62±1,31	12,55±1,42	15,74±2,10#	14,21±1,33	12,80±1,27
30 min	13,59±1,37		15,22±1,63*	13,01±1,20	16,03±2,86*#	14,64±1,30	13,19±1,17
40 min	13,60±1,75		16,09±1,53*	13,58±1,39	16,63±2,52*#	14,78±1,53	13,19±1,33
60 min	13,16±1,96		16,09±1,53*	13,99±1,30	16,92±2,72*#	15,65±1,14*	13,34±1,74
90 min	13,60±2,06		16,38±1,50*	14,82±1,61	17,50±3,71**	15,80±1,12*	13,34±1,51
120 min	13,89±2,09		16,96±1,63**	15,90±1,70*	17,21±2,65**	15,94±1,23*	14,07±1,42

Nota: Prueba de la *t* entre grupos, en comparación con el grupo control, *P<0,05, **P<0,01; en comparación con el grupo de ginsenósidos totales de raíz, #P<0,05, ##P<0,01 (de manera similar a continuación en el presente documento)

Tabla 9. Efectos de ginsenósidos secundarios totales sobre la tensión arterial diastólica en perros anestesiados como modelos de choque hemorrágico ($\bar{x}\pm s$), unidad: kPa.

Grupo	Grupo control		Inyección de Shenmai (10 mg/kg)	Ginsenósidos totales de raíz (200 mg/kg)	Dosificación alta (200 mg/kg)	Dosificación media (100 mg/kg)	Dosificación baja (50 mg/kg)
Punto de tiempo							
Antes del choque	12,98±1,23		13,19±1,02	15,02±1,80	14,14±2,82	13,04±1,78	12,65±1,28
Tras el choque	8,89±1,62		7,25±1,19	9,37±0,90	9,18±1,52	8,71±1,64	8,98±1,88
10 min	9,04±1,44		8,55±1,02	9,42±0,99	10,20±1,94	9,29±1,90	8,98±1,88
20 min	9,04±1,44		9,33±0,67	9,56±0,85	12,10±2,07*#	10,44±1,19	9,18±1,76
30 min	9,33±1,83		10,15±0,90	9,98±0,89	12,66±2,24*#	10,87±1,37	9,42±1,86
40 min	9,04±1,73		10,93±0,55*	10,60±1,28	13,27±2,38**#	11,60±1,78*	10,01±1,69
60 min	9,33±1,56		10,87±0,48*	11,49±1,68*	13,41±2,33**	12,33±1,48**	9,86±1,53
90 min	9,48±1,63		11,30±0,27*	14,78±1,55*	13,85±2,49**	12,03±1,81*	10,16±1,80
120 min	9,62±1,67		11,88±0,71*	12,17±2,19*	13,83±2,06**	12,32±1,98*	10,16±1,80

Nota: Prueba de la *t* entre grupos, en comparación con el grupo control, *P<0,05, **P<0,01; en comparación con el grupo de ginsenósidos totales de raíz, #P<0,05, ##P<0,01

Tabla 10. Efectos de ginsenósidos secundarios totales sobre la presión sistólica del ventrículo izquierdo en perros anestesiados como modelos de choque hemorrágico ($\bar{x}\pm s$), unidad: kPa.

Grupo	Grupo control		Inyección de Shenmai (10 mg/kg)	Ginsenósidos totales de raíz (200 mg/kg)	Dosificación alta (200 mg/kg)	Dosificación media (100 mg/kg)	Dosificación baja (50 mg/kg)
Punto de tiempo							
Antes del choque	24,22±2,45	22,42±2,24	24,37±1,42	23,23±1,62	23,97±1,65	22,94±0,88	
Tras el choque							
10 min	15,67±2,31	12,98±2,32	14,87±3,32	14,55±3,45	15,73±1,51	16,86±2,71	
20 min	15,67±2,31	14,87±1,64	15,61±3,40	17,70±3,57	17,07±1,35	16,86±2,71	
30 min	14,54±3,14	17,09±2,39	15,75±3,65	22,72±3,04**##	17,79±4,17	16,86±2,71	
40 min	14,02±2,72	18,69±2,77*	17,40±4,26	23,10±2,17***#	19,10±4,71*	16,86±2,71	
60 min	14,84±2,77	19,51±2,53*	19,99±4,06*	23,10±2,17***	20,59±3,85*	18,58±3,48	
90 min	14,33±1,99	21,05±1,51***	19,05±3,39**	22,85±2,29***	19,90±3,32**	19,84±3,41**	
120 min	13,48±2,34	21,05±1,51***	19,73±3,44**	23,10±2,17***	19,22±2,46**	18,47±3,91*	
	14,65±2,90	21,73±2,05*	20,41±3,17*	23,79±3,16***	20,59±3,85*	20,63±2,61**	

Nota: Prueba de la *t* entre grupos, en comparación con el grupo control, *P<0,05, **P<0,01; en comparación con el grupo de ginsenósidos totales de raíz, #P<0,05, ##P<0,01

Tabla 11. Efectos de ginsenósidos secundarios totales sobre la presión diastólica del ventrículo izquierdo en perros anestesiados como modelo de choque hemorrágico ($\bar{x}\pm s$), unidad: kPa.

Grupo	Grupo control	Inyección de Shenmai (10 mg/kg)	Ginsenósidos totales de raíz (200 mg/kg)	Dosificación alta (200 mg/kg)	Dosificación media (100 mg/kg)	Dosificación baja (50 mg/kg)
Punto de tiempo						
Antes del choque	1,72±1,39	1,71±0,73	1,73±1,10	1,69±1,47	1,72±1,32	1,67±1,33
Tras el choque	4,43±1,25	4,64±0,42	4,47±0,62	4,51±0,52	4,07±1,16	4,13±1,22
10 min	4,57±1,04	4,05±0,41	4,13±0,94	4,31±0,99	4,40±1,36	4,26±1,17
20 min	4,72±1,39	3,98±0,98	4,01±0,87	3,20±1,04	3,72±1,47	3,87±1,28
30 min	4,47±1,04	3,97±0,45	3,87±1,45	2,90±0,69***	2,58±1,56**	3,73±1,29
40 min	4,28±0,45	2,96±0,52***	2,86±0,74***	2,24±0,72***	2,56±1,68**	3,73±1,29
60 min	4,15±0,74	1,95±0,43***	1,83±0,37***	1,81±0,34***	2,05±1,01***	3,32±1,02
90 min	4,14±0,44	1,82±0,17***	1,72±0,93***	1,65±0,61***	2,02±1,54***	2,91±0,86***
120 min	4,48±0,41	1,81±0,1**1*	1,69±0,99***	1,24±0,83***	1,80±1,31***	2,27±1,23***

Ejemplo de prueba 6. Efectos sobre la arritmia en ratas

Se dividieron aleatoriamente 70 ratas SD, que incluían la mitad machos y la mitad hembras, en: grupo control, grupo de diltiazem, grupo de Di'ao Xinxuekang 200 mg/kg, grupo de los ginsenósidos de raíz totales 200mg/kg y grupos de dosificación de 200, 100, 50, 25 mg/kg de los ginsenósidos secundarios totales. En el 7º día de administración del fármaco, 30 minutos tras la administración del fármaco, se anestesió a cada una de las ratas mediante inyección intraperitoneal de 300 mg/kg de hidrato de cloral al 10%, se fijaron en posición de decúbito supino sobre un banco para rata. Se ajustó la velocidad del diagrama a 50 mm/s y se ajustó la sensibilidad a 20 mm/mv. Tras imprimir a voltaje convencional, se registró un electrocardiograma de II derivaciones normal durante un periodo determinado, entonces a la rata se le administró cloruro de bario 4 mg/kg por medio de la vena sublingual y se observó inmediatamente para registrar los electrocardiogramas a 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos tras la administración de cloruro de bario. Se calculó la frecuencia cardiaca y se comparó con el valor de referencia antes de la administración y también se compararon el tiempo de aparición y el periodo de tiempo de arritmia. Se calcularon las tasas de incidencia de latido prematuro ventricular (VP), taquicardia ventricular (VT) y fibrilación ventricular (VF).

Resultados:

Los resultados en la tabla 12 mostraron que todos los grupos presentaban una reducción significativa en la frecuencia cardiaca tras la inyección de BaCl₂, la frecuencia cardiaca volvió a aumentar gradualmente 10 minutos tras la administración de los ginsenósidos secundarios totales a 200 mg/kg, 30 minutos tras la administración de los ginsenósidos secundarios totales a 100 mg/kg y 20 minutos tras la administración de los ginsenósidos de raíz totales a la dosificación de 200 mg/kg.

Los resultados en la tabla 13 mostraron que los ginsenósidos secundarios totales a la dosificación de 50-200 mg/kg pudieron retrasar significativamente el tiempo de aparición de VP, VT de arritmia ($P<0,05$, $P<0,01$), acortar significativamente la duración de la arritmia ($P<0,05$, $P<0,01$) y pudieron reducir significativamente la tasa de incidencia de VF ($P<0,05$); los ginsenósidos de raíz totales a 200 mg/kg pudieron retrasar significativamente el tiempo de aparición de VP, VT de arritmia ($P<0,05$), pudieron acortar significativamente la duración de arritmia ($P<0,01$), con un patrón de función similar a los ginsenósidos secundarios totales a 100 mg/kg.

Los resultados anteriores mostraron que los ginsenósidos secundarios totales pudieron mejorar significativamente la arritmia inducida por BaCl₂, inhibir la tasa de incidencia de fibrilación ventricular (VF) y presentar efectos mejores que los ginsenósidos de raíz totales a la misma dosificación.

Tabla 12. Cambios de frecuencia cardiaca (latidos/minuto) en los grupos tras inyección intravenosa de BaCl₂ ($\bar{X}\pm S$, $n = 10$)

Grupo	Dosificación (mg/kg)	BaCl ₂ antes	BaCl ₂ tras 5 min	BaCl ₂ tras 10 min	BaCl ₂ tras 20 min	BaCl ₂ tras 30 min
Control de blanco	-	473±28	283±39**	279±26**	283±60**	290±58**
Diltiazem	50	397±53	327±64*	360±88	381±71	399±42
Di'ao Xinxuekang	200	464±38	314±52**	325±58**	416±66	431±42
Ginsenósidos de raíz totales	200	458±47	320±81**	316±77**	456±38	451±45
Ginsenósidos secundarios	200	443±28	235±86**	368±75	394±82	423±45
totales	100	464±29	319±84**	345±71**	419±55*	441±37
	50	469±41	312±74**	300±34**	362±96**	431±66
	25	438±40	265±17**	264±24**	257±22**	359±72**

Nota: Comparación entre cada punto de tiempo en cada grupo y antes de la administración de cloruro de bario (* $P<0,05$, ** $P<0,01$)

Tabla 13. Efectos de protección de los ginsenósidos secundarios totales sobre arritmia de rata inducida por BaCl₂ ($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

Grupo	Dosificación (mg/kg)	Tasa de incidencia de VF (%)	Tiempo de aparición de VP (s)	Tiempo de aparición de VT (s)	Duración de la arritmia (min)
Control de blanco	-	90	4,3±5,1	7,0±6,7	32,2±4,9
Diltiazem	50	0 *	15,0±10,8**	20±8,8**	13,2±6,0**
Di'ao Xinxuekang	200	40	10,0±5,5*	12,9±5,2*	19,3±6,8**
Ginsenósidos	200	30	13,4±8,2*	16,4±7,9*	19,6±3,1**

de raíz totales					
Ginsenósidos secundarios	200	10*	14,8±4,7**	18,5±4,1**	14,7±1,5**
secundarios	100	10*	13,3±2,3**	16,8±2,1**	16,8±2,7*
totales	50	20*	10,0±2,8*	11,8±10,9*	19,9±3,5*
	25	30	5,8±7,1	7,5±8,2	28,7±3,6

Ejemplo de prueba 7. Efectos sobre la trombosis *in vivo*

Se dividieron aleatoriamente 70 ratas, la mitad macho y la mitad hembra, que pesaban 250-300 g, en 7 grupos, 10 ratas por grupo, y se alimentaron durante una semana por anticipado. Dichos 7 grupos incluían grupos de dosificación alta, media y baja de los ginsenósidos secundarios totales (200, 100 y 50 mg/kg) y grupos control: grupo de diltiazem (50 mg/kg), grupo de Di'ao Xinxuekang (200 mg/kg), grupo de ginsenósidos de raíz totales (200mg/kg) y grupo control de blanco (agua). Se administraron todos los fármacos y controles a través de perfusión intragástrica durante 7 días.

Medición de la tasa de inhibición de la trombosis: en el 7º día tras la administración del fármaco, 30 minutos tras la administración, se anestesió a cada una de las ratas con pentobarbital de sodio, se separaron la vena yugular externa izquierda y la arteria carótida común derecha, se usaron tres segmentos de tubos de polietileno para formar una cánula y entonces se colocó una sutura n.º 4 pesada de 5 cm en el segmento medio. Se llenaron estos tubos de polietileno con heparina-solución salina fisiológica (50 U/ml). Cuando se insertó un extremo del tubo en la vena yugular externa, se sujetó un extremo del tubo y se insertó el extremo fijado por la sutura en la arteria carótida común derecha. Tras esta operación, se realizó una extracción de sangre inmediatamente y se detuvo 15 minutos después, se retiró la sutura rápidamente y se pesó. Se calculó el peso en húmedo del trombo restando el peso de la sutura del peso total. Se calculó la tasa de inhibición de la trombosis según la siguiente fórmula.

Tasa de inhibición (%) = [(Peso del trombo del grupo control) – (Peso del trombo del grupo al que se le administró el fármaco)]/(Peso del trombo del grupo control) x 100%

Resultados:

Los resultados se muestran en la tabla 14, indicando que los ginsenósidos secundarios totales (100-200 mg/kg) pudieron inhibir significativamente la trombosis en bypass arteriovenoso de yugular de rata ($P<0,05$) con una tasa de inhibición máxima del 29%. Los ginsenósidos de raíz totales (200 mg/kg) presentaron una tendencia de inhibición de la trombosis pero no mostraron diferencia significativa, siendo la tasa de inhibición del 16%. Los fármacos control, diltiazem y Di'ao Xinxuekang, mostraron ambos efectos de inhibición significativos sobre la trombosis ($P<0,05$), con una tasa de inhibición del 33% y el 23%, respectivamente.

Los resultados anteriores indicaron que los ginsenósidos secundarios totales (100-200 mg/kg) presentaron efectos de inhibición significativos sobre la trombosis en bypass arteriovenoso de yugular de rata experimental, y fueron significativamente superiores a los ginsenósidos de raíz totales (200 mg/kg).

Tabla 14. Efectos de inhibición de los ginsenósidos secundarios totales sobre la trombosis en bypass arteriovenoso de yugular de rata experimental

Grupo	Dosificación (mg/kg)	Número de animales	Peso en húmedo del trombo (g)	Tasa de inhibición (%)
Control de blanco	-	10	0,0298±0,006	
Diltiazem	50	10	0,0200±0,005*	32,89
Di'ao Xinxuekang	200	10	0,0229±0,005*	23,15
Ginsenósidos de raíz totales	200	10	0,0251±0,009	15,77
Ginsenósidos secundarios totales	200	10	0,0211±0,004*	29,19
	100	10	0,0227±0,007*	23,83
	50	10	0,0267±0,010	10,40

Nota: en comparación con el grupo control, * $P<0,05$, ** $P<0,01$

40 **Aplicabilidad industrial**

En la presente invención, se emplearon técnicas farmacéuticas modernas para la fabricación de ginsenósidos secundarios totales a partir de plantas *Panax* mediante extracción, dichos ginsenósidos secundarios totales contienen ginsenósidos Rg2, Rg3, Rh1 como componentes principales. En las pruebas de farmacodinamia se mostró que:

1. Los ginsenósidos secundarios totales mostraron una mejora significativa sobre la isquemia miocárdica aguda en perros, y por tanto aliviaron significativamente el grado de isquemia miocárdica, tal como se midió

mediante electrograma epicárdico (Σ -ST);

- 5 2. Los ginsenósidos secundarios totales redujeron el área de la zona de infarto tal como se mostró mediante tinción con N-BT; aumentaron significativamente el flujo de sangre coronario durante isquemia miocárdica, promovieron la apertura y el establecimiento de circulación en bypass y aumentaron el suministro de oxígeno al músculo cardíaco;
- 10 3. Los ginsenósidos secundarios totales pudieron elevar significativamente el nivel de 6-ceto-PGF_{1a} en plasma sanguíneo y la razón de 6-ceto-PGF_{1a}/TXB₂ durante isquemia miocárdica;
- 15 4. Los ginsenósidos secundarios totales presentaron una función muy significativa frente al choque cardíaco. A las mismas dosificaciones, los ginsenósidos secundarios totales empezaron a actuar aproximadamente 20 minutos tras la administración, mientras que los ginsenósidos totales empezaron a actuar aproximadamente 40 minutos tras la administración con efectos relativamente débiles. Los ginsenósidos secundarios totales eran superiores a los ginsenósidos totales en cuanto a velocidad y efectos de la acción;
- 20 5. Los ginsenósidos secundarios totales pudieron potenciar significativamente la fuerza de contracción del ventrículo izquierdo, potenciar la eyección de sangre, mejorar la función cardíaca y aliviar la insuficiencia cardíaca. Los ginsenósidos secundarios totales fueron superiores a los ginsenósidos de raíz totales a las mismas dosificaciones en cuanto a la intensidad y la duración de la acción;
- 25 6. Al igual que para la arritmia inducida por BaCl₂ en ratas, los ginsenósidos secundarios totales a 200 mg/kg pudieron retrasar significativamente el tiempo de aparición de VP y VT, y acortar significativamente la duración de la arritmia;
- 30 7. La administración previa de ginsenósidos secundarios totales a 200 mg/kg administrados durante 7 días inhibieron la formación de trombosis en bypass arteriovenoso de yugular de rata;
8. Los ginsenósidos secundarios totales inhibieron la agregación de plaquetas inducida por ADP. En particular, los ginsenósidos secundarios totales presentaron efectos de inhibición significativos sobre la agregación plaquetaria *in vitro* en el grupo de dosificación alta.

35 Basándose en la teoría de la medicina tradicional china y los resultados de investigación en las pruebas de farmacodinamia, se desarrolló un fármaco novedoso que comprende ginsenósidos secundarios como componentes principales para el tratamiento de deficiencia del corazón-YANG, deficiencia del corazón-energía y dolor cardíaco por obstrucción torácica inducido por estasis sanguínea por estancamiento del qi. Para comodidad de los pacientes, se desarrollaron comprimidos orales.

40 Evaluación de la toxicidad:

La dosificación máxima de los ginsenósidos secundarios totales administrada por vía intragástrica a ratones fue de 8 g/kg.

45 La composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales según la presente invención, por ejemplo los comprimidos de disgregación oral, puede administrarse tal como sigue:

Administración bucal: 3 veces al día, cada vez 1-2 comprimidos;

50 Precauciones:

1. Debe usarse para su uso y a su dosificación especificados según las instrucciones de un médico.
2. No debe usarse en combinación con rizoma de *Radix veratri*.
- 55 3. No es adecuado para pacientes con resfriado o que tienen fiebre.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales que comprende
- 5
- (a) ginsenósidos con protopanaxadiol como aglicona, incluyendo ginsenósido-Rg3; y
- (b) ginsenósidos con protopanaxatriol como aglicona, incluyendo ginsenósido-Rg2 y ginsenósido-Rh1;
- 10
- comprendiendo el procedimiento las etapas siguientes:
- (1) preparación de un líquido de extracto de ginsenósidos totales: extraer una planta de *Panax* con agua o un disolvente orgánico, luego concentrar el líquido de extracto resultante;
- 15
- (2) preparación de un líquido hidrolizado: hidrolizar dicho líquido de extracto concentrado en presencia de un ácido inorgánico u orgánico como catalizador;
- (3) absorción con resina: hacer pasar el líquido hidrolizado a través de una resina macroporosa de tipo estireno para la absorción en columna;
- 20
- (4) eliminación de las impurezas: eluir la columna de absorción que ha absorbido el líquido hidrolizado con agua, con una disolución acuosa alcalina y con etanol a una concentración por debajo del 35%, para eliminar las impurezas;
- 25
- (5) elución, concentración y secado: tras la eliminación de las impurezas, eluir la columna de absorción con etanol a una concentración del 60-80%, recoger el eluyente eluido mediante etanol a una concentración del 60-80%, concentrar el eluyente para obtener un extracto líquido y secar dicho extracto líquido a vacío, dando como resultado dicha composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales.
- 30
2. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales según la reivindicación 1, en el que: el catalizador de ácido inorgánico u orgánico que se usa en dicha etapa (2) se selecciona del grupo que consiste en ácido acético glacial, ácido propiónico, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico; dicha hidrólisis se realiza a 80-100°C durante 3-8 horas; la resina macroporosa de tipo estireno usada en la etapa (3) se selecciona del grupo que consiste en resinas macroporosas de tipo estireno, resinas macroporosas de tipo etil-estireno, resinas macroporosas de tipo metil-estireno; y la disolución acuosa alcalina usada en la etapa (4) es una disolución acuosa formada por un compuesto seleccionado de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio a una concentración del 0,1-5,0%.
- 35
- 40
3. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica de ginsenósidos secundarios totales según la reivindicación 2, en el que el etanol usado en la etapa (4) para la eliminación de las impurezas tiene una concentración del 15-25%.