

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07J 9/00

C07J 63/00

A61P 39/06

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 98100070.3

[45] 授权公告日 2001 年 2 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1061986C

[22] 申请日 1998.1.22 [24] 颁证日 2001.1.13

[21] 申请号 98100070.3

[73] 专利权人 白求恩医科大学基础医学院

地址 130021 吉林省长春市新民大街 2 号

[72] 发明人 马兴元 陈燕萍 孟勤

王陆黎 徐景达

审查员 贾书瑾

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 人参分组皂甙的制备方法,其药物组合物及应用

[57] 摘要

本发明提供了制备分组人参皂甙的方法,含有以该方法制备的原人参二醇组皂甙或原人参三醇组皂甙的药物组合物,以及这些组合物在预防和治疗因自然或化学突变、自由基氧化损伤,或放射损伤或物理损伤如阻塞性缺血引起的细胞、组织或器官病理改变中的应用。所说的制备方法包括将所说的总皂甙溶解于低级醇溶液中,然后用碱金属氢氧化物作为沉淀剂沉淀之,待沉淀析出后分离作为组分 I 的沉淀部分,和作为组分 II 的上清部分。

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

知识产权出版社出版

权 利 要 求 书

1. 以人参属植物适当部分的总皂甙为原料制备原人参二醇组和三醇组皂甙的方法,该方法包括将所说的总皂甙溶解于低级醇溶液中,然后用碱金属氢氧化物作为沉淀剂沉淀之,待沉淀析出后分离作为组分 I 的沉淀部分,和作为组分 II 的上清部分。

2. 根据权利要求 1 的方法所说的制备方法进一步包括在组分 I 粗提物的水溶液中加入低浓度碱金属氢氧化物的低级醇溶液,并用强酸型阳离子交换树脂纯化组分 I 的步骤。

3. 根据权利要求 1 的方法,所说的制备方法进一步包括在组分 II 粗提物醇溶液中加入碱金属氢氧化物,并用强酸型阳离子交换树脂纯化所得组分 II 的步骤。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任何一项的方法,其中所说的人参属植物适当部分包括人参、西洋参和三七的根、根茎、茎叶、花和果实。

5. 根据权利要求 1 至 3 中任何一项的方法,其中所说的碱金属氢氧化物包括钠和钾的氢氧化物,且其中所说的低级醇包括含有 1—5 个碳原子的一元醇。

6. 根据权利要求 1 至 5 中任何一项的方法,其中所说的碱金属氢氧化物的浓度为 0.01% 至 10% (W/V)。

7. 根据权利要求 1 至 5 中任何一项的方法制备的原人参二醇组皂甙。

8. 根据权利要求 1 至 5 中任何一项的方法制备的原人参三醇组皂甙。

说明书

人参分组皂甙的制备方法，其药物组合物及应用

本发明涉及制备分组人参皂甙的方法，含有以该方法制备的原人参二醇组皂甙或原人参三醇组皂甙的药物组合物，以及这些组合物在预防和治疗因自然或化学突变、自由基氧化损伤，或放射损伤或物理损伤如阻塞性缺血引起的细胞、组织或器官病理改变中的应用。

人参(*panax ginseng*)、西洋参(*panax quinquefolium*)、和三七(*panax notoginseng*)等均属于五加科人参属植物，这些植物的几乎所有部分，如根、根茎、花、果实和茎叶都含有许多种人参皂甙。近十多年来，已对这些人参属植物的皂甙进行了深入地研究，发现人参皂甙，特别是达玛烷型皂甙不仅含量丰富，而且具有十分广泛的生物学活性。

按照人参皂甙的极性的不同，可将其分为两个大的组分。一般说来，基于硅胶薄层层析分析结果，其中 Rf 值在相应 Re (人参皂甙单体中的一种) 以下的为极性较大的组分，称为组分 I；Rf 值在相应 Re 处及其以上的为极性较小的组分，称为组分 II。总皂甙中不同组分的生理学活性不尽相同，有的甚至完全相反。因此，将人参属植物的总皂甙分离成不同组分，将有利于对不同组分的合理开发和利用，而且也便于进一步分离和纯化单体皂甙。

基于人参属植物总皂甙的单体成分，人参总皂甙的组分 I 主要由人参皂甙 -Ro、-Rb₁、-Rb₂、-Rb₃、-Rc 和 -Rd 中的几种或所有单体的混合物组成，而组分 II 则主要由人参皂甙 -Re、-Rg₁、-Rg₂、-Rg₃、-F₂、-Rf、-RF₁₁、-RT₅、及极微量 -Rh₁ 和 Rh₂ 中的几种或所有单体的混合物组成。

如果以人参根总皂甙为原料制备组分 I，即所谓人参根二醇组皂甙，可得到主要由 -Ra₁、-Ra₂、-Ra₃、-Rb₁、-Rb₂、-Rb₃、-Rc、-Rd 等单体组成的混合物；制备组分 II，则得到所谓人参根三醇组皂甙，即主要由人参皂甙单体 -Re、-Rf、-Rg₁、-Rg₂、-Rg₃、-Rh₁ 等单体组成的混合物。如以西洋参茎叶总皂甙为原料，制备上述组分 I，即西洋参茎叶二醇组皂甙，可得到主要由人参皂甙 -Rb₂、-Rb₃、-Rc、-Rd 等单体组成的混合物；制备组分 II，则得到西洋参茎叶三醇组皂甙，即主要由人参皂甙 -Re、-Rg₁、-Rg₂、-PF₁₁、-RT₅、-F₂ 等单体组成的混合物。如以三七总皂甙为原料制备组分 I，即所谓三七中原人参二醇组皂甙或称 Rb 组(族)，可得到主要由人参皂甙 -Rb₁、-Rb₂、-Rd 和三七皂甙 R₄ 等单体组成的混合物；制备组分 II，即所谓三七中原人参三醇组皂甙或称 Rg 组(族)，则得到主要由人参皂甙 -Re、-Rg₁、-Rg₂、-Rh₁ 和 -Rf 等单体组成的混合物。

研究发现，人参二醇组皂甙(*panaxadiol saponin*, PDS)具有抗突变、抗自由基、抗氧化及保护生物膜和细胞结构等多种功能(林桦等，人参二醇组皂甙对休克细胞的保护作用及其机理的实验研究，白求恩医科大学学报，18(2):123-125, 1992; 卢光等，人参茎叶总皂甙对环磷酰胺诱发小鼠骨髓细胞微核形成的

影响, 卫生毒理学杂志, 4(3): 176, 1990; 赵雪俭等, 人参二醇组皂甙对内毒素休克小鼠组织过氧化脂质的影响, 白求恩医科大学学报, 16(4): 342, 1990)。人参三醇组皂甙(panaxatriol saponin, PTS), 例如 Rg, 则具有明显的抗辐射作用和促进合成代谢及抗组织损伤作用(钟国赣等, 人参二醇与三醇组皂甙对正常与黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶致损的培养心肌细胞动作电位的影响, 中国药理学报, 12(3): 256-260, 1991; 董永兰等, 人参三醇组皂甙对 X 射线照射大鼠垂体-睾丸系统放射损伤的防治作用, 中华放射医学与防护杂志, 13(5): 317, 1993)。

此外, 有人发现, 自三七植物中提取的原人参二醇型皂甙(或称 Rb 组皂甙)对结扎冠脉家兔心肌梗塞的心电图有显著改善作用, 并可见用药动物的心肌梗塞面积有所缩小, 而原人参三醇型皂甙(或称 Rg 组皂甙)则未见有这些效应。而且, 三七 Rb 组和 Rg 组原人参皂甙的镇痛效果也显著不同(饶曼人等, 三七皂甙 Rg、Rb 对心肌缺血的影响, 人参属植物学术会议论文, 89 年 9 月, 昆明; 王俐文等, 贵州医药, 1989 年第一期, 第 14 页)。这里所说的原人参二醇型皂甙和原人参三醇型皂甙及其皂甙元分别为原人参二醇和三醇皂甙元(参见共同待批中国专利申请 No. 9810)。因此, 为了更深入地研究和更充分地开发与利用人参属植物适当部分的生物学活性成分, 建立并完善以低成本、高产率, 并简便快捷地分离人参总皂甙的两大组分的方法是十分必要的。

陈燕萍等人[20(S)-原人参二醇组皂甙的制备及其转化制取人参皂甙-Rh₂, 中国药理学杂志 32(5): 273-275, 1979]报导了以西洋参茎叶总皂甙为原料, 利用有机溶剂(正丁醇/乙酸乙酯)经反复(多达 12 次)萃取制备人参二醇组皂甙的方法。但该方法与以前普遍使用的已知方法一样, 均存在溶剂用量大, 有些溶剂(如正丁醇)不易回收, 工艺操作繁复, 不适于工业化生产的缺点。

因此, 本发明的一个目的是提供一种以人参属植物适用部分的总皂甙为原料制备原人参二醇组和三醇组皂甙的方法, 该方法包括将所说的总皂甙溶解于低级醇溶液中, 然后用碱金属氢氧化物作为沉淀剂沉淀之, 待沉淀析出后分离作为组分 I 的沉淀部分, 和作为组分 II 的上清部分。

根据本发明的这一目的, 所说的制备方法进一步包括在组分 I 粗提物的水溶液中加入低浓度碱金属氢氧化物的低级醇溶液, 并用强酸型阳离子交换树脂纯化组分 I 的步骤。

根据本发明的这一目的, 所说的制备方法进一步包括在组分 II 粗提物醇溶液中加入碱金属氢氧化物, 并用强酸型阳离子交换树脂纯化所得组分 II 的步骤。

根据本发明这一目的的一个优选实施方案, 其中所说的人参属植物适当部分包括人参、西洋参和三七的根、根茎、茎叶、花和果实。

根据本发明这一目的的一个优选实施方案, 其中所说的碱金属氢氧化物包括钠和钾的氢氧化物, 且其中所说的低级醇包括含有 1-5 个碳原子的一元醇。

根据本发明这一目的的优选实施方案, 其中所说的碱金属氢氧化物的浓度为 0.01%至 10% (W/V)。

本发明的另一个目的是提供按本发明的方法制备的主要含原人参二醇组皂

甙和/或原人参三醇组皂甙的组分。

本发明的再一个目的是提供一种主要以原人参二醇组皂甙为基本活性成分的药物组合物，该组合物包含按本发明方法制备的原人参二醇组皂甙的组分，和一种或多种医药上可接受的载体或稀释剂或其他辅助成分。同时，本发明还提供一种以原人参三醇组皂甙为基本活性成分的药物组合物，该组合物包含按本发明方法制备的原人参三醇组皂甙，和一种或多种医药上可接受的载体或稀释剂或其他辅助成分。

根据本发明这一目的的一个方面，本发明的以原人参二醇组皂甙或原人参三醇组皂甙为基本活性成分的药物组合物，除含有作为基本活性成分的原人参二醇组皂甙或原人参三醇组皂甙外，还含有具有相似或协同作用的一种或多种天然或合成的其他活性成分或其混合物。

本发明的再一个目的是本发明的以原人参二醇组皂甙为基本活性成分的药物组合物在抗突变和抗自由基氧化作用中的应用。另一方面，本发明还涉及本发明的以原人参三醇组皂甙为基本活性成分的药物组合物在抗辐射损伤中的应用。

本发明涉及以人参属植物的总人参皂甙为原料，分离并纯化原人参二醇组皂甙(组分 I)和原人参三醇组皂甙混合物(组分 II)的方法，和含有所说的原人参二醇组皂甙或原人参三醇组皂甙的药物组合物，以及它们分别在预防和治疗因基因突变、自由基氧化损伤及辐射损伤引起的人或动物的病理状态中的应用。

如前所述，包括人参、西洋参和三七在内的五加科人参属植物的根、根茎、茎叶、花和果实中均含有丰富的人参皂甙，特别是达玛烷型皂甙。目前，已从这些植物中分离并鉴定了多种达玛烷型四环三萜化合物，并已对它们的化学结构、理化性质及生物学功能进行了广泛的研究。根据这类化合物在硅胶薄层层析(TLC)中的迁移行为(R_f值)，用适当的有机溶剂洗脱后，可将总皂甙分离成前述组分 I 和组分 II 两个基本组分。从而，为进一步纯化其中的个别单体提供起始材料，并为这些组分的生物学活性和临床应用研究提供基本材料来源。

本发明的方法包括将人参属植物的总皂甙溶解于低级醇溶液中，然后加入碱金属氢氧化物的醇溶液作为沉淀剂沉淀之，待沉淀析出后，分离作为组分 I 的沉淀部分和作为组分 II 的上清部分，从而分别得到组分 I 和组分 II 的粗提取物。然后在所说的组分 I 的粗提取物水溶液内加入低浓度碱金属氢氧化物的低级醇溶液，并用强酸型阳离子交换树脂及脱色阴离子树脂纯化，得到精制的组分 I。在所说的组分 II 的溶液中加入适当量的碱金属，搅拌混合物后除去所生成的沉淀物，滤出液用强酸型阳离子交换树脂及脱色阴离子树脂纯化，得到精制的组分 II。

为了制备富含原人参二醇组皂甙的组分 I 和富含原人参三醇组皂甙的组分 II，首先按本领域技术人员熟知的方法，从人参属植物，如人参、西洋参或三七的适当部分，如根、根茎、茎叶、花或果实中提取人参总皂甙。

以各种可能来源的人参总皂甙为起始材料制备人参皂甙组分 I 和组分 II。为此，首先在室温下将总皂甙溶解于过量的含水低级醇中，用适当的过滤材料过滤以除去不溶性的成分，得到滤液 A。同时将一定量的强碱如碱金属氢氧化物溶

解于尽可能少的水中，并在其中加入含水低级醇制得强碱的醇溶液 B，并以该溶液作为继后实验中的沉淀剂。室温搅拌下将溶液 B 缓慢滴加到上述滤液 A 中，此反应过程中不断有沉淀析出。静止 0.5-1 小时，直到不再有新的沉淀物析出，即可将此沉淀物通过适当的滤器进行简单地过滤。由于富含人参二醇组皂甙的部分相对极性较大，而且亲水性相对较小，因此用适当浓度的强碱的醇溶液处理总皂甙后，其中主要由 -Ro、-Rb₁、-Rb₂、-Rb₃、-Rc、-Rd 组成的结合糖较多的单体混合物，即富含原人参二醇组分便首先从反应混合物中沉淀析出，而主要由 -Re、-Rg₁、-Rg₂、-Rg₃、-F₂、-Rf 组成的结合糖较少的单体混合物，即富含原人参三醇组皂甙则仍溶解于所说的强碱的醇溶液中。从而，可基本上以高收率由人参总皂甙制得富含原人参二醇组皂甙和富含原人参三醇组皂甙。

根据本发明的优选实施方案，用于分离上述组分 I 和组分 II 的起始材料较好是西洋参茎叶总皂甙和人参茎叶总皂甙。用于溶解总皂甙的醇是含有 1-5 个碳原子的低级醇，如甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇或戊醇，但优选的是乙醇。所用乙醇的浓度应大于 85 %。根据本发明的优选实施方案，用于分离总皂甙各组分的强碱醇溶液较好是碱金属氢氧化物的醇溶液，如氢氧化钠或氢氧化钾的乙醇溶液。其中碱金属氢氧化物的浓度一般在 0.01 至 10 % (W/V) 范围内，较好为 0.1 至 5 %，最好为 0.3 至 1 % (W/V)。用于制备沉淀剂碱金属氢氧化物醇溶液的醇较好是乙醇、丙醇或正丁醇，且优选浓度 ≥ 90 % 的乙醇溶液。

为了进一步纯化按上述方法制备的人参皂甙组分 I 的粗提取物，首先在所得粗提取物的水溶液中按照大约 0.05 至 5%，较好约 0.3 至 2 % (W/V) 的比例加入如上文所述的醇碱溶液 B，充分混匀后可见有部分沉淀析出。然后用布氏漏斗减压过滤或用烧结的玻璃滤器过滤，收集沉淀物，并加水溶解之，然后加于强酸型离子交换树脂，例如 101 强酸型阳离子交换树脂柱上，用 3-5 倍柱床体积的水洗脱。收集洗脱液用脱色阴离子树脂脱色，用水洗脱后将洗脱液浓缩至干，得到精制的人参皂甙组分 I，即人参二醇组皂甙固体物。

同样，为了进一步纯化按上述方法制得的人参皂甙组分 II 的粗提取物，首先按照大约 0.05 至 5%，较好约 0.3 至 2 % (W/V) 的比例，在所得组分 II 粗提取物中加入固体强碱，例如金属钠或钾的氢氧化物，轻轻搅拌混匀后可见有部分沉淀析出。然后用布氏漏斗或烧结的玻璃滤器过滤，收集滤液后过强酸型离子交换树脂柱，如 101 强酸型阳离子交换树脂柱，用 3-5 倍柱床体积的醇洗脱，收集洗脱液并用阴离子脱色树脂脱色。用醇洗脱后，将洗脱液浓缩至干，得到精制的人参皂甙组分 II，即人参三醇组皂甙的固体物。

由于本发明的方法省略了繁复的有机溶剂(正丁醇/乙酰乙脂)萃取步骤，因此不仅简化了分离提取工艺，而且节省了有机溶剂，大大降低了生产成本，从而使人参总分组皂甙的大规模工业化生产成为可能。特别是，经反复实验室规模的制备实践证实，以本发明的方法制备原人参二醇组和三醇组皂甙的产物回收率高于以前通常使用的有机溶剂萃取工艺的产物回收率。

本发明进一步涉及一种药物组合物，该组合物含有作为活性成分的原人参二醇组皂甙或原人参三醇组皂甙，和一种或多种医药上可接受的载体和/或稀释剂，以及其他辅助成分。可以按照制药工业中已知的方法将按本发明方法制备的人参

丸剂、溶液剂和悬浮剂，以及适于局部给药的喷雾剂、霜剂、软膏、酞剂和栓剂。

为了制备适于胃肠道外途径给药的溶液剂，例如可以使用蒸馏水、注射用水、等渗氯化钠溶液或葡萄糖溶液，或者低浓度（例如 1-100 mM）磷酸盐缓冲盐水（PBS）作为载体或稀释剂。可以在这些胃肠道外给药的制剂中加入一种或多种其他辅助成分或添加剂，例如可使用抗坏血酸作为抗氧化剂，使用苯甲酸钠等作为防腐剂。并且在这些剂型中，还可以含有其他适用的增溶剂、崩解剂、润滑剂、着色剂及分散剂或表面活性剂。

在制备适于口服给药的片剂、粉末剂、胶囊剂或栓剂时，可以使用蔗糖、半乳糖、玉米淀粉、明胶、脂质、微晶纤维素等作为载体或赋形剂。可以使用制药工业中已知的方法和辅助成分制备微胶囊或脂质体包裹剂。

在局部给药的情况下，可将按照本发明方法制备的原人参二醇或三醇组皂甙溶解于含水介质或其他适当的载体或基质中，与上述各种适用的辅助成分，如超氧化物歧化酶（SOD）等自由基清除剂及适当的皮肤渗透剂或吸收促进剂如二甲基亚砜或朝桂氮卓酮混合，制成喷雾剂。另外，也可以将本发明的药物组合物加在化妆品工业中已知的基质中制成乳剂、霜剂、洗剂、面膜、软膏等制成的皮肤保护剂。这样的皮肤保护剂除具有常规化妆品的功能外，还具有预防和/或治疗局部组织的自由基氧化损伤或放射损伤的功能，以及刺激皮肤局部（如面部）表皮细胞增殖，防止皮肤老化皱缩的功能，同时也是全身给药的另一种辅助途径。

根据使用目的的不同，本发明的药物组合物中除含有作为基本活性成分的上述人参二醇组皂甙或人参三醇组皂甙外，还可含有一种或多种其他具有相同或相似生物学活性，具有辅助或协同作用的天然或合成的药物成分或其混合物。例如用于抗肿瘤目的时，可在本发明的药物组合物加入具有辅助或协同抗肿瘤作用的中草药提取物或合成的化学抗肿瘤药物或它们的混合物。

一般说来，本发明药物组合物中人参组二醇皂甙或人参三醇组皂甙的肌肉注射给药用药量为 0.1 至 100 mg/kg 体重/天，较好为 1 至 50 mg，最好 5-30 mg。口服给药的用药量一般为 1 至 150 mg/kg 体重/天，较好为 1 至 100mg，最好为 1 至 75 mg/kg/天。当然，确切的用量剂量应根据待治疗的病症或病理状态的性质、严重程度、病人的年龄、体重、待治疗病人对所用药物的敏感性及其给药方式等因素由临床医生来确定。

以下实施例旨在进一步举例说明，而不是限制本发明。在不违背本发明的精神和原则的前提下，对发明个别技术步骤进行的任何改动和改变均将落入本发明待批权利要求范围内。

实施例 1

西洋参茎叶分组皂甙的制备

称取西洋参茎叶总皂甙 100g（大连天马制药有限公司生产），并溶解于 1000 ml 95 % 乙醇溶液中，室温下缓慢搅拌使之充分溶解，然后用常规过滤装置过滤，除去不溶物，得到滤液 A。仔细称取氢氧化钠 5.0 g 溶解于 15.0 ml 水中，充分溶解后向所得溶液内加入 1000ml 95 % 乙醇，混匀后得到 0.5 % (W/V) 氢氧化钠乙醇溶液 B。持续搅拌下，将所得乙醇钠溶液 B 缓慢加入到上述滤液 A 中，渐渐有絮状沉淀物生成。将该混合物于温室下静止 24 小时后，用布氏漏斗或 G3 漏斗

减压过滤。分别收集沉积于滤板上的沉淀物和装入吸滤瓶内的滤出液，即得到人参皂甙组分 I(沉淀物)和组分 II(滤出液)的粗提取物。

在上述组分 I 粗提取物中加入 100ml 蒸馏水，加热并搅拌使之充分溶解。然后于持续搅拌下，缓慢加入 1000 ml 如上所述的 0.5 % 氢氧化钠醇溶液，将所得混合物室温放置约 12 小时。用玻璃滤器真空过滤后，收集沉淀物并将其溶解于 400 ml 蒸馏水中。将此溶液通过 101 强酸型阳离子交换树脂纯化并通过脱色阴离子树脂脱色，用蒸馏水洗脱。在硫酸镁上方将洗脱液减压浓缩至干，得到精制的人参皂甙组分 I 白色粉末，产率 40.3 %。经用 TLC 分析(在硅胶 G 薄层板上用正丁醇/乙酸乙酯/水(4 : 1 : 2)展开)，并用标准品作为对照，证明所得产物中含有-Rb₂、-Rb₃、-Rc、-Rd 皂甙单体，据此可确认其为西洋参茎叶二醇组皂甙混合物。

在上述组分 II 的粗提物溶液(2000 ml)中加入固体氢氧化钠(10.0 g)，室温搅拌 20 分钟后放置 24 小时。用常规滤器过滤该反应混合物，除去沉淀物，滤液分别通过 101 强酸型阳离子交换树脂柱及脱色树脂柱，并用 85 % 乙醇洗脱。收集洗脱液并于减压下抽吸至干，得到精制的人参皂甙组分 II 粉末，产率 34.1 %。对该产物进行 TLC 分析(在硅胶 G 薄层板上，用正丁醇/乙酸乙酯/水(4 : 1 : 2)展开)并用标准品作为对照，证明所得产物主要含有-Re、-Rg₁、-Rg₂、-F₂ 皂甙单体，据此可确认其为西洋参茎叶三醇组皂甙混合物。

实施例 2

西洋参茎叶分组皂甙的制备

以西洋参茎叶总皂甙(100 g, 大连天马制药有限公司生产)为起始材料，基本上按照实施例 1 所述的方法分别制备组分 I 和组分 II。所不同的是，将 100 g 总皂甙溶于 1000 ml 95 % 乙醇中并过滤除去不溶物后，在澄清的滤液内缓慢加入基本上按实施例 1 中所述方法制备的浓度为 0.2 % (V/V) 的氢氧化钠乙醇溶液(将 2.0 g NaOH 溶解于 10.0 ml 蒸馏水中，然后加入 1000 ml 95 % 乙醇，充分混匀后制成 0.2 % (W/V) NaOH-EtOH 溶液)。TLC 分析显示，所得组分 I，即西洋参茎叶二醇组皂甙的产率为 33.6 %；组分 II，即西洋参茎叶三醇组皂甙(包括拟人参皂甙-RF₁₁和-RT₅)的产率为 35.8 %。

实施例 3

人参茎叶分组皂甙的制备

基本上按照实施例 1 中所述的方法，以人参茎叶总皂甙为起始材料(100 g, 吉林省长白市第二药厂生产)制备组分 I 和组分 II，其中组分 I 产率为 13.0 %；组分 II 产率为 69.8 %。经 TLC 分析(在硅胶 G 薄层板上，用正丁醇/乙酸乙酯/水(4 : 1 : 2)展开)表明纯化精制后的组分 I 中主要成分为人参皂甙-Rb₁、-Rb₂、-Rc、-Rd，故可确定其为人参茎叶二醇组皂甙混合物；组分 II 中则主要由人参皂甙-Re、-Rg₁、-Rg₂、-Rf 组成，故可确定其为人参茎叶三醇组皂甙混合物。

实施例 4

三七根分组皂甙的制备

基本上按照实施例 1 中所述的方法, 以三七根总皂甙(100 g, 白求恩医科大学化学教研室制备)为起始材料, 分别制备组分 I 和组分 II。不同的是, 将 100 g 三七总皂甙溶于 1000 ml 95 %乙醇溶液中并过滤除去不溶物后, 在所得澄清的滤液内缓慢加入基本上按实施例 1 中所述方法制备的浓度为 1 %的氢氧化钠乙醇溶液(将 100 g 氢氧化钠溶解于 20.0 ml 蒸馏水中, 然后加入 1000 ml 95 %乙醇, 充分混匀后制成 1.0 % (V/V) NaOH-EtOH 溶液)。TLC 分析显示, 所得组分 I, 即三七原人参二醇组皂甙主要由人参皂甙-Rb₁、-Rb₂、-Rd 和三七皂甙 R4 组成, 产率 38.9 %; 所得组分 II, 即三七原人参三醇组皂甙主要由人参皂甙-Re、-Rg₁、-Rg₂、-Rh₁和 -Rf 组成, 产率 41.2 %。

实验实施例 1

原人参二醇组皂甙(PDS)对雄性小鼠生殖细胞非程序 DNA 合成(UDS)的抑制作用

在甲基磺酸甲脂(MMS, Merck Co.)诱发生殖细胞非程序 DNA 合成(UDS)的雄性小鼠(C57 BL/6J)模型中观察 PDS 对生殖细胞 UDS 的抑制作用。实验结果表明, MMS 可显著地诱导雄性小鼠的 UDS 反应。于注射 MMS 之前腹腔内注射 PDS 15 mg/0.2 ml, 发现可明显地抑制小鼠精子的 UDS, 而在投用 MMS 之后腹腔注射 PDS(15 mg/0.2 ml)则对 MMS 诱发的 UDS 无明显影响。因此推测, PDS 可抑制 MMS 诱发的原发性 DNA 合成障碍, 即 PDS 可阻止诱变剂对细胞核内遗传物质的损伤。

本实验还观察到, PDS 与 MMS 同时给药的抑制效果比预先投用 PDS 的效果差, 因而推测 PDS 抗 DNA 损伤可能是通过诱导细胞内某些生物学过程间接起作用的, 并且可能与 PDS 的清除自由基和抗氧化活性有关。

实验实施例 2

原人参三醇组皂甙(PTS)对雄性大鼠免疫器官的辐射防护作用

利用接受 X 射线照射(5 Gray)的 Wistar 大鼠作为实验模型, 观察 PTS 对动物免疫器官抗辐射能力的影响。雄性大鼠于接受 X 射线全身照射之前 24 小时和照射后连续 14 天, 每天腹腔注射 PTS(5 mg/0.2 ml), 观察动物外周血白细胞数的动态变化和免疫器官(胸腺和脾脏)重量及细胞数的改变。结果可见, PTS 可显著增加受 X 射线照射大鼠的外周血白细胞数目, 阻止射线对动物胸腺和脾脏细胞的杀伤作用。从对照组所得数据还可以看出, PTS 可提高正常大鼠的外周血白细胞数目和胸腺与脾脏组织的细胞数目。

上述结果提示, 原人参三醇组皂甙可阻止遭受放射损伤动物的骨髓幼稚白细胞减少, 但对已发育成熟的白细胞降低的保护作用则不显著。从而进一步证明 PTS 主要作用在于刺激骨髓造血组织, 抑制和/或修复射线对造血组织的损伤, 进而促进造血功能的恢复和成熟白细胞的释放。另外, 上述结果还提示, PTS 可保护免疫器官, 使之减轻因辐射造成的损伤, 从而改善机体的免疫功能。