

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510048694.7

[51] Int. Cl.

*A61K 31/704 (2006.01)*  
*A61K 31/7048 (2006.01)*  
*A61P 25/00 (2006.01)*  
*A61P 9/00 (2006.01)*  
*A61P 35/00 (2006.01)*  
*A61P 39/06 (2006.01)*

[43] 公开日 2007年6月20日

[11] 公开号 CN 1981776A

[51] Int. Cl. (续)

*A61P 43/00 (2006.01)*

*A23L 1/30 (2006.01)*

[22] 申请日 2005.12.15

[21] 申请号 200510048694.7

[71] 申请人 昆明维泰尔健康科技有限责任公司

地址 650106 云南省昆明市科医路176号

[72] 发明人 刘学系 韩颖 王曙彩 王娟

陈锡强 高心湘

[74] 专利代理机构 云南派特律师事务所

代理人 张怡

权利要求书2页 说明书18页

[54] 发明名称

含稀有人参皂甙的组合物及其制备方法以及用途

[57] 摘要

本发明涉及一种含有稀有人参皂甙 - Rh<sub>2</sub> 和 - Rg<sub>3</sub> 的组合物, 这种组合物的应用及其制备工艺。本发明所述的含稀有人参皂甙的组合物为组合物中人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 和 Rg<sub>3</sub> 的总含量为重量百分比 5% ~ 49.9%, 人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 与 Rg<sub>3</sub> 两组分间的相对重量比例人参皂甙 Rh<sub>2</sub> : 人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 为 1 : 0.1 ~ 8。上述组合物可用于神经细胞损伤性疾病的预防、治疗和辅助治疗, 心脑血管疾病的预防、治疗和辅助治疗、实体性恶性肿瘤的预防、治疗和辅助治疗, 以及抗衰老、抗疲劳等。可以制成药物或功能性食品, 如散剂、颗粒剂、胶囊剂、缓释和控释胶囊剂、素片和包衣片、缓释和控释片、分散片、口含片、口服液等。

1、一种含稀有人参皂甙的组合物，其特征在于组合物中人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 和 Rg<sub>3</sub> 的总含量为重量百分比 5%~49.9%，人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 与 Rg<sub>3</sub> 两组分间的相对重量比例人参皂甙 Rh<sub>2</sub>：人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 为 1：0.1~8。

2、如权利要求 1 所述的含稀有人参皂甙的组合物，其特征在于组合物中人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 和 Rg<sub>3</sub> 的总含量为重量百分比 20%~49.9%。

3、如权利要求 1 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于以人参总皂甙为起始原料，在水系溶剂系统中，在 0.01~10 mol/L 酸浓度及 40℃~160℃、常压~1.5MPa 条件下，进行人参总皂甙水解 20 分钟~960 分钟，降温至 28℃以下，加碱中和至 PH 值为中性，沉淀，去除母液，沉淀物干燥直接获取含有稀有人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 和 Rg<sub>3</sub> 总含量为 5%~49.9%的组合物。

4、如权利要求 3 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于所述的人参总皂甙中皂甙含量范围为重量百分比 20%~99%。

5、如权利要求 3 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于所述的温度为 90℃~130℃。

6、如权利要求 3 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于所述的压力为 0.05~0.8Mpa。

7、如权利要求 3 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于所述的水解时间为 30~270 分钟。

8、如权利要求 3 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于所述酸的浓度为 0.08~4 mol/L。

9、如权利要求 3 所述的含稀有人参皂甙的组合物的制备方法，其特征在于所述的酸为盐酸、乙酸、磷酸、硫酸、冰醋酸、草酸、柠檬酸、苹果酸、三氟乙酸、二氟乙酸、一氟乙酸、三氯乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸中的一种或二种以上。

10、权利要求 1 或 2 所述的含稀有人参皂甙的组合物在制备治疗神经细胞

损伤性疾病的药物中的应用。

11、权利要求 1 或 2 所述的含稀有人参皂甙的组合物在制备治疗心脑血管疾病的药物中的应用。

12、权利要求 1 或 2 所述的含稀有人参皂甙的组合物在制备治疗实体性恶性肿瘤疾病的药物中的应用。

13、权利要求 1 或 2 所述的含稀有人参皂甙的组合物在制备治疗抗衰老、抗疲劳的药物中的应用。

14、权利要求 1 或 2 所述的含稀有人参皂甙的组合物在制备功能性食品中的应用。

## 含稀有人参皂甙的组合物及其制备方法以及用途

## 技术领域

本发明涉及一种含有稀有人参皂甙-Rh<sub>2</sub> 和-Rg<sub>3</sub> 的组合物, 这种组合物的应用及其制备工艺。

## 背景技术

五加科 (araliaceae) 人参属 (Panax) 植物, 如人参 (P.ginseng)、西洋参 (P.quenquefolinus)、三七 (P.notoginseng)、竹节参 (P.uaponicus), 葫芦科绞股蓝属植物绞股蓝 (Gynostemma pentaphyllum Thrunb Mak) 等均为我国习用药用植物, 其主要有效成分为人参皂甙。目前已发现的人参皂甙有 42 种, 分为三种类型: 人参二醇甙, 人参三醇甙, 齐墩果酸皂甙。各组中甙元均相同, 而糖链有所不同。

人参二醇甙组中的稀有人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 和 Rg<sub>3</sub> 均为日本学者北川勋于 1983 年由红参中分离得到的微量组分。

前此的大量实验研究已经证实, 人参皂甙-Rh<sub>2</sub> 可诱导肿瘤细胞的逆向转化, 从而使增殖的癌细胞逆转为正常细胞 (Chemical studies on crude drugs I[J].Yakugaku Zasshi 1983, 103(6):6 12-62)。试验研究表明, 人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 对培养的小鼠肺癌细胞、大鼠 Morris 肝癌细胞及小鼠 B16 黑色素瘤细胞具有明显的特异性抑制作用, 表现为黑色素生成能力明显增加; 形态向正常上皮细胞分化; 细胞呈网状结构; 黑色素颗粒增多; 生成变缓慢。细胞动力学研究结果表明, 人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 可使 B16 黑色素瘤细胞阻断在 G1 期, 药物作用后, G1 期细胞明显增加, S 期细胞明显减少, 进一步说明人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 对 B16 黑色素瘤细胞具有分化诱导作用 (药学学报,1996,31(10):742-745.)。此外, 人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 可以改善局部缺血导致的脑损伤 (Biol Pharm Bull. 2004 Mar;27(3):433-6.), 并有细胞膜稳定作用, 对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞产生 NO 和 PGE2 具有抑制作用 (Biol Pharm Bull.2003, 26 (11) .-1581~1584)。

人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 具有选择性地抑制肿瘤细胞浸润和转移的作用。人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 可促进 NO 的生成, 阻碍肿瘤细胞对纤维粘连蛋白和层粘连蛋白的粘附, 抑制

血管内皮细胞的增殖和肿瘤新生血管的形成,降低细胞内  $C^{2+}$  浓度,破坏其在血管壁的着床和进入浸润血管内壁,特别是能抑制细胞生长因子和血管内皮生产因子的产生与表达。从而起到抑制肿瘤生长、扩散和转移的作用(中国中西医结合外科杂志, 2001,7(4): 289-290.)。高勇等人利用鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)观察人参皂甙  $Rg_3$  作用后肿瘤新生血管的生长状况,结果表明:人参皂甙  $Rg_3$  可明显抑制 Lewis 肺癌的生长,同时人参皂甙  $Rg_3$  具有与苏拉明类似的抗新生血管作用(第二军医大学学报, 2001,22(1):40-42.)。人参皂苷  $Rg_3$  可以逆转酒精和东莨菪碱所致记忆功能紊乱(Arch Pharm Res. 2005 Mar;28(3):335-42.);拮抗 NMDA 受体,对缺血和谷氨酸所致脑细胞坏死有明显改善作用(Neurochem Res. 2004 Dec, 29(12): 2257-66.),对脑细胞  $Na^+$  通道有电压依赖性和剂量依赖性的可逆抑制作用。人参皂苷  $Rg_3$  对家兔基底动脉平滑肌有明显的舒张作用,且呈剂量依赖性,其机理可能与血管平滑肌细胞上的钙通道和钙激活的钾通道有关,而与内皮细胞的功能无关。

上述药理实验研究结果表明,人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  具有多方面很高的生物活性。但迄今尚未见含有人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  的组合物药用和/或作功能性食品应用的公开资料。

人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  为人参属植物中的痕量成分,在原植物中含量很低或几乎不能检出。如人参皂甙  $Rh_2$  在红参中含量仅为十万分之一,在白参中几乎不存在。人参皂甙  $Rg_3$  在红参(晒干或蒸制后)中含量也仅有十万分之三左右。

近年来,国内外研究者一直在探寻批量生产人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  的工艺技术,并已取得了一些进展。目前已公开的生产人参皂甙  $Rh_2$  或  $Rg_3$  的工艺路线主要有:

#### 1、半合成法制取人参皂甙 $Rh_2$

前苏联学者提出了两个半合成法制备人参皂甙  $Rh_2$  的方法,一条路线为用人参三醇和乙酰溴代葡萄糖缩合合成人参皂甙  $Rh_2$ 。但选择性较差,混合物难以分离。另一条路线则采用从桦树叶分得的白桦烯三醇为原料,通过五步区域选择性和立体选择性反应合成人参皂甙- $Rh_2$ (中国药物化学杂志, 1992,2(1):64-70)。1995 年韩国专利申请公告 95-7250 则公开了首先用强碱的醇溶液水解人参叶和/或根茎的干燥粉末,得到 20(S)- $Rh_2$  甙元,然后再在碳酸银等催化剂存在下与葡萄糖缩合制备 20(S)- $Rh_2$  的方法。上述方法反应步骤繁琐,经济上也不

实用。

## 2、碱水解法制取人参皂甙 Rh<sub>2</sub>

1992年,宋长春等人报导,利用西洋参茎叶总皂甙为起始材料,经用20%的NaOH水解后,经纯化得到20(S)-人参皂甙 Rh<sub>2</sub>,回收率1.42%(中国药学杂志,27(1):6,1992)。而韩国人参烟草研究所1994年公开了一种从人参组分中制备制备20(R)-人参皂甙 Rh<sub>2</sub>的方法,其特征在于首先用酸水解人参皂甙原人参二醇组分,再经乙酰化及水解处理得到20(S&R)-人参皂甙 Rg<sub>3</sub>,再用碱水解得到20(S&R)-人参皂甙 Rh<sub>2</sub>(韩国专利申请公告94-8291)。另一项专利申请公开了用酸水解原人参二醇组分(系列)单体皂甙制得 Rg<sub>3</sub>,然后乙酰化处理并用半制备HPLC法分离得到20(S)-人参皂甙 Rh<sub>2</sub>的方法。CN1225366A,1999-8-11;CN1293198A,2001-05-02;CN1352977A,2002-06-12也分别公开了以人参二醇组皂甙为起始材料,用强碱水解法制备人参皂甙 Rh<sub>2</sub>的方法。上述方法收率在1.42~5.6%之间。

## 3、酶水解法制备人参皂甙 Rh<sub>2</sub>

CN1229086A,1999-09-22公开了一种用皂甙β-葡萄糖苷酶等皂甙酶制取人参皂甙 Rh<sub>1</sub>、Rh<sub>2</sub>等的方法。该法用自微生物中分离纯化的皂甙酶水解人参皂甙 Rg<sub>3</sub>得到 Rh<sub>2</sub>,水解人参皂甙 Re得到 Rg<sub>1</sub>,水解人参皂甙 Rg<sub>2</sub>得到 Rh<sub>1</sub>。并称可水解人参混合皂甙,使其中的稀有抗癌皂甙 Rh<sub>2</sub>、Rh<sub>1</sub>含量增加几百倍。酶法水解有较好的定向性,但皂甙酶本身需要提取纯化,成本较高。就收率而言,按专利说明书中所声称稀有人参皂甙含量提高了几百倍计,人参皂甙 Rh<sub>2</sub>在其混合皂甙中的理论含量也仅能达到5%以下。

## 4、酸水解法制取人参皂甙 Rg<sub>3</sub>。

1991年,日本学者发现动物胃液和盐酸可使人参皂甙 Rb<sub>2</sub>部分地水解为人参皂甙 Rg<sub>3</sub>(Chem Pharm Bull(Tokyo).1991 Feb;39(2):400-4.)。在国内,2002年,CN1092204C,2002-10-09公开了一种20(S)-人参皂甙 Rg<sub>3</sub>的半合成工艺,首先用乙酸乙酯与正丁醇萃取人参总皂甙分离出人参皂甙二醇组,再用盐酸的醇溶液对人参皂甙二醇组进行水解,制取20(S)-人参皂甙 Rg<sub>3</sub>。该法需用有机溶剂萃取人参皂甙二醇组作为水解起始材料,并需在有机溶剂系中进行水解,工艺仍较为繁复,有机溶剂用量大,回收困难,且仅能获得20(S)-人参皂甙 Rg<sub>3</sub>,

收率仅能达到5~7%。2003年, CN1417225A, 2003-05-14公开了一种由人参皂甙直接酸水解制备人参皂甙  $Rg_3$  的方法, 以纯度人参皂甙 $\geq 90\%$ , 不含有三醇型皂甙的人参二醇型皂甙, 在含有保护剂的有机溶剂酸溶液中、惰性气体保护下进行水解, 制备人参皂甙  $Rg_3$ 。

上述方法均可以分别获得人参皂甙  $Rh_2$  或  $Rg_3$ , 但大多对半合成或水解条件有比较严格的要求, 如要求以人参二醇甙甚至单体皂甙为水解起始原料, 或/和须在有机溶剂系中水解, 或/和须添加保护剂, 或/和须使用保护气体等。

### 发明内容

本发明的目的在于克服现有技术的缺陷, 提供一种具有预防和治疗神经细胞损伤性疾病、心脑血管疾病、恶性肿瘤及抗衰老、抗疲劳功能的含有特定比例的稀有人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  的组合物。

本发明的另一目的在于提供这种组合物的制备方法。

本发明的再一目的是提供这种组合物的用途。

本发明所述的含稀有人参皂甙的组合物为组合物中人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  的总含量为重量百分比 5%~49.9%, 人参皂甙  $Rh_2$  与  $Rg_3$  两组分间的相对重量比例人参皂甙  $Rh_2$ : 人参皂甙  $Rg_3$  为 1: 0.1~8。

上述组合物中更佳的范围为: 组合物中人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  的总含量为重量百分比 20%~49.9%, 人参皂甙  $Rh_2$  与  $Rg_3$  两组分间的相对重量比例人参皂甙  $Rh_2$ : 人参皂甙  $Rg_3$  为 1: 0.1~8。

在上述组合物中, 剩余成分为  $Rh_2$  和  $Rg_3$  自然带如的成分。

本发明所述的含稀有人参皂甙的组合物制备方法为: 以人参总皂甙为起始原料, 在水系溶剂系统中, 在 0.01~10 mol/L 酸浓度及 40℃~160℃、常压~1.5MPa (表压) 条件下, 进行人参总皂甙水解 20 分钟~960 分钟, 降温至 28℃ 以下、加碱中和至 PH 值为中性, 沉淀, 去除母液, 沉淀物干燥直接获取含有稀有人参皂甙  $Rh_2$  和  $Rg_3$  总含量为 5%~49.9%的组合物。

上述的降温可以是自然降温, 也可为在 8—10 分钟内的急速降温; 所加的碱并不苛求, 可用常用碱。

本发明制备方法的特点是以人参总皂甙为起始原料, 在不含任何有机溶剂的水系溶剂系统中进行, 不需添加保护剂, 或/和须使用保护气体等, 无有剂溶

剂残留，更简单、经济和工业中批量生产。

其中：人参总皂甙为由五加科 (araliaceae) 人参属 (Panax) 植物，如人参 (P.ginseng)、西洋参 (P.quenquefolinus)、三七 (P.notoginseng)、竹节参 (P.uaponicus)，葫芦科绞股蓝属绞股蓝 (Gynostemma pentaphyllum Thrunb Mak) 等植物中的一种的全植物提取的总皂甙；或前述植物根、茎、叶、果中的一种或二种以上部位提取的总皂甙；以及前述总皂甙的精制品。人参总皂甙中皂甙含量范围为：20%~99%。酸为盐酸、乙酸、磷酸、硫酸、冰醋酸、草酸、柠檬酸、苹果酸、三氟乙酸、二氟乙酸、一氟乙酸、三氯乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸中的一种或二种以上。

更佳的范围为：酸浓度 0.08~4mol/L，温度 90℃~130℃，压力 0.05~0.8MPa，时间 30 分钟~270 分钟。

上述组合物可用于神经细胞损伤性疾病的预防、治疗和辅助治疗，心脑血管疾病的预防、治疗和辅助治疗、实体性恶性肿瘤（肺癌、黑色素瘤、肝癌、胃癌、卵巢癌、神经胶质瘤等）的预防、治疗和辅助治疗，以及抗衰老、抗疲劳等。可以制成药物或功能性食品，如散剂、颗粒剂、胶囊剂、缓释和控释胶囊剂、素片和包衣片、缓释和控释片、分散片、口含片、口服液等。

上述组合物可以由人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 与 Rg<sub>3</sub> 单体，和/或分别含有人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 与 Rg<sub>3</sub> 的混合皂甙按上述比例配制而成，也可以按本发明所提供的制备工艺制取。

以下提供本发明所述组合物的药效学及功能性实验资料：

实验一 对肿瘤细胞株生长的抑制试验

(一) 材料和仪器

癌株：S-180 肉瘤株和 Lewis 肺癌株均由中国医学科学院药物研究所提供。

受试药物：人参总皂甙水解组合物为自制，含人参皂甙 Rh<sub>2</sub>13.8%，Rg<sub>3</sub>32.1%；人参皂甙 Rh<sub>2</sub> 为自制，含量为 92.7%；人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 为自制，含量为 95.34%。

阳性对照药物：5-氟尿嘧啶 (5-FU)。

阴性对照：含 5% 新生牛血清的 RPMI-1640 培养基。

0.4% 台盼蓝溶液；



Hank's 平衡盐水 (HBSS)。

二氧化碳培养箱；生物显微镜；超净工作台。

## 2 实验方法

取对数生长期的肿瘤细胞，用含 5 % 新生牛血清的 RPMI1-640 配成浓度为  $4 \times 10^4$  个/ml 的肿瘤细胞悬液，分装于每个培养瓶中，接种细胞悬液 4 ml 的第 2 天每瓶加入受试药物 40 $\mu$ l (受试药物用时溶于少量 DMSO 和 95 % 乙醇，用含 5 % 新生牛血清的 RPMI-1640 培养基分别稀释成 0.2, 1, 5, 10  $\mu$ g/ml (人参总皂甙水解组合物以人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub> 总含量计，人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub> 均以纯物质计) 4 个浓度，每个浓度 3 瓶，阴性对照组加等体积的含 5% 新生牛血清的 RPMI1640，阳性对照组加等体积的 5-氟尿嘧啶 (浓度为 1 $\mu$ g/ml)，继续在 37 °C，5 % CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 72h，摇匀组织培养瓶，取悬浮液 0.2 ml，加入 0.4% 台盼蓝溶液 0.5ml 及平衡盐水 0.3ml，充分混合，在血球计数板上分别计数 (200 个以上) 其中未染色的活细胞及染色的死细胞。计算出抑制率 (公式：抑制率 = 染色细胞 / 总细胞  $\times$  100 %)，并通过 X<sup>2</sup>(2 $\times$ 2) 统计法对数据进行统计。

## 3 实验结果

实验结果见表 1、表 2。

表 1 人参总皂甙水解物和 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub> 对 S180 肉瘤株的抑制作用

	药物浓度( $\mu$ g/ml)	抑制率(%)
空白对照组	0	6.1 $\pm$ 4.7
5-氟尿嘧啶组 (阳性对照)	10	57.5 $\pm$ 5.1
人参总皂甙水解组合物实验组	50	53.4 $\pm$ 4.8
	10	31.9 $\pm$ 4.0
	2	24.6 $\pm$ 6.7
	0.4	9.7 $\pm$ 5.5
人参皂甙 Rh <sub>2</sub> 实验组	50	58.7 $\pm$ 5.1
	10	39.0 $\pm$ 4.6
	2	21.3 $\pm$ 4.3
	0.4	11.1 $\pm$ 4.5
人参皂甙 Rg <sub>3</sub> 实验组	50	41.2 $\pm$ 5.0
	10	26.8 $\pm$ 4.7
	2	14.9 $\pm$ 5.2
	0.4	6.8 $\pm$ 5.5

表2 人参总皂甙水解物和 Rh<sub>2</sub>,Rg<sub>3</sub> 对 Lewis 肺癌瘤株的抑制作用

	药物浓度(μg/ml)	抑制率(%)
空白对照组	0	3.6±5.2
5-氟尿嘧啶组(阳性对照)	10	89.4±4.3
人参总皂甙水解组合物实验组	50	76.7±6.1
	10	51.9±4.5
	2	34.6±5.7
	0.4	11.7±5.3
	50	80.5±4.9
人参皂甙 Rh <sub>2</sub> 实验组	10	49.0±5.4
	2	39.3±4.7
	0.4	17.1±3.8
	50	69.2±5.3
	10	38.9±6.7
人参皂甙 Rg <sub>3</sub> 实验组	2	20.4±4.8
	0.4	11.8±4.1

#### 4 结论

不同浓度(125, 25, 5, 1μg/ml)的人参总皂甙水解组合物(含人参皂甙 Rh<sub>2</sub>13.8%, Rg<sub>3</sub>32.1%), 人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>对体外培养的 S180 肉瘤瘤株和 Lewis 肺癌瘤株均有抑制作用, 并且抑制作用呈剂量依赖性增强。人参总皂甙水解组合物与人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>相比较, 抑制作用相当(P>0.05)或稍强于单体人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>(P<0.05)。

#### 实验二 舒张血管作用

##### 1 实验材料

人参总皂甙水解组合物: 自制, HPLC 检测含人参皂甙 Rh<sub>2</sub>13.8%, Rg<sub>3</sub>32.1%, 人参皂甙 Rg<sub>3</sub>为自制, HPLC 检测含量为 95.34%。

苯肾上腺素(phenylephrine, PE)。

Cremophor EL。

人参总皂甙水解组合物, 人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, 人参皂甙 Rg<sub>3</sub>均以 Cremophor EL 制成 10 μg/ml 的母液(人参总皂甙水解组合物以人参皂甙 Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>总含量计, 人参皂甙 Rg<sub>3</sub>以纯物质计)。实验开始前, 上述药物均用 Krebs-Henseleit(K-H)液配制成梯度稀释液备用。

雄性成年家兔, 体重 2.7±0.5 kg。

张力换能器。

8 导生理记录仪。

恒温水浴。

## 2 实验方法

家兔经击头和颈动脉放血致死，取椎基底动脉置入富氧的 K-H 溶液中；除去血管外脂肪，以螺旋状连续剪成 3mm×15mm 的平滑肌条，一端固定于含 K-H 液的 5ml 浴槽底部，另一端固定于量程为 5.0g 的张力换能器上，并将整个平滑肌条自始至终浸泡于 K-H 液中，连续充以 95%O<sub>2</sub> 与 5%CO<sub>2</sub> 混合气，浴槽以 (37.0±0.5) °C 循环水恒温水浴。换能器接 8 导生理记录仪，加 2.0g 基础负荷，平衡 20 min，每隔 10min 换液 1 次。肌条张力稳定后备用。

加入 10 μmol/ml PE 使平滑肌条张力达到 3.0g，后累积加入供试药物人参总皂甙水解组合物，人参皂甙 Rg<sub>3</sub>，控制终浓度为 50、100、200、400、800、1600ng/ml，空白对照加同溶剂浓度的 Cremophorel，给药间隔为 5min，每个实验浓度进行 3 个标本重复，取平均值，计算基底动脉平滑肌条舒张率。

舒张率 (%) = 100 × (前负荷 - 实际张力) / 前负荷。

3 实验结果，见表 3。

表 3 人参总皂甙水解组合物及人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 的舒张血管作用

	供试药物浓度 (ng/ml)	舒张率 (%)
人参总皂甙水解组合物组	50	0
	100	14.33
	200	21.27
	400	47.54
	800	79.88
	1600	82.35
人参皂甙 Rg <sub>3</sub>	50	0
	100	13.07
	200	23.74
	400	40.60
	800	74.92
	1600	76.03

## 4 结论

人参总皂甙水解组合物及人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 均具有显著的剂量依赖性舒张血管平滑肌的作用，起效浓度 < 5 μg/ml。人参总皂甙水解组合物较人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 作

用稍弱, 但组间比较差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 实验三 对脑皮层神经细胞的保护作用

#### 1 材料

1.1 药品与试剂 人参总皂甙水解组合物与人参皂甙  $Rg_3$ : 自制, HPLC 检测含人参皂甙  $Rh_2$  13.8%,  $Rg_3$  32.1%, 人参皂甙  $Rh_2$  为自制, 含量为 92.7%, 人参皂甙  $Rg_3$  为自制, HPLC 检测含量为 95.34%。先用 60% 乙醇溶解为  $20\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 再用双蒸水配制浓度为  $2\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  受试溶液。氯酯醒 (meclofenoxane, MEC), 双蒸水溶解。上述三种药物均以微孔滤膜除菌过滤,  $4^\circ\text{C}$  冰箱保存备用。实验时以 DMEM 培养液稀释至所需浓度。DMEM 培养基及马血清。连二亚硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )。葡萄糖氧化酶。硝普钠 (sodium nitroprusside, SNP)。咖啡因 (caffeine, Caf)、NMDA (N-methyl-D-aspartate)。多聚赖氨酸。胰蛋白酶。

1.2 动物 Wister 乳鼠, 1~2 日龄。

#### 2 方法

##### 2.1 原代大鼠乳鼠脑皮层神经细胞的制备及培养

取 Wister 大鼠乳鼠数只, 常规消毒头颈部, 解剖大脑, 分离出脑皮层, Hank's 液洗涤 3 次, 剪碎成  $1\text{mm}^3$  小块, 置 0.25% 胰酶中,  $37^\circ\text{C}$  消化 1h, 吸弃消化液, Hank's 液洗涤 3 次, 滴管吹打至细胞分散。用 DMEM 生长液 (含 10% 马血清, 10% 小牛血清) 调整细胞浓度为  $1 \times 10^6 \text{ml}^{-1}$ , 将细胞悬液加至用 0.01% 多聚赖氨酸浸泡过夜的 96 孔细胞培养板中,  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  温箱中培养, 每周换液 2 次。培养至第 7 天, 换含  $10\mu\text{mol/L}$  阿糖胞苷的 DMEM 培养液培养 48 h, 以抑制非神经原细胞增殖, 再换成 DMEM 生长液, 继续培养至 11~14d 进行实验。

##### 2.2 药物对实验模型的保护作用

###### 2.2.1 药物对缺糖损伤模型的保护作用

不同浓度的人参总皂甙水解组合物、人参皂甙  $Rg_3$  和氯酯醒 (DMEM 维持液稀释) 作用细胞 24h 后, 吸弃药液, 加入无糖 Earle's 液, 作用 10h 后, 换成 DMEM 维持液, 继续培养 18h, 观察实验结果。实验同时设损伤模型对照及正常细胞对照。

###### 2.2.2 药物对缺氧损伤模型的保护作用

将  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  干粉加入 DMEM 培养液中, 使终浓度为  $5\text{mmol/L}$ , 充分搅拌, 调整

pH 为 7.2, 即为缺氧溶液。缺氧损伤 8h 造成损伤模型。实验除设损伤对照及正常对照外, 还设非低氧溶液(配制同缺氧溶液, 但需放置 3d 以上)对照, 以消除  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  在水中分解产物的影响。

### 2.2.3 药物对自由基损伤模型的保护作用

含葡萄糖(25mmol/L)-葡萄糖氧化酶(12.5mU/ml)的无血清 DMEM 培养基, 作用 3h 造成自由基损伤模型。实验分组及结果观察同上。

### 2.2.4 药物对咖啡因损伤模型的保护作用

含 10mmol/L 咖啡因的 DMEM 培养液作用 45min 后, 造成细胞损伤模型。实验分组及结果观察同上。

### 2.2.5 药物对 NO 神经毒性损伤模型的保护作用

含 SNP100  $\mu\text{mol/L}$  的 DMEM 培养液作用细胞 10min 后, 造成 NO 神经毒性损伤模型。实验分组及结果观察同上。

### 2.2.6 药物对 NMDA 神经毒性损伤模型的保护作用

用无  $\text{Mg}^{2+}$  Earle's 液洗涤细胞 3 次, 加入含 30  $\mu\text{mol/L}$  的 NMDA, 0.5  $\mu\text{mol/L}$  甘氨酸的无  $\text{Mg}^{2+}$  Earle's 液, 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5% $\text{CO}_2$  温箱中作用 4h 后, 吸弃培养上清, Earle's 液洗涤 3 次, 再换成正常维持液, 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5% $\text{CO}_2$  温箱中继续培养 18h, 观察实验结果。

## 2.3 观察指标

### 2.3.1 细胞形态

倒置显微镜下观察细胞生长情况和细胞形态。

### 2.3.2 结晶紫活细胞染色

模型损伤 18h 后, 吸弃上清, 以 37 $^{\circ}\text{C}$ , pH7.4 PBS 洗涤 3 次, 加入 0.2% 结晶紫溶液(内含 0.2% 乙醇)染色 1min, 洗涤 6 次, 加 1% SDS (十二烷基硫酸钠) 溶液 100  $\mu\text{l}$ /孔, 37 $^{\circ}\text{C}$  温育 30min, 使细胞彻底裂解, 用 DG3002 酶联检测仪测定 OD 值 ( $\lambda=630\text{ nm}$ )。组间数据进行 t 检验。

## 3 结果

### 3.1 培养细胞形态学观察

细胞接种于多聚赖氨酸处理过的细胞培养板, 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5% $\text{CO}_2$  温箱孵育 2h 后, 倒置显微镜观察: 镜下见细胞贴壁, 形状呈圆形, 分布均匀。培养 48h, 细胞逐

渐伸出突触。d4, 细胞大多伸展, 突触相互交织成网状, 胞体呈梭形, 三角形。培养至 d11, 细胞生长成单层。

### 3.2 药物对实验模型的保护作用

#### 3.2.1 药物对损伤模型中结晶紫染色活细胞吸光度的影响

存活细胞吸收结晶紫着色, 通过测量染色活细胞在 630 nm 波长处的吸光度, 可计算存活神经细胞的比值, 结果见表 4。

表 4 对原代培养的大脑皮层神经细胞缺血损伤的保护作用(OD 值) (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 $\mu\text{g/ml}$	缺糖损伤	缺氧损伤	自由基损伤	咖啡因损伤	NO 损伤	NMDA 损伤
对照组		0.49 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.02	0.39 $\pm$ 0.03	0.68 $\pm$ 0.09	0.50 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.04
模型组		0.17 $\pm$ 0.04	0.09 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.01
人参总	25	0.47 $\pm$ 0.04	0.26 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.04	0.59 $\pm$ 0.06	0.51 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.08
皂甙水	5	0.45 $\pm$ 0.07	0.17 $\pm$ 0.02	0.19 $\pm$ 0.01	0.62 $\pm$ 0.03	0.48 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.03
解组合	1	0.12 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.09	0.57 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.07
物	0.2	0.08 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.06	0.12 $\pm$ 0.03	0.48 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.01
Rg <sub>3</sub>	5	0.41 $\pm$ 0.05	0.14 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.04	0.52 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.03
MEC	100	0.42 $\pm$ 0.06	0.15 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.02	0.49 $\pm$ 0.05	0.08 $\pm$ 0.02

表 4 结果显示: 与正常细胞组相比, 六种脑缺血样损伤模型组细胞的 OD 值有极显著降低, 表明活细胞数显著减少。加入药物保护后, 可明显提高损伤细胞的 OD 值, 相应的存活细胞数增加。某些组别中药物的量效关系不明显, 可能是由于进行原代细胞培养时, 个别培养孔中残存的其它非皮层神经细胞量的差异所致。

3.2.2 药物对脑缺血模型中损伤细胞形态的影响 倒置显微镜下观察: 在各类缺血性损伤模型中, 神经细胞均出明显的细胞病变, 表现为胞体肿胀, 折光性减弱, 突触断裂, 呈拉网状, 最终细胞圆缩, 脱落。细胞加药保护后, 细胞损伤明显减轻, 细胞形态基本保持完整, 仅见部分突触断裂、胞体略有肿胀等现象。

## 4 讨论

脑缺血最初过程为神经细胞能量供应缺乏, 药物是否具有保护作用, 可通过缺氧和缺糖损伤模型进行验证。实验证实人参总皂甙水解组合物对这两种细

胞损伤模型具有不同程度的保护。

自由基、NO 和 NMDA 所致神经细胞损伤模型可模拟脑缺血损伤的具体过程，高浓度 Caf 也导致细胞内钙释放，从而引起神经细胞死亡。以上模型从不同方面反映出脑缺血损伤过程中，由于细胞缺氧导致钙内流，同时受损细胞器内的钙离子释放，使钙离子浓度上升，出现  $Ca^{2+}$  超载而致细胞死亡。实验发现人参总皂甙水解组合物能抑制氧自由基损伤过程，对 NO-氧自由基损伤途径同样发挥抑制作用，尤其对 Caf 导致的  $Ca^{2+}$  大量释放所致细胞死亡表现出非常显著的保护作用。推测人参总皂甙水解组合物抗氧自由基的作用可能与增强超氧化物歧化酶作用相关。NMDA 受体激活后可引起受体型钙通道开放，刺激  $Ca^{2+}$  内流，引起钙超载。同时激活诱导型一氧化氮合成酶产生 NO，进一步损伤细胞。人参总皂甙水解组合物对此类模型的保护作用提示其作用机理可能是直接抑制了 NMDA 受体依赖性的钙通道。

#### 实验四 对免疫系统的作用

##### 1 实验材料

药物与试剂：人参总皂甙水解组合物：自制，HPLC 检测含人参皂甙  $Rh_2$ 13.8%， $Rg_3$ 32.1%；5-FU；CTX；印度墨汁(1:10)；RPMI1640；吩嗪二甲酯硫酸盐；硝基氯化四氮唑盐；氧化型辅酶。

动物：昆明种小鼠，体重 18~22g，雌雄兼用；补体，3 只豚鼠的新鲜血清 1:10 稀释。

仪器设备：DG3022A 型酶联免疫检测仪，紫外分光光度计，CO<sub>2</sub> 培养箱，分析天平，超净工作台。

##### 2 方法及结果

###### 2.1 对碳粒廓清速率的影响

将 50 只小鼠雌雄分开，随机分为 5 组，每组 10 只，实验组分三个剂量连续给人参总皂甙水解组合物，对照组给 5-FU8d 后，尾静脉注射印度墨汁每只 100  $\mu$ l，于 1min 和 5min 后，分别眼眶取血，于 680nm 处测定吸收值，计算廓清指数。结果表明 3 个剂量组呈剂量依赖性明显增加碳粒廓清速率(表 5)。

廓清指数(K)=(IgA1-IgA5)/(t<sub>s</sub>-t<sub>i</sub>)

表 5 人参总皂甙水解物对小鼠碳粒廓清速率的影响(n= 10)

	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}\times\text{d}$ )	K value
空白对照	0	$0.0012\pm 0.003$
人参总皂甙水解组合物	$300\times 8$	$0.0106\pm 0.002^{***}$
	$600\times 8$	$0.0210\pm 0.005^{***}$
	$900\times 8$	$0.0367\pm 0.003^{***}$
5-FU	$5000\times 8$	$0.0011\pm 0.009^*$

\* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ , 与空白对照比较。

## 2.2 对荷瘤鼠免疫器官重量的影响

50只小鼠雌雄分开,随机分为5组,每组10只。接种癌细胞:S180细胞悬液0.2ml/只,次日实验组分三个剂量连续给人参总皂甙水解组合物,对照组给5-FU,8d后解剖,取出脾脏和胸腺,称重,计算10g体重的脏器mg重,结果人参总皂甙水解组合物3个剂量组可使荷瘤小鼠脾脏和胸腺的重量明显的增加。

表6 人参总皂甙水解组合物对脏器系数的影响(n=10)

	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}\times\text{d}$ )	Thymus Index	Spleen Index
空白对照	0	$29.97\pm 5.26$	$28.63\pm 12.14$
人参总皂甙 水解组合物	$300\times 8$	$41.38\pm 7.37^{***}$	$38.38\pm 13.11^{**}$
	$600\times 8$	$48.22\pm 9.47^{***}$	$63.23\pm 10.09^{***}$
	$900\times 8$	$59.73\pm 12.51^{***}$	$97.58\pm 14.79^{***}$
5-FU	$5000\times 8$	$17.54\pm 6.96^{***}$	$27.23\pm 23.03^*$

\* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ , 与空白对照比较。

## 2.3 对小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影响

选择KM种小鼠50只,雌雄各半随机分5组,每组10只。实验组分三个剂量给人参总皂甙水解组合物,对照组给CTX,连续给药8d后,解剖取脾脏,制成脾细胞悬液,加入96孔细胞培养板中,每孔 $100\mu\text{l}$ ,再加入PHA $100\mu\text{l}$ ,放置5%CO<sub>2</sub>,37℃培养箱中,48h后弃上清液加入MTT $10\mu\text{l}$ ,放置37℃,5%CO<sub>2</sub>孵箱内反应2h,每孔加入酸化异丙醇 $100\mu\text{l}$ ,振荡溶解,置酶标光度计570nm处测定OD值,结果表明,三个剂量组均能刺激淋巴细胞的增殖,结果见表7。

表7 人参总皂甙水解组合物对小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影响(n=10)



	剂量( $\mu\text{g}/\text{kg}\times\text{d}$ )	OD( $x\pm s$ )	K
空白对照	0	0.51 $\pm$ 0.34	
人参总皂甙水解 组合物	300 $\times$ 8	1.10 $\pm$ 0.63 <sup>***</sup>	2.04
	600 $\times$ 8	1.12 $\pm$ 0.49 <sup>***</sup>	2.05
	900 $\times$ 8	1.19 $\pm$ 0.57 <sup>***</sup>	2.13
CTX	1000 $\times$ 3	0.20 $\pm$ 0.04 <sup>**</sup>	0.19

\* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ , 与空白对照比较。

#### 2.4 对小鼠体液免疫功能的影响

本实验采用血清溶血素分光光度法,测定血清中溶血素含量。首先将小鼠用5%绵羊红细胞腹腔注射0.2ml免疫,同时开始给药,实验组分三个剂量给人参总皂甙水解组合物,对照组给5-FU,4d后摘眼球取血,分离血清,稀释500倍,再加0.5mlSRBC,在补体的作用下,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应10min,离心取上清液,加都氏液,于540nm测定OD值,结果表明三个剂量组均能促进小鼠血清中溶血素生成,提高体液免疫功能。

$$\text{HC}_{50}=(\text{给药组 OD 值}/\text{SRBC 半数溶血 OD 值})\times 500$$

表8 人参总皂甙水解组合物对小鼠体液免疫功能的影响(n=10)

	Dose( $\mu\text{g}/\text{kg}\times\text{d}$ )	HC <sub>50</sub>
空白对照	0	73.84 $\pm$ 18.59
人参总皂甙水解 组合物	300 $\times$ 4	158.76 $\pm$ 43.22 <sup>***</sup>
	600 $\times$ 4	177.93 $\pm$ 37.94 <sup>***</sup>
	900 $\times$ 4	208.61 $\pm$ 55.19 <sup>***</sup>
5-FU	5000 $\times$ 4	88.26 $\pm$ 38.26 <sup>*</sup>

\* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ , 与空白对照比较。

#### 2.5 对荷瘤鼠NK活性的影响

选择KM小鼠,分三个剂量给人参总皂甙水解组合物,给药8d后取脾脏,制成脾细胞悬液,按效应细胞和靶细胞10:1比例各加100 $\mu\text{l}$ 置96孔培养板上,于5%CO<sub>2</sub>,37 $^{\circ}\text{C}$ 共孵24h,吸上清液100 $\mu\text{l}$ ,加底物100 $\mu\text{l}$ ,反应5min,加0.1mol/L柠檬酸50 $\mu\text{l}$ 置酶标光度计570nm处测定OD值,计算NK活性,结果表明,三个剂量均能提高NK细胞活性结果见表9。

$$\text{NK}(\%) = (\text{实验管 OD} - \text{自然释放 OD}) / (\text{最大释放管 OD} - \text{自然释放管 OD}) \times 100\%$$

表 9 人参总皂甙水解组合物对荷瘤鼠 NK 活性的影响 (n=10)

剂量 ( $\mu\text{g}/\text{kg} \times \text{d}$ )	OD(x $\pm$ s)	NK cell activity(K)
空白对照	0	0.51 $\pm$ 0.05
300 $\times$ 8	0.77 $\pm$ 0.31***	63.81
600 $\times$ 8	1.01 $\pm$ 0.27***	78.35
900 $\times$ 8	1.52 $\pm$ 0.36***	91.72

P>0.05, P<0.05, P<0.01, 与空白对照比较。

## 实验五 抗疲劳作用

### 1、材料和方法

1.1 试药：人参总皂甙水解组合物，自制，HPLC 检测含人参皂甙 Rh<sub>2</sub>13.8%，Rg<sub>3</sub>32.1%。

1.2 实验动物：18~22g 的雄性昆明种小白鼠。

1.3 剂量：三批动物，每批 60 只，分别做游泳试验、血清尿素氮和肝糖原试验。每批小鼠随机分为 4 组，每组 15 只，空白对照组给予 N.S，人参总皂甙水解组合物低、中、高剂量组的给药剂量分别为：200、600、1800  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，每天一次。

1.4 主要仪器与试剂：全自动生化分析仪；超微量半自动生化分析仪；乳酸盐分析仪；50 $\times$ 50 $\times$ 40cm<sup>3</sup> 方形有机玻璃游泳箱，自制；电子天平；手持式多功能粉碎器；尿素氮试剂盒。

### 1.5 实验方法

1.5.1 负重游泳实验：小鼠于末次给予人参总皂甙水解组合物 30 分钟后，使尾部负重 5% 体重的铅皮，在水深 30cm、水温 25 $^{\circ}\text{C}$  的游泳箱中游泳，记录小鼠自游泳开始至死亡的时间。

1.5.2 血清尿素氮测定：小鼠于末次给予人参总皂甙水解组合物 30 分钟后，在水深 30cm、水温 30 $^{\circ}\text{C}$  的游泳箱中不负重游泳 90 分钟，休息 30 分钟后，眼眶静脉丛取血约 0.5ml。待血液凝固离心，取血清测定尿素氮含量。

1.5.3 肝糖原测定：小鼠于末次给予人参总皂甙水解组合物 30 分钟后，立即颈椎脱臼处死取出肝脏，经生理盐水空白漂洗，滤纸吸干，精确称取肝脏 100mg 于试管内，加入 8ml 三氯醋酸匀浆 1 分钟，3000r 离心 15 分钟。取上清液于另

1 支试管内，用蒽酮法测定肝糖原含量。

## 2 结果

### 2.1 人参总皂甙水解组合物对小鼠负重游泳时间的影响

表 10 人参总皂甙水解组合物对小鼠负重游泳时间的影响

分组	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	动物数(只)	负重游泳时间(分)	P 值
空白对照组(N.S)	20ml	15	32.2 $\pm$ 37.5	—
低剂量组	200	15	92.6 $\pm$ 87.8	<0.05
中剂量组	600	15	73.1 $\pm$ 79.7	<0.01
高剂量组	1800	15	107.4 $\pm$ 75.5	<0.01

由表 10 可见，人参总皂甙水解组合物低、中、高三个剂量组小鼠负重游泳时间均明显长于空白对照组，组间比较，差异具有显著性意义( $P<0.05$ )，提示人参总皂甙水解组合物能明显延长小鼠负重游泳时间，增强小鼠耐疲劳的能力。

### 2.2 人参总皂甙水解组合物对小鼠血清尿素氮的影响

表 11 人参总皂甙水解组合物对小鼠运动时血清尿素氮的影响

分组	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	动物数(只)	尿素氮 (mmol/L)	P 值
空白对照组(N.S)	20ml	15	10.56 $\pm$ 0.77	—
低剂量组	200	15	9.70 $\pm$ 0.88	<0.05
中剂量组	600	15	9.87 $\pm$ 0.78	<0.05
高剂量组	1800	15	9.36 $\pm$ 0.87	<0.01

由表 11 可见，人参总皂甙水解组合物低、中、高三个剂量组小鼠运动时血清尿素氮水平均低于与空白对照组，差异有显著性意义 ( $P<0.05$ )，提示本试验条件下人参总皂甙水解组合物能降低运动时小鼠血清尿素氮。

### 2.3 人参总皂甙水解组合物对小鼠肝糖原含量的影响

表 12 人参总皂甙水解组合物对小鼠肝糖原含量的影响

分组	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	动物数(只)	肝糖原(mg/100g 肝组织)	P 值
空白对照组(N.S)	20ml	15	5359 $\pm$ 1073	—
低剂量组	200	15	5557 $\pm$ 1688	—
中剂量组	600	15	6724 $\pm$ 1688	<0.05
高剂量组	1800	15	6621 $\pm$ 1186	<0.05

由表 12 可见，人参总皂甙水解组合中、高剂量组肝糖原含量明显高于空白对照组，差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ )，提示人参总皂甙水解组合物能增加小鼠肝糖原的含量。

#### 具体实施方式

本发明以下引用实施例进一步说明，但所引用实施例并不对本发明涵盖范围形成限制。

实施例 1：称取人参皂甙粉末 200g，用 3.0 mol/L 稀醋酸 12000ml 充分分散，置反应器中加热至 120℃，保持反应器内压力为 7.0MPa，水解 40 分钟，急速降温至 28℃后用 40%氢氧化钠溶液将水解液中和，过滤，将固形物收集干燥，即得含有稀有人参皂甙 G-Rh<sub>2</sub> 和 G-Rg<sub>3</sub> 的组合物。组合物得率为 41.2%，组合物中 G-Rh<sub>2</sub> 含量为 11.2%，G-Rg<sub>3</sub> 含量 27.6%。取该组合物 40g 研细，过 100 目筛，加入过 100 目筛的蔗糖粉 600g，乳糖 1200g，微晶纤维素 150g，香兰素 10g，混合均匀，用适量的 10%淀粉浆制粒，干燥，分装为 1000 份，制成颗粒剂型药物或功能性食品。

实施例 2：称取三七叶甙粉末 200g，用 0.5mol/L 稀盐酸 10000ml 充分分散，置反应器中加热至 90℃，保持反应器内压力为 2.0MPa，水解 120 分钟，急速降温至 28℃后用 40%氢氧化钠溶液将水解液中和，过滤，将固形物收集干燥，即得含有稀有人参皂甙 G-Rh<sub>2</sub> 和 G-Rg<sub>3</sub> 的组合物。组合物得率为 33.2%，组合物中 G-Rh<sub>2</sub> 含量为 9.1%，G-Rg<sub>3</sub> 含量 22.8%。取该组合物 38g，研细，过 80 目筛，加入药用淀粉 200g，用 10%淀粉浆制粒，干燥，整粒后，加入 3g 硬脂酸镁，混合均匀，填充入 1#胶囊，制得 1000 粒，制成胶囊剂药物或功能性食品，。

实施例 3：称取西洋参总甙粉末 200g，用 1.0mol/L 稀柠檬酸 15000ml 充分分散，置反应器中加热至 135℃，保持反应器内压力为 4.0MPa，水解 270 分钟，急速降温至 28℃后用 40%氢氧化钠溶液将水解液中和，过滤，将固形物收集干燥，即得含有稀有人参皂甙 G-Rh<sub>2</sub> 和 G-Rg<sub>3</sub> 的组合物。组合物得率为 40.5%，组合物中 G-Rh<sub>2</sub> 含量为 11.9%，G-Rg<sub>3</sub> 含量 32.6%。取该组合物 27g，研细，过 100 目筛，加入淀粉 40g，乳糖 75g，微晶纤维素 8g，交联羧甲基纤维素 2.5g 混合，用适量的 3%羧甲基纤维素溶液制粒，干燥，整粒，加入 1.5g 硬脂酸镁，2g 微粉硅胶混合均匀，用 8mm 冲模，压制成 1000 片素片。

如将上述素片作为片芯，在高效包衣机中用 LE 薄膜包衣剂（胃溶型或肠溶型）包衣，即可得薄膜衣片或肠溶片 1000 片，制成片剂药物或功能性食品。

实施例 4：称取绞股蓝总甙粉末 200g，用 0.5mol/L 稀硫酸 12000ml 充分分散，置反应器中加热至 90℃，保持反应器内压力为 2.0MPa，水解 120 分钟，急速降温至 28℃后用 40%氢氧化钠溶液将水解液中和，过滤，将固形物收集干燥，即得含有稀有人参皂甙 G-Rh<sub>2</sub> 和 G-Rg<sub>3</sub> 的组合物。组合物得率为 23.7%，组合物中 G-Rh<sub>2</sub> 含量为 9.4%，G-Rg<sub>3</sub> 含量 18.3%。取该组合物 43g，研细，过 120 目筛，加入低取代羟丙基纤维素 20g，可溶性淀粉 80g，乳糖 100g，甜叶菊甙 4g，混合均匀。另取聚乙烯吡咯烷酮 5g，用适量 40%乙醇制成浆状，将混合药粉制成 80 目的颗粒，整粒，干燥，加入硬酯酸镁 2g，混匀，用 12mm 冲模，压制成 1000 片分散片。

实施例 5：分别称取人参皂甙 G-Rh<sub>2</sub> 含量 31.55%的混合皂甙 43g，人参皂甙 G-Rg<sub>3</sub> 含量 45.62%的混合皂甙 57g，置混合器中混合 45 分钟，即得含有稀有人参皂甙 G-Rh<sub>2</sub> 和 G-Rg<sub>3</sub> 的组合物。组合物中 G-Rh<sub>2</sub> 含量为 13.57%，G-Rg<sub>3</sub> 含量 26.0%。按照常规工艺制成药物或功能性食品。