

[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 200610131959.4

[51] Int. Cl.

*A61K 31/704 (2006.01)*

*A61P 43/00 (2006.01)*

*A23L 1/30 (2006.01)*

[43] 公开日 2008 年 4 月 16 日

[11] 公开号 CN 101161246A

[22] 申请日 2006.10.12

[21] 申请号 200610131959.4

[71] 申请人 海南亚洲制药有限公司

地址 570000 海南省海口市大同路 38 号国际  
商业大厦 1206 室

[72] 发明人 桂明玉 金永日 李绪文 楼 金  
张龙清 郑美口 姜二晨

权利要求书 1 页 说明书 9 页

[54] 发明名称

人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 的新用途

[57] 摘要

本发明涉及人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 的新用途，公开了人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 在抗疲劳方面的新用途，属于医药及保健食品领域。

- 
- 1、 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>在制备抗疲劳产品中的应用。
  - 2、 权利要求 1 所述的产品是保健食品或药品。
  - 3、 权利要求 1 所述的抗疲劳是缓解体力疲劳。

## 人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 的新用途

### 发明领域

本发明涉及人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 的新用途，具体涉及人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 在制备抗疲劳的保健食品或药品中的新用途。

### 背景技术

人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 是人参皂苷的一种，因为具有显著的抗癌活性而备受关注。关于其生理活性以及制备方法等方面的研究论文及专利报道较多，但人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 具有抗疲劳作用的研究结果至今未见报道，更没有利用人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 制备抗疲劳产品的报道。

### 发明内容

本发明的研究者通过小鼠负重游泳实验以及通过观察肝糖原变化、血清尿素水平变化以及血乳酸变化情况首次发现并证明了人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 具有抗疲劳作用。试验结果表明，经口给予小鼠不同剂量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub>，能明显延长小鼠负重游泳时间；减少肝糖原的消耗量；降低运动时血清尿素水平；对小鼠运动后血乳酸升高有明显的抑制作用。证明人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 具有抗疲劳作用。

本发明所述的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 可以购买市售产品或通过已见报道的酸水解、碱水解或酶水解的方法获得。把从人参属植物人参、西洋参、三七等中获得的人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>、人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rd 等二醇组人参皂苷进行酸水解或碱水解或酶水解后再进行精制处理可以得到不同纯度的人参皂苷 Rh<sub>2</sub>。

在利用人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 制备具有抗疲劳功能的产品时可以使用高纯度的人参

皂苷 Rh<sub>2</sub> 单一化合物，也可以使用含有其他人参皂苷的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 混合物。将人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 与赋形剂或载体混合后即可制备具有抗疲劳功能的产品，其剂型可以是胶囊、片剂、颗粒剂、口服液或饮料或其他适于口服的形式，也可以是注射剂。

## 具体实施方式

下面的实施例并不意味着利用人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 制备的抗疲劳产品仅限于此。

### 实施例 1

#### 1 材料与方法

1.1 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>，白色粉末，利用中国专利 00123073.5（申请号）的方法制备。

#### 1.2 实验动物：

由黑龙江省肿瘤研究所实验动物中心提供的健康雄性昆明种小鼠 40 只，（批准号为医动字第 09-2-11 号），体重 18~22g，随机分为 4 组，每组 10 只，作为抗疲劳一组进行负重游泳实验；另取雄性小鼠 40 只，随机分为 4 组，每组 10 只，作为抗疲劳二组，进行血清尿素测定；再取雄性小鼠 40 只，随机分为 4 组，每组 10 只，作为抗疲劳三组，进行肝糖原测定；再取雄性小鼠 40 只，随机分为 4 组，每组 10 只，作为抗疲劳四组，进行血乳酸测定。

#### 1.3 剂量设计：

人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 设高中低三个剂量组，即 6.7 mg/kg 体重（低剂量）；13.4 mg/kg 体重（中剂量）；40.2 mg/kg 体重（高剂量）；另设一个对照组。以蒸馏水为溶剂各组动物均按 20 ml/kg 体重灌胃容积进行灌胃，对照组灌胃等容积蒸馏水。连续灌胃 30 天后进行各项指标检测。

## 1.4 仪器与试剂

动物天平、电子天平、离心机、水浴、振荡器、722 分光光度计。

游泳箱（大约 50cm×50cm×40cm）、铅皮、计时器、血色素吸管、加样器、试管、离心管。

半自动生化分析仪，中生公司生产。

尿素测定试剂盒，中生公司生产；蛋白沉淀剂、1%NaF、4%CuSO<sub>4</sub>、乳酸标准液（0.01mg/ml）、1.5% 对羟基联苯。5%三氯醋酸（蒸馏水配制）（TCA）、葡萄糖标准液 100ml/dL、72%H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>（蒸馏水配制）、蒽酮试剂（含 0.05%的蒽酮，1%的硫脲、用 72%的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 配制）。

## 1.5 实验方法

### 1.5.1 负重游泳实验

末次给予受试物 30 分钟后，置小鼠在游泳箱中游泳，水深为 30cm，水温 25℃，鼠尾根部负荷 5%体重的铅皮。记录小鼠自游泳开始至死亡的时间，作为小鼠游泳的时间（分钟）。

### 1.5.2 血清尿素测定：二乙酰-胍法

末次给予受试物 30 分钟后，在温度为 30℃的水中不负重游泳 90 分钟，休息 60 分钟后拨眼球采血 0.5ml。于 4℃冰箱约 3h 后 2000rpm 离心 15 分钟，取血清用半自动生化分析其测定尿素。

### 1.5.3 肝糖原测定：蒽酮法

末次给予受试物后 30min 处死动物，取肝脏经生理盐水漂洗后用滤纸吸干，精确称取肝脏 100mg，加入 8mlTCA，每管匀浆 1min，将匀浆倒入离心管，以 3000

转/min 离心 15min。将上清液转移至另一个试管内。

取 1ml 上清液放入 10ml 离心管中，每管加入 95%乙醇 4ml，充分混匀至两种液体间不留有界面。用干净塞子塞上，将试管放在 37-40℃水浴 3h。沉淀完全后，将试管于 3000 转/min 离心 15min。小心倒掉上清液并使试管倒立放置 10min。

用 2ml 蒸馏水溶解糖原，加水时将管壁的糖原洗下。如管底的糖原不立即溶解，振荡管子直到完全溶解。

制作试剂空白和标准管：

试剂空白：吸 2ml 蒸馏水到干净的离心管

标准管：吸 0.5ml 葡萄糖标准液（含 100mg/dL 葡萄糖）和 1.5ml 蒸馏水放入同样的管子。此时将 10ml 蒽酮试剂用力加入各管，液流（蒽酮试剂）直接进入管子中央，保证充分混合好。从管子中注入蒽酮试剂时起，将管子放在冷水龙头下冲凉。在所有管子都达到凉水温度后，将其浸于沸水浴（水浴深度略高于管子液面）15min，然后移到冷水浴。将管内液体移入比色管，再 620nm 波长下，用试剂空白管调零后测定吸光度。根据所称取的肝脏重量换算成肝糖原含量（以 mg/g 肝表示），并进行统计分析。按下式计算肝糖原含量：

$$\text{每100克肝组织中糖原的毫克数} = \frac{\text{DU}}{\text{DS}} \times 0.5 \times \frac{\text{提取液体积}}{\text{肝组织克数}} \times 100 \times 0.9$$

DU：样品管吸光度

提取液体积：为 8ml

DS：标准管吸光度

肝组织克数：为 0.1g

0.5：0.5ml 葡萄糖标准液中的葡萄糖含量

0.9：将葡萄糖换算成糖原的系数

1.5.4 血乳酸测定

末次给予受试物 30min 后各采血 20 μ l 加入 5ml 试管中(事先已加入 0.48ml 1%NaF 溶液) 再加入 1.5ml 蛋白沉淀剂混匀, 3000 转/分离心 10 分钟, 留上清液备用。在温度 30℃的水中不负重游泳 10 分钟后停止, 立即采血 20 μ l, 休息 20 分钟后再采血 20 μ l, 处理方法同上。三个时间点的上清液均按手工法测定乳酸含量。

血乳酸含量按下式计算:

$$\text{血乳酸含量 (mg/L)} = \frac{A \text{ 测定管}}{A \text{ 标准管}} \times 100 \times 10$$

$$\text{血乳酸曲线下面积} = 5 \times (\text{游泳前血乳酸值} + 3 \times \text{游泳后0min的血乳酸值} + 2 \times \text{游泳后休息20min的血乳酸值})$$

1.6 实验数据用 LKAT 软件进行统计。

2 结果

2.1 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠体重的影响

人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠体重的影响分别见表 1、表 2、表 3、表 4。

表 1 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠体重的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	抗疲劳一组			
			体重 (g)	实验结束时体重 (g)	增长值 (g)	F 值
高剂量组	40.2	10	19.8±1.18	36.4±1.49	16.6±1.58	0.548
中剂量组	13.4	10	19.9±1.16	36.1±1.39	16.2±1.48	
低剂量组	6.7	10	19.8±1.14	35.8±1.23	16.0±1.25	
对照组	0	10	19.8±1.23	36.7±1.82	16.9±2.42	

表 2 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠体重的影响

组别	剂量	抗疲劳二组				
	(mg/kg)	动物数 (只)	体重 (g)	实验结束时体重 (g)	增长值 (g)	F 值
高剂量组	40.2	10	19.9±1.27	37.2±2.14	17.3±1.82	0.584
中剂量组	13.4	10	20.1±1.24	36.6±1.57	16.5±2.05	
低剂量组	6.7	10	20.0±1.22	37.0±1.83	17.1±2.15	
对照组	0	10	20.0±1.32	36.2±1.64	16.2±2.14	

表 3 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠体重的影响

组别	剂量	抗疲劳三组				
	(mg/kg)	动物数 (只)	体重 (g)	实验结束时体重 (g)	增长值 (g)	F 值
高剂量组	40.2	10	19.8±1.16	36.4±1.75	16.6±1.70	0.736
中剂量组	13.4	10	20.0±1.20	37.2±1.53	17.2±1.88	
低剂量组	6.7	10	19.9±1.19	36.7±1.88	16.8±2.05	
对照组	0	10	19.8±1.28	35.9±1.14	16.0±1.95	

表 4 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠体重的影响

组别	剂量	抗疲劳四组				
	(mg/kg)	动物数 (只)	体重 (g)	实验结束时体重 (g)	增长值 (g)	F 值
高剂量组	40.2	10	20.0±1.33	36.2±1.51	16.2±1.99	0.225
中剂量组	13.4	10	20.1±1.29	36.8±1.20	16.7±1.40	
低剂量组	6.7	10	20.0±1.24	35.9±1.55	16.0±2.45	
对照组	0	10	20.0±1.35	36.4±1.64	16.3±2.12	

由表 1、2、3、4 可见，经口给予小鼠不同剂量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 30 天，经统计学处理，抗疲劳一组、二组、三组、四组实验中动物的体重增长值分别与对照组相比均无显著差别 (P > 0.05)，即各实验组小鼠的体重增长均无明显差别。

2.2 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠负重游泳时间的影响

人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠负重游泳时间的影响见表 5。



表 5 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠负重游泳时间的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	游泳时间 (分)	q 值	P (0.05)	P
高剂量组	40.2	10	50.2±9.51*	4.364	3.85	< 0.05
中剂量组	13.4	10	49.0±7.345*	3.86	3.49	< 0.05
低剂量组	6.7	10	44.8±7.51			
对照组	0	10	39.8±4.98			

注：\*与对照组相比差异显著 P < 0.05

由表 5 可见，经口给予人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 30 天，实验组的高、中剂量组与对照组相比，能明显延长小鼠的负重游泳时间。经统计学处理均有显著性差别（P < 0.05）。

2.3 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠运动时血清尿素的影响

人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠运动时血清尿素的影响见表 6

表 6 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠运动时血清尿素的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	血清尿素 (mg/dl)	q 值	P (0.05)	P (0.01)	p
高剂量组	40.2	10	9.42±0.96**	5.088	4.80		< 0.01
中剂量组	13.4	10	9.86±1.20*	3.928		4.45	< 0.05
低剂量组	6.7	10	10.3±1.33				
对照组	0	10	11.3±1.26				

注：\*与对照组相比差异显著，P < 0.05

\*\*与对照组相比差异极显著，P < 0.01

由表 6 可见，经口给予小鼠不同剂量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 30 天，经统计学处理，高、中剂量组与对照组相比分别有极显著性差别（P < 0.01）和显著性差别（P < 0.05）。

2.4 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠肝糖原消耗量的影响

人参皂苷 Rh<sub>2</sub>对小鼠肝糖原消耗量的影响见表 7

表 7 人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 对小鼠肝糖原消耗量的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	肝糖原 (mg/100g)	q 值	P (0.05)	P
高剂量组	40.2	10	141.0±17.1*	4.717	3.85	< 0.05
中剂量组	13.4	10	133.0±11.1			
低剂量组	6.7	10	125.0±20.0			
对照组	0	10	115.0±18.0			

注：\*与对照组相比差异显著，P < 0.05

由表 7 可见，经口给予小鼠不同剂量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 30 天，高剂量组能减少小鼠肝糖原的消耗。经统计学处理，小鼠肝糖原的消耗量高剂量组与对照组相比有显著性差别（P < 0.05）。

2.5 人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 对小鼠运动后血乳酸水平的影响

人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 对小鼠运动后血乳酸水平的影响见表 8

表 8 人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 对小鼠运动后血乳酸水平的影响

组别	剂量	游泳前血乳酸	游泳后血乳酸	游泳后 20min 血乳酸	血乳酸曲线下面积	q	P (0.05)	P
	(mg/kg)	含量 (mg/l)	含量 (mg/l)	含量 (mg/l)				
高剂量组	40.2	585.0±79.2	1116.0±126.0	726.0±72.6	26930.0±2136.0*	4.432	3.85	< 0.05
中剂量组	13.4	554.0±84.9	1101.0±104.0	768.0±61.6	26968.0±1849.0*	4.376	3.49	< 0.05
低剂量组	6.7	563.0±61.9	1206.0±123.0	821.0±94.7	29105.0±2140.0			
对照组	0	536.0±101.0	1250.0±122.0	846.0±89.2	29897.0±2318.0			

注：\*与对照组相比差异显著，P < 0.05

由表 8 可见，经口给予小鼠不同剂量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 30 天，其小鼠运动后的血乳酸曲线下面积高、中剂量组均有明显下降。经统计学处理，高、中剂量组与对照组比均有显著差别（P < 0.05），说明人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 对运动后小鼠的血乳酸升高有明显的抑制作用。

3 小结

经口给予小鼠不同剂量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 30 天，能明显延长小鼠负重游泳时间，

减少肝糖原的消耗量，减低运动时血清尿素水平，对小鼠运动后血乳酸升高有明显的抑制作用。证明人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 抗疲劳作用。

## 实施例 2

取纯度为 98% 的人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 21 克，加淀粉 104 克混合均匀，装入胶囊，制成 1000 粒，得每粒含人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 约 20 毫克的抗疲劳药品。本品每日服用两次，每次两粒。

## 实施例 3

取含人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 60% 的人参叶总皂苷碱水解物 35 克，加淀粉 90 克混合均匀，装入胶囊，制成 1000 粒，得每粒含人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 约 20 毫克的抗疲劳保健食品。本品每日服用两次，每次两粒。[人参叶总皂苷水解物参考中国专利 00123073.5（申请号）的方法获得]。

## 实施例 4

取含人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 60% 的人参叶总皂苷碱水解物 70 克，加维生素 B<sub>6</sub> 5 克、B<sub>12</sub> 25 毫克、无水咖啡因 25 克以及适量矫味剂，加水 50 升加热溶解，制成 1000 瓶口服液，得每瓶含人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 约 42 毫克的抗疲劳保健食品。本品每日服用两次，每次一瓶。[人参叶总皂苷水解物参考中国专利 00123073.5（申请号）的方法获得]。