



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105477035 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 13

(21) 申请号 201610016956. X

(22) 申请日 2016. 01. 12

(71) 申请人 成都普瑞法科技开发有限公司

地址 610041 四川省成都市高新区肖家河沿街 99 号

(72) 发明人 罗明锋 胡云岭 杨金辉 谢海峰

(51) Int. Cl.

A61K 36/258(2006. 01)

A61P 25/28(2006. 01)

A61K 31/704(2006. 01)

A61K 135/00(2006. 01)

A61K 127/00(2006. 01)

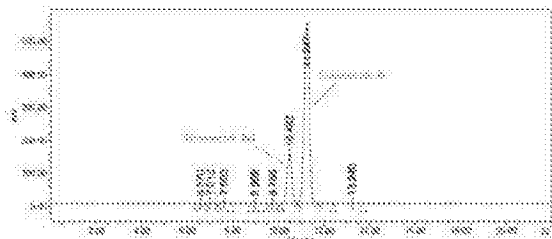
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

人参茎叶有效部位及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及人参茎叶有效部位及其制备方法和应用,属于天然药物技术领域。本发明解决的技术问题是提供一种组分简单的人参茎叶有效部位,该人参茎叶有效部位可用于改善、预防或/和治疗认知功能障碍及其相关疾病。本发明人参茎叶有效部位,其活性成分为人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg<sub>1</sub>,其中,按质量比, Rg<sub>1</sub>:Re=1:0.667 ~ 5。本发明人参茎叶有效部位具有有效成分明确、组分简单、质量可控性强、产品稳定性好、服用量更小、药理活性更优等特点。其制备方法是 将人参皂苷 Re 和 Rg<sub>1</sub>作为一个整体进行分离纯化,得到的人参茎叶有效部位不仅成分稳定性更高,质量可控性更强,制备工艺也得到简化,提高了制备效率,更适合大规模生产应用。



1. 人参茎叶有效部位,其特征在于,其活性成分为人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>,其中,按质量比,Rg<sub>1</sub>:Re=1:0.667~5。

2. 根据权利要求1所述的人参茎叶有效部位,其特征在于,按质量比,Rg<sub>1</sub>:Re=1:1.5~4;优选为按质量比,Rg<sub>1</sub>:Re=1:2或Rg<sub>1</sub>:Re=1:3或Rg<sub>1</sub>:Re=1:1.5或Rg<sub>1</sub>:Re=1:4。

3. 权利要求1或2所述的人参茎叶有效部位的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

a、分离纯化:取人参茎叶提取液,上色谱柱,依次采用纯水、低级醇溶液洗脱,收集低级醇溶液洗脱液,浓缩后,室温放置结晶,得到结晶物;

b、结晶:取步骤a中所得的结晶物,用低级醇-水体系结晶,直至人参皂苷Rg<sub>1</sub>和Re的总质量分数大于90%,优选人参皂苷Rg<sub>1</sub>和Re的总质量分数≥95%。

4. 根据权利要求3所述的人参茎叶有效部位的制备方法,其特征在於:所述人参茎叶提取液采用如下方法制备得到:取人参茎叶,加入提取溶剂,加热回流提取,得到人参茎叶提取液。

5. 根据权利要求4所述的人参茎叶有效部位的制备方法,其特征在於:所述提取溶剂为水或含水醇溶液,提取溶剂的加入质量为人参茎叶质量的2~10倍,加热回流提取2~5次,每次提取1小时;提取温度为60~100℃,合并提取液,得到人参茎叶提取液;优选加热回流提取3次,3次提取溶剂的加入质量分别为人参茎叶质量的6~10倍、4~8倍和2~6倍,提取温度为85℃;更优选3次提取溶剂的加入质量分别为人参茎叶质量的8、6、4倍。

6. 根据权利要求3所述的人参茎叶有效部位的制备方法,其特征在於:步骤a中,所述色谱柱的填料以聚合物或硅胶为基质,填料粒径为5~300μm;所述聚合物为聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸酯或苯乙烯-甲基丙烯酸酯共聚物。

7. 根据权利要求3所述的人参茎叶有效部位的制备方法,其特征在於:所述低级醇为碳原子低于5的醇,低级醇溶液浓度为20wt%~80wt%;优选所述低级醇为甲醇或乙醇,低级醇溶液浓度为35wt%。

8. 权利要求1或2所述的人参茎叶有效部位在改善、预防或/和治疗认知功能障碍及其相关疾病中的应用。

9. 根据权利要求8所述的人参茎叶有效部位在改善、预防或/和治疗认知功能障碍及其相关疾病中的应用,其特征在於:所述认知障碍及其相关疾病包括但不限于自痴呆症、非痴呆性的认知障碍、学习或记忆障碍。

10. 根据权利要求9所述的人参茎叶有效部位在改善、预防或/和治疗认知功能障碍及其相关疾病中的应用,其特征在於:所述自痴呆症包括但不限于老年痴呆症、阿尔茨海默型痴呆症、脑血管性痴呆症、外伤后痴呆症、脑肿瘤引起的痴呆症、慢性硬膜下血肿引起的痴呆症、正常压力脑积水引起的痴呆症、脑膜炎后痴呆症和帕金森氏型痴呆症等各种疾病所引起的痴呆症;所述非痴呆性的认知障碍,包括但不限于轻度认知障碍(MCI)、脑外伤性认知障碍;所述学习或记忆障碍包括但不限于脑发育障碍相关的学习和记忆障碍、疲劳引起的学习或记忆障碍、暂时性脑缺血引起的学习或记忆障碍等。

11. 根据权利要求8所述的人参茎叶有效部位在改善、预防或/和治疗认知功能障碍及其相关疾病中的应用,其特征在於:将人参茎叶有效部位制备成经胃肠道给药的剂型;优选所述剂型为胶囊剂或片剂。

## 人参茎叶有效部位及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及人参茎叶有效部位及其制备方法和应用,属于天然药物技术领域。

### 背景技术

[0002] 认知是机体认识和获取知识的智能加工过程,涉及学习、记忆、语言、思维、精神、情感等一系列随意、心理和社会行为。认知障碍(cognitive disorder)指与上述学习记忆以及思维判断有关的大脑高级智能加工过程出现异常,从而引起严重学习、记忆障碍(learning and memory impairment),同时伴有失语(aphasia)或失用(apraxia)或失认(agnosia)或失行(disturbance in executive functioning)等改变的病理过程。认知功能障碍最主要的致病原因为慢性脑损伤,包括如下三方面:①脑组织调节因子分泌异常,如多巴胺、去甲肾上腺素、乙酰胆碱、谷氨酸、神经肽、神经营养因子的分泌异常导致的认知功能障碍;②脑组织蛋白质异常聚集,如淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、早老蛋白-1(presenilin-1, PS-1)、PS-2、载脂蛋白E(apolipoprotein E, apoE)和 $\alpha$ 2-巨球蛋白( $\alpha$ 2-macroglobulin)的异常沉积以及tau蛋白异常糖基化、异常糖化和异常泛素化等;③慢性脑缺血性损伤,如缺血性酸中毒、钙离子超载、自由基损伤、神经兴奋性损伤、炎性因子损伤等。痴呆是认知障碍最严重的表现形式,而且主要患病人群为中老年人。随着老龄化的进一步发展,老年痴呆患病人数将进一步攀升,这将给社会 and 患者家庭带来极大的经济负担。痴呆包括脑血管性痴呆症与阿尔茨海默型痴呆症,两者及其复合型占病因的大部分。特别是阿尔茨海默型痴呆症,近年来患病人数出现较快增长。

[0003] 人参(*Panax ginseng*)又名亚洲参,五加科(Araliaceae)人参属(*Panax*)多年生草本植物,主产我国东北三省和国外朝鲜半岛、日本福岛、前苏联东西伯利亚等地。人参根是我国传统的名贵中药,有“百草药王”之美称,其性平、味甘、微苦,微温,有大补元气,复脉固脱,补脾益肺,生津止渴,安神益智之功效。人参根应用于中医临床已有2000多年历史,由于其具有广泛药理作用和医疗用途而受到国内外众多学者的重视。人参的主要有效成分为人参皂苷,近年来,化学、药理学和临床研究证明,人参茎叶所含人参皂苷的药理作用与人参根皂苷基本相同,且总皂苷含量明显高于人参根,约为6~12%。目前,已经从人参茎叶中先后得到近60个皂苷类化合物,主要包括人参皂苷Rb<sub>1</sub>、Rb<sub>2</sub>、Rc、Rd、Rd<sub>2</sub>、Re、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>、F<sub>4</sub>、Rg<sub>1</sub>、Rg<sub>2</sub>、Rg<sub>3</sub>、Rg<sub>4</sub>、Rg<sub>7</sub>、Rh<sub>1</sub>、Rh<sub>3</sub>、Rh<sub>4</sub>、Rh<sub>5</sub>、Rh<sub>6</sub>、Rh<sub>7</sub>、Rh<sub>8</sub>、Rh<sub>9</sub>、Ib等。人参皂苷具有多种药理活性,如抗心脑血管系统疾病、抗老年痴呆、抗糖尿病、增强免疫力、抗疲劳、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抑制细胞凋亡等药理作用。人参皂苷Re和Rg<sub>1</sub>是人参茎叶中常见的两种皂苷,目前已经能够从人参茎叶中分离纯化得到两种皂苷的单体,但是制备难度较大,工艺较为复杂,不适合工业化生产,也就没有实际推广应用价值。

[0004] 专利200710027621.9公开了一种治疗阿尔茨海默症的中药单体组合物。该中药单体组合物包含以下制备原料:人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、远志皂苷元Pre-S。该药以人参和远志的主要有效成分进行组方,发挥了协同增效作用,具有良好的抗阿尔茨海默症的作用,但该药物组分相对复杂,质量控制成本高,稳定性差,且各单体的分离纯化

都比较困难,这无疑增加了制备难度,提高了生产成本,削弱了该药物的市场竞争力,不宜大规模推广应用。

### 发明内容

[0005] 本发明解决的技术问题是提供一种组分简单的人参茎叶有效部位,该人参茎叶有效部位可用于改善、预防或治疗认知功能障碍及相关病症。

[0006] 本发明人参茎叶有效部位,其活性成分为人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>,其中,按质量比,Rg<sub>1</sub>:Re=1:0.667~5。

[0007] 优选的,Rg<sub>1</sub>:Re=1:2或Rg<sub>1</sub>:Re=1:3或Rg<sub>1</sub>:Re=1:1.5。

[0008] 本发明解决的第二个技术问题是提供人参茎叶有效部位的制备方法,该方法能够将人参皂苷Re和Rg<sub>1</sub>作为一个整体进行分离纯化,得到一种新的人参茎叶有效部位。

[0009] 本发明人参茎叶有效部位的制备方法,包括如下步骤:

a、分离纯化:取人参茎叶提取液,上预处理好的色谱柱,依次采用纯水、低级醇溶液洗脱,收集低级醇溶液洗脱液,浓缩后,室温放置结晶,得到结晶物;

b、重结晶:取步骤a中所得的结晶物,用低级醇-水体系重结晶,直至人参皂苷Rg<sub>1</sub>和Re的总质量分数大于95%。

[0010] 其中,人参茎叶提取液可以采用常规市售的提取液,也可以采用市售的人参茎叶提取物溶解得到,也可通过人参茎叶提取得到。

[0011] 优选的,所述人参茎叶提取液采用如下方法制备得到:取人参茎叶,加入提取溶剂,加热回流提取,得到人参茎叶提取液。

[0012] 进一步的,所述加热回流提取的提取溶剂为水或含水醇溶液,提取溶剂的加入质量为人参茎叶质量的2~10倍,加热回流提取2~5次,每次提取1小时;提取温度为60~100℃,合并提取液,得到人参茎叶提取液;优选加热回流提取3次,3次提取溶剂的加入质量分别为人参茎叶质量的6~10倍、4~8倍和2~6倍,提取温度为85℃;更优选3次提取溶剂的加入质量分别为人参茎叶质量的8、6、4倍。

[0013] 进一步的,步骤a中,所述色谱柱的填料以聚合物或硅胶为基质,填料粒径为5~300μm。聚合物为基质的色谱柱填料是以聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸酯(UniPMM)或苯乙烯和甲基丙烯酸酯共聚物(UniPSN)为基质的单分散聚合物色谱填料,硅胶为基质的色谱柱可以采用本领域常用的C18柱。

[0014] 进一步的,所述低级醇为碳原子低于5的醇,低级醇溶液浓度为20%~80%;优选所述低级醇为甲醇或乙醇,低级醇溶液浓度为35%。

[0015] 当然,本发明也可以采用常规手段制备得到具备如上所述特征的人参茎叶有效部位,或者采用市售人参茎叶提取物通过常规手段制备得到如上所述的人参茎叶有效部位,或者采用纯的人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>按比例混合得到。

[0016] 本发明的人参茎叶有效部位中人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>的总体含量>90%,优选为≥95%。

[0017] 本发明还提供本发明所述人参茎叶有效部位在改善、预防或/和治疗认知功能障碍及其相关疾病中的应用。

[0018] 本发明人参茎叶有效部位中的活性成分为人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>,二者作为

一个整体分离应用拓宽了作用靶点,使得作用效果更为突出。本发明人参茎叶有效部位兼具人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>药理特性,具有强化胆碱能系统改进神经递质水平、减少氧化应激反应、降低神经毒性损伤、抑制脑神经细胞凋亡、减少tau蛋白过度磷酸化及β淀粉样蛋白(AB)的沉积等作用,二者相辅相成,具有协同增效作用,可以用于制备改善、预防或/和治疗认知障碍及其相关疾病的药物或保健品中。

[0019] 进一步的,所述认知障碍及其相关疾病包括但不限于自痴呆症、非痴呆性的认知障碍、学习或记忆障碍。

[0020] 进一步的,所述自痴呆症包括但不限于老年痴呆症、阿尔茨海默型痴呆症、脑血管性痴呆症、外伤后痴呆症、脑肿瘤引起的痴呆症、慢性硬膜下血肿引起的痴呆症、正常压力脑积水引起的痴呆症、脑膜炎后痴呆症和帕金森氏型痴呆症等各种疾病所引起的痴呆症。

[0021] 所述非痴呆性的认知障碍,包括但不限于轻度认知障碍(MCI)、脑外伤性认知障碍等。

[0022] 所述学习或记忆障碍包括但不限于脑发育障碍相关的学习和记忆障碍、疲劳引起的学习或记忆障碍、暂时性脑缺血引起的学习或记忆障碍等。

[0023] 本发明人参茎叶有效部位可以单独使用,也可以与其他类似活性成分结合,添加一种或多种药学上可接受的辅料如淀粉、糊精、乳糖、微晶纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙二醇、硬脂酸镁、微粉硅胶、木糖醇、甘露醇、葡萄糖、β-环糊精等混合制成各种剂型。例如可以制备成片剂、口服液、胶囊剂、丸剂、散剂、注射剂、颗粒剂、粉针剂等,优选剂型为经胃肠道给药的剂型如胶囊剂、片剂。

[0024] 与现有技术相比,本发明将人参皂苷Re和Rg<sub>1</sub>作为一个整体进行分离纯化得到最终的有效部位,大大降低了所述两种人参皂苷单体的分离纯化难度,同时所得有效部位性质稳定,质量可控性更强。本发明人参茎叶有效部位中的活性成分由人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>组成,二者相辅相成,具有协同增效作用。本发明人参茎叶有效部位具有有效成分明确、组分简单、质量可控性强、产品稳定性好、服用量更小、药理活性更优等特点。本发明工艺简单,成本更低、能耗更低,符合节能减排的大体趋势,适合工业化大生产,具有较大的推广应用价值。

## 附图说明

[0025] 图1为本发明实施例1制备得到的人参茎叶有效部位HPLC图谱。

## 具体实施方式

[0026] 下面结合实施例对本发明的具体实施方式做进一步的描述,并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。

[0027] 实施例1

(1)取切好的人参茎叶20kg(从药材批发市场采购),先用自来水冲洗浸泡20分钟,然后加入纯水回流加热提取3次,每次加水量分别为药材量的8、6、4倍,每次加热沸腾后继续加热1小时,合并3次提取液。

[0028] (2)取步骤(1)中所得人参茎叶提取液,离心过滤,取滤液,上预处理好的nm200聚合物色谱柱(甲基丙烯酸酯基质,苏州纳微科技有限公司)纯化,依次采用纯水、30%乙醇洗

脱,丢弃纯水洗脱下来的鞣质类杂质,收集富含人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re的低级醇溶液洗脱液,浓缩至少量,室温放置24小时得到结晶物。

[0029] (3)取步骤(2)中所得的结晶,用乙醇/水体系重结晶,得到最终有效部位,其中人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re含量为98.2%,Rg<sub>1</sub>:Re=1.2:3.7。

#### [0030] 实施例2

(1)取切好的人参茎叶15kg(从药材批发市场采购),先用自来水冲洗浸泡20分钟,然后加入50%乙醇回流加热提取3次,每次加水量分别为药材量的10、6、6倍,每次加热沸腾后继续加热1小时,合并3次提取液,减压浓缩至无醇;

(2)取步骤(1)中所得人参茎叶浓缩液,离心过滤,取滤液,上预处理好的PS100聚合物色谱柱(苯乙烯基质,苏州纳微科技有限公司)纯化,依次采用纯水、25%甲醇洗脱,丢弃纯水洗脱下来的鞣质类杂质,收集富含人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re的低级醇溶液洗脱液,浓缩至少量,室温放置24小时得到结晶物。

[0031] (3)取步骤(2)中所得的结晶,用甲醇/水体系重结晶,得到最终有效部位,其中人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re含量为96.8%,Rg<sub>1</sub>:Re=1.5:4.2。

#### [0032] 实施例3

(1)取市售人参茎叶提取物(UV>80%,吉林宏久生物)1kg,用水溶解离心过滤,取滤液,上预处理好的nm200聚合物色谱柱纯化,依次采用纯水、30%乙醇洗脱,丢弃纯水洗脱下来的鞣质类杂质,收集富含人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re的低级醇溶液洗脱液,浓缩至少量,室温放置24小时得到结晶物。

[0033] (3)取步骤(2)中所得的结晶,用乙醇/水体系重结晶,得到最终有效部位,其中人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re含量为97.2%,Rg<sub>1</sub>:Re=2.1:4.7。

#### [0034] 实施例4

(1)取市售人参茎叶提取物(UV>80%,吉林宏久生物)1kg,用水溶解离心过滤,取滤液,上预处理好的中压C18反相层析柱(天津博纳艾杰尔科技),依次采用纯水、20%甲醇洗脱,丢弃纯水洗脱下来的鞣质类杂质,收集富含人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re的低级醇溶液洗脱液,浓缩至少量,室温放置24小时得到结晶物。

[0035] (3)取步骤(2)中所得的结晶,用甲醇/水体系重结晶,得到最终有效部位,其中人参皂苷Rg<sub>1</sub>/Re含量为98.4%,Rg<sub>1</sub>:Re=1.9:4.0。

#### [0036] 实施例5 药效学实验

##### 1 材料和方法

1.1动物:昆明系小鼠,13个月龄小鼠,3个月龄小鼠,购于四川大学华西药学院。

[0037] Wistar 大鼠,24个月龄大鼠购于四川大学华西药学院。

##### [0038] 1.2药品与仪器

1.2.1药品:人参茎叶有效部位(含量:Re+Rg<sub>1</sub>≥95%),按实施例1制备。

[0039] 人参皂苷Re:含量为98%,成都普瑞法科技开发有限公司制备。

[0040] 人参皂苷Rg<sub>1</sub>:含量98%,成都普瑞法科技开发有限公司制备。

##### [0041] 1.2.2 试剂与仪器

试剂:硫代巴比妥酸:上海试剂工厂,批号8720513;5,5'-二硫-对硝基苯甲酸(DN TB) Flukachemie AG, CH-9370 Buchs 批号47328;超氧化物歧化酶(SOD)长沙生化厂。

[0042] 仪器:Y迷宫,浙江医用分析仪器厂;医用高速冷冻离心机(FL-20),江苏省西岗医用器械厂;岛津UU-260分光光度计(日本岛津)。

### [0043] 1.3试验方法

#### 1.3.1人参茎叶有效部位对老年小鼠学习与记忆的影响

选13月龄和3月龄小鼠,实验前按电迷路法筛选小鼠,按在12次电击中有9次正确为合格小鼠。按体重随机分为5组,每组10只,分别为老年对照组、青年对照组、人参茎叶皂苷Re组、人参茎叶皂苷Rg1组、本发明有效部位组,其中青年组小鼠为3月龄小鼠,其余为13月龄小鼠。将本发明有效部位、人参茎叶皂苷Re、人参茎叶皂苷Rg1按皂苷实际含量配制成0.8%(W/V)溶液,每只鼠按125mg/kg给药,老年对照组、青年对照组灌以等容水,连续3个月,在实验结束前3天,各组鼠每天腹腔注射 $AlCl_3$ 溶液一次,剂量为500mg/kg,在第3日注射完 $AlCl_3$ 后30min,用Y迷宫测定小鼠学习与记忆,第4日再测一次,记录连续10次行为中9次正确为止的总次数(A),再将A-9,用于统计分析,然后处死动物,取各组小鼠大脑,左半球用于测定MDA,右半球用于MAO-B的测定。

#### [0044] 1.3.2人参茎叶有效部位对老年小鼠大脑MDA及MAO-B的影响

取上述各组实验小鼠大脑左半球用0.05mol/L磷酸缓冲液制成10%的脑匀浆,用硫代巴比妥酸比色法测定小鼠大脑中MDA含量,按考马斯亮兰法测定蛋白含量。

[0045] 取上述实验各组小鼠右侧大脑,用10倍体积预冷的0.2mol/L磷酸缓冲液(pH7.4)悬浮冰浴中15000r/min匀浆30min后,在1000g下离心10min,其上清液在4℃,17000r/min离心30min,其沉淀用1ml预冷的缓冲液悬浮,制成粗酶,按McEwen法测定小鼠大脑中MAO-B活性,用考马斯亮兰法测定蛋白含量。

#### [0046] 1.3.3人参茎叶有效部位对老年小鼠大脑中GSH-Px及SOD的影响

取老年小鼠按体重随机分为5组,每组10只,分别为老年对照组、人参茎叶皂苷Re组、人参茎叶皂苷Rg1组、本发明有效部位组,并设置青年小鼠对照组。将本发明有效部位、人参茎叶皂苷Re、人参茎叶皂苷Rg1按皂苷实际含量配制成0.8%(W/V)溶液,每只鼠按125mg/kg给药,老年对照组、青年对照组灌以等容水,实验连续40天,停药1天,处死,取大脑,冲洗,吸干,称重,-40℃保存。取上述各组小鼠大脑,在冰浴上制备5%匀浆离心,精密吸取上清液0.1ml,按Harman法加以修改测定GSH-Px活性,采用考马斯亮兰法测定蛋白含量。

[0047] 取上述各组鼠脑组织0.10g,加入2ml生理盐水(NS)在12500r/min或5000r/min的高速组织匀浆机匀浆1min得5%(W/V)的组织匀浆,将其于3000r/min下,离心10min,上清液用于SOD的测定,用邻苯三酚自氧化法测定小鼠大脑中SOD活性,采用考马斯亮兰法测定蛋白含量。

#### [0048] 1.3.4人参茎叶有效部位对中老年大鼠脑线粒体和微粒体的影响

Wistar大鼠,24个月龄,按体重随机分为4组,每组12只,分别为老年对照组、人参茎叶皂苷Re组、人参茎叶皂苷Rg1组、本发明有效部位组。将本发明有效部位、人参茎叶皂苷Re、人参茎叶皂苷Rg1按皂苷实际含量配制成0.8%(W/V)溶液,每只鼠按125mg/kg给药,老年对照组灌以等容水,实验连续40天,停药1天,处死,剖取大脑,用TMS(pH7.5)制成10%脑匀浆,用差速离心法分离脑线粒体、微粒体。蛋白含量用考马斯亮兰法测定,按 $Fe^{2+}$ -半胱氨酸氧化还原法测定脑线粒体、微粒体MDA含量。

### [0049] 1.4实验结果

## 1.4.1 人参茎叶有效部位对老年小鼠学习与记忆的影响

表1 人参茎叶有效部位对老年小鼠学习与记忆的影响

组别	注射AlCl <sub>3</sub> 第1日测试A-9	注射AlCl <sub>3</sub> 第4日测试A-9
青年对照组	1.65±1.38***	0.55±0.82***
老年对照组	6.76±2.33	3.09±1.58
人参皂苷Re	3.15±1.38**	1.72±1.37*
人参皂苷Rg1	3.05±1.27**	1.59±1.29*
本发明有效部位	1.79±1.21***	0.88±0.49**

与老年对照组比较:\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001。

[0050] Y迷宫测定显示,用AlCl<sub>3</sub>造型后,青年对照组小鼠学习与记忆能力明显高于老年对照组。人参茎叶皂苷Re、Rg1以及本发明有效部位组小鼠的学习与记忆能力均高于老年对照组小鼠,且本发明有效部位对于这种认知障碍的改善作用明显优于人参茎叶皂苷Re、Rg1单独应用。从表1可以看出,本发明有效部位对于提高自然老化小鼠的学习和记忆力具有良好效果。

## 1.4.2 人参茎叶有效部位对老年小鼠大脑MDA及MAO-B的影响

表2 人参茎叶有效部位对老年小鼠大脑MDA及MAO-B的影响

组别	MDA(nmol/ mg·pro)	MAO-B(ABS/ mg·pro)
青年对照组	69.21±4.35***	0.118±0.012***
老年对照组	97.62±6.49	1.072±0.324
人参皂苷Re	78.15±3.37**	0.563±0.281**
人参皂苷Rg1	72.58±6.22**	0.658±0.309**
本发明有效部位	63.12±3.85***	0.275±0.049***

与老年对照组比较:\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001。

[0052] 认知功能障碍及其引起的一系列相关疾病诸如老年痴呆、学习能力下降、记忆力减退、脑神经系统退化等都与体内自由基水平以及相关神经递质水平高低有关。通过表2可以看出,本发明有效部位能够有效降低小鼠脑部MDA的含量同时抑制B型单胺氧化酶活性,从而有效降低脑部自由基水平、抑制单胺类神经递质的过度氧化,以此降低对脑部神经细胞的损伤,提高脑部神经系统活性,进而发挥改善认知功能障碍的作用。相对于人参茎叶皂苷Re、Rg1单独使用,本发明有效部位的药理作用更为明显。

## 1.4.3 人参茎叶有效部位对老年小鼠大脑中GSH-Px及SOD的影响

表3 人参茎叶有效部位对老年小鼠大脑中GSH-Px及SOD的影响

组别	GSH-Px(k/g.Hb)	SOD(U/mg.pro)
青年对照组	118.786±49.862***	232.15±12.33**
老年对照组	38.217±9.355	154.72±11.81
人参皂苷Re	55.151±7.217*	167.13±17.56
人参皂苷Rg1	82.518±12.22**	199.25±22.53*
本发明有效部位	105.413±33.856***	227.75±15.87**

与老年对照组比较:\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001。

[0054] 机体的过氧化水平上升,特别是脑部过氧化水平的升高会直接影响脑部功能,严



重的就会产生认知功能障碍。表3实验表明,本发明有效部位能够有效提升小鼠脑部SOD及GSH-Px的水平,能有效抑制脑部过氧化水平,降低脑部氧化应激反应。SOD及GSH-Px水平的提高有助于脑部过剩自由基的清除,能降低氧化应激反应对脑部的损伤,从而防止认知功能障碍的出现以及预防脑部功能性损伤的进一步恶化。实验表明,本发明有效部位对于SOD及GSH-Px等还原性酶的提升作用明显强于人参茎叶皂苷Re、Rg1单独使用。

[0055] 1.4.4人参茎叶有效部位对中老年大鼠脑线粒体和微粒体的影响

表4参茎叶有效部位对中老年大鼠脑线粒体和微粒体的影响

组别	线粒体 MDA 含量 (nmol/ mg · pro)	微粒体 MDA 含量 (nmol/ mg · pro)
老年对照组	9.38 ± 0.13	1.92 ± 0.21
人参皂苷 Re	7.42 ± 0.07*	1.75 ± 0.12*
人参皂苷 Rg1	7.19 ± 0.12*	1.72 ± 0.09*
本发明有效部位	5.88 ± 0.06**	1.57 ± 0.13**

与老年对照组比较: \*P<0.05, \*\*P<0.01。

[0056] 线粒体、微粒体在细胞能量合成、蛋白质合成转运过程中具有重要作用,对于记忆力的产生、学习力的维持具有决定性作用,一旦其功能受损将直接导致记忆力减退、学习力下降等一系列脑功能的活动障碍及衰老、老年疾病的发生。机体过氧化反应产生的自由基如不能及时清除,在线粒体、微粒体中堆积将直接影响其正常功能,进而引起认知功能障碍。表4表明,本发明有效部位能够显著降低线粒体、微粒体中自由基MDA的含量,能间接改善线粒体、微粒体功能,从而维持机体正常的认知功能。相比人参皂苷Re、Rg1单独使用,本发明有效部位的药理效果更为明显。

[0057] 综上所述,本发明所提供的人参茎有效部位能够抑制脑组织、脑线粒体、微粒体各部分的脂质过氧化反应,提高脑内自由基清除酶SOD和GSH-Px活性和降低MAO-B活性抑制自由基对机体的损伤,保护脑功能,从而使学习与记忆功能得到提高,有效缓解或改善认知功能障碍及其相关病症。

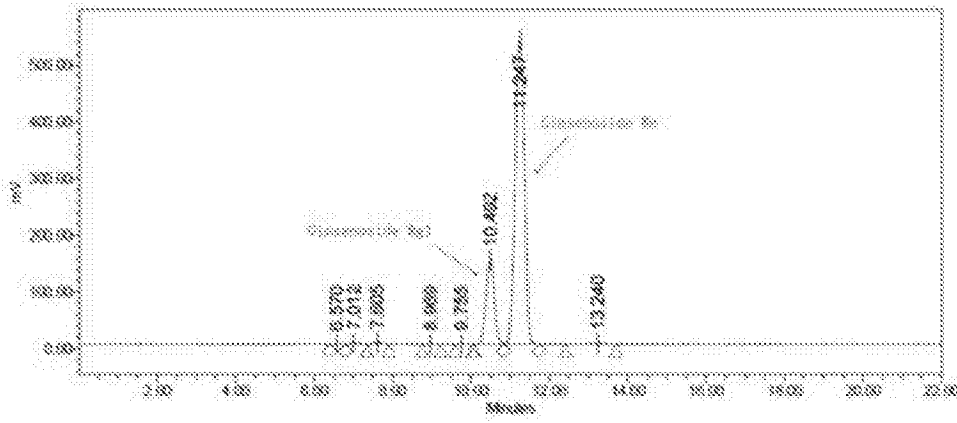


图1