

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日  
2007年11月29日 (29.11.2007)

PCT

(10) 国际公布号  
WO 2007/134534 A1

- (51) 国际专利分类号:  
A61K 31/704 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 9/19 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2007/001635
- (22) 国际申请日: 2007年5月18日 (18.05.2007)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
200610046617.2  
2006年5月22日 (22.05.2006) CN
- (71) 申请人及  
(72) 发明人: 富力(FU, Li) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市经济技术开发区铁山中路5号, Liaoning 116600 (CN)。
- (72) 发明人; 及  
(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 赫澜铭(HE, Lanming) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市经济技术开发区铁山中路5号, Liaoning 116600 (CN)。 刘红(LIU, Hong) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市经济技术开发区铁山中路5号, Liaoning 116600 (CN)。 鲁明明(LU, Mingming) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市经济技术开发区铁山中路5号, Liaoning 116600 (CN)。 鲁歧(LU, Qi) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市经济技术开发区铁山中路5号, Liaoning 116600 (CN)。
- (74) 代理人: 大连东方专利代理有限责任公司(DALIAN EAST PATENT BROKERAGE CO., LTD.); 中国辽宁省大连市西岗区黄河路263号, Liaoning 116011 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则4.17的声明:  
— 发明人资格(细则4.17(iv))
- 本国际公布:  
— 包括国际检索报告。
- 所引用双字母代码及其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: WATER SOLUTION OF 20(R)-GINSENOSE Rg3 PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND PROCESS THEREOF

(54) 发明名称: 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液及制备方法

(57) Abstract: A 20(R)-ginsenoside Rg3 pharmaceutical composition water solution is prepared by steps of adding ginsenoside solution into water solution of auxiliary materials at the temperature of 40- 100 °C, recovering solvent and adding water.

(57) 摘要:

一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液, 它是通过将人参皂苷溶液加入到温度为 40-100°C 的辅料水溶液中, 回收溶剂并加水而制备的。

WO 2007/134534 A1

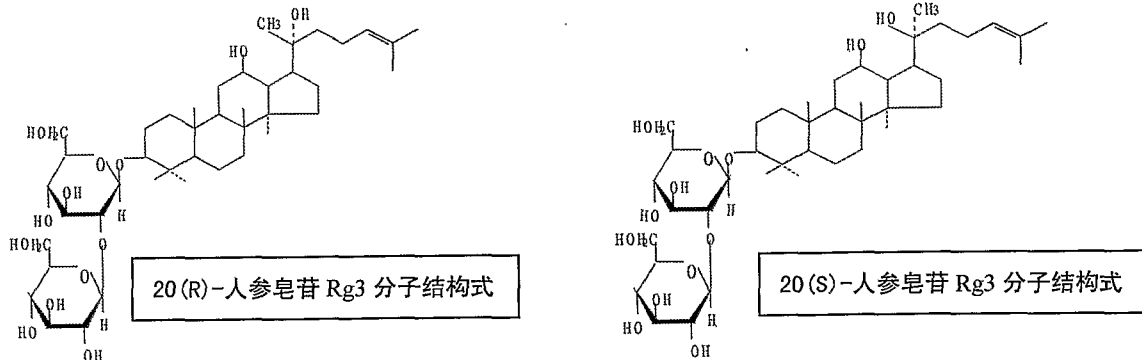
## 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液及制备方法

### 技术领域

本发明涉及一种人参皂苷药用组合物及其制备方法。

### 背景技术

人参皂苷 Rg3 是存在于人参中的一种四环三萜类皂苷化合物，分子量为 784.13，它又以 20(R)-人参皂苷 Rg3 和 20(S)-人参皂苷 Rg3 两种光学异构体形式存在，其中 20(R)-人参皂苷 Rg3 化学性质稳定，不溶于水，而 20(S)-人参皂苷 Rg3 化学性质不稳定，易溶于水，它们的结构式分别是：



人们发现，20(R)-人参皂苷 Rg3 具有较强的抑制肿瘤和抗转移作用，但它又是一种不溶于水的物质，因此其口服制剂的生物利用度很低，极大地限制了其临床药效的发挥，同时也限制了非肠道给药途径。

为使 20(R)-人参皂苷 Rg3 溶于水，人们对此进行了研究，如在 2003 年 1 月 29 日发明专利公报上公开的一种〈人参皂甙 Rg3 羟丙基-β-环糊精包合物及制剂和制备方法〉(申请号 01119929.6) 其主要内容是：人参皂甙 Rg3 的羟丙基-β-环糊精包合物，它是由下述原料按下述重量比组成的，即人参皂甙：羟

丙基-β-环糊精=1:1~200;其制备方法是(1)将人参皂甙 Rg3 溶于有机溶剂中,(2)将羟丙基-β-环糊精溶于水中,(3)在强烈搅拌下将人参皂甙 Rg3 溶液缓慢滴加到含羟丙基-β-环糊精的水溶液中,全部加完后继续搅拌 2~24 小时,使用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,将滤液浓缩,除尽有机溶剂,加入注射水重新溶解,过 0.22 μm 膜,滤液冷冻干燥,得疏松白色粉末,即为人参皂甙包合物。

它的不足之处是:(1)包合物在制备过程中,将其反应液回收至原体积的 1/3 时,经测定仍有较多有机溶剂残留,而冷冻干燥对除去残留溶剂无效,因而该包合物粉末用于制备注射剂难于符合注射剂残留溶剂的限定标准。(2)包合物在制备过程中,由于残留有机溶剂的存在,有助于人参皂甙 Rg3 与羟丙基-β-环糊精以 1:1~200 的比例形成溶于水的包合物,如果将残留有机溶剂真正除尽,则在上述比例范围内不能形成稳定的易溶于水的包合物,人参皂甙 Rg3 很快会从其包合物水溶液中析出沉淀,使得该包合物不能用于制备注射剂。(3)人参皂甙 Rg3 不能全部形成包合物,利用率仅为 86%,使其作为注射剂的生产成本明显增高。

## 发明内容

本发明的目的在于提供一种产品成本低、易被人体吸收的 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物和制剂以及它们的制备方法与医药用途。

本发明的主原料(简称原料)为 20(R)-人参皂苷 Rg3。本发明的辅原料(简称辅料)为 A、B 两类,A 类为脱氧胆酸(钠)、十二烷基硫(磺)酸钠及精氨酸; B 类为环糊精,其包括:①环糊精及其衍生物,如聚合环糊精纳米微粒、聚合环糊精、支链环糊精,②β-环糊精及其衍生物,如β-环糊精、2,6-二甲基-β-环糊精、葡萄糖基-β-环糊精、纳米基-β-环糊精、磺丁醚β-环糊精、甲基-

$\beta$ -环糊精、不定位甲基化- $\beta$ -环糊精, ③ 羟丙基- $\beta$ -环糊精及其衍生物, 如 2-羟丙基- $\beta$ -环糊精、3-羟丙基- $\beta$ -环糊精衍生物、2, 3-二羟丙基- $\beta$ -环糊精、2, 3, 6,-三羟丙基- $\beta$ -环糊精, ④羟乙基- $\beta$ -环糊精; ⑤环糊精及其衍生物混合辅料, 由上述环糊精、 $\beta$ -环糊精、羟丙基和羟乙基- $\beta$ -环糊精及其衍生物间的以不同组合混合形成的混合物。

本发明原料与辅料的重量比如下: 20(R)-人参皂苷 Rg3: 辅料 A 或 B①②⑤ = 1:1~300, 20(R)-人参皂苷 Rg3: 辅料 B③④ = 1:100~400。

20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物的制备方法:

(1) 制原料液: 将原料 20(R)-人参皂苷 Rg3 溶于混合有机溶剂中, 制成 0.1~5% 的人参皂苷溶液, 所用的混合有机溶剂及它们的比例如下: 1) 氯仿: 乙酸乙酯: 乙醇(甲醇): 水 = 10~25: 30~45: 18~30: 5~15, 下层; 2) 氯仿: 乙醇(甲醇): 水 = 70~60: 40~30: 10, 下层; 3) 乙醇: 水 = 90~95: 10~5; 4) 甲醇: 水 = 85~90: 15~10; 5) 乙腈: 水 = 40~60: 60~40; 6) 二氯甲烷: 乙醇(甲醇): 水 = 60~65: 40~35: 10; 7) 乙腈: 乙醇(甲醇) = 70~80: 30~20; 8) 二甲基亚砜: 水 = 90~80: 10~20; 9) 丙二醇: 乙醇(甲醇): 吐温 80: 水 = 40~50: 10~20: 1: 49: 29。

(2) 制辅料液: 1) 分别将上述 A、B 两类辅料溶于水中, 制成 0.1~30% 的水溶液(a), 2) 分别将上述 B 类③④组的辅料溶于水中, 制成 20~65% 的水溶液(b),

(3) 原料液加入到辅料液中: 1) 将上述人参皂苷溶液一次性加入到温度为 40~100℃ 的上述辅料水溶液(a) 中并搅拌 0.1~3 小时, 即可得到澄明液; 或 2) 将上述人参皂苷溶液匀速滴加到温度为 60~100℃ 的上述辅料水溶液(b) 中, 并搅拌至滴加人参皂苷溶液完毕后停止, 即可得到澄明液。

(4) 回收溶剂并制得药用组合物: 将由上述步骤(3) 获得的澄明液在真空度

0.01~0.08MPa、温度 80~100℃条件下减压回收溶剂至原体积的 2/3~近干，加水至原体积，溶解并减压回收溶剂至近干，再重复上述操作两次，最终加入注射用水或纯化水摇匀溶解，该水溶液即为 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物溶液，其中，20(R)-人参皂苷 Rg3 与 A、B①②⑤两类辅料分别制成的组合物溶液含原料 0.5~10 毫克/毫升；20(R)-人参皂苷 Rg3 与 B 类③④组辅料分别制成的组合物溶液含原料 0.1~2 毫克/毫升；经干燥如真空、喷雾或冷冻干燥可得到 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性药用组合物粉末，其干燥方法及干燥条件如下：

干燥方法	干燥条件
真空干燥	在 30~60℃温度，0.01~0.08MPa 压力下，干燥 48 小时
喷雾干燥	采用超音速射流技术，射流技术 300~900 米/秒，在 30~60℃温度，0.01~0.05 MPa 压力下，以超音速速度瞬时干燥。
冷冻干燥	先于-45℃预冻 5 小时；按程序升温冷冻干燥：-45~-15℃升华干燥 20 小时，再于-15~30℃真空干燥 10 小时。

用上面得到的 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性药用组合物作原料，可制备下述各种制剂：

1. 口服及外用制剂：用 A、B 辅料与原料反应获得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物溶液，经干燥后形成可溶于水的人参皂苷 Rg3 固体粉末，再与药学上可接受的载体配合，经制剂工艺可制成各种制剂：如颗粒剂、片剂（普通片、分散片、缓释片、控释片等）、软（硬）胶囊、口服液、外用剂（贴剂、软膏、滴剂、气雾剂）。

2. 注射剂：用辅料 A 或辅料 B③④与原料反应获得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性药物组合物溶液：1) 经超滤器或加入是其重量 0.1%注射级活性炭混合均匀，于 80℃保温 30 分钟后，用 0.45 μm 滤膜过滤除热源，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌可制成注射液，或再经冷冻干燥后可制成冻干粉针剂或注射用无菌

粉末。2) 经减压回收溶剂及干燥(真空、喷雾或冷冻干燥)制成稳定的易溶于水的人参皂苷 Rg3 固体粉末, 复溶后再制成冻干粉针剂或注射用无菌粉末。

上述 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用固体和液体组合物及其药物制剂具有抑制肿瘤生长和转移、与放化疗合并用药增效减毒、提高机体免疫功能、抗疲劳、改善记忆、外用消肿止痛及愈合伤口的作用。

本发明相比现有技术具有如下优点:

1. 本发明制备的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物溶液经干燥后可得到完全溶解于水、不含残留有机溶剂的粉末, 由此可制成符合《中华人民共和国药典》注射剂质量要求的冻干粉针注射剂, 也可制成多种口服及外用药物制剂。
2. 本发明制备的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物注射剂或口服制剂, 均比现有口服制剂(商品名: 参一胶囊)的生物利用度显著提高: 前者经注射可 100% 进入动物及人体的血液中, 其绝对生物利用度为 100%, 比现有口服制剂提高 20-50 倍; 后者也比现有口服制剂的生物利用度提高 10 倍以上。
3. 本发明制备的 20(R)-人参皂苷 Rg3 可与辅料 100% 的形成组合物溶液, 经干燥可制成冻干粉针剂, 使 20(R)-人参皂苷 Rg3 原料利用率达 100%, 其成本明显低于该成分的包合物冻干粉针剂的成本。
4. 本发明制备的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物口服药物制剂, 因其生物利用度提高可减半量服用即达到与现有胶囊剂相同或更好的疗效, 使肿瘤患者医药费大幅度降低。
5. 本发明制备的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物注射剂在大鼠及犬的肝脏、胃肠壁分布浓度较高, 使其对消化道肿瘤及转移具有良好的治疗作用。

附图说明

本发明附图 11 张。

图 1 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 标准品高效液相色谱检测谱图。

图 2 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 与脱氧胆酸钠组合物高效液相色谱图。

图 3 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 标准品高效液相色谱图。

图 4 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 与十二烷基硫酸钠组合物高效液相色谱图。

图 5 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 标准品高效液相色谱图。

图 6 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 与 2, 3, 6-三羟丙基- $\beta$ -环糊精组合物高效液相色谱图。

图 7 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 标准品高效液相色谱图。

图 8 是 20(R)-人参皂苷 Rg3 与  $\beta$ -环糊精组合物高效液相色谱图。

图 9 是 7 只犬口服给予 5.6 克 Rg3 颗粒剂后血浆药物浓度时间曲线。

图 10 是 7 只犬口服给予 3 克 Rg3 参一胶囊后血浆药物浓度时间曲线。

图 11 是 7 只犬口服给予 Rg3 颗粒剂和参一胶囊后血浆药物浓度时间曲线。

## 具体实施方式

### 实施例 1

将 1 克 20(R)-人参皂苷 Rg3 用氯仿-乙酸乙酯-乙醇-水(10:30:18:5, 下层液)溶解配成 0.1%溶液; 另取 100g 脱氧胆酸钠, 用注射用水溶解并加热至 40℃, 配成 30%的溶液。将配好的人参皂苷溶液加入到上述脱氧胆酸钠溶液中, 搅拌 3 小时, 得澄明的溶液组合物制备液; 过滤, 于真空度 0.01MPa、温度 100℃旋转蒸发器上减压回收溶剂至近干, 加蒸馏水至原体积, 溶解并回收溶剂至近干, 再重复一次上述操作, 至除尽有机溶剂。加注射用水至 100 毫升, 即得 20(R)-人参皂苷 Rg3 与脱氧胆酸钠形成的组合物溶液 100 毫升。经高效液相法

测定该组合物溶液中人参皂苷 Rg3 含量为 10 毫克/毫升，见图 1 和 2。

### 实施例 2

将 0.5 克 20(R)-人参皂苷 Rg3 用氯仿-乙酸乙酯-乙醇-水(25:45:30:15, 下层液)溶解配成 5%溶液；另取 100g 十二烷基硫酸钠，用注射用水溶解并加热至 100℃，配成 0.1%的溶液。将配好的人参皂苷溶液加入上述十二烷基硫酸钠水溶液中，搅拌 0.1 小时，得澄明的溶液组合物制备液；过滤，于真空度 0.08MPa、温度 80℃旋转蒸发器上减压回收溶剂至原体积 1/4；加蒸馏水至原体积，溶解并回收溶剂至近干，再重复一次上述操作，至除尽有机溶剂，加纯化水至 1000 毫升，即得 20(R)-人参皂苷 Rg3 与十二烷基硫酸钠形成的溶液组合物 1000 毫升。经高效液相法测定该组合物溶液中人参皂苷 Rg3 含量为 0.5 毫克/毫升，见图 3 和 4。

### 实施例 3

将 5 克 20(R)-人参皂苷 Rg3 用氯仿-乙醇-水(70: 30:10, 下层液)溶解配成 0.1%溶液；另取 500 克 2, 3, 6-三羟丙基-β-环糊精，加蒸馏水加热至 60℃溶解，配成 20%溶液。在搅拌条件下，将配好的人参皂苷溶液以 10 毫升/分匀速滴加到上述 2, 3, 6-三羟丙基-β-环糊精溶液中，滴加完该溶液即停止搅拌。于真空度 0.05MPa、温度 100℃旋转蒸发器上减压回收近干，加蒸馏水至原体积，溶解并回收溶剂至近干，再重复一次上述操作。用 2.5 升注射用水溶解浓缩物，得到的水溶液即为 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性中间体。经高效液相法测定，该水溶性中间体含人参皂苷 Rg3 为 2 毫克/毫升，见图 5 和 6。

### 实施例 4

将 2 克 20(R)-人参皂苷 Rg3 用氯仿:乙醇:水(70: 30:10, 下层液)溶解配

成 5%溶液；另取 600 克  $\beta$ -环糊精，加蒸馏水加热至 40℃溶解，配成 30%溶液。在搅拌条件下，将配好的人参皂苷溶液以 5 毫升/分匀速滴加到  $\beta$ -环糊精溶液中，滴加完该溶液即停止搅拌。于真空度为 0.04MPa、旋转蒸发器上减压回收近干，加蒸馏水至原体积，溶解并回收溶剂至近干，再重复一次上述操作，用 20 升注射用水溶解浓缩物，得到的水溶液即为 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性中间体。经高效液相法测定，该水溶性中间体含人参皂苷 Rg3 为 0.1 毫克/毫升，见图 7 和 8。

实施例	原料 (克)	溶解原料的混合有机溶剂(毫升)	辅料(克)	辅料溶液 浓度%	增溶反应 温度(°C)	搅拌时间 (小时)	组合物溶液	
							原料:辅料	Rg3 毫克/毫
5	0.2	氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(25:45:30:15, 下层) 80	脱氧胆酸钠 0.2	0.1	40	0.1	1:1	0.5
6	1	氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(25:45:30:15, 下层) 800	脱氧胆酸 100	10	60	3	1:100	10
7	1	氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(25:45:30:15, 下层) 800	脱氧胆酸 50	30	60	0.5	1:100	10
8	1	乙醇-水(90:10) 1000	十二烷基硫酸钠 5	5	50	2	1:5	5
9	10	乙醇-甲醇(70:30) 1000	十二烷基磺酸钠 400	20	55	3	1:40	2
10	5	乙醇-甲醇(80:20) 500	十二烷基磺酸钠 100	10	45	1.5	1:20	1
11	1	二甲基亚砜:水(90:10) 50	精氨酸 100	20	50	1	1:100	2
12	5	二甲基亚砜:水(80:20) 250	精氨酸 100	25	50	1	1:20	1
13	5	氯仿-甲醇-水(70:30:10, 下层) 5000	聚合环糊精纳米粒 500	30	100	5	1:100	1
14	2	氯仿-甲醇-水(60:40:10, 下层) 200	聚合环糊精纳米粒 200	10	80	2	1:100	2
15	1	乙醇-水(95:5) 500	聚合环糊精 100	20	65	2.3	1:100	0.5
16	1	乙醇-水(90:10) 600	聚合环糊精 150	30	85	2.6	1:150	0.8
17	0.5	甲醇-水(90:10) 250	支链环糊精 200	10	100	1	1:200	0.5
18	0.5	甲醇-水(85:15) 200	支链环糊精 300	15	95	0.8	1:300	0.9
19	1	乙醇-水(40:60) 500	$\beta$ -环糊精 150	30	65	1.3	1:150	1
20	300	二甲基亚砜:水(90:10) 1000	2,6-二甲基- $\beta$ -环糊精 3000	30	100	3	1:10	1
21	5	二甲基亚砜:水(80:20) 125	2,6-二甲基- $\beta$ -环糊精 800	25	95	3	1:160	2
22	1	乙醇-甲醇(70:30) 200	纳米基- $\beta$ -环糊精 90	0.5	60	0.7	1:90	0.5
23	3	乙醇-甲醇(80:20) 3000	纳米基- $\beta$ -环糊精 150	30	60	3	1:50	2
24	2	乙醇-乙醇(70:30) 200	磺丁醚 $\beta$ -环糊精 140	25	75	1	1:70	0.5
25	2	乙醇-乙醇(80:20) 400	磺丁醚 $\beta$ -环糊精 180	15	95	3	1:90	1

实施例	原料(克)	溶解原料的混合有机溶剂(毫升)	辅料(克)	辅料浓度%	增溶反应温度(°C)	搅拌时间(小时)	组合物溶液	
							原料:辅料	kg3 毫克/毫升
26	1	丙二醇:乙醇:吐温 80:水(40:10:1:49) 600	甲基-β-环糊精 300	30	60	2	1:300	0.5
27	1	丙二醇:乙醇:吐温 80:水(50:20:1:29) 40	甲基-β-环糊精 150	25	65	1.2	1:150	1
28	1	丙二醇:甲醇:吐温 80:水(40:10:1:49) 50	不定位甲基化-β-环糊精 240	20	100	2.5	1:240	0.5
29	1	丙二醇:甲醇:吐温 80:水(50:20:1:29) 65	不定位甲基化-β-环糊精 300	30	95	1.2	1:300	0.8
30	2	二氯甲烷-甲醇-水(65:35:10, 下层) 200	2-羟丙基-β-环糊精 200	40	60	1.3	1:100	2
31	2	二氯甲烷-甲醇-水(60:40:10, 下层) 350	2-羟丙基-β-环糊精 600	60	65	4.8	1:300	0.1
32	1	二氯甲烷-乙醇-水(65:35:10, 下层) 300	3-羟丙基-β-环糊精 120	65	70	0.9	1:120	2
33	1	二氯甲烷-乙醇-水(60:40:10, 下层) 500	3-羟丙基-β-环糊精 300	65	80	1.3	1:300	0.8
34	2	氯仿-乙醇-水(70:30:10, 下层) 350	2,3-二羟丙基-β-环糊精 200	50	60	1.5	1:100	1.5
35	2	氯仿-乙醇-水(60:40:10, 下层) 250	2,3-二羟丙基-β-环糊精 400	50	70	2	1:200	0.6
36	5	二甲基亚砜:甲醇(80:20) 25	2,3,6-三羟丙基-β-环糊精 500	65	65	1.7	1:100	0.1
37	0.5	二甲基亚砜:乙醇(90:10) 30	羟乙基-β-环糊精 75	30	80	0.45	1:150	0.5
38	0.5	二甲基亚砜:乙醇(80:20) 400	羟乙基-β-环糊精 175	60	85	0.5	1:350	0.2
39	1	氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(25:45:30:15, 下层) 500	β-环糊精与 2-羟丙基-β-环糊精混合物(1:1) 150	25	60	1.7	1:150	2
40	1	氯仿-甲醇-水(70:30:10, 下层) 330	2-羟丙基-β-环糊精与 3-羟丙基-β-环糊精混合物(1:5) 400	20	70	2.6	1:400	1
41	1	乙腈-乙醇(70:30) 100	聚合环糊精纳米粒、β-环糊精混合物、磺丁醚β-环糊精混合物(1:1:1) 90	50	95	1.4	1:90	0.5
42	2	二甲基亚砜:甲醇(80:20) 100	2-羟丙基-β-环糊精、3-羟丙基-β-环糊精与 2,3,6-三羟丙基-β-环糊精混合物(1:5:10) 480	60	80	1.5	1:240	2
43	0.5	丙二醇:乙醇:吐温 80:水(40:10:1:49) 200	β-环糊精、聚合环糊精与 2-羟丙基-β-环糊精混合物(2:5:5) 200	45	85	1.1	1:400	2

#### 实施例 44

取实施例 1 制得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物溶液 100 毫升，加入注射用水至 1000 毫升，再加 0.1 克针剂用活性炭混合均匀，于 80℃保温 30 分钟后用 0.45 μm 滤膜滤过除热原，无菌条件下用 0.22 μm 微孔滤膜滤过除菌，于无菌条件下灌装至 10ml 管制无菌西林瓶中，装量每瓶约 4.5~4.9 ml:5mg，并将装好后的西林瓶加半塞，置冻干机(LY0-5，上海产)盘上，关好门，开动冻干机，先冷冻至-40℃以下，保持 4 小时后，开动真空干燥，并按 45℃~-30℃/4 小时、-30℃~-20℃/4 小时、-20℃~-15℃/2 小时升华，再于 15℃~30℃升温干燥 4 小时，即完成冷冻干燥后，压塞，轧铝盖，取样检测，合格后包装，即得 1000 支注射用冻干粉针剂(每支含 Rg3 1 毫克)。由实施例 2-40 均可按上述操作步骤进行，制得水溶性粉末。

#### 实施例 45

取实施例 20 制得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物溶液 50 升，置于双锥回转真空干燥箱(型号 SZG-4500，常州产)的不锈钢干燥盘上，于 80℃、1.3Pa 真空度条件下进行真空干燥 12 小时，得水溶性粉末；或者将上述组合物溶液置于组合式喷雾干燥机(ZPG-105，常州产)的流化床干燥器中，在 20℃下，用双组份喷嘴以 0.8 公斤/小时速率将含有 20%固形物的组合物溶液连续喷入到流化床中，流化气体输入温度 150℃，喷入的量使液化床的温度达到 75℃，可得 100~250 微米的得水溶性粉末 55 公斤；或者将上述干燥后的水溶性粉末复溶，再按实施例 35 冷冻干燥方法操作，即得冻干粉针剂 10000 支(每支 5 毫克)将。

#### 实施例 46 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物颗粒剂体内提高生物利用度的试验

我们比较测定了 Beagle 犬口服 20(R)人参皂苷 Rg3 组合物颗粒剂与原料胶

囊剂后的血药浓度(委托沈阳药科大学药物代谢与药物动力学实验室完成该项试验), 证明 Beagle 犬口服 20(R)人参皂苷 Rg3 组合物制成的颗粒剂的血药浓度高于其 20(R)人参皂苷 Rg3 原料制成的胶囊剂 12~20 倍, 从而说明 Rg3 组合物颗粒剂在动物体内的生物利用度明显高于 Rg3 原料制成的胶囊剂。

给予 Beagle 犬口服实施例 37 制得的 20(R)-人参皂甙 Rg3 组合物颗粒剂, 测定了其生物利用度。生物样品的测定利用 API 4000 型质谱仪, 采用液相色谱-串联质谱联用分析方法。7 只犬口服给予 5.6 g 人参皂甙 Rg3 与 $\beta$ -环糊精(1:200)药用组合物(含 Rg3 30 mg)后血浆药物浓度时间曲线见附图 9, 7 只犬口服给予 3 粒参一胶囊(含 Rg3 30 mg, Rg3 10 mg/粒)后血浆药物浓度时间曲线见附图 10, 两个试验组平均血浆药物浓度时间曲线见附图 11。口服给予所述药用组合物后, 血浆药物浓度于  $2.3 \pm 0.9$  h 达到峰浓度为  $6.8 \pm 1.8$  ng/mL, 半衰期为  $6.0 \pm 0.9$  h, 药时曲线下面积(AUC<sub>0-t</sub>)为  $40.0 \pm 15.7$  ng·h/mL。

## 实施例 47 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物冻干粉针剂抗肿瘤药效学试验

### 1 试验药物及配制方法

受试药物:人参皂苷Rg3冻干粉针剂; 批号:20030519, 规格:5mg/支。

配制方法:精密量取一定量的人参皂苷Rg3冻干粉针剂或相应辅料加入生理盐水至所需浓度即可, 给药体积0.5ml/鼠。

### 2 实验材料

2.1 溶剂 生理盐水。

2.2 阳性对照品 注射用环磷酰胺(CTX), 上海华联制药集团生产; 每天一次, 连续七天; 5Fu注射液, 上海旭东海普药业有限公司生产; 注射用丝裂霉素(MMC), 日本协和发酵工业株式会社生产。

**2.3 瘤源** 人体的胃癌 MGC 模型、肠癌模型 LOVO 及肝癌 QGY 均第二代以上的肿瘤用作瘤源；小鼠 B16 黑色素瘤细胞模型等均由上海医药工业研究院药理室传代维持。

### 3 实验动物

**3.1 来源** 裸小鼠由上海市中科院实验动物中心提供，合格证号：SCXK 2003-0003。C<sub>57</sub>BL/6及昆明种小鼠由本院实验动物组提供，实验动物使用许可证号：SYXK(沪)2004-0015。

**3.2 体重** 裸小鼠为6周龄，昆明种小鼠及C<sub>57</sub>BL/6小鼠为18~22克。

**3.3 性别** 雌雄皆可，每批实验使用同一种性别。

**3.4 动物数** 试验组及阳性对照组裸小鼠每组6只小鼠，其他小鼠每组8-10只，阴性对照各为两组。

### 4 试验设计

**4.1 剂量设置** 人参皂苷Rg3冻干粉针剂给药剂量设为：1.5 mg/kg/d、0.75 mg/kg/d，0.375 mg/kg/d。

**4.2 给药方案** 静脉给药，每天 2 次，人体肿瘤模型及细胞接种的小鼠模型iv×14bid，小鼠肿瘤接种的模型iv×10bid的方案治疗。

**4.3 试验对照** 阴性对照：给以与试验组相应辅料，给药方案同试验组；阳性对照：环磷酰胺 CTX 30mg/kg、MMC2 mg/kg及5Fu30mg/kg腹腔或静脉给药每天一次，连续七天。

### 5 试验方法

#### 5.1 抗肿瘤试验

##### 5.1.1 胃原位接种模型

无菌条件下取生长旺盛的体内传2代的MGC胃癌，以匀浆法制备成约 $2 \times 10^7$ /ml细胞悬液，经手术于裸小鼠的胃大弯肌层内注射细胞悬液0.05ml，次日按实验设计方案给药，按下列公式计算荷瘤宿主生命延长率：

$$\text{生命延长率}\% = \text{给药组平均生存天} / \text{对照组平均生存天} \times 100\%$$

### 5.1.2 肝原位接种模型

无菌条件下取生长旺盛的体内传第二代 QGY 瘤源，以匀浆法 1:6 制备成约  $1-2 \times 10^7$ /ml 细胞悬液，匀浆经 100 目不锈钢筛网过滤，备用。裸小鼠常规消毒，麻醉于腹腔正中剑突下切开皮肤和腹腔，暴露肝脏，经肝实质部以进口的 28ga 1/2ml 注射器注射 0.05ml 细胞悬液，关闭腹腔，逐层缝合腹腔及皮肤。裸小鼠置于层流架中饲养，所用的饲料、垫料、笼具及接触的器械等均应高压消毒后使用。次日按实验设计方案给药，观察各组动物 45 天内的生存时间，与阴性对照组进行比较，统计生命延长率。

## 5.2 增效试验

### 5.2.1 腋皮下接种模型

无菌条件下取生长旺盛的瘤源，以匀浆法制备成约 $1 \sim 2 \times 10^7$ /ml细胞悬液；于相应宿主腋皮下接种0.2ml/每鼠，次日按实验设计方案给药，三周左右处死各组动物，剖取肿瘤称重，按下列公式计算肿瘤抑制率：

$$\text{肿瘤抑制率}\% = [(\text{对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}) / \text{对照组平均瘤重}] \times 100\%$$

### 5.2.2 尾静脉接种模型

无菌条件下取对数生长期的 B<sub>16</sub> 小鼠黑色素瘤培养细胞，制备成约 $2.5 \times 10^5$ /ml细胞悬液，于C<sub>57</sub>BL/6小鼠尾静脉接种0.2ml/鼠，次日按实验设计方案给药，三周后处死各组动物，剖取各组小鼠的肺脏，计测每鼠肺脏所转移的集落数，以各组肿瘤平均集落数，按下列公式计算肿瘤抑制率：

肿瘤抑制率%=[(对照组平均集落数-给药组平均集落数)/对照组平均集落数]×100%

### 5.3 减毒试验

观察对人参皂苷 Rg3 冻干粉针剂化疗药所致小鼠白细胞变化的影响。取 C<sub>57</sub>BL/6 小鼠 80 只,从每鼠眼静脉丛取血,按常规白细胞玻片计数法,计测各鼠白细胞数,选择 7500±300 个白细胞/mm<sup>3</sup> 的小鼠,随机分组,每组 10 个小鼠。第 0、2 天除空白对照组以外,其余各组均给以化疗药 CTX100mg/kg ip×2。按上述方案给药,第 0 天开始测各组白细胞数,而后实验期间每隔三天,检测各组小鼠白细胞数,计算各时相各组小鼠的白细胞数均值及标准差,直至阳性对照组白细胞恢复正常数为止。

### 5.4 免疫试验

#### 5.4.1 对荷 Lewis 肺癌 C<sub>57</sub>BL/6 小鼠的 NK 细胞活性试验

取 C<sub>57</sub>BL/6 小鼠,趾皮下接种无菌制备的 Lewis 肺癌混悬液 0.05ml/鼠 (约 1×10<sup>6</sup> 个肿瘤细胞)。次日随机分组,按实验设计给药,末次给药后次日在无菌条件下取小鼠脾脏,用 100 目筛网制成单个脾细胞悬液,低渗除去红细胞,将细胞悬液转入培养瓶中,37°C 5%CO<sub>2</sub> 条件培养 1 小时后去除贴壁细胞,计数活细胞并调整细胞浓度为 3×10<sup>6</sup> 个细胞/ml 作为效应细胞。靶细胞取 L929 体外培养细胞,常规培养 24 小时,以培养液调整细胞浓度为 1.5×10<sup>5</sup> 个细胞/ml,使效靶细胞之比为 20:1。取 96 孔培养板分别加入效应细胞和靶细胞,另设效应细胞和靶细胞对照,于 37°C 5% CO<sub>2</sub> 条件培养 4 小时后,加入 MTT 染色液,再培养 2 小时后加入消化液于次日测各孔 OD 值,按公式计算 NK 细胞毒活性。

NK 细胞毒活性%=[{靶细胞对照组 OD 均值-(实验组 OD 均值-效应细胞 OD 均值)}/靶细胞对照组 OD 均值]×100%

#### 5.4.2 对正常昆明种小鼠的腹腔巨噬细胞吞噬功能试验

取雄性昆明种小鼠随机分组，按实验设计方案给药，末次给药后各组小鼠腹腔注射 0.5%水解蛋白 1.5ml/只，24 小时后腹腔注射每毫升  $1 \times 10^6$  的鸡红细胞悬液 0.2ml/只；隔 40 分钟后用生理盐水洗脱、收集小鼠腹腔液；离心，取细胞沉淀液制成涂片，用甲醇固定，吉姆萨染色封片，用油镜计数 100 个巨噬细胞中吞噬鸡红血球的巨噬细胞数及吞噬鸡红血球的总数，按下列公式计算吞噬百分比和吞噬指数。

#### 5.4.3 对 Lewis 肺癌 C57BL/6 小鼠的 IL-2 活性试验

采用双抗体夹心 ELISA 法，抗小鼠 IL-2 单抗包被于酶标板上，标本与标准品中的 IL-2 会与单抗结合，游离的成分被洗去，同时加入生物素化的抗小鼠 IL-2 抗体和辣根过氧化物酶标记的亲合素，生物素与亲合素特异性结合；抗小鼠 IL-2 抗体与结合在单抗上的 IL-2 结合而形成免疫复合物，洗去游离的成分。加入显色剂，显示蓝色，加终止液变黄。在 450nm 处测 OD 值，IL-2 浓度与  $OD_{450}$  值之间呈正比，可通过所绘制的标准曲线求得样本中的 IL-2 浓度。

吞噬百分比%=(100 个巨噬细胞中吞噬鸡红血球的巨噬细胞数/100 个巨噬细胞)  $\times$  100%

吞噬指数=100 个巨噬细胞中吞噬鸡红血球的总数/100 个巨噬细胞

## 6 试验结果

6.1 Rg3 冻干粉针剂与胶囊剂治疗肝癌疗效的比较试验结果表 1-2；

6.2 Rg3 冻干粉针剂治疗肠癌、胃癌的疗效试验结果见表 3-4；

6.3 Rg3 冻干粉针剂增加化疗药物疗效试验结果见表 5；

6.4 Rg3 冻干粉针剂减轻化疗药物疗效毒副作用疗效试验结果见表 6；

6.5 Rg3 冻干粉针剂提高机体免疫功能疗效试验结果见表 7-9。

表1 人参皂苷Rg3冻干粉针剂与胶囊剂对人体肝癌 QGY疗效的比较试验结果 (n=3)

样 品	剂 量 mg/kg/次	给药方案	给药总剂 量(mg)	动物数(只)	动物体重(g)		平均生存(d) X±SD	生命延长率 T/C×%
				始/终	开始			
Rg3粉针剂	1.5	iv×14bid	42	6/0	22.3	29.60±2.4***	135.16	
Rg3粉针剂	0.75	iv×14bid	21	6/0	21.7	28.50±3.3***	130.14	
Rg3胶囊剂	3.0	ig×14qd	84	6/0	22.0	28.80±2.8***	131.51	
CTX	30	ip×7qd	210	6/0	21.7	34.50±4.0***	157.53	
阴性对照组	相应辅料	iv×14bid	84	12/0	21.8	21.90±2.35		

\*\*\*与阴性对照组相比, p值<0.01, 以生命延长率>125%以上以抗肿瘤有效计。#胶囊剂商品名:参一胶囊。

表2 人参皂苷Rg3冻干粉针剂与胶囊剂对小鼠黑色素B16  
实验肺转移疗效的比较试验结果 (n=3)

样 品	剂 量 mg/kg/d	给药方案	给药总剂量 (mg)	动物数(只)	动物体重(g)		肺克隆数(只) X±SD	抗转移率 %
				始/终	始/终			
Rg3粉针剂	1.5	iv×14bid	42	10/10	20.1/24.7	20.6±6.8***	55.33	
Rg3粉针剂	0.3	iv×14bid	8.4	10/10	19.8/25.3	26.5±6.1***	42.54	
Rg3胶囊剂	6	ig×10qd	60	10/10	19.8/24.8	22.8±6.7***	50.56	
Rg3胶囊剂	3	ig×10qd	30	10/10	19.9/25.2	27.5±7.7***	40.37	
CTX	100	ip×2qod	200	10/10	19.8/22.6	3.5±3.7***	92.41	
阴性对照组	相应辅料	iv×14bid	42	20/20	19.7/25.3	46.12±12.46		

\*\*\*与阴性对照组相比p值<0.01, 下表同。

表3 人参皂苷 Rg3 冻干粉针剂对人体肠癌 LOVO 疗效试验 (n=3)

样 品	剂 量 mg/kg/d	给药方案	动物数(只)	动物体重(g)		平均生存(d) X̄±SD	生命延长率 T/C×%
			始/终	开始			
Rg3粉针剂	3.0	iv×14bid	6/0	21.5	21.88±5.8***	160.88	
Rg3粉针剂	1.5	iv×14bid	6/0	22.7	21.72±3.1***	159.71	
Rg3粉针剂	0.75	iv×14bid	6/0	22.4	20.30±4.7***	149.26	
Rg3粉针剂	0.375	iv×14bid	6/0	21.9	17.95±3.5***	131.98	
CTX	30	ip×7qd	6/1	22.2	29.20±4.8***	214.71	
阴性对照组	相应辅料	iv×14bid	12/12	21.1	13.60±2.39		

表4 人参皂苷 Rg3 冻干粉针剂对人体胃癌 MGC(原位接种) 疗效试验 (n=3)

样 品	剂 量 mg/kg/d	给药方案	动物数(只)	动物体重(g)		平均生存(d) X̄±SD	生命延长率 T/C×%
			始/终	开始			
Rg3粉针剂	3.0	iv×14bid	6/0	21.2	36.88±3.0***	162.04	
Rg3粉针剂	1.5	iv×14bid	6/0	21.1	35.71±3.1***	156.90	
Rg3粉针剂	0.75	iv×14bid	6/0	20.5	33.15±3.6***	145.65	
Rg3粉针剂	0.375	iv×14bid	6/0	20.4	29.32±4.7***	128.82	
CTX	30	ip×7qd	6/2	21.8	41.20±3.8***	181.02	
阴性对照组	相应辅料	iv×14bid	12/0	20.7	22.76±2.14		

表 5 人参皂苷 Rg3 冻干粉针剂合并 CTX 对小鼠黑色素 B16 转移的疗效试验 (n=3)

样 品	剂 量 mg/kg/d	给药方案	动物数(只) 始/终	动物体重(g) 始/终	肺克隆数(只) X±SD	抗转移率 %
Rg3粉针剂	3.0	iv×14bid	10/10	20.3/25.3	19.1±7.9***	62.03
Rg3粉针剂	1.5	iv×14bid	10/10	20.5/25.2	22.4±6.9***	55.47
Rg3粉针剂	0.75	iv×14bid	10/10	19.5/24.7	27.3±8.7***	45.73
Rg3粉针剂	0.375	iv×14bid	10/10	20.4/25.2	30.2±7.3***	39.96
Rg3+CTX	3.0+15	iv×14bid + ip×7qd	10/10	19.8/23.8	14.1±3.6***	71.97
Rg3+CTX	1.5+15	iv×14bid + ip×7qd	10/10	19.1/24.5	16.3±6.1***	67.59
Rg3+CTX	0.75+15	iv×14bid + ip×7qd	10/10	19.9/24.1	19.2±4.7***	61.83
Rg3+CTX	0.375+15	iv×14bid + ip×7qd	10/10	19.6/24.2	21.9±7.6***	56.46
CTX	15	ip×7qd	10/10	20.2/24.7	26.1±5.2***	48.11
CTX	30	ip×7qd	10/10	19.9/22.6	3.30±2.6***	93.44
阴性对照组	相应辅料	iv×14bid	20/20	20.1/25.5	50.3±13.1	

表 6 人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 冻干粉针剂对化疗药物的增效减毒作用的试验结果 (n=20)

组 别	剂 量 (mg/kg)	平均瘤重 (g, $\bar{x}\pm SD$ )	抑瘤率 (%)	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb (g/L)	RBC (10 <sup>12</sup> /L)	
H <sub>2</sub> O (对照)	1.5×8	1.84±0.85		6.3±0.8	93±2.5	3.2±0.1	
Rg <sub>3</sub>	1.5×8	0.69±0.14**	62.50	8.1±0.2**	109±6.0**	3.7±0.4**	
化 疗 药	CTX	10×3	0.89±0.29**	56.52	3.2±0.5**	82±8.4**	2.8±0.3**
	5FU	25×3	1.08±0.34**	41.30	3.9±0.3**	90±13.0	3.1±0.4
	MTX	5×3	0.27±0.01**	85.32	1.6±0.1**	51±1.0**	1.8±0.1**
	PDD	1×3	1.09±0.30**	40.76	6.0±0.2	90±6.0	3.1±0.2
Rg <sub>3</sub> 粉针剂+CTX	(1.5×8+10×3)	0.48±0.12**	73.91	7.1±0.3**	85±3.6	2.8±0.8	
Rg <sub>3</sub> 粉针剂+5FU	(1.5×3+25×3)	0.95±0.17**	48.37	7.8±0.3**	87±14.0	2.8±0.8	
Rg <sub>3</sub> 粉针剂+MTX	(1.5×8+5×3)	0.20±0.04**	89.13	5.2±0.8*	91±10.0	3.1±1.0	
Rg <sub>3</sub> 粉针剂+PDD	(1.5×8+1×3)	1.03±0.28**	44.02	6.6±0.8*	103±18.0*	3.6±0.5*	

动物移植性肿瘤为小鼠肝癌 (Heps)。与对照组相比, \*P<0.05, \*\*P<0.01, 其他均 P>0.05。

表 7 人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 冻干粉针剂对荷瘤小鼠 NK 活性影响的试验结果

组 别	剂 量 (mg/kg)	给药方案	OD 值 (X)	NK 活性 (%)
Rg <sub>3</sub> 粉针剂	3.00	po×10qod	0.387	42.29**
	0.60	po×10qod	0.351	46.41**
	0.12	po×10qod	0.368	43.82**
对照组	100	po×10qod	0.381	41.83**
人参总皂甙	相应混悬剂	po×10qd	0.525	19.84
			0.655	

\*\*P<0.01, \* 靶细胞对照 OD 均值。

表 8 人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 冻干粉针剂对荷瘤小鼠 IL-2 活性影响的试验结果

组 别	剂 量 (mg/kg)	给药方案	动物数 (只)	IL-2 活性/cpm ( $\bar{X} \pm SD$ )
Rg <sub>3</sub> 粉针剂	3.00	po×10qod	6	2836±326**
	0.60	po×10qod	6	3122±735**
	0.12	po×10qod	6	2414±539**
人参总皂甙	100.00	po×10qod	6	2785±255**
对照组	相应混悬剂	po×10qod	10	1351±127

\*\*P&lt;0.01

表 9 人参皂甙 Rg<sub>3</sub> 对正常小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能影响的试验结果

组 别	剂 量 (mg/kg)	给药方案	吞噬活性( $\bar{X} \pm SD$ )	
			吞噬百分比	吞噬指数
Rg <sub>3</sub> 粉针剂	3.00	po×10qd	31.80±10.00**	0.55±0.11**
	0.60	po×10qd	32.80±10.30**	0.58±0.14**
	0.12	po×10qd	28.70±7.40**	0.50±0.11**
人参总皂甙	100.00	po×10qd	29.60±10.00**	0.55±0.11**
对照组	相应混悬剂	po×10qd	20.90±5.80	0.34±0.10

\*\*P&lt;0.01

## 实施例 48 20(R)-人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 组合物胶囊剂抗疲劳试验

### 1. 20(R)-人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 组合物胶囊剂对小鼠的抗疲劳作用试验

#### 1.1 材料和方法

1.1.1 样品:20(R) 人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 组合物胶囊剂内容物呈白色粉末, 大连富生天然药物开发有限公司提供, 用蒸馏水配置所需浓度。

1.1.2 试验动物:一级昆明雄性小鼠 240 只, 由四川大学实验动物中心提供。(动物合格证号:川实动管质第 67 号)

1.1.3 剂量选择:按人体推荐剂量(10mg/60kg/d)的 10 倍、20 倍、30 倍(相当于动物的 1.67、3.34、5.01mg/kg/d)设低、中、高三个剂量组。

1.1.4 实验方法:按体重大小随机分为一个阴性对照组和三个试验组, 以灌胃方式给样(2%), 每天一次, 阴性对照组给予蒸馏水, 连续 30 天。30 天后分别测定各项指标。

1.1.4.1 负重游泳实验:于末次灌胃后 30 分钟,将小鼠负荷 5%体重的铅皮,放入游泳箱(水深 30cm,水温  $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ )中游泳,记录小鼠自游泳起到死亡的时间即小鼠游泳时间。

1.4.1.2 爬杆实验:于末次灌胃后 30 分钟,将小鼠放于爬杆架的有机玻璃棒上,使其肌肉处于静力紧张状态,记录小鼠因肌肉疲劳从棒上跌下的时间,重复三次,累计连续三次的时间为爬杆时间(秒)。

1.4.1.3 尿素氮、肝糖原测定:分别于末次灌胃后 30 分钟,将小鼠放入游泳箱(水深 30cm,水温  $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ )中游泳 90 分钟,取眼球血测定血清尿氮素含量(二乙酰-肟法),取肝脏测定肝糖原含量(蒽酮法)。

1.4.1.4 乳酸测定:末次灌胃后 30 分钟,眼球取血测定乳酸含量(SBA-生物传感仪器),将小鼠放入游泳箱(水深 30cm,水温  $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ )中游泳 10 分钟,鼠尾根部负荷 4%体重的铅皮,分别于游泳后即刻、游泳后 30 分钟眼球取血再测定乳酸含量。

1.4.1.5 统计分析:实验数据用 SPSS 9.0 统计软件进行方差分析、q 检验或秩和检验。

## 1.2 结果

### 2.1 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂对小鼠体重的影响

从表 1 可见,试验中期和试验结束时各剂量组小鼠体重与对照组比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。

表 1 小鼠体重情况

组数	动物数(只)	初始体重(g)	中期体重(g)	结束体重(g)
阴性对照	57	$20.58 \pm 1.51$	$30.04 \pm 3.44$	$34.04 \pm 4.21$
低剂量组	59	$20.61 \pm 1.43$	$28.34 \pm 2.95$	$33.08 \pm 3.88$
中剂量组	58	$20.71 \pm 1.41$	$29.90 \pm 3.12$	$32.83 \pm 3.65$
高剂量组	58	$20.62 \pm 1.48$	$28.36 \pm 2.77$	$32.34 \pm 3.29$

2.2 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂对小鼠负重游泳时间的影响

见表 2, 低、高剂量组小鼠负重游泳时间较阴性对照组显著延长 ( $P < 0.05$ )。中剂量组与阴性对照组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

表 2 各组小鼠负重游泳试验结果 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组 别	动物数(只)	游泳时间(秒)	P 值 *
阴性对照	14	387 ± 239	
低	14	703 ± 597	<0.05
中	14	519 ± 167	>0.05
高	14	707 ± 430	<0.05

\* 与阴性对照组比较

2.3 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂对小鼠爬杆时间的影响

见表 3, 低、中剂量组爬杆时间明显长于阴性对照组 ( $P < 0.05$ )，高剂量组与阴性对照组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

表 3 各组小鼠爬杆试验结果 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组 别	动物数(只)	爬杆时间(秒)	P 值 *
阴性对照	13	172 ± 115	
低	13	340 ± 153	<0.05
中	13	332 ± 337	<0.05
高	13	183 ± 84	>0.05

\* 与阴性对照组比较

2.4 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂对小鼠运动后血清尿氮素的影响

见表 4, 中、高剂量组小鼠运动后血清尿氮素含量明显低于阴性对照组 ( $P < 0.05$ )，低剂量组与阴性对照组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

表 4 各组小鼠运动后血清尿素氮含量 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组 别	动物数(只)	血清尿素氮含量(mg/dl)	P 值 *
阴性对照	12	27.95 ± 3.32	
低	12	26.66 ± 4.24	>0.05
中	12	24.89 ± 3.70	<0.05
高	12	22.92 ± 2.25	<0.05

\* 与阴性对照组比较

2.5 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂对小鼠运动后肝糖原含量的影响

见表 5，高剂量组小鼠运动后肝糖原含量明显高于阴性对照组 (P<0.05)，其他剂量组与阴性对照组比较无显著性差异 (P>0.05)。

表 5 各组小鼠运动后肝糖原含量 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	动物数(只)	肝糖原含量(mg/dl)	P 值*
阴性对照	15	1817.07±1076.76	
低	14	2327.14±1075.33	>0.05
中	15	1942.53±761.87	>0.05
高	14	2611.78±1049.64	<0.05

\* 与阴性对照组比较

### 2.6 20(R)-人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂对小鼠运动后血乳酸水平的影响

表 6、7 显示，低、中、高三个剂量组小鼠运动后血乳酸升幅和降幅与阴性对照组比较差异均无显著性 (P>0.05)。

表 6 各组小鼠运动后乳酸升高幅度 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	动物数(只)	乳酸含量 (mmol/L)			P 值*
		运动前(A)	运动后 0min(B)	差值(B-A)	
阴性对照	10	2.70±1.50	5.25±1.22	2.56±1.90	
低	13	3.23±1.20	5.68±1.42	2.45±1.57	>0.05
中	14	2.90±1.01	5.15±1.14	2.25±1.12	>0.05
高	13	2.91±0.82	5.60±1.43	2.69±1.49	>0.05

\* 差值(B-A)与阴性对照组比较

表 7 各组小鼠运动后乳酸消除幅度 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	动物数(只)	乳酸含量 (mmol/L)			P 值*
		运动后 0min(B)	运动后 30min(C)	差值(B-C)	
阴性对照	10	5.25±1.22	1.58±0.47	3.68±0.91	
低	13	5.68±1.42	1.83±0.97	3.85±1.24	>0.05
中	14	5.15±1.14	1.92±0.43	3.23±1.14	>0.05
高	13	5.60±1.43	1.78±0.61	3.82±1.31	>0.05

\* 差值(B-C)与阴性对照组比较

### 1.3 小结

20(R)人参皂苷 Rg3 组合物胶囊剂抗疲劳试验结果显示，低、高剂量组小鼠负重游泳时间和低、中剂量组小鼠爬杆时间均显著长于阴性对照组

( $P < 0.05$ )，高剂量组小鼠运动后肝糖原含量明显高于阴性对照组( $P < 0.05$ )，中、高剂量组小鼠运动后血清尿素氮含量明显低于阴性对照组( $P < 0.05$ )，运动后乳酸升幅和降幅与阴性对照组比较差异无显著性( $P > 0.05$ )。按评价标准认为本检品(20(R)人参皂苷Rg3组合物胶囊)具有抗疲劳作用。

#### 实施例49 20(R)-人参皂苷Rg3组合物胶囊剂改善记忆试验

##### 1. 材料与方法

###### 1.1 材料

药品:样品20(R)人参皂苷Rg3组合物颗粒(10毫克/袋)，由富力博士提供。东莨菪碱购自中国药品生物制品检定所。忆恒颗粒(10克/袋)，陕西开元制药有限公司生产。上述药品使用时均用生理盐水配成所需浓度。

动物:昆明种小鼠，雄性18~22克，由吉林大学药学院提供。

仪器:小鼠跳台仪、水迷宫装置由吉林大学药学院自制，接触调压器，中川集团公司上海振华稳压器厂制造。

###### 1.2 方法

###### 1.2.1 跳台法

实验开始前将动物置于实验室适应环境1小时。实验开始时，将动物放在跳台装置放在跳台装置的安全台上，适应环境3分钟，然后同以36伏特电流，动物跳至铜栅时即遭受电击，为错误反应，其正确反应是跳回安全区，如此训练5分钟。24小时后进行测验。测验时将跳台装置同以36伏特电流，然后将动物放在安全台上，记录3分钟内的错误次数。

实验步骤:选健康合格小鼠72只，称重，随机分为6组，每组12只。20(R)人参皂苷Rg3组合物颗粒剂量组分为2.16、6.48、12.96毫克/公斤，阳性对照忆恒

颗粒121.65毫克/公斤，空白对照组和模型组给予生理盐水0.1毫升/10克，每天1次，连续给药7天，于末次给药后1小时，空白对照组腹腔注射等容量生理盐水，模型组、Rg3组合物颗粒实验组、忆恒颗粒阳性对照组分别腹腔注射东莨菪碱4毫克/公斤，10分钟后进行跳台训练，24小时后测验。

### 1.2.2 小鼠迷路法

小鼠迷路装置内设起步区、多盲端曲折回路和安全区(一个台阶)。每天给药1小时后将小鼠放回起步区，诱导其游向安全区，每鼠每天训练10次，每次间隔25秒，以30秒内到达安全区为正确反应，连续训练4天。记录各组动物正确反应次数，计算正确反应百分率及到达安全区的平均时间。

实验步骤:实验步骤:选健康合格小鼠72只，称重，随机分为6组，每组12只。20(R)人参皂苷Rg3组合物颗粒剂量组分为2.16、6.48、12.96毫克/公斤，阳性对照忆恒颗粒121.65毫克/公斤，空白对照组和模型组给予生理盐水0.1毫升/10克，每天1次，连续给药10天。在第7天给药后1小时，于末次给药后1小时，空白对照组腹腔注射等容量生理盐水，模型组、Rg3组合物颗粒实验组、忆恒颗粒阳性对照组分别腹腔注射东莨菪碱4毫克/公斤，10分钟后进行水迷路训练，每天每鼠训练10次，每次间隔25秒，以30秒内到达安全区为正确反应，记录各组动物正确反应次数，计算正确反应百分率。

## 2. 结果

### 2.1 对东莨菪碱所致记忆获得障碍的改善作用(跳台法)

结果如表1所示，模型组与空白对照组相比，错误反应次数数显著增多，表明4毫克/公斤东莨菪碱已造成记忆获得障碍，模型成立；20(R)人参皂苷Rg3组合物颗粒实验组与模型组相比，明显减少了小鼠测验期的错误次数降低，其作

用效果明显优于忆恒颗粒阳性对照组。实验结果证明，20(R)人参皂苷Rg3组合物颗粒对小鼠记忆获得障碍有明显改善作用，可增强小鼠的学习记忆。

表1 Rg3组合物颗粒对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的改善作用 (n=12  $\bar{X}\pm S$ )

组别	剂量 (mg/kg)	n	错误反应次数
正常对照组	—	12	0.37±0.22 <sup>***</sup>
东莨菪碱模型对照组	—	12	3.8±2.35
忆恒颗粒对照组	121.65	12	0.96±0.73 <sup>***</sup>
Rg3组合物颗粒	2.16	12	0.88±0.69 <sup>***</sup>
	6.48	12	0.70±0.36 <sup>***</sup>
	12.96	12	0.44±0.23 <sup>***</sup>

### 2.2对东莨菪碱所致空间辨别障碍的改善作用(水迷路法)

结果如表4所示。模型组小鼠正确反应率较正常对照组显著降低，20(R)人参皂苷Rg3组合物颗粒从训练第2天开始，剂量依赖性地提高小鼠正确反应百分率，对东莨菪碱所致小鼠空间辨别障碍具有显著改善作用。

表2 Rg3组合物颗粒对东莨菪碱所致小鼠空间辨别障碍的改善作用 (n=12  $\bar{X}\pm S$ )

组别	剂量 (mg/kg)	n	正确反应次数		
			第2天	第3天	第4天
正常对照组	—	12	33.11±24.10	42.23±22.14	52.08±31.31
东莨菪碱模型对照组	—	12	8.75±7.21	13.45±8.74	26.58±6.52
忆恒颗粒对照组	121.65	12	10.88±6.64	17.95±17.23	27.96±26.47
Rg3组合物颗粒	2.16	12	10.98±5.12	25.87±14.52	52.71±29.46
	6.48	12	19.25±15.34	35.26±15.49	55.789±23.56
	12.96	12	27.98±17.68	59.80±26.41	61.58±34.64

### 实施例50 20(R)-人参皂苷Rg3组合物消肿止痛愈合伤口试验

#### 1. 材料与方法

1.1 实验动物:30只大鼠(吉林大学药学院实验动物中心提供)，体重250-300克，雌雄各半，随机分三组。

#### 1.2 方法

1.2.1生物学评价动物创伤制模:用8%硫酸钡脱掉大鼠后肢的毛，无皮肤破损，24小时后用3%戊巴比妥钠30毫克/公斤腹腔内麻醉，俯卧位固定于造模装置板

上, 让后将质量为1公斤的打击锤牵拉至10厘米出, 突然垂直落下铁锤, 打击大鼠后肢股部肌肉最丰满处, 即造成急性软组织损伤模型。致伤30分钟后, 用手术刀切开皮肤1.5-3.0厘米深至肌层, 并取出0.5克肌组织。伤口根据分组作相应的处理。实验组贴20(R)人参皂苷Rg3组合(1克溶于1毫升生理盐水中), 阳性对照组涂云南白药(1克白药溶于1毫升生理盐水中), 阴性对照组涂生理盐水, 1次/天。

1.2.2监测指标: 将受试的大鼠根据分组分笼喂养, 创伤后清醒0.5小时, 隔10分钟用一次性塑料棒轻碰大鼠的双后肢创面, 观察2小时(刺激12次)内大鼠舔创面、缩肢反应, 站立时后肢肌肉抖动等疼痛行为反应, 拍摄3天、7天伤口愈合大体情况, 记录创面感染率。7天后将动物处死评估各组动物的体重变化。

1.2.3统计学分析: 采用SPSS10.0统计软件进行统计分析, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 计量资料采用方差分析,  $p < 0.05$ 为差异具有显著性。

## 2 结果

### 2.1 实验后不同组别大鼠清醒后2小时的疼痛行为反应情况

见表1。在舔面、缩肢反应站立时后肢肌肉的抖动等疼痛行为反应, 三组结果方差分析总体比较有显著差异( $p < 0.01$ ); 均数经过两两比较, 人参皂苷Rg3组合物组分别与云南白药、生理盐水组在舔面方面有显著差异( $p < 0.05$ ); 在缩肢反应、肌肉抖动方面无明显差异( $p > 0.05$ )。上述结果表明, 人参皂苷Rg3组合物具有镇痛作用, 且优于云南白药组。

### 2.2 大鼠双后肢创伤后不同组织伤口的感染情况

见表2。三组感染率经过 $\chi^2$ 检验比较有显著差异( $p < 0.01$ ), 说明人参皂苷Rg3组合物组具有抗感染作用, 其对大鼠伤口的感染率明显低于云南白药及生理盐

水对照组。

### 2.3不同组别大鼠伤口修复的大体情况

肉眼观察伤口结果，伤后3天人参皂苷Rg3组合物组伤口干燥、无渗液，创缘皮肤收缩明显；云南白药组伤口有少量分泌物，创缘轻度收缩；生理盐水组伤口大量分泌物，创面面积增大，创缘有脓痂。伤后7天天人参皂苷Rg3组合物组伤口干燥、无感染，伤口基本被肉芽所充填，明显的新生上皮增长；云南白药组伤口面积缩小，少量渗出，仅见薄层肉芽，未见明显的新生上皮增长；生理盐水组伤口脓8渗出较多，伤口面无明显缩小，且形成溃疡面。上述结果表明，天人参皂苷Rg3组合物组在消肿收敛、抑菌和缩短创面愈合的作用明显优于云南白药及生理盐水对照组。

表1 三组大鼠疼痛行为反应的比较

组数	例数	舔创面	所肢反应	抖动
生理对照组	10	1.30±1.50	0.70±1.11	5.30±3.16
云南白药组	10	9.00±2.16	9.40±2.59	10.70±1.33
Rg3组合物颗粒	10	11.20±0.92	11.40±0.84	10.40±1.43

\*与其他两组比较p<0.01

表2 三组大鼠伤口的感染率比较

组别	感染伤口数	未感染伤口数	合计
生理对照组	1	19	20
云南白药组	17	3	20
Rg3组合物颗粒	8	12	20

\*p<0.01

## 权 利 要 求

1. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液,其特征在於:该水溶液中 20(R)-人参皂苷 Rg3 的含量为 0.5~10 毫克/毫升。
2. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液的制备方法,其特征在於:
  - (1) 将原料 20(R)-人参皂苷 Rg3 溶于混合有机溶剂中,制成 0.1~5%的人参皂苷溶液,
  - (2) 分别将 A、B①②⑤两类辅料溶于水中,制成 0.1~30%的辅料水溶液,
  - (3) 将上述人参皂苷溶液一次性加入到 40~100℃的上述辅料水溶液中,其中原料:辅料 A=1:1~300,原料:辅料 B=1:100~400,搅拌 0.1~3 小时即得澄明液,
  - (4) 将澄明液在真空度 0.01~0.08MPa、温度 80~100℃减压回收溶剂至原体积的 2/3~近干,加水至原体积,溶解并减压回收溶剂至近干,再重复上述操作一次,最终加入注射用水或纯化水摇匀溶解。
3. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液,其特征在於:该水溶液中 20(R)-人参皂苷 Rg3 的含量为 0.1~2 毫克/毫升。
4. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液的制备方法,其特征在於:
  - (1) 将原料 20(R)-人参皂苷 Rg3 溶于混合有机溶剂中,制成 0.1~5%的人参皂苷溶液,
  - (2) 分别将 B 类③④组的辅料溶于水中,制成 20~65%的辅料水溶液,
  - (3) 将上述人参皂苷溶液匀速滴加到温度为 60~100℃的上述辅料水溶液中,

其中原料:辅料 B=1:100~400, 并搅拌到滴加入人参皂苷溶液完毕后停止, 即得澄明液,

(4)将澄明液在真空度 0.01~0.08MPa、温度 80~100℃减压回收溶剂至原体积的 2/3~近干, 加水至原体积, 溶解并减压回收溶剂至近干, 再重复上述操作一次, 最终加入注射用水或纯化水摇匀溶解。

5. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性粉末的制备方法, 其特征在于: 制得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液干燥后, 可制得 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性粉末。
6. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物冻干粉针剂的制备方法, 其特征在于: 用原料与辅料 A 或辅料 B ③④制得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液经超滤器加入其重量 0.1% 针剂用活性炭, 混合均匀, 于 80℃ 保温 30 分钟后, 用 0.45 μm 滤膜过滤除热源, 无菌条件下用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌分装, 冷冻干燥。
7. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物冻干粉针剂的制备方法, 其特征在于: 用原料与辅料 A 或辅料 B ③④制得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物水溶液经干燥后制得的 20(R)-人参皂苷 Rg3 水溶性粉末, 再加入注射用水复溶, 加入其重量 0.1% 针剂用活性炭, 混合均匀, 于 80℃ 保温 30 分钟后, 用 0.45 μm 滤膜过滤除热源, 无菌条件下用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌分装, 冷冻干燥。
8. 一种 20(R)-人参皂苷 Rg3 药用组合物, 其特征在于: 它的溶液、水溶性粉末及其药物制剂作为制备抗肿瘤、合并放化疗增效减毒、提高免疫功能、抗疲劳、改善记忆、消肿止痛及愈合伤口药物的应用。

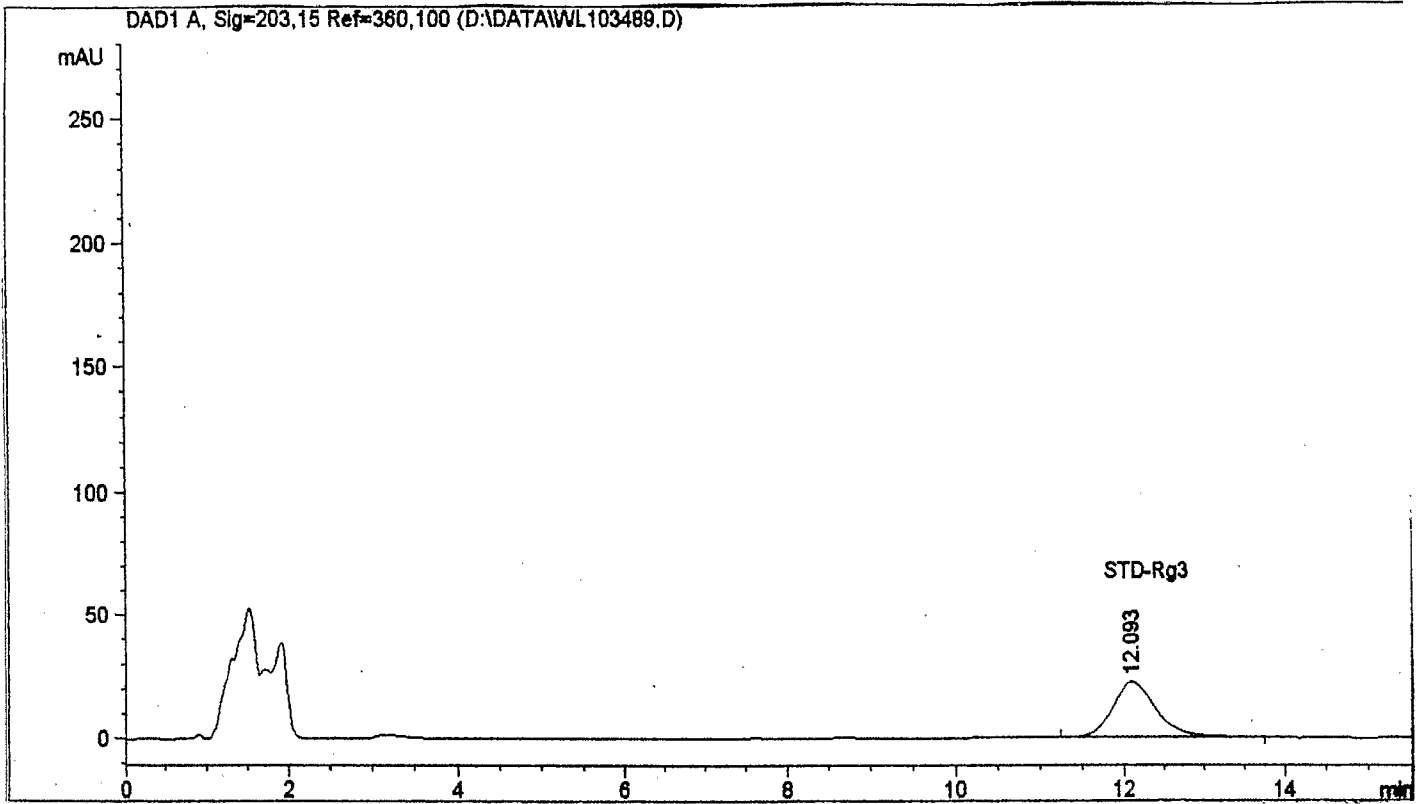


图 1

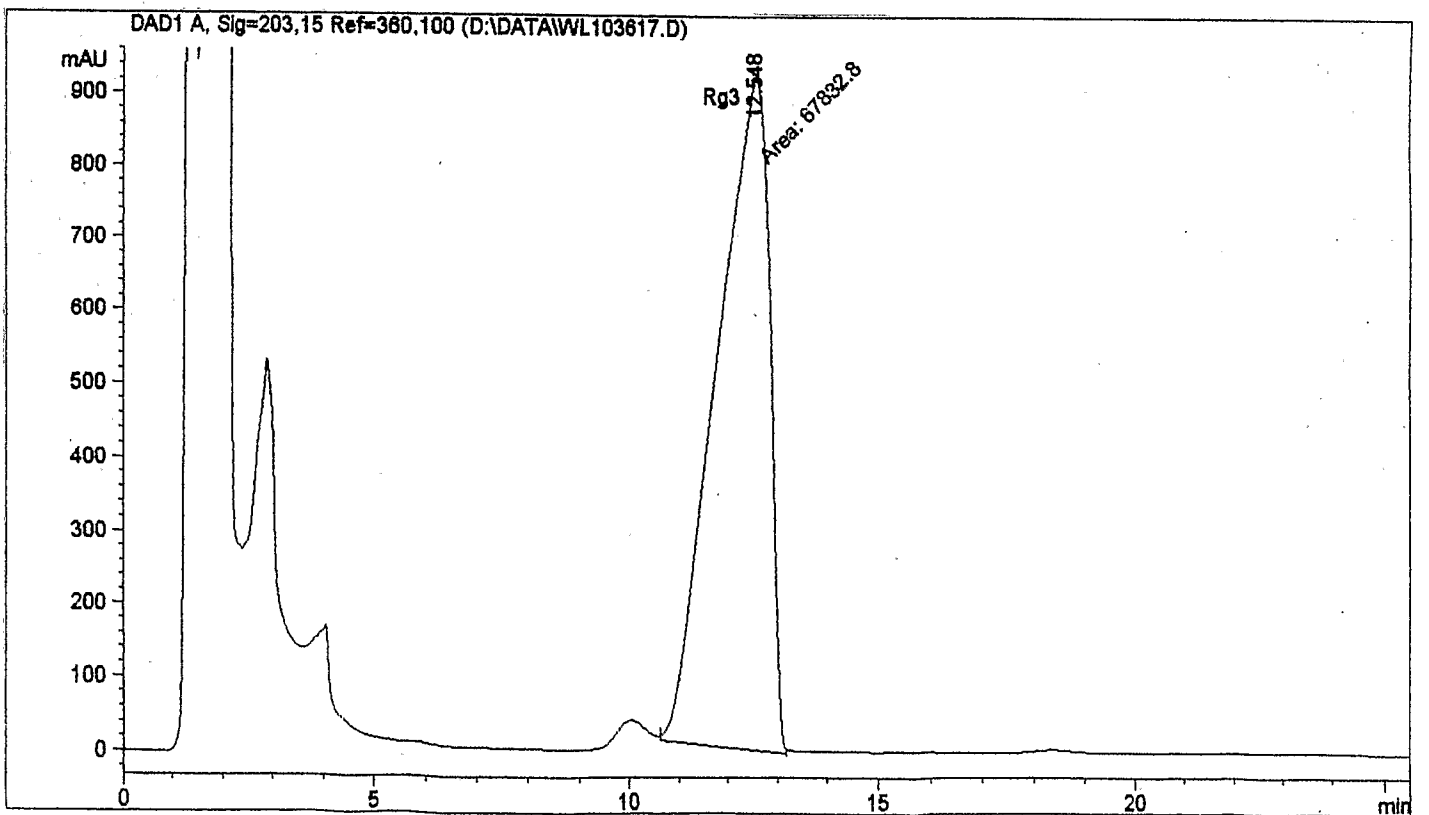


图 2

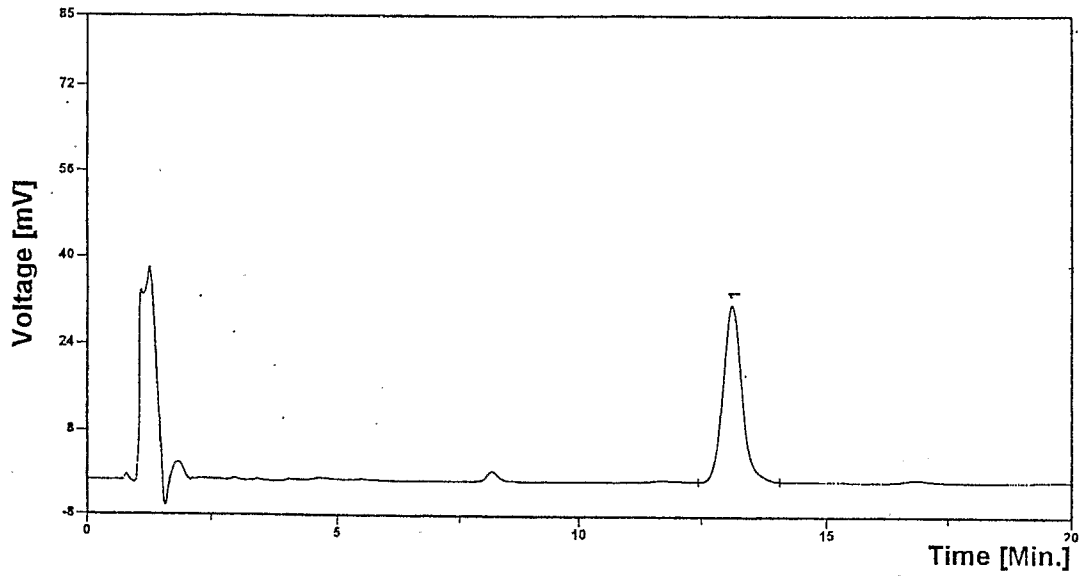


图 3

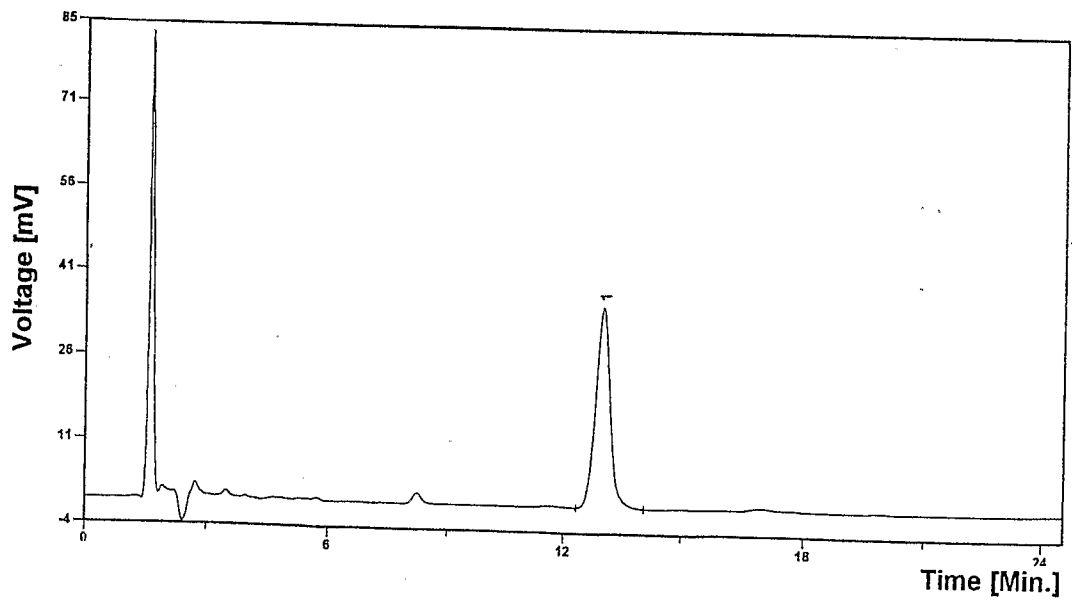
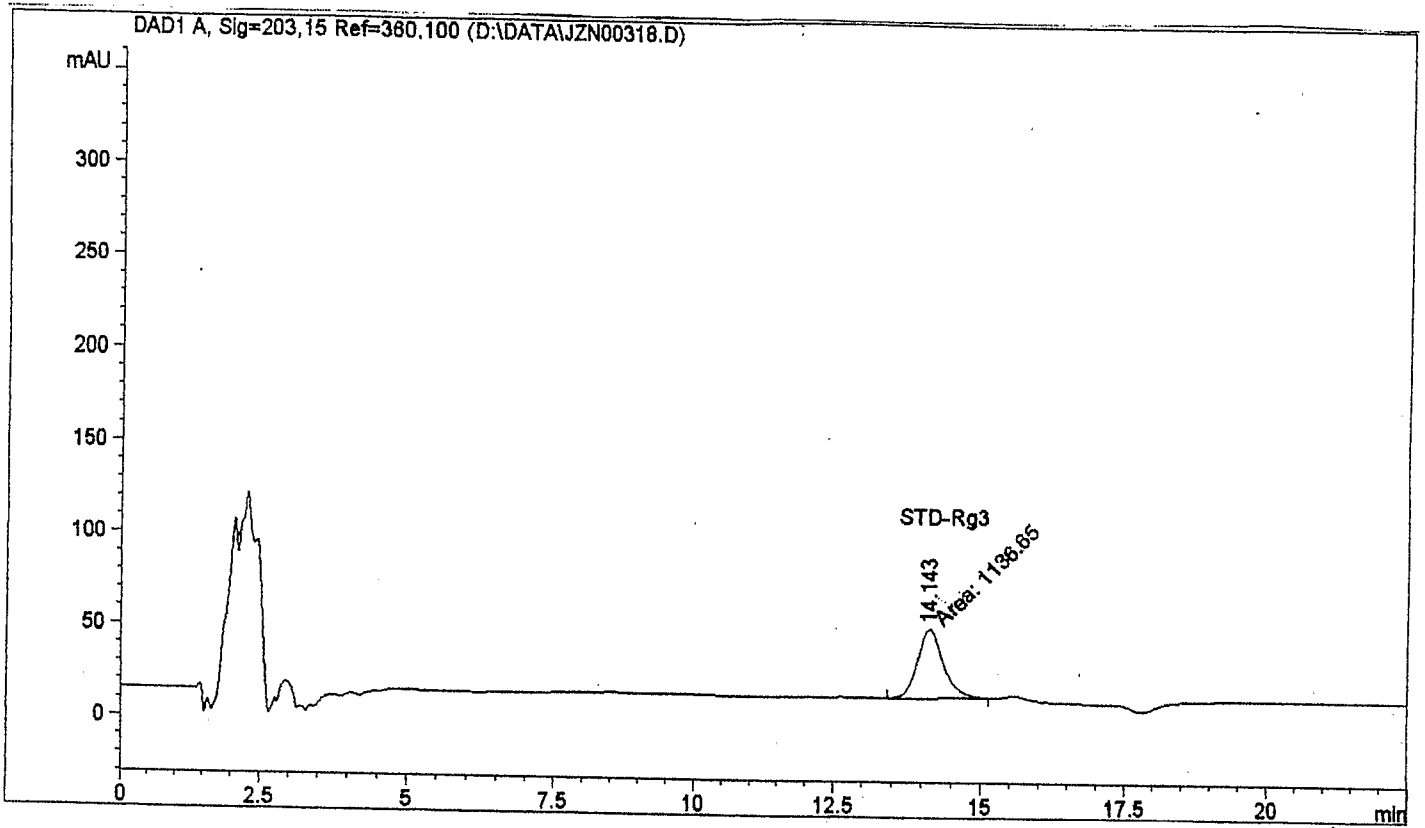
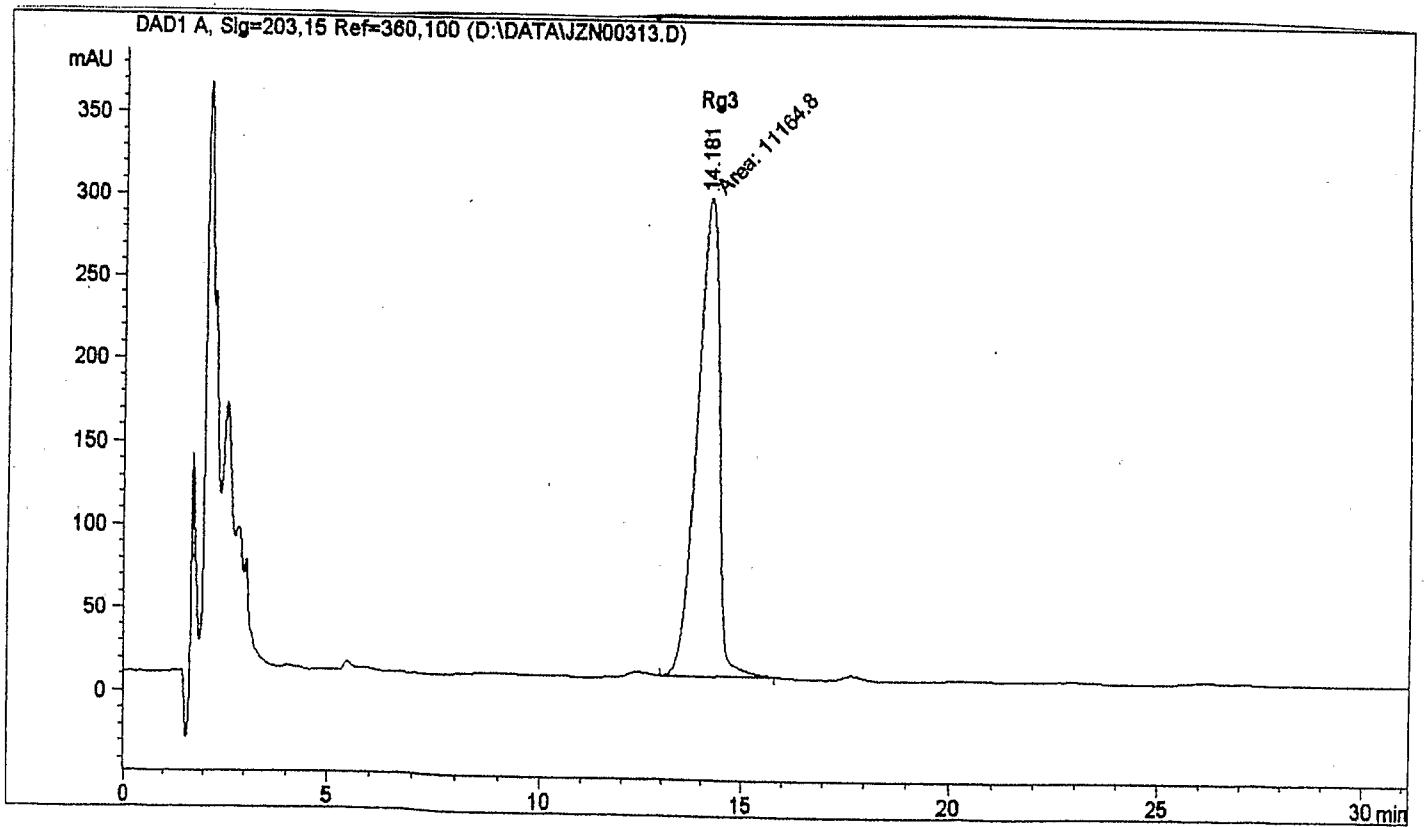


图 4



5



6

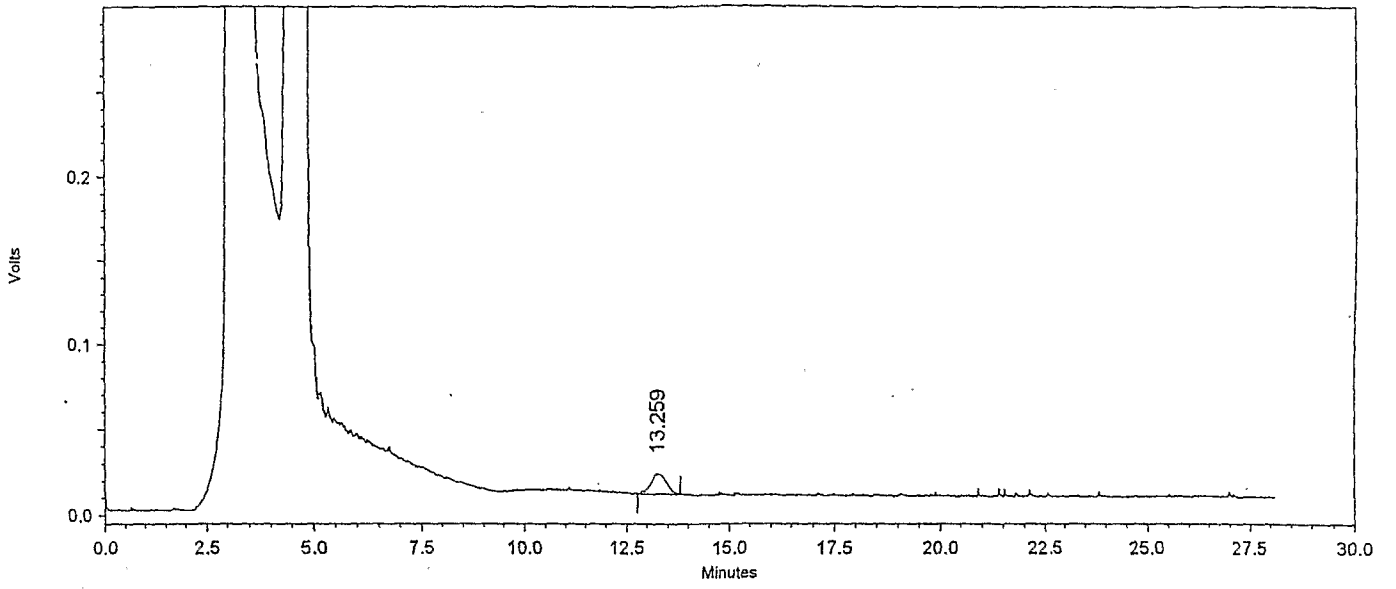


图 7

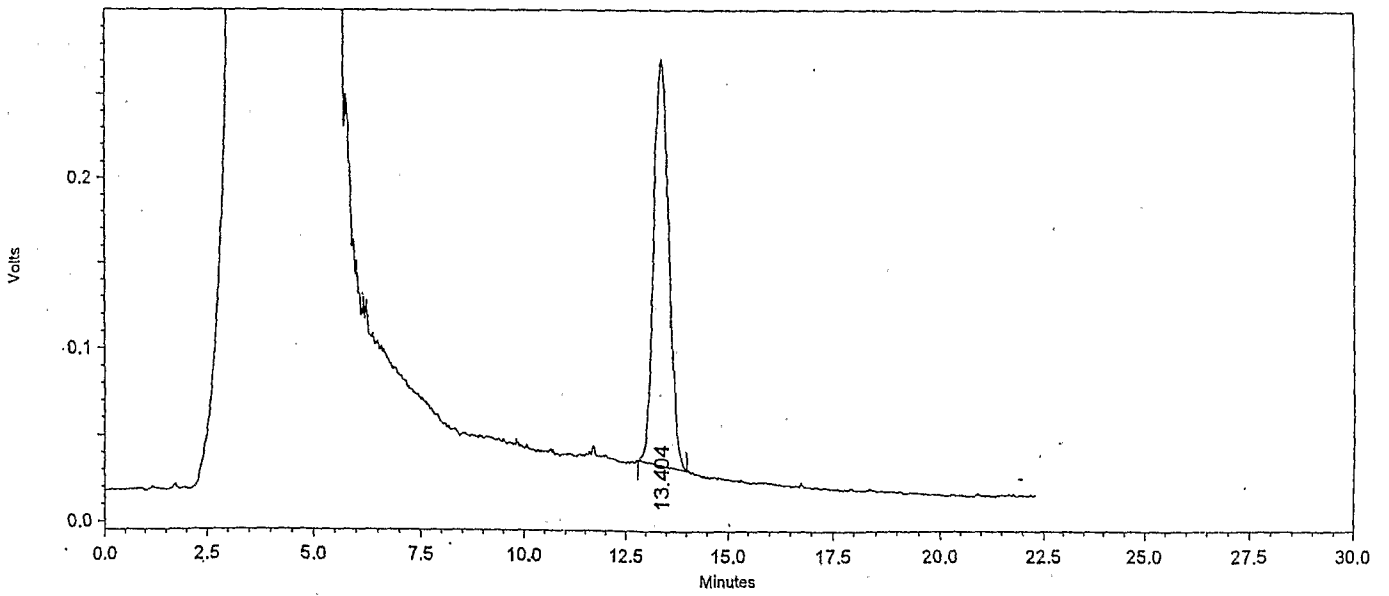


图 8

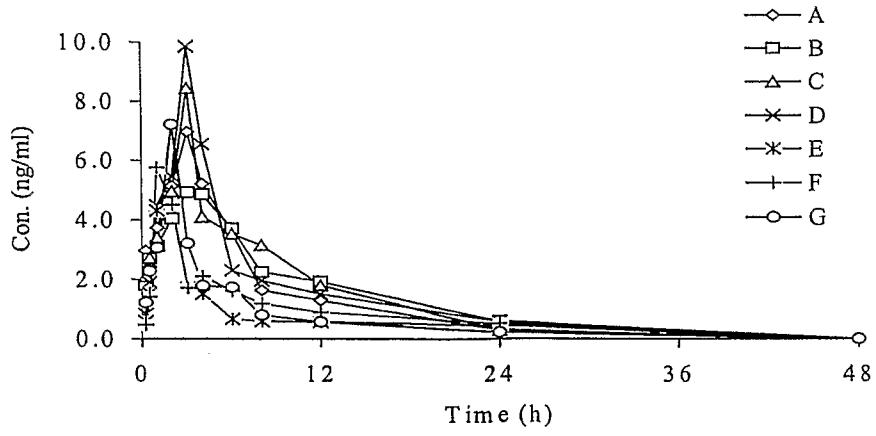


图 9

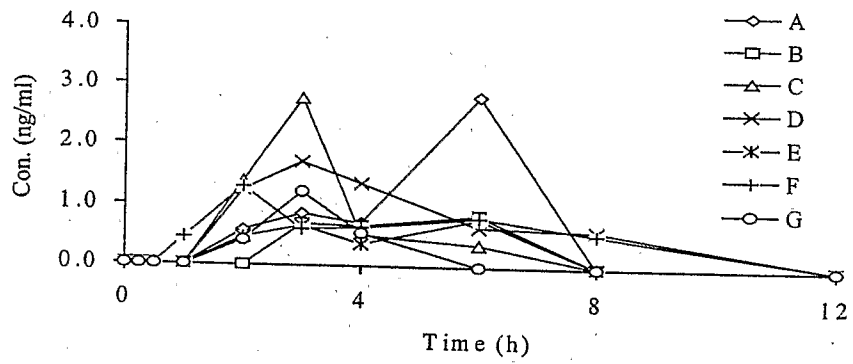


图 10

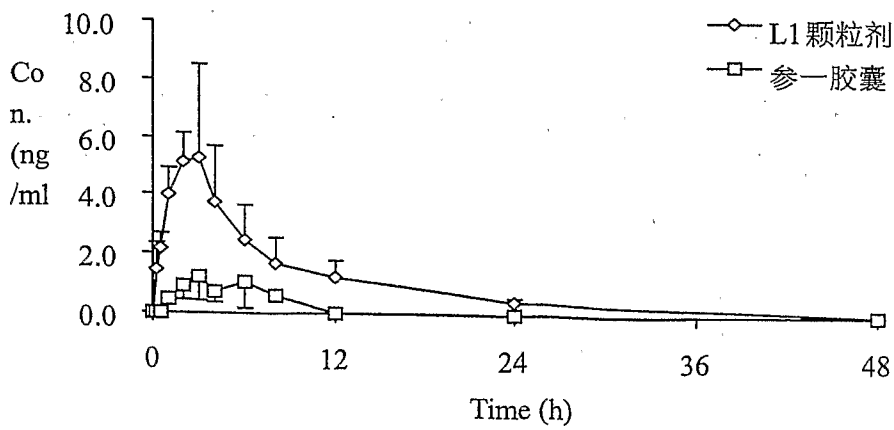


图 11

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2007/001635

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>  <p style="text-align: center;">See extra sheet</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>  <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</p> <p style="text-align: center;">IPC A61K,A61P</p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</p> <p>WPI,EPODOC,PAJ,CNKI,CNPAT, ginsen+/all,panax+/all,saponin+/all,ginsenoside+/all,panaxoside+/all,propanaxadiol+/all,cyclodextrin+/all,Rg3</p>		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN1569012A(SHANDONG LVYE NATURAL DRUG RES & DEV CO),	5-8
A	26 Jan. 2005(26.01.2005), example 1	1-4
X	CN1569011A(SHANDONG LVYE NATURAL DRUG RES & DEV CO),	5-8
A	26 Jan. 2005(26.01.2005), example 1	1-4
X	CN1526405A(SHANDONG LVYE NATURAL DRUG RES & DEV CO),	5-8
A	8 Sep. 2004(08.09.2004), claim 12	1-4
A	CN1393484A(DONG Yingjie), 29 Jan. 2003(29.01.2003), full text	1-8
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&"document member of the same patent family	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 18 Jun.2007(18.06.2007)	Date of mailing of the international search report <b>16 Aug. 2007 (16.08.2007)</b>	
Name and mailing address of the ISA/CN The State Intellectual Property Office, the P.R.China 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China 100088 Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer <b>TIANHONGYANG</b> Telephone No. (86-10)62085325	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2007/001635

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/704(2006.01)i

A61K9/19(2006.01)i

A61P35/00(2006.01)i

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2007/001635

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

This Authority considers that there are eight inventions covered by the claims indicated as follows:

I : claim 1; II: claim 2; III: claim 3; IV: claim 4; V: claim 5; VI: claim 6; VII: claim 7; VIII: claim 8

The same or corresponding technical feature between said eight inventions—"20(R)-ginsenoside Rg3" is known in the art. It neither makes a contribution over the prior art and nor constitutes a "special technical feature", therefore there is no technical relationship among the claimed inventions. Said eight inventions are not so linked as to form a single general invention concept, not meeting the requirements of unity of invention as defined in Rules 13.1 PCT.

But, as all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2007/001635

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1569012 A	26 Jan.2005(26.01.2005)	none	
CN 1569011 A	26 Jan. 2005(26.01.2005)	none	
CN 1526405 A	8 Sep. 2004(08.09.2004)	none	
CN 1393484 A	29 Jan. 2003(29.01.2003)	none	



主题的分类

A61K31/704(2006.01)i

A61K9/19(2006.01)i

A61P35/00(2006.01)i

**第II栏 关于某些权利要求不能作为检索主题的意见(接第1页第2项)**

按条约17(2)(a)对某些权利要求未作国际检索报告的理由如下:

1.  权利要求:  
因为它们涉及到不要求本国际检索单位进行检索的主题, 即:
  
2.  权利要求:  
因为它们涉及到国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索,  
具体地说:
  
3.  权利要求:  
因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

**第III栏 关于缺乏发明单一性时的意见(接第1页第3项)**

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

本国际单位认为权利要求书包括8项发明, 如下所示:

I: 权利要求1; II: 权利要求2; III: 权利要求3; IV: 权利要求4;

V: 权利要求5; VI: 权利要求6; VII: 权利要求7; VIII: 权利要求8;

所述8项发明之间相同或相应的技术特征—“20(R)-人参皂苷 Rg3”是本领域已知的。它没有对改进现有技术作出贡献, 无法构成“特定技术特征”, 因此所述8项发明之间不存在技术关联, 不属于一个总的发明构思, 不具备PCT实施细则13.1规定的发明单一性。

但是, 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本国际检索单位未通知缴纳任何附加费。

1.  由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告针对全部可作检索的权利要求。
2.  由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本国际检索单位未通知缴纳任何附加费。
3.  由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。  
具体地说, 是权利要求:
4.  申请人未按时缴纳被要求的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求中首次提及的发明;  
包含该发明的权利要求是:

关于异议的说明:  申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 缴纳了异议费。

申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 但未缴纳异议费。

缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2007/001635

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN 1569012 A	26.1 月 2005(26.01.2005)	无	
CN 1569011 A	26.1 月 2005(26.01.2005)	无	
CN 1526405 A	8.9 月 2004(08.09.2004)	无	
CN 1393484 A	29.1 月 2003(29.01.2003)	无	