

## 【实验研究】

三七总皂苷调节 iNOS-NO-NF- $\kappa$ B 信号通路抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症研究

冯晓异, 赵 微, 何朋伦, 陈文慧, 姚 政\*

云南中医药大学, 云南 昆明 650500

**摘要:** 目的 探讨三七总皂苷(PNS)对脂多糖(LPS)诱导的RAW264.7细胞iNOS-NO-NF- $\kappa$ B信号通路相关分子表达及活性的影响。方法 MTT比色法检测PNS对RAW264.7细胞增殖的抑制作用;不同浓度PNS(25、50、100  $\mu$ g/mL)干预体外培养LPS诱导的RAW264.7细胞24、48 h后, Griess法检测NO变化; PNS干预24 h后, Western blotting检测iNOS、NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、IKK $\alpha$ 、p-IKK $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达量的变化; PNS干预4 h后, 激光共聚焦显微镜检测NF- $\kappa$ B转位入核情况。结果 PNS浓度大于150  $\mu$ g/mL时, 才表现出显著抑制细胞增殖的作用。25、50、100  $\mu$ g/mL PNS作用于RAW264.7细胞24和48 h后, 与模型组比较, NO生成量均显著降低( $P < 0.001$ )。50、100  $\mu$ g/mL PNS作用于RAW264.7 24 h后, iNOS、NF- $\kappa$ B蛋白表达量显著降低, 磷酸化蛋白p-NF- $\kappa$ B、p-IKK $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 表达水平也显著降低( $P < 0.01$ 、0.001)。与模型组比较, PNS 25、50、100  $\mu$ g/mL组核因子p65入核荧光强度显著降低( $P < 0.01$ 、0.001)。结论 PNS能够显著抑制LPS诱导的RAW264.7细胞iNOS-NO-NF- $\kappa$ B信号通路的活性, 降低细胞炎症反应。

**关键词:** 三七总皂苷; RAW264.7; NO通路; NF- $\kappa$ B通路; 炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)04-0670-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.04.015

Inhibitory functions of *Panax notoginseng* saponins on LPS-induced RAW264.7 cells inflammation via iNOS-NO-NF- $\kappa$ B signaling pathways

FENG Xiaoyi, ZHAO Wei, HE Penglun, CHEN Wenhui, YAO Zheng

Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

**Abstract: Objective** To investigate the effect of *Panax notoginseng* saponins (PNS) on the expression and activity of iNOS-NO-NF- $\kappa$ B signaling pathway related molecules in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 cells *in vitro*. **Methods** RAW264.7 cells were treated with different concentrations (25 — 100  $\mu$ g/mL) of PNS for different periods of time (24 — 48 h). Anti-inflammation effects of PNS in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages were measured based on the detection of nitric oxide (NO) overproduction (Griess method, DAF-FM DA fluorescence assay and NO<sub>2</sub> scavenging assay), and the cell proliferation was measured by MTT assay, the expression of iNOS, NF- $\kappa$ B, p-NF- $\kappa$ B, IKK $\alpha$ , p-IKK $\alpha$ , p-I $\kappa$ B $\alpha$  by Western blot, the NF- $\kappa$ B p65 translocation by confocal laser scanning fluorescence microscopy. **Results** When the concentration of PNS was more than 150  $\mu$ g/mL, the inhibition of cell proliferation was significant. 25, 50, 100  $\mu$ g/mL PNS treated RAW264.7 cells for 24 and 48 h, compared with the model group, NO production was significantly reduced ( $P < 0.001$ ). After PNS (25, 50 and 100  $\mu$ g/mL) was applied to RAW264.7 cells for 24 h, the expression of iNOS, NF- $\kappa$ B proteins and the expression of p-NF- $\kappa$ B, p-IKK $\alpha$ , p-I $\kappa$ B $\alpha$  proteins were all decreased in a dose-dependment manner ( $P < 0.01$ , 0.001). **Conclusion** Taken together, PNS exerts anti-inflammatory effects, by inhibiting the activity of iNOS-NO-NF- $\kappa$ B signaling pathway in LPS-treated RAW264.7 macrophages.

**Key words:** *Panax notoginseng* saponins; RAW264.7 macrophages; NO pathway; NF- $\kappa$ B signal pathway

收稿日期: 2019-09-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81760818、81160492); 云南省应用基础研究计划项目-中医联合专项[2017FF11(-013)]

第一作者: 冯晓异(1982—), 女, 云南昆明人, 博士研究生, 讲师, 研究方向为中西医结合肝病研究。Tel: 18788528520 E-mail: fxymayi8306912@126.com

\*通信作者: 姚 政(1977—), 女, 云南昆明人, 硕士, 副教授, 研究方向为中西医结合肝病研究。Tel: 18908719365 E-mail: 40916758@qq.com

一氧化氮(NO)是细胞间信息交换的重要载体之一,广泛参与生理功能的调节和病理过程的发生<sup>[1-2]</sup>。诱导性一氧化氮合酶(Inducible nitric oxide synthase, iNOS)是NO合成的限速酶<sup>[3-4]</sup>,NO和iNOS的过表达在各组织病理进展中呈明显相关性。氧化应激是多种疾病炎症病变的重要因素,核因子(NF)- $\kappa$ B-iNOS-NO信号通路是机体内重要的氧化应激通路之一<sup>[5]</sup>。在炎症反应中,巨噬细胞表面的膜识别受体受脂多糖(LPS)刺激后激活炎症通路,NF- $\kappa$ B信号通路是炎症信号转导途径中的主要通路之一,LPS刺激巨噬细胞产生大量iNOS,从而诱导NO的产生。NF- $\kappa$ B的活化促使许多编码炎症介质、细胞因子等的促炎基因表达上调,进一步激活iNOS等相关酶类及血管细胞黏附分子,炎症反应得以级联放大<sup>[6]</sup>。NF- $\kappa$ B是调节多种炎症反应和免疫基因表达的一种重要的转录调控因子,其在广泛的病理生理过程中起到调控作用<sup>[7-8]</sup>。

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen的干燥根和根茎,甘,微苦,属云南道地药材,是活血祛瘀、通脉活络的常用临床用药,在治疗血症,尤其是瘀血方面有“金不换”之称,其主要成分三七总皂苷(*Panax notoginseng* saponins, PNS)在祛瘀活血、消肿止痛、抗炎及免疫调节方面起到了主要作用<sup>[9-11]</sup>。三七的抗炎作用最早在《本草纲目》中记载,曰“金刃箭伤,跌扑杖疮,血出不止者,嚼烂涂,或为末掺之,其血即止……”,认为三七兼具止血及抗炎作用。近期研究结果显示,PNS可能通过抑制NF- $\kappa$ B活性,降低肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )RNA的表达,对棕榈酸诱导的Hep G2肝细胞炎症损伤具有保护作用<sup>[12-14]</sup>。本研究通过探讨PNS对RAW264.7细胞的抑制作用、对iNOS-NO-NF- $\kappa$ B信号通路及对核因子转位入核的影响,进一步从细胞水平阐明其可能的抗炎机制,以期对PNS抗炎的机制研究及中药材的临床应用奠定理论基础。

## 1 材料

### 1.1 细胞

RAW264.7细胞株购于中国科学院典型培养物保藏中心昆明细胞库,编号KCB200603YJ。

### 1.2 药物及主要试剂

PNS,购自西安天宝生物科技有限公司,批号TB20171210,白色粉末,总皂苷质量分数 $\geq 95\%$ ,三七皂苷R<sub>1</sub> $\geq 5\%$ ,人参皂苷Rg<sub>1</sub> $\geq 28\%$ ,人参皂苷Re $\geq 3\%$ ,人参皂苷Rb<sub>1</sub> $\geq 35\%$ ,人参皂苷Rd $\geq 8\%$ 。

脂多糖(LPS),购自Sigma公司;0.9%氯化钠溶液,购自中国大家制药有限公司,批号SO97A62;DMEM培养基,购自Gibco公司,批号197285;胎牛血清,购自Gibco公司,批号42Q1627K;0.25%胰蛋白酶,购自MP Biochemicals,批号MR29724;iNOS、NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、IKK $\alpha$ 、p-IKK $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 抗体,均购自CST。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

使用含10%胎牛血清的DMEM培养基,于温度37℃、湿度100%、CO<sub>2</sub>浓度为5%的培养箱内培养细胞,选择对数生长期的细胞进行各项实验。

### 2.2 MTT法测定PNS对RAW264.7细胞增殖活性的影响

取对数生长期的RAW264.7细胞,离心后弃去旧培养基,加入新鲜培养基,以 $8 \times 10^4$ /孔的细胞量接种于96孔板,每孔100  $\mu$ L,培养24 h。分别加入终质量浓度为37.5、75.0、150.0、300.0、600.0  $\mu$ g/mL的PNS,对照组不加药,设置3个复孔,同时设置空白孔(不接种细胞、不加药)。孵育24、48 h后向各孔加入20  $\mu$ L MTT溶液(5 mg/mL),继续培养4 h后吸去上清,最终每孔加入150  $\mu$ L DMSO,震荡15 min,充分溶解后使用酶标仪检测各孔490 nm处吸光度(A)值,计算细胞存活率,实验重复3次。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.3 Griess法测定PNS对RAW264.7细胞NO产生的影响

RAW264.7细胞接种于96T板,培养24 h后,加入25、50、100  $\mu$ g/mL的PNS,同时加入终浓度1  $\mu$ g/mL的LPS分别刺激24、48 h,显微镜下观察细胞形态的变化,利用Griess法检测一氧化氮的生成。

### 2.4 Western blotting检测iNOS、NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、IKK $\alpha$ 、p-IKK $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 的蛋白表达量的变化

取对数生长期的RAW264.7细胞离心接种于6孔板中,细胞浓度为 $2 \times 10^6$ /孔,最终体积为2 mL,培养24 h。每孔弃去培养液100  $\mu$ L,加入100  $\mu$ L PNS稀释液,使其终质量浓度分别为25、50、100  $\mu$ g/mL,同时加入终浓度1  $\mu$ g/mL的LPS,对照组不加药和LPS,模型组不加药,继续培养24 h。收集各组细胞后用蛋白裂解液提取细胞总蛋白,用BCA法进行蛋白定量,蛋白变性后各取30  $\mu$ g蛋白进行SDS-PAGE电泳,转膜至NC膜,4℃孵育一抗过夜。PBST洗膜后室温孵育二抗1 h。PBST洗膜,ECL显色后在TAINAN凝胶成像仪上曝光检测条带,用Image J软件进行条带灰度分析。

## 2.5 激光共聚焦显微镜检测NF- $\kappa$ B进入细胞核的变化

RAW264.7细胞按 $1 \times 10^6$ 孔的细胞量接种于含有拓片的12孔板内,培养24 h,实验分组、药物浓度同“2.4”项,同时使用终浓度为 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的LPS刺激,给药后继续培养4 h,取出拓片,用PBS清洗3遍,4%多聚甲醛固定30 min,PBS清洗3遍,用FDB封闭30 min,用NF- $\kappa$ B p56抗体室温孵育1 h,Cy3-羊抗兔IgG抗体室温孵育1 h后,用激光共聚焦显微镜进行检测。

## 2.6 统计学方法

采用SPSS 17.0软件包进行统计学分析,计量资料符合正态性,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK法。如果资料不符合正态性进行非参数检验。

## 3 结果

### 3.1 PNS抑制RAW264.7细胞增殖

如表1所示,PNS浓度大于 $150 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,才表现出明显抑制细胞增殖的作用。PNS作用于RAW264.7细胞24 h的 $\text{IC}_{50}$ 为 $(238.52 \pm 6.45) \mu\text{g}/\text{mL}$ ,48 h的 $\text{IC}_{50}$ 为 $(181.53 \pm 10.79) \mu\text{g}/\text{mL}$ 。



图1 PNS对RAW264.7细胞形态影响

Fig. 1 Effects of PNS on morphology of RAW264.7 cells

### 3.3 PNS抑制RAW264.7细胞NO的产生及iNOS的蛋白表达量

**3.3.1 不同给药时间对RAW264.7细胞NO产生量的影响** 图2结果显示,与对照组比较,模型组NO生成量显著升高( $P < 0.001$ );25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PNS作用于RAW264.7细胞24和48 h后,与模型组比较,NO生成量均显著降低( $P < 0.001$ )。

**3.3.2 PNS对iNOS表达量的影响** Western blotting结果显示,与对照组比较,模型组iNOS表达量显著升高( $P < 0.001$ );PNS作用于RAW264.7细胞24 h后,25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组iNOS表达量均较模型组显著降低( $P < 0.001$ ),结果见图3。

### 3.4 PNS对RAW264.7细胞NF- $\kappa$ B、IKK $\alpha$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 磷酸化水平的影响

NF- $\kappa$ B信号通路中RelA(p65)NF- $\kappa$ B通过与I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白结合形成复合体,而失去与DNA结合核

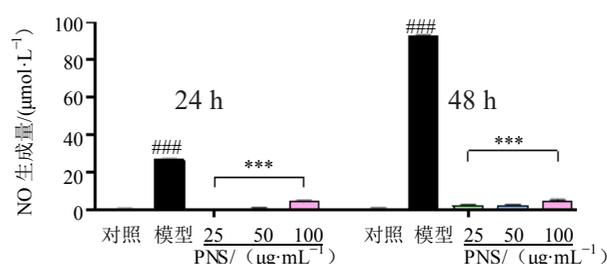
表1 PNS不同作用时间对RAW264.7细胞的存活率影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Effects of PNS on cell viability of RAW264.7 by different time ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

PNS/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	细胞存活率/%	
	24 h	48 h
0	100	100
37.5	97 $\pm$ 1	97 $\pm$ 1
75.0	97 $\pm$ 1	96 $\pm$ 5
150.0	75 $\pm$ 2	58 $\pm$ 5
300.0	36 $\pm$ 3	22 $\pm$ 4
600.0	24 $\pm$ 1	14 $\pm$ 2

### 3.2 RAW264.7细胞形态特征

各组RAW264.7细胞形态如图1所示,正常RAW264.7细胞呈圆形或椭圆形,LPS刺激诱导24 h,模型组细胞体积明显增大,多呈圆形,梭形细胞增多。与模型组比较,PNS给药组细胞形态趋于正常形态,尤以50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PNS组更为明显。



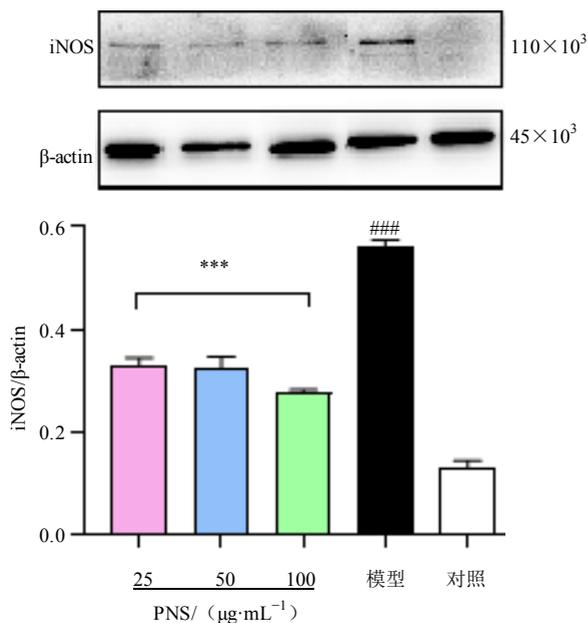
与对照组比较:### $P < 0.001$ ;与模型组比较:\*\*\* $P < 0.001$

### $P < 0.001$  vs control group;\*\*\* $P < 0.001$  vs model group

图2 PNS对LPS刺激的RAW264.7细胞NO产生量的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 2 Effects of PNS on NO production of LPS-induced RAW264.7 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

转位能力,游离在细胞之中。当受到LPS刺激后激活IKK $\alpha$ 和 $\beta$ 磷酸化,重新游离到细胞质中,激活RelA(p65)NF- $\kappa$ B-I $\kappa$ B $\alpha$ 复合体,使I $\kappa$ B $\alpha$ 解离,恢复RelA(p65)NF- $\kappa$ B与DNA结合和核转位能力,



与对照组比较:### $P < 0.001$ ;与模型组比较:\*\*\* $P < 0.001$

### $P < 0.001$  vs control group; \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

图3 PNS对LPS诱导的RAW264.7细胞iNOS蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 3 Effects of PNS on protein expression of LPS induced iNOS in RAW264.7 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

进入细胞核内调控炎症蛋白和因子的表达。Western blotting结果显示,与对照组比较,模型组NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、p-IKK $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 相对表达量均显著升高( $P < 0.001$ );PNS作用于RAW264.7细胞24 h后,100、50  $\mu$ g/mL组NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、p-IKK $\alpha$ 、p-

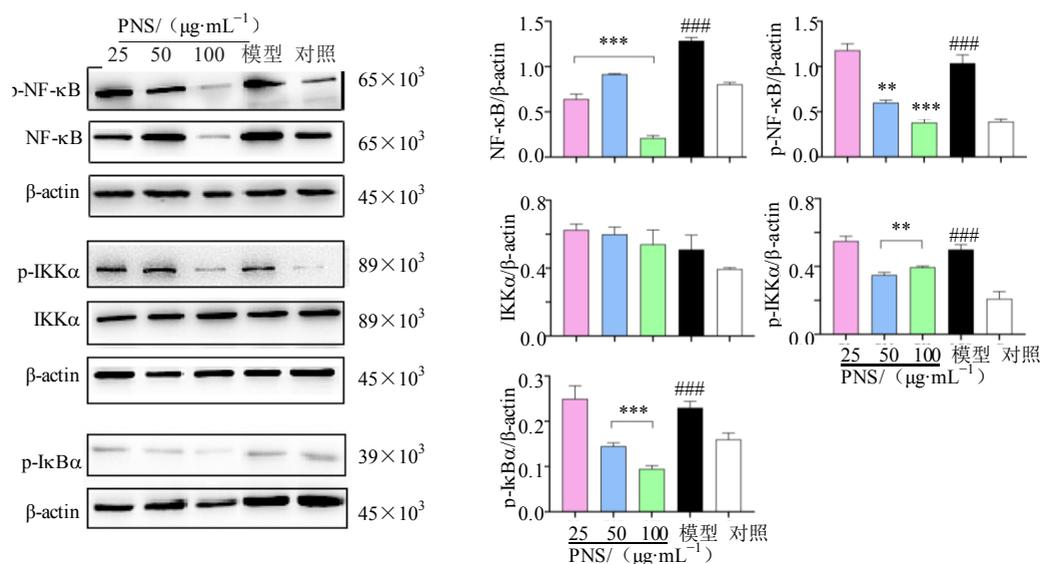
I $\kappa$ B $\alpha$ 的相对表达量较模型组显著降低( $P < 0.01$ 、0.001),而IKK $\alpha$ 的变化无统计学意义,见图4。

### 3.5 PNS减少p-NF- $\kappa$ B复合物转位入核

NF- $\kappa$ B信号通路的活化导致核因子p65的磷酸化,进而转位入核作用于靶基因,介导炎症因子的表达。通过细胞免疫化学发光观察PNS对核因子p65转位入核的影响。如图5所示,LPS刺激后,RAW264.7细胞产生的p65几乎全部转位入核,细胞核被染成红色,随着PNS处理浓度的增加,细胞核的红色逐渐变淡,可见PNS可以显著的抑制p65的磷酸化,阻止p65的入核;同时可以看到p65在细胞质中的均匀分散。采用ImageJ对多通道图像中的两种荧光染料的空间重叠进行共定位和平均荧光强度分析(图5),Pearson's系数介于0.598 902 31~0.747 824 51之间,重叠系数(Overlap R)为0.906 581 4~0.991 014 7,说明有较高的共定位程度。DAPI荧光强度各组间无差异,与对照组比较,模型组核因子p65入核荧光强度显著增强;与模型组比较,PNS 25、50、100  $\mu$ g/mL组核因子p65入核荧光强度显著降低( $P < 0.01$ 、0.001)。

## 4 讨论

机体受到来自内部或外部的刺激时会产生炎症反应,适度的炎症反应可起到保护机体的作用,但长期、剧烈的炎症反应会参与多种疾病的病理进程,如肿瘤等<sup>[15]</sup>。炎症过程中会诱导产生大量的iNOS,iNOS上含有多种细胞因子的结合位点,可很



与对照组比较:### $P < 0.001$ ;与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$

### $P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

图4 PNS对LPS诱导的RAW264.7细胞NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、IKK $\alpha$ 、p-IKK $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 4 Effects of PNS on protein expression of LPS-induced NF- $\kappa$ B, p-NF- $\kappa$ B, IKK $\alpha$ , p-IKK $\alpha$ , and p-I $\kappa$ B $\alpha$  in RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

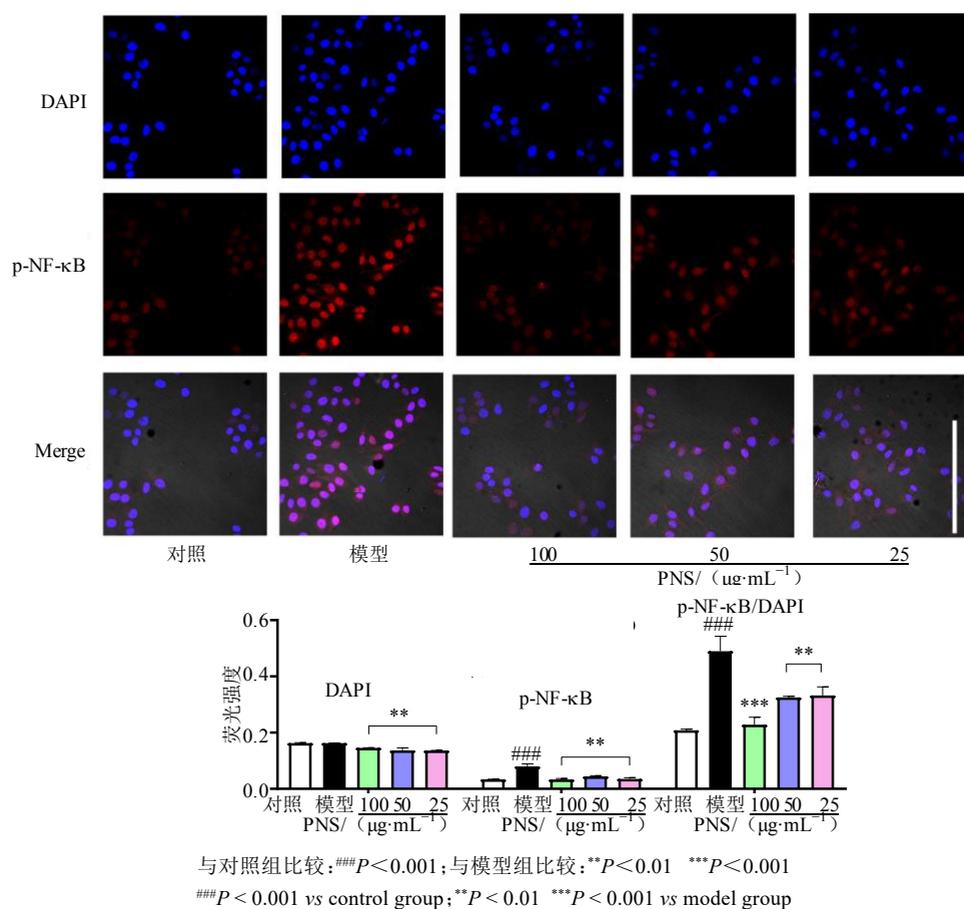


图5 PNS对LPS活化的RAW264.7细胞NF-κB p65转位入核的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 5 Effects of PNS on NF-κB p65 translocation to nucleus of LPS-induced RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

快从转录水平上调免疫细胞或其他内源免疫反应组织的活性,进一步释放NO<sup>[16]</sup>,NO与O<sup>2</sup>结合生成一种更强的氧化剂ONOO<sup>-</sup>,而导致自由基反应加剧、细胞损伤。病理条件下iNOS强表达是脏器损伤和加重的重要原因,同时NO可弥散入细胞抑制三羧酸循环,抑制线粒体呼吸链上某些限速酶,干扰能量代谢,减少ATP合成,加剧组织损伤。炎症过程中NF-κB处于活化状态,从而促使炎症基因表达上调、激活iNOS等相关酶类及血管细胞黏附分子,使炎症反应级联放大;NF-κB活化二聚体可易位进入细胞核内与靶基因发生特异性结合,从而调控NO的生成和细胞因子的表达和释放。

三七是常用活血化瘀药,三七皂苷是三七的主要生理活性成分,主要包括三七皂苷R<sub>1</sub>、人参皂苷Rb<sub>1</sub>和Rg<sub>1</sub>,PNS可通过抑制炎症因子的表达而抑制免疫过度反应对器官、组织的损伤,发挥免疫调节作用<sup>[17]</sup>。因此,本研究以RAW264.7细胞作为载体,采用LPS建立体外细胞炎症模型,探讨PNS对LPS诱导的RAW264.7细胞功能的调控作用。

本研究发现,PNS可抑制LPS诱导的炎症细胞NO的产生量,并呈现浓度相关性,验证了PNS的抗炎活性,实验采用RAW264.7细胞IC<sub>50</sub>浓度以下的PNS浓度进行抗炎活性研究,说明PNS并非通过抑制细胞活力来抑制NO的分泌。100、50 μg/mL的PNS可以显著下调NF-κB、p-NF-κB、p-IKKα、p-IκBα的蛋白表达水平;激光共聚焦实验结果显示,在LPS诱导的炎症过程中,RAW264.7细胞产生的NF-κB p65几乎全部转位入核,随着PNS处理浓度的增加,可显著的抑制NF-κB p65的磷酸化,阻止p65转位入核,进一步揭示了PNS可通过iNOS-NO-NF-κB信号通路,抑制LPS诱导的炎症反应。

本研究结果表明,PNS可显著抑制LPS诱导的RAW264.7细胞中炎症因子NO、iNOS的产生,并能下调RAW264.7细胞磷酸化NF-κB、IκB蛋白表达水平,表明PNS能通过调节iNOS-NO-NF-κB信号通路,抑制炎症反应,从细胞水平初步探讨了PNS抗炎的作用机制,为PNS抗炎的机制研究及中药材的临床应用奠定理论基础。

参考文献

- [1] Yasuko I, Moon Y K. Nitric oxide in liver diseases [J]. Trends Pharmacol Sci, 2015, 36(8): 524-536.
- [2] Zhao Y, Zheng J, Yu Y. *Panax notoginseng* saponins regulate macrophage polarization under hyperglycemic condition via NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. BioMed Res Int, 2018, 2018: 9239354.
- [3] 钟艳梅, 陈坚平, 陈淑玲, 等. 知母皂苷通过调节NF- $\kappa$ B-iNOS-NO信号通路抑制LPS诱导的RAW264.7细胞功能 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 198-202.
- [4] Ye Y Z, Shan Y L, Bao C Y, et al. Ginsenoside Rg<sub>1</sub> protects against hind-limb ischemia reperfusion induced lung injury via NF- $\kappa$ B/COX-2 signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 60: 96-103.
- [5] Lisakovska O, Shymanskyi I, Mazanova A, et al. Vitamin D3 protects against prednisolone-induced liver injury associated with the impairment of the hepatic NF- $\kappa$ B/iNOS/NO pathway [J]. Biochem Cell Biol, 2017, 95(2): 213-222.
- [6] Askari V R, Baradaran Rahimi V, Rezaee S A, et al. Auraptene regulates Th1/Th2/Treg balances, NF- $\kappa$ B nuclear localization and nitric oxide production in normal and Th2 provoked situations in human isolated lymphocytes [J]. Phytomedicine, 2018, 43: 1-10.
- [7] Baig M S, Zaichick S V, Mao M, et al. NOS1-derived nitric oxide promotes NF- $\kappa$ B transcriptional activity through inhibition of suppressor of cytokine signaling-1 [J]. J Exp Med, 2015, 212(10): 1725-1738.
- [8] 李航, 熊璟, 周全荣. 重要调控核因子- $\kappa$ B活化的研究进展 [J]. 中医药学报, 2007, 35(2): 54-56.
- [9] 赵学敏(清). 本草纲目拾遗 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1963.
- [10] 王莹, 褚扬, 李伟, 等. 三七中皂苷成分及其药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1381-1392.
- [11] Wang Y, Peng D Z, Huang W H, et al. Mechanism of altered TNF- $\alpha$  expression by macrophage and the modulatory effect of *Panax notoginseng* saponins in scald mice [J]. Burns, 2006, 32: 846-852.
- [12] 王勇, 黄文华, 彭代智. 三七总皂苷对烫伤后核因子- $\kappa$ B及肿瘤坏死因子的影响 [J]. 医药导报, 2001, 20(5): 279-284.
- [13] 宋勇, 张琪娟, 肖晓秋, 等. 三七总皂苷对棕榈酸诱导的Hep G2细胞炎症反应的保护作用 [J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(6): 535-539.
- [14] Li J, Xie Z Z, Tang Y B, et al. Ginsenoside-Rd, a purified component from *panax notoginseng* saponins, prevents atherosclerosis in apoE knockout mice [J]. Eur J Pharmacol, 2011, 652: 106-110.
- [15] 魏伟. 炎症免疫反应软调节 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(3): 297-303.
- [16] 王艳, 丁虹, 肖庚富. 一氧化氮介导的肿瘤治疗研究进展 [J]. 癌症, 2004, 23(4): 476-479
- [17] Peng X X, Zhang S H, Wang X L, et al. *Panax Notoginseng* flower saponins (PNFS) inhibit LPS-stimulated NO overproduction and iNOS gene overexpression via the suppression of TLR4-mediated MAPK/NF-kappa B signaling pathways in RAW264.7 macrophages [J]. Chin Med, 2015, 10: 15.