

三七素的药理作用研究进展

张希^{1,2}, 王文倩³, 许旭东², 田瑜^{2*}, 尚海^{2*}

1. 哈尔滨商业大学 药学院 (药物工程技术研究中心), 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

3. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 三七素是一种天然存在的非蛋白氨基酸, 主要存在于三七中。三七素具有多种药理作用, 文献报道最多的是止血作用。此外, 三七素还具有神经保护作用、减轻糖尿病肾病损伤作用、抗炎作用及降血糖等作用。近年来对三七素的相关研究逐渐增多, 主要综述三七素的药理作用研究进展, 期望为今后三七素的进一步研究和开发利用提供参考。

关键词: 三七素; 药理作用; 研究进展

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2019)10-3192-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.10.064

Research progress on pharmacological effects of dencichine

ZHANG Xi^{1,2}, WANG Wen-qian³, XU Dong-xu², TIAN Yu², SHANG Hai²

1. College of Pharmacy (Pharmaceutical Engineering Technology Research Center), Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Dencichine is a naturally occurring non-protein amino acid mainly found in *Panax pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkill) Hoo & Tseng. Dencichine has a variety of biological activities, and the most reported in the literature is hemostatic activity. In addition, dencichine also has neuroprotective activities, alleviation of the damage of diabetic nephropathy, anti-inflammatory effects, and hypoglycemic effects. In recent years, the related research on dencichine has gradually increased. Research progress on pharmacological effects of dencichine is reviewed in this paper, and to provide reference for further research, development, and utilization of the future.

Key words: dencichine; pharmacological effects; research progress

三七素也称田七氨酸, 主要来源于五加科人参属植物三七 *Panax pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkill) Hoo & Tseng, 是一种天然存在的非蛋白氨基酸^[1]。1964年, Rao等^[2]从家山黧豆 *Lathyrus sativus* Linn.的种子中首次分离得到了一种天然氨基酸, 确认其结构为 β -草酰基-L- α , β -二氨基丙酸, 简称 β -ODAP, 也称L-OA₂pr₃。1981年, Kosuge等^[3]从五加科属植物三七根的水溶性成分

中, 发现并分离出一种具有强止血活性的氨基酸成分, 经化学降解和光谱分析确定, 其化学结构正是 β -ODAP, 即L-三七素(三七素), 并将其首次命名为dencichine^[4]。三七素是无色板状结晶, 分子式为C₅H₈N₂O₅, 相对分子质量为176.13^[5]。三七素的C₂位是一个手性碳原子, 故三七素有两个手性异构体L型和D型。三七素作为一种特殊的非蛋白游离氨基酸, 在自然界中含量很少, 从天然植物中分离得

收稿日期: 2019-09-18

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(7192129); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-1-012)

作者简介: 张希(1992—), 男, 在读硕士生。E-mail: 18800467885@163.com

*通信作者 田瑜(1983—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事天然产物结构改造、生物活性及靶标研究。E-mail: ytian@implad.ac.cn

尚海(1983—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事中药及天然药物的研究与开发。E-mail: hshang@implad.ac.cn

到的均为L型^[6]。现代医学研究表明三七素具有止血、神经保护、抗炎、降血糖以及减轻糖尿病肾病损伤等多种药理活性。因此,本文综述了三七素药理作用的研究进展,为后续三七素的深入研究与开发提供参考。

1 止血作用

术后大出血、胃肠道大量出血、中枢神经系统内出血以及除生理性出血外的诸多病理性出血等,均可直接导致机体生命垂危。在三七素的药理活性中,以止血作用最为突出。通过小鼠出血和凝血实验模型验证,发现三七素的止血活性优于氨甲环酸,是目前已知三七素止血活性最强的单体活性成分^[7]。三七素止血作用的具体作用机制主要集中在缩短凝血时间、增加血小板数以及增加血小板聚集等方面。

1.1 缩短凝血时间

临床研究表明血小板作为重要的止血成分,在修复伤口和血管损伤时可形成血栓,进而发挥止血作用^[8]。血小板的止血功能主要与凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)和活化部分凝血活酶时间(APTT)密切相关。在三七素发挥止血作用过程中,研究人员对三七素如何影响上述3个凝血指标的情况进行了研究。张玉萍等^[9]采用玻片法测定了3组不同剂量三七素(12.5、25、50 mg/kg)对小鼠凝血时间的影响,结果表明与对照组相比,各组三七素均能不同程度地缩短凝血时间,且呈现出剂量相关性。其中高浓度三七素组的凝血时间为(47.0±21.6) s,凝血效果最为显著。随后,其又通过光电比浊法,考察了不同剂量三七素(18、36、72 mg/kg)对TT、PT和APTT的影响。实验结果表明,与对照组相比,三七素组可呈剂量相关性地显著缩短TT、PT和APTT,进而达到快速止血的目的,止血效果越显著。王珍等^[10]采用毛细血管法测定不同剂量三七素(40、20、10、5 mg/kg)对小鼠凝血时间的影响,实验结果表明各剂量三七素均可以缩短凝血时间,凝血时间随剂量增加而缩短。其中,40 mg/kg三七素组的小鼠凝血时间可达到(25.5±2.32) s。提示三七素可以通过缩短凝血时间,来达到快速止血的目的。

1.2 增加血小板生成数

很多临床常见的抗肿瘤药物在延缓癌症患者生命的同时,也带来了不可忽视的副作用。第2代铂类化疗药物卡铂会导致严重的骨髓造血功能紊乱,从而引发血小板减少症,严重时亦可危及生命。Ding

等^[11]采用卡铂诱导的小鼠血小板减少模型,考察了不同剂量三七素对小鼠血小板数量的影响。结果表明与模型组相比,0.75、1.5、3.0 mg/kg三七素组血小板数量分别增加18%、29%、32%,说明三七素治疗可显著增加外周血中的血小板数量。Prislovsky等^[12]对血小板数量增加的潜在机制进行研究,采用光学法和双标记血小板法分别测定血小板的生成率和清除率,与模型组相比,3 mg/kg三七素组的小血小板生成率增加4%,而各组清除率基本不变。提示三七素可通过增加血小板数量来止血,其血小板数量增加的作用机制是通过提高血小板的生成率实现的,与血小板清除率无关。

另有研究表明JAK2-STAT3/5信号通路参与了巨核细胞生成和血小板生成过程^[13-14],此外,可调节血小板生成信号通路还有ERK1/2和AKT信号通路。ERK1/2是参与巨核细胞黏附和迁移的重要细胞信号转导途径^[15-16],AKT途径则对调节巨核细胞成熟和血小板释放至关重要^[17]。Ding^[11]等进一步考察了三七素对卡铂诱导的小鼠血小板数量减少的影响。实验结果表明,与模型组相比,三七素可诱导MEG-01细胞中ERK1/2快速而短暂的磷酸化并加快AKT的激活,表现为纤维蛋白原附着率明显增加,血小板的释放加快且呈剂量相关性。提示三七素可以通过ERK1/2和Akt信号通路,增强巨核细胞黏附和加速血小板的释放,从而抑制卡铂诱导的小鼠血小板数量减少,达到快速止血的功效。

1.3 增加血小板聚集

近年来研究发现,三七素的止血机制不仅是通过增加血小板数量,减少出血时间来止血,通过增加血小板的聚集同样也可以达到止血的功效。有研究表明 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸(AMPA)受体是一种新型的抗血栓形成靶点,可通过参与激活血小板而止血^[18]。Huang等^[19]考察了三七素在发挥止血作用中对AMPA受体的影响。实验结果表明,经三七素处理过后,血小板内钙离子的浓度显著升高,血小板的聚集率明显提高。利用酶联免疫吸附法,发现三七素组可显著增加血小板激动剂血栓素A₂(TXA₂)的含量,并抑制血小板内环磷酸腺苷(cAMP)水平,从而促进血小板聚集^[20-22]。三七素组的小血小板聚集率可提高12%,极大地加快了凝血速度。但是随着加入AMPA受体阻断剂6-氰基-7-硝基咪唑啉-2,3-二酮之后,三七素组的小血小板聚集作用被影响,三七素的止血作用也被阻断,

因此推测三七素是通过激活血小板上的 AMPA 受体, 从而实现激活血小板, 增加血小板聚集, 进而发挥止血功能的。

王珍等^[10]采用全血电阻法考察了不同剂量三七素(40、20、10、5 mg/kg)对 ADP 和胶原诱导的血小板聚集率的影响。实验结果表明, 各剂量三七素能明显促进 ADP 及胶原诱导的大鼠血小板聚集, 进而起到促进凝血的作用。此外, 其对 SD 大鼠纤溶系统的主要成分纤溶酶原激活剂(t-PA)和纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1)进行探究, 发现在 40 mg/kg 的剂量下, 三七素可明显增加 t-PA 和 PAI-1 的含量, 抑制纤溶系统的活化, 从而降低纤维蛋白的溶解。提示三七素可通过诱导血小板聚集, 以及增加纤溶成分 t-PA、PAI-1 的水平, 进而增强其止血的作用。

2 神经保护作用

临床研究表明低剂量的谷氨酸会增强神经保护, 高剂量的谷氨酸会损害神经系统。长期食用含三七素的豆科植物, 会出现不可逆的运动功能失调及神经元坏死^[23]。三七素作为一种谷氨酸类似物, 在低剂量的情况下, 同样像谷氨酸一样能够产生一定的神经保护作用。姜珊^[24]采用 MTT 法和酶联免疫检测法考察了不同剂量三七素(5、2.5、1、0.25、0.01 mmol/L)对 PC12 细胞活力和数量的影响。实验结果表明, 随着给药剂量的减少, 细胞活性逐渐增强。在最低剂量的 0.01 mmol/L 组, 神经细胞的存活率最高。姜珊^[24]进一步建立谷氨酸损伤模型, 测定了不同剂量三七素(0.01、5 mmol/L)对谷氨酸损伤细胞的保护作用, 利用 MTT 法和 PI/Hoechst 双重染色法来评估细胞的活力和损伤程度, 结果表明 0.01 mmol/L 三七素组同高剂量组相比, 可显著减轻谷氨酸导致的 PC12 细胞损伤、增加细胞活力, 其细胞存活率较谷氨酸对照组显著提高, 而 5 mmol/L 高剂量组的细胞存活率显著降低。提示高剂量三七素不仅对细胞不具有保护作用, 甚至可能致死细胞, 而低浓度、低剂量下的三七素, 则对神经细胞具有一定的保护作用。

3 减轻糖尿病肾病损伤作用

三七在肾脏疾病的治疗中有着广泛的应用, 通过调节机体血流动力学, 预防肾脏中氧自由基的形成, 显著减少糖尿病肾病患者尿蛋白排泄^[25]。三七可以通过调控 Smad2/3 信号通路介导肾纤维化, 抑制肾细胞外基质(ECM)沉积, 延缓肾纤维化^[26]。

Li 等^[27]对三七中可以减轻糖尿病肾病的症状的活性成分进行深入研究, 采用链脲佐菌素(STZ)诱导的大鼠糖尿病肾病模型, 评价三七粉和三七素对大鼠血糖变化的影响。实验结果表明, 三七粉和三七素组血糖浓度均下降, 80 mg/kg 三七素组下降幅度最大, 提示三七中减轻糖尿病肾病的主要活性成分为三七素。其为进一步阐明血糖浓度下降的原因, 对大鼠的肾脏切片进行 Masson 染色、PAS 染色和免疫荧光。较于模型组, 三七素组的 Masson 染色显示肾间质纤维化得到缓解, PAS 染色显示系膜细胞增殖和系膜基质增生明显被抑制, 免疫荧光显示三七素能调节 MMP-9 和 TIMP-1 之间的平衡, 使之向细胞外基质(ECM)分解的方向发展, 促进多余的 ECM 降解, 防止肾纤维化的发生。已有文献证明, TGF- β /Smad 信号通路是 ECM 积累的主要途径, Western blotting 结果显示, 较于对照组, 三七素组显著降低转生长因子- β 1(TGF- β 1)和 Smad2/3 蛋白的表达, 从而降低 ECM 积累。综上所述, 三七素可明显降低 STZ 诱导的大鼠血糖浓度, 通过调节 TGF- β /Smad 信号通路抑制 ECM 聚积并促进 ECM 的降解, 达到抗纤维化的目的, 从而改善或延缓晚期糖尿病肾损伤以及糖尿病肾病。

4 抗炎作用

溃疡性结肠炎是结肠和直肠慢性非特异性炎症性疾病, 临床表现为血性腹泻、腹痛、便血等, 同时出现并发症如中毒性结肠扩张、肠穿孔、大出血、息肉甚至癌变而危及生命。窦薇等^[28]建立溃疡性结肠炎模型, 从小鼠的体质量、血便发生率和结肠组织病理程度考察。实验结果表明, 同对照组相比, 三七素组小鼠体质量减轻幅度为 4.3%, 血便发生率下降至 53.3%, 结肠组织溃疡愈合, 黏膜下层出血减轻。提示三七素能明显改善溃疡性结肠炎小鼠的体重减轻症状和血便率, 并且对结肠黏膜损伤具有修复作用。

5 其他

伤口修复是一个复杂的过程, 涉及细胞迁移、细胞增殖、细胞外基质沉积、血管生成等, 可分为炎症、增殖和重塑 3 个主要阶段。整个过程需要各种信号分子、细胞因子、激素、细胞和蛋白酶的协调作用。Eslavath 等^[29]发现三七素能在有氧条件下, 稳定低氧诱导因子(HIF-1 α), 从而触发缺氧反应元件(HRE)控制基因的表达。而 HRE 的表达则可以促进伤口组织再生所需的细胞增殖, 从而达到伤口

修复的目的。Sharma 等^[30]采用单层划痕法评价三七素对体外细胞迁移的影响,实验结果显示,经不同浓度的三七素处理后,细胞迁移增加,随着三七素剂量的增加,高剂量浓度(250 $\mu\text{mol/L}$)三七素组可促进伤口愈合,对伤口修复的覆盖率可扩大到85%。此外,其还进一步制备了含有三七素的药物凝胶,观察其对Wistar白化病大鼠全层切除伤口愈合的影响,取第2天和第10天的创面组织进行免疫印迹试验和酶谱分析,结果显示三七素可显著地促进体外创面的愈合。提示三七素可通过调控HIF-1 α 影响细胞增殖、迁移和血管的生成促进伤口的愈合。

6 结语

随着对三七素药理作用研究的不断深入,其越来越多的生物活性逐渐被人们所发现,对三七素的药理作用机制研究也已经深入到分子水平。在三七素的几种药理作用中,止血作用的研究最为广泛和深入,随着这些研究的逐步拓展,将有助于其在临床中应用于治疗出血症状。目前,对三七素的化学合成、药理作用和作用机制等研究已取得了很大进展,本文通过对三七素的药理作用研究进展进行了综述,以期有效、合理地开发三七素并应用于临床提供参考。

参考文献

- [1] Ghosh B, Mitra J, Chakraborty S, et al. Simple detection methods for antinutritive factor β -ODAP present in *Lathyrus sativus* L. by high pressure liquid chromatography and thin layer chromatography [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): 0140649.
- [2] Rao S L, Adiga P R, Sarma P S. The isolation and characterization of β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid: a neurotoxin from the seeds of *Lathyrus sativus* [J]. *Biochemistry*, 1964, 3(3): 432-436.
- [3] Kosuge T, Yokota M, Ochiai A. Studies on antihemorrhagic principles in the crude drugs for hemostatics. II. on antihemorrhagic principle in *Sanchi Ginseng Radix* [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1981, 101(7): 629-632.
- [4] Rao S L. Chemical synthesis of N beta-oxalyl-L-alpha, beta-diaminopropionic acid and optical specificity in its neurotoxic action [J]. *Biochemistry*, 1975, 14(23): 5218-5221.
- [5] 夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等.三七化学成分的研究历程和概况 [J]. *中草药*, 2014, 45(17): 2564-2570.
- [6] 于元琛,李 佳,汪海洋,等.三七素的研究进展 [J]. *食品与药品*, 2013, 15(4): 291-293.
- [7] 张 勇.三七素临床前药代动力学和雷贝拉唑抑制剂生

物等效性研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.

- [8] Tantry U S, Bliden K P, Suarez T A, et al. Hypercoagulability, platelet function, inflammation and coronary artery disease acuity: results of the thrombotic risk progression (TRIP) study [J]. *Platelets*, 2010, 21(5): 360-367.
- [9] 张玉萍,余 琼.三七素的止血活性及其神经毒作用实验研究 [J]. *山东中医杂志*, 2010(1): 43-45.
- [10] 王 珍,杨靖亚,宋书杰,等.三七素对凝血功能的影响及止血机制 [J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(3): 356-359.
- [11] Ding S, Wang M, Fang S, et al. D-dencichine regulates thrombopoiesis by promoting megakaryocyte adhesion, migration and proplatelet formation [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 297.
- [12] Prislowsky A, Marathe B, Hosni A, et al. Rapid platelet turnover in WASP(-) mice correlates with increased ex vivo phagocytosis of opsonized WASP(-) platelets [J]. *Exp Hematol*, 2008, 36: 609-623.
- [13] Drachman J G, Griffin J D, Kaushansky K. The c-mpl ligand (thrombopoietin) stimulates tyrosine phosphorylation of Jak2, Shc, and c-Mpl [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(10): 4979-4982.
- [14] Inagaki K. Induction of megakaryocytopoiesis and thrombocytopoiesis by JTZ-132, a novel small molecule with thrombopoietin mimetic activities [J]. *Blood*, 2004, 104(1): 58-64.
- [15] Mazharian A, Watson S P, Séverin S. Critical role for ERK1/2 in bone marrow and fetal liver-derived primary megakaryocyte differentiation, motility, and proplatelet formation [J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(10): 1238-1249.
- [16] Chen S, Du C, Shen M, et al. Sympathetic stimulation facilitates thrombopoiesis by promoting megakaryocyte adhesion, migration and proplatelet formation [J]. *Blood*, 2015, 127(8): 1024.
- [17] Séverin S, Ghevaert C, Mazharian A. The mitogen-activated protein kinase signaling pathways: role in megakaryocyte differentiation [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(1): 17-26.
- [18] Morrell C N, Sun H, Ikeda M, et al. Glutamate mediates platelet activation through the AMPA receptor [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(3): 575-584.
- [19] Huang L F, Shi H L, Gao B, et al. Decichine enhances hemostasis of activated platelets via AMPA receptors [J]. *Thromb Res*, 2014, 133(5): 848-854.
- [20] Zhang Y H, Chung K H, Ryu C K, et al. Antiplatelet effect of 2-chloro-3-(4-acetophenyl)-amino-1,4-naphthoquinone (NQ301): a possible mechanism through inhibition of intracellular Ca^{2+} mobilization [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001,

- 24(6): 618-622.
- [21] Hsiao G, Shen M Y, Chou D S, *et al.* Mechanisms of antiplatelet and antithrombotic activity of midazolam in *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Eur J Pharm*, 2004, 487(1/3): 159-166.
- [22] Mazurov A V, Menshikov M Y, Leytin V L, *et al.* Decrease of platelet aggregation and spreading via inhibition of the cAMP phosphodiesterase by trapidil [J]. *FEBS Lett*, 1984, 172(2): 167-171.
- [23] Quanle X, Fengjuan L, Peng C, *et al.* β -N-Oxalyl-L- α , β -diaminopropionic Acid (β -ODAP) content in lathyrus sativus: the integration of nitrogen and sulfur metabolism through β -cyanoalanine synthase [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 526.
- [24] 姜 珊. 低剂量三七素的神经保护作用研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2012.
- [25] Weil E J, Lemley K V, Mason C C, *et al.* Podocyte detachment and reduced glomerular capillary endothelial fenestration promote kidney disease in type 2 diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2012, 82(9): 1010-1017.
- [26] Derynck R, Zhang Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- β family signaling [J]. *Nature*, 2003, 425(6958): 577-584.
- [27] Li J, Qiu P C, He Q Y, *et al.* Dencichine ameliorates kidney injury in induced type II diabetic nephropathy via the TGF- β /Smad signalling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 812: 196-205.
- [28] 窦 薇, 王峥涛, 张晶晶, 等. 三七素的用途 [P]. 中国: 104771387A, 2015-07-15.
- [29] Eslavath R K, Sharma D, Bin Omar N A M, *et al.* β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid induces HRE expression by inhibiting HIF-prolyl hydroxylase-2 in normoxic conditions [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791: 405-411.
- [30] Sharma D, Singh P, Singh S S. β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid induces wound healing by stabilizing HIF-1 α and modulating associated protein expression [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 9-19.