

不同来源三七茎叶提取物中有效成分的测定及调血脂作用

林立真^{1,2}, 刘洪霞³, 李 涛¹, 黄熙凯³, 李晓敏^{3,4*}, 赵余庆^{1*}

1. 延边大学药学院, 长白山天然药物研究教育部重点实验室, 吉林 延吉 133002

2. 辽宁新中现代医药有限公司, 辽宁 本溪 117000

3. 完美(广东)日用品有限公司, 广东 中山 528402

4. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 对比不同来源及不同工艺所得的三七 *Panax notoginseng* 茎叶提取物(DRNJE)中皂苷、黄酮、多糖含量的差别及其调血脂作用。**方法** 以溶剂梯度萃取法石油醚脱脂、醋酸乙酯提取黄酮、水饱和正丁醇提取皂苷, 多糖水溶液按氯仿-正丁醇-水为 25:4:1 除去蛋白质。采用紫外分光光度计测定 DRNJE 中皂苷、黄酮、多糖含量并采用 HPLC 法测定人参皂苷 Rb₃、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rc 的含量。采用胰脂肪酶及油酸诱导的人肝癌 HepG2 细胞对 DRNJE 进行调血脂作用的研究。**结果** 大孔树脂/离子交换脱色处理后 Y0729、J0801、J1020、Y1114、J1031、R1001 的总皂苷含量高、单体皂苷含量高、总体功效成分含量高。对于脂肪酶抑制活性由高到低为 Y0729>J1031>J1020>R1001>Y1114>J0801>Q0901>Q1001>W1107>W1101。根据油红 O 染色结果可知, DRNJE 均具有调血脂作用, 其中 Y0729、J1020、J1031、R1001 效果较好。**结论** 经大孔树脂/离子交换脱色处理后的 DRNJE 其皂苷、黄酮、功效成分含量高, 其中皂苷含量高的 DRNJE 对脂肪酶和油酸诱导的 HepG2 细胞调血脂作用效果显著。

关键词: 三七茎叶提取物; 皂苷; 黄酮; 多糖; 人参皂苷 Rb₃; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rc; 调血脂作用

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)03-1101-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.03.026

Determination of effective components in extracts from stems and leaves of *Panax notoginseng* from different sources and their lipid-regulating effects

LIN Lizhen^{1,2}, WANG Baodong³, LI Tao¹, LIU Hongxia³, LI Xiaomin^{3,4}, ZHAO Yuqing¹

1. Key Laboratory of Natural Medicines of the Changbai Mountain, Ministry of Education, College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China

2. Liaoning Xinzhong Modern Medicine Co., Ltd., Benxi 117000, China

3. Perfect (Guangdong) Commodity Co., Ltd., Zhongshan, 528402, China

4. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, 110016, China

Abstract: Objective To compare the contents of saponins, flavonoids and polysaccharides in the extracts of stems and leaves of *Panax notoginseng* from different sources and different processes (DRNJE) and to study their lipid-regulating effects. **Methods** The solvent gradient extraction method was used to remove protein by degreasing with petroleum ether, extracting flavonoids with ethyl acetate, extracting saponins with water-saturated n-butanol and adjusting the ratio of chloroform to n-butanol to 25:4:1. The contents of saponins, flavonoids and polysaccharides in the stem and leaf extracts of *P. notoginseng* were determined by ultraviolet spectrophotometer, and the contents of monomer saponins Rb₃, Rb₁ and Rc were simultaneously detected by HPLC. HepG2 cells induced by pancreatic lipase and oleic acid were used to study the lipid-regulating effect of DRNJE. **Results** After decolorization by macroporous resin/ion exchange, the contents of total saponins, monomer saponins and overall functional components of *P. notoginseng* stem and leaf extracts Y0729, J0801, J1020, Y1114, J1031 and R1001 were high. The inhibitory activity of lipase from high to low is: Y0729 > J1031 > J1020 > R1001 > Y1114 > J0801 > Q0901 > Q1001 > W1107 > W1101. According to the results of oil red O staining, DRNJE has lipid-regulating effect, among which Y0729, J1020, J1031 and

收稿日期: 2025-08-05

基金项目: 延边大学创新团队项目(012023051)

作者简介: 林立真(1998—), 女, 博士研究生, 研究方向为药学。E-mail: 1597831422@qq.com

*通信作者: 赵余庆(1957—), 男, 教授, 研究方向为药食同源品功效物质发现与健康食品研发。E-mail: zzyq2022@126.com

李晓敏(1971—), 女, 正高级工程师, 研究方向为健康食品、化妆品研发。

R1001 have better effects. **Conclusion** After decolorization by macroporous resin/ion exchange, the extract of *P. notoginseng* stems and leaves has high content of saponins, flavonoids and polysaccharides, among which the extract of *P. notoginseng* stems and leaves with high saponin content has a significant effect on lipid regulation of HepG2 cells induced by lipase and oleic acid.

Key words: *Panax notoginseng* stem and leaf extract; saponins; flavonoids; polysaccharide; ginsenoside Rb₃; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rc; lipid regulation

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burkill) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 性温、微甘, 具有散瘀止血、消肿定痛之功效, 是我国名贵中药材, 也是云南独具特色的中药材资源^[1]。由于其独特的多种生物活性和日益增加的使用量, 三七根的供应量几乎无法满足每年不断增长的市场需求。近年来的研究表明三七的茎叶亦可供药用, 且不良反应小。《本草纲目》中记载, 三七茎叶能够“治折伤、跌扑出血, 敷之即止, 青肿经夜即散, 余功同根”^[2]。现代研究表明, 三七茎叶具备与三七相似的多种功效, 例如抗血栓、活血化瘀、保肝、镇痛消炎以及调血脂等^[3]。相关研究进一步发现, 三七的茎和叶在调血脂与肝脏保护方面同样表现出积极作用。

三七茎叶中皂苷类化合物是其主要药理活性成分, 总皂苷质量分数达 $(8.53 \pm 0.92)\%$ ^[4]。其中人参皂苷 Rb₃、人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rb₁ 和三七皂苷 Fc 含量最高^[5]。从化学结构分析, 叶和根的主要活性成分都是达玛烷型四环三萜 20(S)-原人参二醇型 [20(S)-protopanaxadiol, PPD] 和 20(S)-原人参三醇型 [20(S)-protopanaxatriol, PPT], 根部主要含 PPT, 而叶几乎仅含 PPD, 二者含有 17 种相同的成分, 这预示着三七茎叶除具有与根相同的药理作用外还具有独特的作用, 随着三七茎叶药理作用的揭示, 三七茎叶的药用价值引起关注^[6]。三七茎叶总皂苷已被广泛应用于动脉粥样硬化、糖尿病、急性肺损伤、癌症、心血管疾病等医学研究或应用。三七茎叶中另一种活性成分为黄酮苷, 其质量分数为 $(1.94 \pm 0.18)\%$ ^[7]。三七黄酮类成分主要包括槲皮素、山柰酚等苷元及其对应的苷类化合物, 这些成分具有明确的药理活性, 包括抗氧化、保肝和抗肿瘤作用^[8]。此外, 多糖类物质也是三七中的有效活性成分之一, 糖元被鉴定为木糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸^[6]。实验证明, 三七多糖具有提高免疫功能, 降低血糖等作用^[9]。

2017 年, 云南省卫生计生委批准将三七花和三七茎叶纳入地方特色食品原料管理范畴, 并配套制定了相应的食品安全地方标准^[10]。该举措为开发包含保健食品、高端化妆品及普通食品在内的多样化三七制品奠定了基础。近年来, 随着三七产业推广

力度的加大, 源自云南的三七茎叶食材已辐射至全国, 并进一步拓展至东亚及东南亚市场。市场上涌现出大量以三七茎叶为原料的创新产品, 如软糖、糕点、零食及其他健康食品, 有效满足了消费者对营养与保健功能的双重追求。三七健康食品行业展现出广阔的发展空间。

深度开发三七茎叶与三七花, 既可充分释放其特色资源价值, 增强产业综合效益, 惠及边疆贫困地区民生与财政, 又能满足公众健康需求, 助力全民健康^[11]。三七茎叶的化学成分和药理作用分别已有报道, 但其综合性报道还没有, 本实验对 DRNJE 皂苷、多糖、黄酮成分进行含量测定, 并使用脂肪酶和油酸诱导的人肝癌细胞 HepG2 研究不同皂苷、多糖、黄酮成分含量对于其调血脂效果的影响, 对今后的综合研究和开发利用提供了一些信息, 使三七更充分地被综合利用。

1 仪器与材料

石油醚、醋酸乙酯、无水乙醇、油酸、葡萄糖购自天津市永大试剂有限公司; 正丁醇 (批号 71-36-3)、冰醋酸购自天津市富宇精细化工有限公司; 氯仿购自天津东方化工厂; 苯酚、香草醛、醋酸钾、硝酸铝、浓盐酸购自天津市大茂化学试剂厂; 浓硫酸购自沈阳莱博有限公司; 人参皂苷 Re (批号 PRF20092701)、人参皂苷 Rb₁ (批号 PRF22030402)、人参皂苷 Rc (批号 PRF10021945)、人参皂苷 Rb₃ (批号 PRF21042043) 质量分数均 >98%, 购自成都普瑞法开发有限公司; 高氯酸购自富晨化学试剂有限公司; 芦丁对照品 (批号 100256) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 4-硝基苯磷酸二钠盐 (pNPP) 购自上海泰坦科技股份有限公司; 甲醇、乙腈购自辽宁泉瑞试剂有限公司; 娃哈哈纯净水购自杭州娃哈哈集团; BSA124S 型电子分析天平购自北京赛多利斯仪器系统有限公司; DTA-27J 型超声波清洗器购自湖北鼎泰生化科技设备制造有限公司; LD5-10B 型低速离心机购自北京雷勃尔离心机有限公司; HH-2A 型电热恒温水浴锅购自北京科伟永兴仪器有限公司; UV2800AH 型紫外可见分光光度计购自尤尼柯仪器有限公司; L-2200 型高效液相

色谱仪购自株式会社日立制作所; Agela Promosil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱购自天津博纳艾杰尔科技有限公司; HepG2 细胞由延边大学赵余庆教授课题组提供; 胎牛血清 (批号 PWL1001-1)、DMEM 高糖培养基 (批号 MA0212-2)、0.25% 胰酶消化液含 EDTA, PhenolRed (批号 MA0233-1)、双抗灭菌液青霉素/链霉素溶液 (批号 MA0110-1)、

细胞培养皿 (60 mm, 批号 MBH032)、噻唑蓝 (MTT) (批号 MB4698-1)、三羟甲基氨基甲烷 (批号 MB3739-1) 购自大连美仑公司; PBS 缓冲液 (批号 G0002-2L) 购自赛维尔; 96 孔板购自赛默飞 (批号 174927); 脂肪酶 (猪胰腺) 购自玛雅试剂有限公司 (批号 888911); 800TS 型酶标仪购自美国伯腾仪器有限公司。DRNJE 样品信息见表 1。

表 1 DRNJE 样品信息

Table 1 DRNJE sample information

| 序号 | 样品编号 | 生产批号 | 生产工艺 | 厂家 |
|----|-------|----------|----------------|--------------|
| 1 | Y0729 | 20220729 | 水提、大孔树脂/离子交换脱色 | 云南白药集团股份有限公司 |
| 2 | Q0901 | 20220901 | 水提 | 广东青云山药业有限公司 |
| 3 | J0801 | 20220801 | 水提、大孔树脂/离子交换脱色 | 金七药业股份有限公司 |
| 4 | J1020 | 20221020 | 水提、大孔树脂/离子交换脱色 | 金七药业股份有限公司 |
| 5 | Y1114 | 20221114 | 水提、离子交换脱色 | 云南白药集团股份有限公司 |
| 6 | Q1001 | 20221001 | 水提 | 广东青云山药业有限公司 |
| 7 | W1107 | 20221107 | 水提 | 完美 (中国) 有限公司 |
| 8 | W1101 | 20221101 | 水提 | 完美 (中国) 有限公司 |
| 9 | J1031 | 20221031 | 水提、大孔树脂/离子交换脱色 | 金七药业股份有限公司 |
| 10 | R1001 | 20221001 | 水提、大孔树脂/离子交换脱色 | 云南润嘉药业有限公司 |

2 方法与结果

2.1 DRNJE 中总黄酮的测定

2.1.1 总黄酮供试品溶液的制备 精密称取 DRNJE 样品 1 g, 加入 10 mL 蒸馏水加热溶解到 50 mL EP 管中, 用 4:3:3 的比例分 3 次加入石油醚 10 mL (脱脂), 合并收集石油醚萃取液。加热除去石油醚残液后加入 10 mL 醋酸乙酯以 4:3:3 的比例分 3 次进行萃取, 合并收集上层醋酸乙酯萃取液, 减压回收醋酸乙酯萃取液, 用 70%乙醇溶解后定量转移到 10 mL EP 管中, 获得 DRNJE 中总黄酮的供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 芦丁精密称取经干燥至恒定质量的芦丁对照品 50 mg, 使用无水乙醇溶解并定容于 50 mL 量瓶中, 得到 1.0 mg/mL 芦丁对照品溶液。

2.1.3 含量测定 以芦丁为对照品, 采用硝酸铝-醋酸钾比色法在 420 nm 波长下进行测定^[15]。标准曲线回归方程为 $Y=0.6367X+0.0009$, $R^2=0.9995$ 。结果显示 (表 2), 黄酮在 DRNJE 中含量偏少, 经过大孔树脂和 (或) 离子交换脱色工艺处理后黄酮含量高于只进行水提处理的样品。

2.2 DRNJE 中总皂苷的测定

2.2.1 总皂苷供试品溶液的制备 取“2.1.1”项溶液, 加热除去醋酸乙酯残液后加入 10 mL 用水饱和的正丁醇, 以 4:3:3 的比例分 3 次进行萃取, 合

表 2 DRNJE 中总皂苷、黄酮、多糖含量测定结果

Table 2 Determination of total saponins, flavonoids and polysaccharides in DRNJE

| 序号 | 样品编号 | 总皂苷/% | 总黄酮/% | 总多糖/% |
|----|-------|-------|-------|-------|
| 1 | Y0729 | 28.24 | 0.94 | 22.84 |
| 2 | Q0901 | 7.07 | 0.28 | 42.06 |
| 3 | J0801 | 26.47 | 0.74 | 16.30 |
| 4 | J1020 | 21.95 | 0.88 | 26.66 |
| 5 | Y1114 | 26.42 | 0.37 | 17.88 |
| 6 | Q1001 | 6.88 | 0.24 | 41.57 |
| 7 | W1107 | 7.32 | 0.24 | 38.84 |
| 8 | W1101 | 6.78 | 0.19 | 33.28 |
| 9 | J1031 | 21.96 | 0.78 | 28.13 |
| 10 | R1001 | 20.29 | 1.20 | 19.12 |

并收集上层正丁醇萃取液, 减压回收萃取液, 用 70%乙醇溶解后定量转移到 10 mL EP 管中, 获得 DRNJE 总皂苷的供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 取 2 mg 人参皂苷 Re, 精密称定, 置 2 mL 量瓶中, 加甲醇适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成含 1 mg/mL 人参皂苷 Re 的对照品溶液。

2.2.3 含量测定 以人参皂苷 Re 为对照品, 采用香草醛-冰醋酸比色法在 560 nm 波长下测定^[12-14]。标准曲线线性回归方程为 $Y=0.003X-0.0115$, $R^2=0.9994$ 。结果显示 (表 2), 皂苷含量较高的有 6 种,

均为经过大孔树脂和/或者离子交换脱色工艺处理的样品,这种富集/脱色工艺用于制备普通食品用 DRNJE 需慎重考虑是否符合法规要求。

2.3 DRNJE 中总多糖的测定

2.3.1 总多糖供试品溶液的制备 取“2.2.1”项溶液,采用传统 Savage 法处理,提取剩余多糖水溶液,即得 DRNJE 总多糖的供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备 精确称取烘干恒定质量的无水葡萄糖 0.1 g 于量瓶中,用蒸馏水溶解,定容至 100 mL,配成质量浓度 1 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液。精确吸取上述溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,定容至刻度线,摇匀,即得 0.1 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液。

2.3.3 含量测定 以葡萄糖为对照品,采用苯酚-硫酸显色法在 486 nm 波长下进行测定^[16]。标准曲线线性回归方程标准曲线线性回归方程为 $Y=0.0081X-0.0322$, $R^2=0.9990$ 。结果显示(表2),多糖含量较高的4种从高到低分别为 Q0901、Q1001、W1107、W1101,只进行水提工艺能较好的保留三七茎叶中的多糖成分,而经过大孔树脂和/或者离子交换脱色工艺处理会造成多糖损失。

2.4 DRNJE 人参皂苷 Rb₃、Rb₁、Rc 的测定

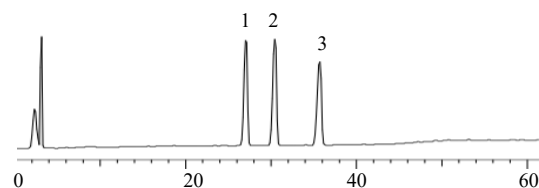
2.4.1 供试品溶液制备 精确称取 0.1 g DRNJE 置 10 mL 离心管中,加入 4 mL 色谱甲醇,超声 10 min,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液置于 10 mL 量瓶中,编号。残渣加入 3 mL 色谱甲醇,摇匀,重复上述超声离心操作,取上清液于 10 mL 量瓶中,残渣再次加入 3 mL 甲醇,摇匀,超声离心,取上清液,将3次上清液合并摇匀,补充色谱甲醇至 10 mL,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液置于进样小瓶中作供试品溶液。

2.4.2 对照品溶液的制备 分别称取各 1 mg 人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₃ 对照品,精密称定,置于 1 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容制成对照品溶液,配制后各对照品质量浓度分别为 1.03、0.98、0.92 mg/mL,置于冰箱 4 ℃ 保存、备用。

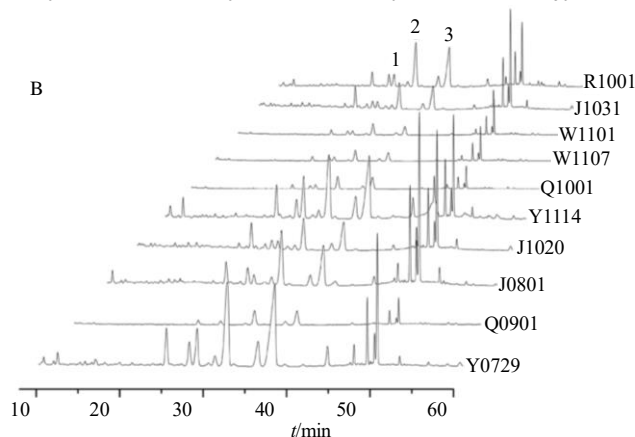
2.4.3 色谱条件 色谱柱为 Agela Promosil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温 35 ℃;检测波长 203 nm;流动相为乙腈(A)-水(B),体积流量 1.0 mL/min;进样量 20 μL。色谱条件为 0~10 min, 22%~27% A; 10~15 min, 27%~30% A; 15~35 min, 30%~32% A; 35~40 min, 32%~35% A; 40~43 min, 35%~40% A; 43~48 min, 40%~46.9%

A; 48~50 min, 46.9%~47.6% A; 50~65 min, 47.6%~48.5% A; 65~68 min, 48.5%~53% A; 68~73 min, 53%~65% A; 73~78 min, 65%~85% A; 78~83 min, 85% A; 83~85 min, 85%~22% A; 85~100 min。结果见色谱图 1。

A



B



1-人参皂苷 Rb₁; 2-人参皂苷 Rc; 3-人参皂苷 Rb₃。
1-ginsenoside Rb₁; 2-ginsenoside Rc; 3-ginsenoside Rb₃。

图1 混合对照品(A)和DRNJE(B)的HPLC色谱叠加图
Fig. 1 HPLC chromatogram overlay of mixed reference substance (A) and DRNJE (B)

2.4.4 标准曲线的绘制 取人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₃ 对照品用色谱甲醇稀释。稀释后的人参皂苷 Rb₁ 各质量浓度分别为 24.99、49.99、99.97、199.94、399.88 μg/mL, 稀释后的人参皂苷 Rc 各质量浓度分别为 25.00、49.99、99.99、199.97、399.95 μg/mL, 稀释后的人参皂苷 Rb₃ 各质量浓度分别为 25.00、50.01、100.01、200.03、400.06 μg/mL。按照“2.4.3”项色谱条件,依次进样 20 μL,保存色谱图,记录3种人参皂苷对应的峰面积,以进样体积中各对照品的浓度作为横坐标(X),相应的峰面积作为纵坐标(Y),分别绘制标准曲线,结果见表3。

2.4.5 精密度试验 取 DRNJE 粉末(Y0729),按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件连续进样6次,计算人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₃ 峰面积的 RSD 为 0.59%~1.74%。

表 3 标准曲线回归方程

Table 3 Regression equation of standard curve

| 单体皂苷 | 线性方程 | R^2 | 线性范围/mg | 检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | 定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|--|--|
| 人参皂苷Rb ₁ | $Y=4\,105.3\,X+39\,486$ | 0.999 6 | 0.5~8.0 | 0.93 | 2.80 |
| 人参皂苷Rb ₃ | $Y=4\,023\,X+21\,287$ | 0.999 0 | 0.5~8.0 | 3.68 | 6.86 |
| 人参皂苷Rc | $Y=5\,471.9\,X+61\,845$ | 0.999 9 | 0.5~8.0 | 2.08 | 5.04 |

2.4.6 稳定性试验 取 DRNJE 粉末 (Y0729), 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4.3”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样, 计算人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₃ 峰面积的 RSD 为 2.45%~4.41%。

2.4.7 重复性试验 取 DRNJE 粉末 (Y0729), 按“2.4.1”项下方法制备 6 份供试品溶液, 按“2.4.3”项下色谱条件连续进样, 计算人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₃ 质量分数的 RSD 为 2.60%~4.74%。

2.4.8 加样回收率试验 取已测定 3 个成分含量的 DRNJE 粉末 (Y0729) 9 份, 每份 0.05 g, 精密称定, 根据已知各成分含量 80%、100%、120% 的比例

加入含人参皂苷 Rb₁ (1.03 mg/mL)、Rc (0.98 mg/mL)、Rb₃ (0.92 mg/mL) 的混合对照品溶液, 再按“2.4.1”项方法处理 (每个比例 3 份)。按照“2.4.3”项色谱条件测定, 计算加样回收率。结果 3 个成分的平均加样回收率分别为 96.33%、98.83%、99.50%, RSD 值分别为 0.54%、4.75%、4.50%。

2.4.9 含量测定结果 取各样品按照“2.4.1”项制备样品溶液, 按照“2.4.3”项色谱条件进样测定, 结果表明 (表 4), 人参皂苷 (Rb₁+Rb₃+Rc) 的总含量较高的有 6 种, 分别为 Y0729、Y1114、R1001、J0801、J1031、J1020, 均为经过大孔树脂或者离子交换脱色工艺处理的样品。

表 4 DRNJE 人参皂苷 Rb₃、Rb₁、Rc 含量测定结果

Table 4 Determination of ginsenoside Rb₃, Rb₁ and Rc contents of DRNJE

| 序号 | 样品编号 | 人参皂苷Rb ₁ /% | 人参皂苷Rc/% | 人参皂苷Rb ₃ /% | 人参皂苷 (Rb ₁ +Rc+Rb ₃)/% |
|----|-------|------------------------|----------|------------------------|---|
| 1 | Y0729 | 4.46 | 14.33 | 18.74 | 37.53 |
| 2 | Q0901 | 0.49 | 1.75 | 2.04 | 4.27 |
| 3 | J0801 | 1.74 | 8.67 | 7.80 | 18.21 |
| 4 | J1020 | 1.66 | 4.89 | 5.08 | 11.63 |
| 5 | Y1114 | 5.87 | 12.57 | 15.88 | 34.32 |
| 6 | Q1001 | 0.49 | 1.76 | 2.04 | 4.29 |
| 7 | W1107 | 0.47 | 1.55 | 1.44 | 3.46 |
| 8 | W1101 | 0.52 | 1.64 | 1.48 | 3.65 |
| 9 | J1031 | 1.80 | 5.57 | 5.34 | 12.71 |
| 10 | R1001 | 1.73 | 8.65 | 10.28 | 20.66 |

3 DRNJE 的调血脂作用研究

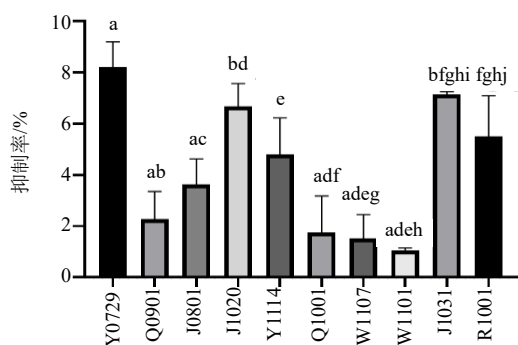
3.1 DRNJE 对脂肪酶活性的抑制作用

在 96 孔板中加入 Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0) 30 μL 、20 μL 样品溶液 (以蒸馏水配制为 2 mg/mL)、10 mg/mL 脂肪酶溶液 40 μL , 摇匀, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 20 min, 加入 100 μL 浓度为 0.125 mmol/L 的 PNPP 底物溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 20 min 后, 使用酶标仪测定 405 nm 的吸光度 (A) 值, 其中, 阳性对照组加入 Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0) 缓冲液, 10 mg/mL 脂肪酶溶液 40 μL , 加入 100 μL 浓度为 0.125 mmol/L 的 PNPP 底物溶液, 测定 $A_{\text{阳性}}$ 值; 空白对照组不加酶, 测

定 ($A_{\text{空白}}$ 值; 给药组为在阳性对照组的基础上, 加入各批次 DRNJE 样品 20 μL , 测定 $A_{\text{给药}}$ 值; 在给药组的基础上不加入酶作为给药背景组, 测定 $A_{\text{给药背景}}$ 值。根据公示, 计算对脂肪酶活性的抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{给药}} - A_{\text{给药背景}}) / (A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白}})$$

结果如图 2 所示, DRNJE 抑制脂肪酶活性由高到低为 Y0729>J1031>J1020>R1001>Y1114>J0801>Q0901>Q1001>W1107>W1101, 该活性应为皂苷、黄酮、多糖成分的综合影响, 其中皂苷含量影响最为显著。皂苷含量越高, 对脂肪酶的抑制活性越高。

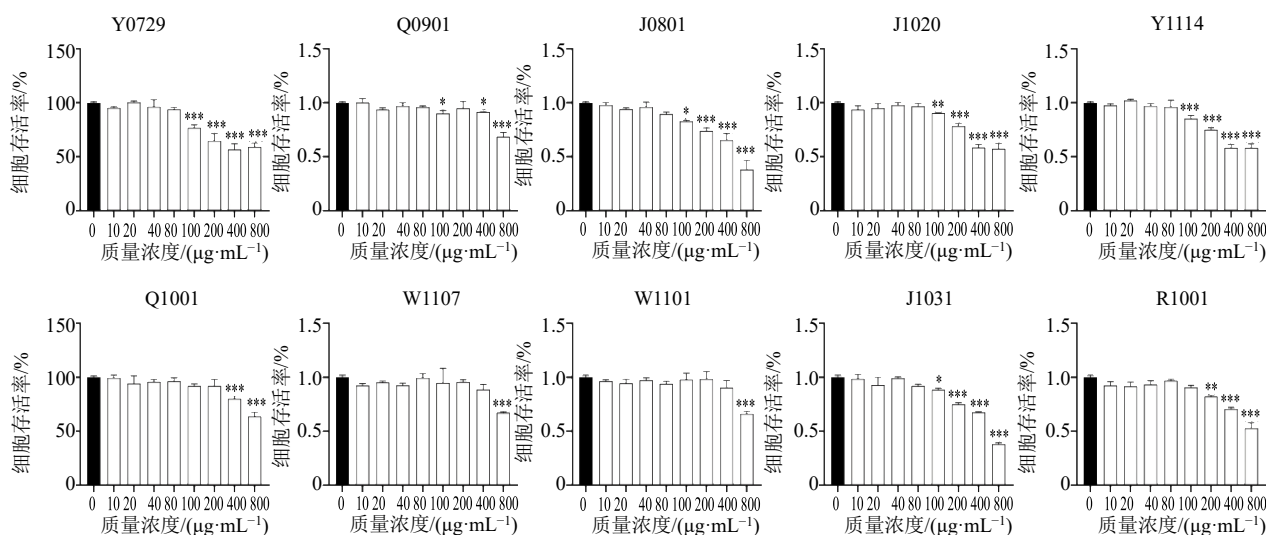


不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

Different lowercase letters indicate significant differences, $P < 0.05$.

图2 DRNJE 对脂肪酶活性的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Inhibitory effect of DRNJE on activity of lipase ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, vs control group.

图3 DRNJE 对 HepG2 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of DRNJE on viability of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

平, 未表现出明显细胞毒性, 因此选择 80 $\mu\text{g/mL}$ 作为安全剂量进行后续研究。

3.3 DRNJE 对油酸诱导的 HepG2 细胞内脂质蓄积的影响

取对数生长期的 HepG2 细胞, 以 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL 。设置对照组、模型组和给药组, 待细胞密度生长至 70%~80%, 模型组加入含 0.125 mmol/L 油酸的培养基处理 24 h, 给药组加入含 0.125 mmol/L 油酸和 800 $\mu\text{g/mL}$ DRNJE 的培养基处理 24 h, 对照组加入不含药物的培养基。弃上清, PBS 清洗 2 次, 每孔加入 4% 多聚甲醛固定 15 min; PBS 清洗 2 次, 每孔加入 0.5 mL

3.2 DRNJE 对 HepG2 细胞活力的影响

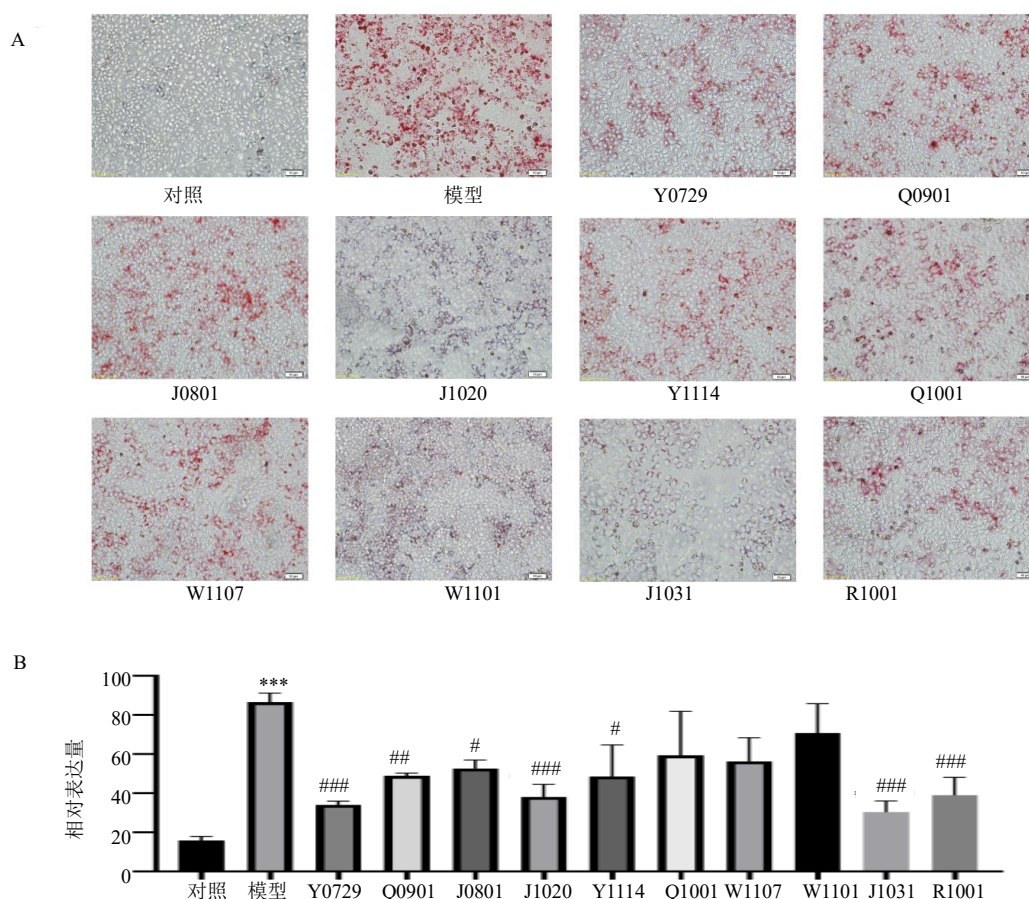
HepG2 细胞用含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 高糖培养基, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养。取对数生长期的 HepG2 细胞, 以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL , 培养 24 h。加入 10、20、40、80、100、200、400、800 $\mu\text{g/mL}$ 的 DRNJE 处理 24 h, 另设置对照组加入不含药物的培养基。每孔加入 10 μL 0.5% MTT 溶液, 继续培养 4 h。小心吸去孔内培养液, 加入 100 μL DMSO, 振荡至结晶物充分溶解, 采用酶标仪测定 490 nm 处的 A 值。结果如图 3 所示, 与对照组比较, DRNJE 呈剂量相关性地抑制 HepG2 细胞活力。在 80 $\mu\text{g/mL}$ 下, 所有 DRNJE 处理组的细胞存活率均维持在较高水

油红 O 工作液染色 15 min; PBS 清洗 2 次, 在显微镜下观察并拍照, 随机选取 3 个视野, 用 Image J 软件对脂滴面积进行统计。

结果如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组细胞内出现大量红色脂滴; 与模型组比较, 各给药组细胞内红色脂滴均减少, 其中 Y0729、J1020、J1031、R1001 效果较好, 为皂苷、多糖、黄酮功效成分质量比高的 DRNJE。

4 讨论

肥胖被视为全球公共卫生问题, 2016 年超重和肥胖成年人总数估计分别为 19 亿和 6.5 亿^[17]。众所周知, 肥胖与多种代谢紊乱密切相关, 包括高血压、



A-油红 O 染色观察 DRNJE 对油酸诱导的 HepG2 细胞内脂质积累的影响; B-脂质积累的定量分析。与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

A-Oil red O staining was used to observe the effect of DRNJE on oleic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells; B-Quantitative analysis image of lipid accumulation. Compared with the control group, *** $P < 0.001$; Compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$.

图 4 DRNJE 对油酸诱导的 HepG2 细胞内脂质蓄积的影响 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 4 Effect of DRNJE on lipid accumulation in oleic acid-induced HepG2 cells ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

心血管疾病和血脂异常^[18]。过去几十年来,全球肥胖的发病率和死亡率急剧上升,人们提出了多种预防和治疗肥胖的治疗策略,包括饮食治疗、药物治疗、手术和行为治疗^[19]。在提出的治疗策略中,草药疗法已广泛用于治疗肥胖相关疾病^[20]。

三七植物含三萜皂苷、黄酮、多糖等活性成分,具有活血、止血、散瘀、调血脂等功效^[21]。三七茎叶具有良好的调血脂作用,近年文献报道关于三七叶总皂苷、三七叶总黄酮、三七多糖及全三七片均具有调血脂功效^[22-28]。三七茎叶的化学成分以及药理作用已有分别报道,但是对 DRNJE 中总皂苷、总黄酮、多糖含量之间的差别未见有报道,因此本实验测定了 DRNJE 中总皂苷、多糖、黄酮成分含量,实验结果表明大孔树脂/离子交换脱色处理后 Y0729、J0801、J1020、Y1114、J1031、R1001 的总

皂苷含量高,人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₃ 含量高,黄酮含量高,总体功效成分含量高;只经过水提而不进行其他工艺操作所得的 Q0901、Q1001、W1107、W1101 多糖含量高。

三酰甘油的消化和吸收主要受胰脂肪酶的调节,控制其酶活性已成为治疗肥胖疾病药物研究开发的药理学机制策略重点^[29]。HepG2 细胞因具备糖脂代谢等正常生理功能,且具有易于培养的特性,目前已成为公认的血脂调节的体外细胞主要选择。可通过油酸诱导 HepG2 细胞脂质积累和肝脂肪变性^[30]。为研究三七茎叶总皂苷、总黄酮、多糖含量差异对调血脂活性作用的不同影响,本实验采用脂肪酶和油酸造模的 HepG2 细胞 2 种体外模型来进行研究。实验结果表明 DRNJE 抑制脂肪酶活性由高到低为 Y0729 > J1031 > J1020 > R1001 >

Y1114>J0801>Q0901>Q1001>W1107>W1101。根据 MTT 实验结果,采用 80 $\mu\text{g/mL}$ 为安全剂量。根据油红 O 染色结果可知 DRNJE 均具有调血脂作用,其中 Y0729、J1020、J1031、R1001 效果较好。综上所述,经大孔树脂/离子交换脱色处理后的 DRNJE 其皂苷、黄酮、多糖功效成分含量高,其中皂苷含量高的 DRNJE 对于脂肪酶和油酸诱导的 HepG2 细胞调血脂作用效果显著。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 谭亮,汤秋凯,王守章,等.三七皂苷 R1 药理作用的研究进展 [J]. 中国药理学通报,2018,34(5): 604-607.
- [2] 叶豆丹.三七叶的临床应用 [J]. 长春中医药大学学报,2007,23(4): 104-105.
- [3] 石萍萍,潘俊,李宏,等.三七茎叶研究进展 [J]. 药学研究,2022,41(1): 57-63.
- [4] 黄朝蓉,杨兆祥.三七茎叶中皂苷成分及药理作用研究进展 [J]. 中国民族民间医药,2022,31(23): 51-58.
- [5] 郭琰,胡靖,杨婧娟,等.生物转化三七茎叶皂苷研究进展 [J]. 食品与发酵科技,2022,58(2): 111-116.
- [6] 黄凤,向飞军,伍杰雄.三七叶皂苷成分及其单体提取分离研究进展 [J]. 中药材,2009,32(6): 999-1005.
- [7] 张志信,张仕秀,胡彦.三七茎叶中叶苷及黄酮的同步分离工艺研究 [J]. 时珍国医国药,2010,21(5): 1139-1141.
- [8] Dai C Y, Liu P F, Liao P R, et al. Optimization of flavonoids extraction process in *Panax notoginseng* stem leaf and a study of antioxidant activity and its effects on mouse melanoma B16 cells [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2219.
- [9] 黄桂宽.三七提取物成分分析 [J]. 中草药. 1996(增刊): 58-601.
- [10] 刘国信.“三七”标准发布,有利产业发展 [J]. 中国保健食品,2017,000(010):4-6.
- [11] 杨光,崔秀明,陈敏,等.三七茎叶、三七花新食品原料研究 [J]. 中国药理学杂志,2017,52(7): 543-547.
- [12] 陈薇薇.人参中总皂苷含量测定的研究 [J]. 食品界,2017(6): 74-75.
- [13] 郑义,葛竹兴,朱善元,等.三七总皂苷的质量控制研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医,2008(5): 88-89.
- [14] 蒲翔,谢宇,罗君,等.紫外可见分光光度法测定丹眠颗粒中总皂苷的含量 [J]. 贵州中医药大学学报,2020,42(2): 35-37.
- [15] SN/T 4592,中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 [S]. 2010.
- [16] 孔庆龙,余汪平,郭冬梅,等.苯酚-硫酸法测定三七枸杞酒中多糖含量 [J]. 食品安全质量检测学报,2017,8(6): 2267-2271.
- [17] Collaborators T G O. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(1): 13-27.
- [18] Ghowsi M, Qalekhani F, Farzaei M H, et al. Inflammation, oxidative stress, insulin resistance, and hypertension as mediators for adverse effects of obesity on the brain: A review [J]. *Biomedicine*, 2021, 11(4): 13-22.
- [19] Santos A L, Sinha S. Obesity and aging: Molecular mechanisms and therapeutic approaches [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 67: 101268.
- [20] Liu Y F, Sun M Y, Yao H Z, et al. Herbal medicine for the treatment of obesity: An overview of scientific evidence from 2007 to 2017 [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 8943059.
- [21] 赵谷语,潘惠勤,谭琰南,等.基于有效成分和外源性污染物的三七整体质量评价研究进展 [J]. 中草药,2025,56(1): 318-329.
- [22] 李林子,吕圭源,陈素红,等.三七叶总皂苷对高脂血症大鼠血脂、肝功能及脂质过氧化的影响 [J]. 中国现代应用药学,2014,31(6): 662-666.
- [23] 吴江立,安胜军,安然,等.三七总皂苷对高脂血症金黄地鼠降脂作用的研究 [J]. 河北中医药学报,2019,34(3): 5-7.
- [24] 冯晓异,陈文慧,武新一,等.三七总皂苷对 NAFLD 大鼠的降脂作用及 NO 影响研究 [J]. 现代中医药,2018,38(6): 140-143.
- [25] 陈永斌,董玉华.三七总皂苷治疗高脂血症的临床效果及药理作用分析 [J]. 中国医药科学,2016,6(1): 51-53.
- [26] 俞浩,毛斌斌,周国梁,等.白背三七总黄酮对糖尿病大鼠的降血糖作用 [J]. 食品科学,2013,34(15): 295-298.
- [27] 李易,叶曦.三七多糖对糖尿病肾病大鼠炎症反应及脂质代谢调节作用的实验研究 [J]. 中国中医药科技,2018,25(1): 43-47.
- [28] 翁路安,苏洁,吴雯琰,等.三七细粉与破壁粉对高脂血症模型大鼠药效对比研究 [J]. 中药药理与临床,2021,37(2): 86-92.
- [29] 沈彬,王松雪,张瑜,等.柚皮素对胰脂肪酶抑制作用的研究 [J]. 食品研究与开发,2022,43(17): 34-40.
- [30] 刘宏栋,高余英,高琦,等.窄叶鲜卑花地上部分化学成分及降血脂活性研究 [J]. 中草药,2022,53(14): 4276-4284.

[责任编辑 时圣明]