

引文格式: 吕冬, 肖素芸, 罗才琴, 等. 基于功效成分—药效评价的三七新型饮片质量分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(4): 638–647. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202201024

基于功效成分—药效评价的 三七新型饮片质量分析*

吕冬¹, 肖素芸¹, 罗才琴¹, 李起慧¹, 曲媛^{1,2,3}, 崔秀明^{1,2,3,4**}

(1. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南昆明 650500; 2. 云南省三七资源可持续利用
重点实验室, 云南昆明 650500; 3. 国家中药材产业技术体系昆明综合试验站,
云南昆明 650500; 4. 云南省三七研究院, 云南昆明 650500)

摘要:【目的】通过考察干燥方式引起的成分及药效差异, 研究新型饮片鲜三七快干粉、冻干三七粉与传统饮片三七热风干燥粉的质量及生物学效应, 寻找内在成分的潜在药效活性, 为新型三七饮片开发提供科学依据。【方法】采用高效液相色谱法(HPLC)和紫外分光光度法等分析3种干燥饮片单体皂苷、总多糖、总黄酮、总酚和总蛋白含量; 通过建立相关药效模型研究3种不同干燥饮片的药理功效差异, 对其结果进行成分—药效相关性分析, 根据预测结果进行药效验证试验。【结果】与热风干燥粉相比, 鲜三七快干粉人参皂苷Rg₁和Rb₁、总多糖以及总酚含量分别提高4.02%、4.48%、278.40%和29.33%; 冻干三七粉Rg₁和Rb₁、5种皂苷之和、总多糖以及总蛋白含量分别提高16.33%、12.17%、10.03%、49.76%和22.85%。经成分—药效相关性分析发现: 镇痛扭体次数与总多糖含量显著负相关($P<0.05$); 凝血酶原时间(PT)与Rg₁含量极显著正相关($P<0.01$)、与Rb₁含量显著正相关($P<0.05$); 凝血酶时间(TT)与Rg₁含量显著正相关($P<0.05$); 镇痛潜伏时间与Rg₁含量极显著正相关($P<0.01$)、与总蛋白含量显著正相关($P<0.05$)。药效验证试验表明: 总多糖与总蛋白具有抗凝和镇痛活性。【结论】冻干三七粉与鲜三七快干粉的成分和药效均有所提高, 三七总多糖和总蛋白具有抗凝和镇痛功效, Rg₁、Re和Rg₁以及Rb₁分别在镇痛活性、延长TT和延长PT中起主导作用。
关键词: 冻干三七粉; 鲜三七快干粉; 热风干燥粉; 功效成分; 药效评价

中图分类号: S567.236.099 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X(2022)04-0638-10

Quality Analysis of *Panax notoginseng* New-type Decoction Pieces Based on Functional Ingredients-pharmacodynamic Evaluation

LYU Dong¹, XIAO Suyun¹, LUO Caiqin¹, LI Qihui¹, QU Yuan^{1,2,3}, CUI Xiuming^{1,2,3,4}

(1. School of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;
2. Key Laboratory of Sustainable Utilization of *Panax notoginseng* Resources of Yunnan Province, Kunming 650500,
China; 3. Kunming Comprehensive Test Station of National Traditional Chinese Medicine Industry Technology Sys-
tem, Kunming 650500, China; 4. Sanqi Research Institute of Yunnan Province, Kunming 650500, China)

Abstract: [Purpose] To study the quality and biological effects of new types of fresh *Panax notoginseng* quick-dried powder, freeze-dried *P. notoginseng* powder and traditional hot air-dried powder

收稿日期: 2022-01-27

修回日期: 2022-05-30

网络首发日期: 2022-07-05

*基金项目: 云南省重大科技专项(202102AA310048)。

作者简介: 吕冬(1995—), 男, 黑龙江绥化人, 在读硕士研究生, 主要从事中药材饮片加工及药理活性研究。E-mail: 1440517243@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 崔秀明(1963—), 男, 云南文山人, 博士, 研究员, 主要从事云南道地药材研究及开发。E-mail: sanqi37@vip.sina.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20220704.1351.005.html>



of *P. notoginseng*, the differences in composition and efficacy caused by drying methods were investigated, searching the potential pharmacodynamic activity of the internal components and providing a scientific basis for the development of new types of *P. notoginseng* pieces. [Methods] The contents of monomer saponins, total polysaccharides, total flavonoids, total phenols and total protein components in three dried decoction pieces were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) and ultraviolet spectrophotometry. The pharmacological efficacy differences of three different dry decoction pieces were studied by establishing relevant pharmacodynamic models, and the results were analyzed by component-drug efficacy correlation. [Results] Compared with hot air-dried powder, the contents of ginsenosides Rg₁ and Rb₁, total polysaccharides and total phenols in fresh *P. notoginseng* quick-dried powder were increased by 4.02%, 4.48%, 278.40% and 29.33%, respectively; the contents of Rg₁ and Rb₁, the sum of five saponins, total polysaccharide and total protein in freeze-dried *P. notoginseng* powder increased by 16.33%, 12.17%, 10.03%, 49.76% and 22.85%, respectively. The ingredients-pesticide effect correlation analysis showed that: the frequency of analgesic writhing was significantly negatively correlated with total polysaccharide content ($P<0.05$); the prothrombin time (PT) was extremely significantly positively correlated with Rg₁ content ($P<0.01$), and significantly positively correlated with the Rb₁ content ($P<0.05$); thrombin time (TT) was significantly positively correlated with ginsenoside Re content ($P<0.05$); analgesic latency time was extremely significantly positively correlated with Rg₁ content ($P<0.01$), and significantly positively correlated with total protein content ($P<0.05$). The pesticide effect verification test found that: total polysaccharide and total protein had anticoagulant and analgesic activities. [Conclusion] The ingredients and pesticide effect of freeze-dried *P. notoginseng* powder and fresh *P. notoginseng* quick-dried powder have been improved, and total polysaccharide and total protein have anticoagulant and analgesic effects. Rg₁, Re and Rg₁, and Rb₁ plays a leading role in analgesic activity, prolong TT, and prolong PT, respectively.

Keywords: freeze-dried *Panax notoginseng* powder; fresh *Panax notoginseng* quick-dried powder; hot air-dried powder; functional ingredients; pharmacodynamic evaluation

三七 [*Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen] 为五加科 (Araliaceae) 人参属 (*Panax*) 植物, 是中国名贵中药材, 主要产地为云南文山地区, 现主要用于心脑血管疾病的防治。鲜三七属于季节性药材, 受潮湿环境的影响易发霉变质, 所以主要以干品保存入药^[1-3]。

三七的传统干燥工艺主要为烤房烘烤和自然晾晒, 虽操作简便, 但过高的烘烤温度会降低三七中有效成分的含量、影响口感和内部结构且质量标准难以控制^[4]。近年来, 随着中药材干燥技术的改进, 冷冻干燥法和热风干燥法已成为三七干燥的主要方法。已有研究报道: 与传统晾晒相比, 热风干燥法采用不同温度烘干三七鲜品, 随着温度的升高, 三七素和总黄酮含量呈下降趋势; 烘干温度为 50 ℃ 时, 皂苷成分、还原糖和总糖含量最高, 烘干温度为 60 ℃ 时含量较

低^[5-6]。冷冻干燥法可提高皂苷、三七素、还原糖和总糖含量, 但因设备昂贵、费时长, 导致耗能大、成本偏高^[7]。与普通三七粉相比, 冻干三七粉的皂苷类成分虽变化不大, 但可提高凝血时间, 降低耳肿胀率^[8]。然而, 不同干燥方式是否会影响除皂苷外的其他成分进而影响药效还鲜有报道。

鲜三七快干粉是一种干燥与成粉一体化的三七新型饮片, 由昆明理工大学、云南崔三七药业股份有限公司和云南七丹药业股份有限公司共同开发。为了评价新型饮片的质量及生物活性, 寻找内在成分的潜在药效活性, 本研究采用基于功效成分—药效评价的方法, 对冻干三七粉和鲜三七快干粉 2 种新型饮片进行评价, 并与传统饮片(热风干燥粉) 进行比较, 以期为三七新型饮片的标准制订提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料采集及处理

试验用鲜三七药材由云南七丹药业股份有限公司提供,经昆明理工大学杨野教授鉴定为五加科人参属植物三七的根,为人工种植 3 年生药材原料。鲜三七经洗净和分离主根后随机分为 3 份,每份 2 kg,3 mm 切片后分别进行热风干燥、冷冻干燥和鲜三七快速干燥处理。主要工艺流程:热风干燥法为 50 ℃ 烘干 36 h;冷冻干燥法为 35 ℃ 预冻 5 h,15 ℃ 程序升温 2 h,40 ℃ 干燥 17 h;鲜三七快速干燥法为在密闭容器中,利用高速旋转的叶轮将三七破碎成匀浆状态,同时采用风机产生的热流进行循环干燥。3 种干燥饮片均干燥至含水量 2% 以下,打粉后过 100 目筛,每组试验设置 3 个重复。

1.2 试验药品及仪器

三七皂苷 R_1 (批号: wkq20022804)、人参皂苷 R_{g_1} (批号: wkq20022711)、人参皂苷 R_e (批号: wkq20051806)、人参皂苷 R_{b_1} (批号: wkq2001007) 和人参皂苷 R_d (批号: wkq20051506) 均购自四川维克奇生物科技有限公司;槲皮素 (批号: C01J10Y91727)、没食子酸 (批号: C1309C72105) 标准品和阿司匹林 (批号: Y06N8047275) 均购自上海源叶生物科技有限公司;活化部分凝血酶时间 (批号: B202009A)、凝血酶原时间 (批号: A202009A) 和凝血酶时间 (批号: B202005B) 试剂盒均购自赛奥生物科技(青岛)有限公司;维生

素 K (批号: C31A4602) 购自西亚科技;罗通定 (批号: 200301) 购自四川迪菲特药业有限公司。乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

主要仪器包括: Agilent 1260 液相色谱仪 (安捷伦科技有限公司)、XN06-IV 凝血仪 (武汉景川诊断技术股份有限公司)、SCIENT2-10ND 冷冻干燥机 (宁波新芝生物科技有限公司)、DGG-9123AD 电热鼓风干燥箱 (上海一恒科技有限公司)、K9840 自动凯氏定氮仪 (济南海能仪器股份有限公司)、N-1100 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司)、UV-2600 紫外分光光度计 (岛津科技有限公司) 和 KQ5200E 超声波清洗仪 (昆山超声有限公司)。

1.3 成分指标测定及方法

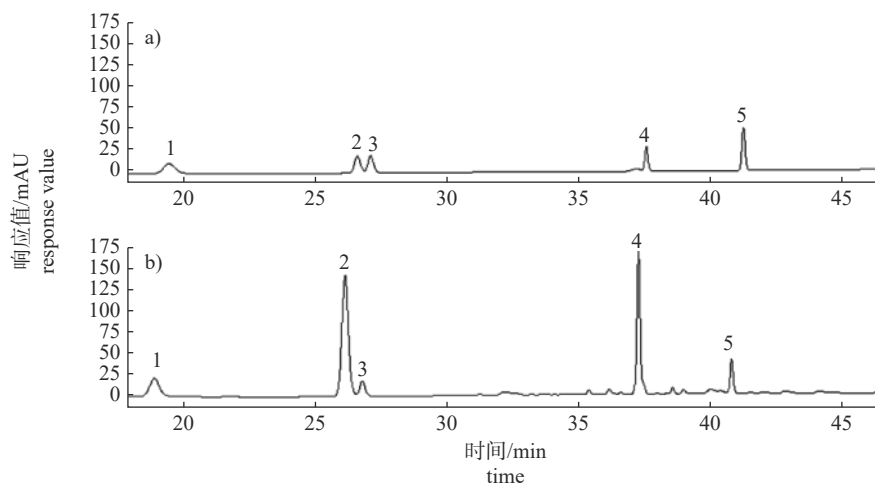
1.3.1 三七 5 种单体皂苷含量测定

(1) 色谱条件

色谱柱: 上海谱宁 Pntulips RSZG-C18Plus 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈 (A) 和纯净水 (B); 梯度洗脱: 0~20 min: 20% A, 20~45 min: 46% A, 45~55 min: 55% A, 55~60 min: 55% A; 检测波长: 203 nm; 柱温: 25 ℃; 进样量: 10 μ L; 流速: 1 mL/min。用于测定的对照品溶液和三七样品溶液的 HPLC 色谱图见图 1。

(2) 供试品溶液制备

称取各供试三七样品 0.3 g, 加入甲醇溶液超声提取 30 min, 离心后滤渣重复提取 1 次, 合并 2 次提取液定容至 25 mL, 过 0.45 μ m 滤膜得到供试液。



注: 1. 三七皂苷 R_1 ; 2. 人参皂苷 R_{g_1} ; 3. 人参皂苷 R_e ; 4. 人参皂苷 R_{b_1} ; 5. 人参皂苷 R_d 。

Note: 1. *Panax notoginsenoside* R_1 ; 2. *ginsenoside* R_{g_1} ; 3. *ginsenoside* R_e ; 4. *ginsenoside* R_{b_1} ; 5. *ginsenoside* R_d .

图 1 对照品溶液 (a) 和三七样品提取物 (b) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference solution (a) and *Panax notoginseng* sample extract (b)

(3) 线性关系考察

精密称定适量三七皂苷 R_1 以及人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 和 R_d 标准品以甲醇溶解稀释成不同质量浓度的溶液,经 203 nm 波长下检测峰面积,以质量浓度 (x) 为横坐标、峰面积 (y) 为纵坐标绘制标准曲线。 R_1 : $y=2491.400x+16.508$ ($R^2=0.9999$); R_{g1} : $y=3\,212.500x-2.404$ ($R^2=0.999\,8$); R_e : $y=3\,371.500x+5.425$ ($R^2=0.9999$); R_{b1} : $y=2\,249.800x-3.767$ ($R^2=0.9999$); R_d : $y=3\,382.500x-1.029$ ($R^2=0.9999$)。结果表明在 0.025~0.400 mg/mL 范围内各皂苷与峰面积线性关系良好。将样品峰面积带入回归方程中,即可得样品中各皂苷成分含量。

1.3.2 三七总多糖含量测定

(1) 供试品溶液制备

称取各供试三七样品 2 g,按料液比 1:20 (g:mL) 加入超纯水超声 30 min,离心取上清;取滤渣加等比例水,75 ℃ 水浴 1 h,重复 2 次;3 500 r/min 离心 10 min,合并上清液,静置抽滤。上清液除蛋白及冷冻干燥方法参考 LIU 等^[9]的研究。

(2) 线性关系考察

精密称取适量葡萄糖,加水稀释至不同质量浓度并置于 25 mL 比色管中,依次加入 6% 苯酚溶液 1 mL 和浓硫酸 5 mL,混匀,放置至室温,在液面厚度 1 cm、波长 490 nm 条件下测定吸光度。以质量浓度 (x) 为横坐标、吸光度 (y) 为纵坐标绘制标准曲线,得到回归方程 $y=12.800x+0.094$ ($R^2=0.9990$)。结果表明在 0.0125~0.0750 mg/mL 范围内多糖与吸光度线性关系良好。

(3) 总多糖含量测定

采用苯酚—硫酸法^[10]测定。

1.3.3 三七总黄酮和总酚含量测定

(1) 供试品溶液制备

称取各供试三七样品 0.4 g,分别加入 70% 乙醇,超声 15 min,离心取上清,重复提取 3 次,合并上清液,加 70% 乙醇定容至 25 mL 得到供试品溶液。

(2) 线性关系考察

精密称取适量槲皮素和没食子酸对照品,加入乙醇稀释成不同质量浓度,分别在波长 256 和 273 nm 下测定其吸光度,以质量浓度 (x) 为横坐标、吸光度 (y) 为纵坐标绘制标准曲线,得总黄酮回归方程 $y=25.900x+0.054$ ($R^2=0.9993$)、总酚回归方程 $y=33.600x+0.032$ ($R^2=0.9997$)。结果表明在 2~12 μ g/mL 范围内总黄酮和总酚酸与吸光

度线性关系良好。

(3) 总黄酮和总酚含量测定

采用紫外分光光度法^[11]测定。

1.3.4 三七总蛋白提取及含量测定

参考硫酸铵沉淀法^[12]提取三七总蛋白,采用凯氏定氮法^[13]测定样品总蛋白含量。

1.4 各成分的方法学考察

皂苷及非皂苷成分的方法学考察参考《中华人民共和国药典:四部》^[13]。

1.5 药理活性试验

1.5.1 试验动物分组及处理

SPF 级昆明小鼠共 284 只,18~20 g,雌雄各半,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:SCXK(湘)2019-0004。

选取供试小鼠 88 只,雌雄各半,随机分为 11 组,每组 8 只。耳肿胀抗炎试验和醋酸扭体镇痛试验的 3 种干燥粉给药组分为高 (1.0 g/kg)、中 (0.50 g/kg)、低 (0.25 g/kg) 剂量组,止血试验的 3 种干燥粉给药组分为高 (1.5 g/kg)、中 (1.0 g/kg)、低 (0.5 g/kg) 剂量组;耳肿胀抗炎试验、醋酸扭体镇痛试验和止血试验的空白组均灌胃生理盐水 (0.2 mL/20 g),阳性对照组分别灌胃阿司匹林 (0.5 g/kg)、罗通定 (0.3 g/kg) 和维生素 K (0.5 g/kg),连续给药 7 d。

1.5.2 验证试验

(1) 体外抗凝血试验

选取供试小鼠 20 只,眼球取血,离心取上层血浆,称取各供试三七样品 5 g,按料液比 1:20 (g:mL) 加入 70% 甲醇超声提取,提取液旋蒸干燥得到提取物,生理盐水复溶提取物,分别制备 50、25、10、5 和 1 mg/mL 的梯度溶液,按照试剂盒说明书要求检测活化部分凝血酶时间 (activated partial thrombin time, APTT)、凝血酶时间 (thrombin time, TT) 和凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)。空白组以生理盐水、阳性对照组以 0.05 和 1.00 mg/mL 肝素钠溶液测定各试剂盒的抗凝血时间。

(2) 耳肿胀抗炎试验

末次给药 1 h 后,使用 50 μ L 二甲苯涂抹小鼠右耳,引发炎症,15 min 后脱颈处死,延耳轮廓将双耳用打孔器在同一标记部位剪下,精密称量,计算肿胀率和肿胀抑制率:

肿胀率=(右耳片质量-左耳片质量)/左耳片质量 $\times$ 100%;

抑制率=(空白组肿胀率-给药组肿胀率)/空白组肿胀率×100%。

(3) 醋酸扭体镇痛试验

末次给药 1 h 后,小鼠腹腔注射 0.6% 醋酸溶液,每只剂量为 0.2 mL/20 g,记录 15 min 内各组小鼠扭体次数和镇痛潜伏时间。扭体判断依据为腹部内凹、躯干与后肢伸张、臀部高起。

(4) 止血和凝血活性试验

末次给药 1 h 后,将不同分组的小鼠尾末端 0.5 cm 处剪断,每 30 s 用滤纸擦干,直至出血停止,记录止血时间 (bleeding time, BT)。末次给药 1 h 后,按照给药顺序用毛细管进行小鼠眼眶静脉取血,将毛细管平放,每隔 15 s 折断一小块,直至出现血凝丝,计算从采血成功到出现血凝丝的时间即为凝血时间 (clotting time, CT)。

1.6 药效验证试验

1.6.1 体外抗凝血试验

三七总多糖及三七总蛋白提取操作方法同 1.3.2 和 1.3.4 节,试验分组及 APTT 和 PT 试剂盒检测同 1.5.2 节。

1.6.2 醋酸扭体镇痛试验

选取供试小鼠 24 只,雌雄各半,随机分为 4 组,给药组分为三七总多糖组和三七总蛋白组,均以 1.0 g/kg 灌胃给药 7 d,空白组和阳性给药组给药剂量同 1.5.1 节,试验方法同 1.5.2 节 (3)。

1.7 数据统计与分析

数据用“平均值±标准差”表示;采用 SPSS 19.0 软件进行显著性分析和双变量相关性分析;相同指标不同处理进行 Duncan’s 多重分析;采用 Graph Prism 8.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 3 种饮片功效成分含量

2.1.1 皂苷和非皂苷成分方法学考察结果

精密度试验三七皂苷 R_1 以及人参皂苷 R_{g1} 、

Re 、 R_{b1} 和 R_d 的相对标准偏差(RSD)分别为 1.10%、1.80%、1.76%、1.83% 和 1.10%;重复性试验各皂苷 RSD 分别为 1.90%、2.11%、2.43%、2.70% 和 2.98%;稳定性试验各皂苷在 0、2、4、6、8、12 和 24 h 的 RSD 分别为 2.22%、2.71%、2.12%、2.93% 和 1.22%。加样回收率试验各皂苷平均加样回收率分别为 100.00%、99.45%、101.11%、98.76% 和 100.66%,RSD 分别为 1.88%、1.70%、1.67%、1.91% 和 1.98%。

精密密度试验总多糖、总黄酮和总酚 RSD 分别为 1.80%、0.78% 和 1.38%;重复性试验各成分 RSD 分别为 1.66%、1.19% 和 1.33%;稳定性试验各成分在 0、2、4、6、8、12 和 24 h 的 RSD 分别为 2.48%、1.68% 和 2.98%。加样回收率试验总多糖平均加样回收率为 97.77%,RSD 为 2.27%;总黄酮平均加样回收率为 98.25%,RSD 为 1.47%;总酚平均加样回收率为 99.33%,RSD 为 1.39%。

2.1.2 3 种饮片 5 种皂苷含量比较

由表 1 可知:与热风干燥粉相比,鲜三七快干粉和冻干三七粉的 5 种皂苷总量小幅度提高,5 种皂苷总量表现为冻干三七粉>鲜三七快干粉>热风干燥粉。与热风干燥粉相比,鲜三七快干粉的 R_{g1} 和 R_{b1} 含量分别显著提高 4.02% 和 4.48% ($P<0.05$), R_1 含量显著降低 10.45% ($P<0.05$);与热风干燥粉相比,冻干三七粉的 5 种皂苷总量以及 R_{g1} 和 R_{b1} 含量分别显著提高 10.03%、16.33% 和 12.17% ($P<0.05$), R_1 含量显著降低 11.19% ($P<0.05$)。冻干三七粉的 Re 含量虽高于热风干燥粉和鲜三七快干粉,但无显著差异。

2.1.3 3 种饮片的非皂苷成分含量

由表 2 可知:不同干燥方式引起的非皂苷含量变化差异较大,冻干三七粉除总蛋白含量显著高于热风干燥粉和鲜三七快干粉外 ($P<0.05$),其总黄酮和总酚含量均低于其他 2 种干燥方式。鲜三七快干粉的总多糖含量显著高于其他 2 种干燥

表 1 3 种饮片单体皂苷的含量

Tab. 1 Content of three kinds of single saponins in decoction pieces

%

处理 treatment	R_1	R_{g1}	Re	R_{b1}	R_d	$R_1+R_{g1}+Re+R_{b1}+R_d$
AP	1.34±0.01 a	3.98±0.01 bc	0.45±0.08 a	3.12±0.02 c	0.68±0.05 bc	9.57±0.04 bc
FP	1.19±0.02 bc	4.63±0.07 a	0.46±0.09 a	3.50±0.05 a	0.75±0.03 a	10.53±0.15 a
QP	1.20±0.01 b	4.14±0.09 b	0.40±0.04 a	3.26±0.05 b	0.75±0.11 b	9.76±0.13 b

注: AP. 热风干燥粉, FP. 冻干三七粉, QP. 鲜三七快干粉; 同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。

Note: AP. hot air-dried powder, FP. freeze-dried *Panax notoginseng* powder, QP. fresh *P. notoginseng* quick dried powder; different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$); the same as below.

表 2 3 种饮片的非皂苷成分含量

Tab. 2 Contents of non-saponin components in three decoction pieces					mg/g
处理 treatment	总多糖 total polysaccharides	总黄酮 total flavonoids	总酚 total phenols	总蛋白 total protein	
AP	8.52±0.16 c	1.29±0.01 a	0.75±0.07 b	40.83±1.64 b	
FP	12.76±0.80 b	1.18±0.03 b	0.74±0.03 b	50.16±1.64 a	
QP	32.24±2.44 a	1.32±0.02 a	0.97±0.01 a	42.58±0.82 b	

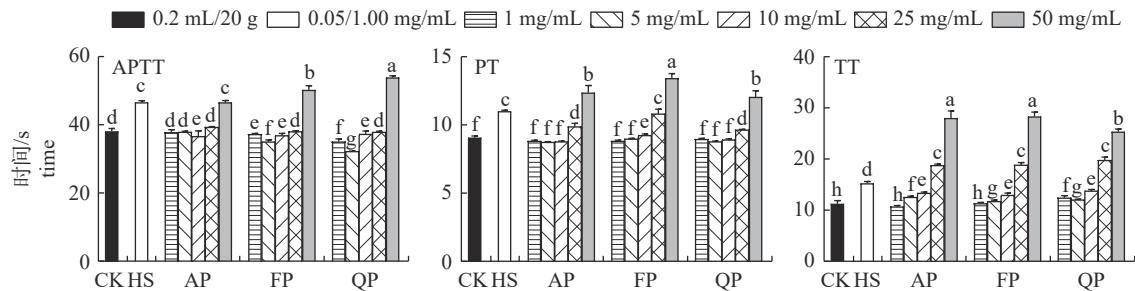
方式 ($P<0.05$)。与热风干燥粉相比, 鲜三七快干粉的总多糖和总酚含量分别显著提高 278.40% 和 29.33% ($P<0.05$), 冻干三七粉总黄酮含量显著降低 8.52% ($P<0.05$)、总多糖和总蛋白含量分别显著提高 49.76% 和 22.85% ($P<0.05$)。

2.2 3 种饮片的药理活性差异

2.2.1 体外抗凝血试验

由图 2 可知: 抗凝血时间与样品质量浓度

之间呈依赖性关系。当三七饮片质量浓度低于 25 mg/mL 时, 凝血时间逐渐接近空白组, 抗凝效果进入平台期。在 50 mg/mL 剂量组中, 冻干三七粉对延长凝血酶原时间 (PT) 的效果最好 ($P<0.05$); 鲜三七快干粉对延长部分凝血酶时间 (APTT) 的效果最好 ($P<0.05$), 对延长凝血酶时间 (TT) 的效果最差 ($P<0.05$)。



注: APTT. 部分凝血酶时间, PT. 凝血酶原时间, TT. 凝血酶时间; CK. 空白组, HS. 肝素钠组 (阳性对照), AP. 热风干燥粉组, FP. 冻干三七粉组, QP. 鲜三七快干粉组; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。各试剂盒参照区间不同, 肝素钠在 APTT 中选用剂量为 0.05 mg/mL, 在 PT 和 TT 中选用剂量为 1.00 mg/mL。

Note: APTT. activated partial thrombin time, PT. prothrombin time, TT. thrombin time; CK. blank group, HS. heparin sodium group (positive control), AP. hot air-dried powder group, FP. freeze-dried *P. notoginseng* powder group, QP. fresh *P. notoginseng* quick-dried powder group; different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$); the same as below. The reference interval of each kit is different, so the dose of heparin sodium in APTT is 0.05 mg/mL, and in PT and TT is 1.00 mg/mL.

图 2 不同三七饮片的抗凝活性

Fig. 2 Anticoagulant activity of different *P. notoginseng* pieces

2.2.2 耳肿胀抗炎试验

由图 3 可知: 与空白组相比, 阳性组与各给药组均能降低或显著降低耳肿胀率并显著提高肿胀抑制率。在 1.00 g/kg 剂量组中, 与热风干燥粉组相比, 冻干三七粉组的耳肿胀率显著降低 ($P<0.05$), 鲜三七快干粉组的耳肿胀率虽下降, 但无显著性差异; 鲜三七快干粉和冻干三七粉组的肿胀抑制率显著提高 ($P<0.05$), 但二者之间无显著差异。

2.2.3 醋酸扭体镇痛试验

由图 4 可知: 与空白组相比, 除冻干三七粉低剂量组外, 阳性组与其他给药组均能显著降低扭体次数并显著提高镇痛潜伏时间 ($P<0.05$)。在 1.00 g/kg 剂量组中, 鲜三七快干粉组的扭体次数

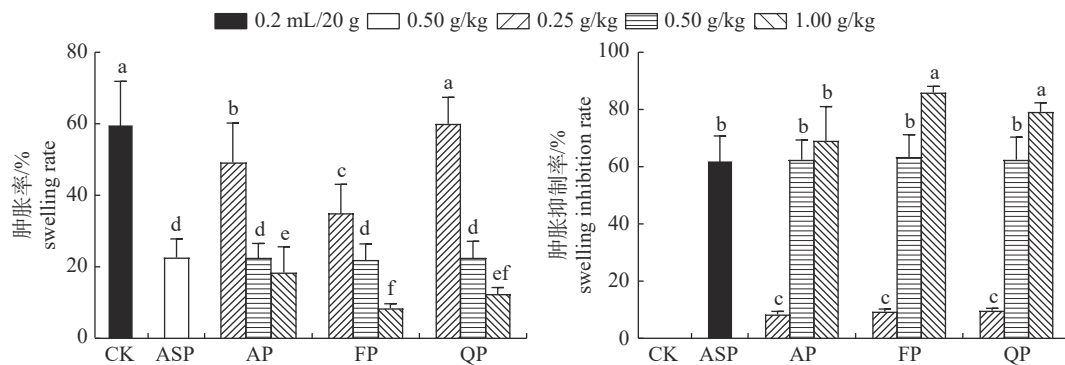
显著少于冻干三七粉和热风干燥粉组 ($P<0.05$), 但冻干三七粉可显著延长镇痛潜伏时间 ($P<0.05$)。在 0.50 g/kg 剂量组中, 鲜三七快干粉组的镇痛潜伏时间显著长于热风干燥粉组 ($P<0.05$)。

2.2.4 止血活性试验

由图 5 可知: 与空白组相比, 除冻干三七粉低剂量组外, 阳性对照组与其他给药组均可降低或显著降低凝血时间和止血时间。在 1.5 g/kg 剂量组中, 三七饮片的凝血时间表现为热风干燥粉>鲜三七快干粉>冻干三七粉, 止血时间表现为热风干燥粉>冻干三七粉>鲜三七快干粉。

2.3 成分—药效相关性分析

由表 3 可知: 抗凝血活性中, APTT 与总多糖含量的相关系数大于 0.9; PT 与 Rg_1 含量呈极

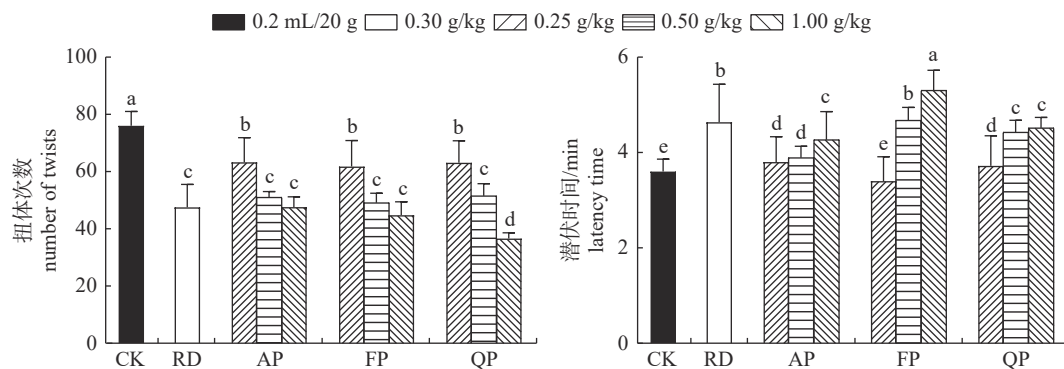


注: APS. 阿司匹林组 (阳性对照)。

Note: APS. aspirin group (positive control).

图 3 不同三七饮片的抗炎活性

Fig. 3 Anti-inflammatory activity of different *P. notoginseng* pieces

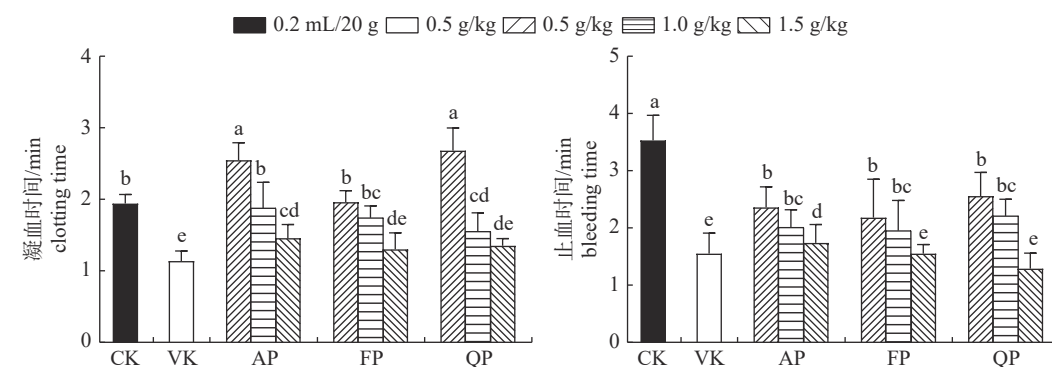


注: RD. 罗通定组 (阳性对照); 下同。

Note: RD. rotonding group (positive control); the same as below.

图 4 不同三七饮片的镇痛活性

Fig. 4 Analgesic activity of different *P. notoginseng* pieces



注: VK. 维生素 K 组 (阳性对照)。

Note: VK. vitamin K group (positive control).

图 5 不同三七饮片的止血活性

Fig. 5 Hemostatic activity of different *P. notoginseng* pieces

显著正相关 ($P < 0.01$), 与 Rb_1 含量呈显著正相关 ($P < 0.05$); TT 与 Re 呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与总酚含量呈显著负相关 ($P < 0.05$)。镇痛活性中,

扭体次数与总多糖含量呈显著负相关 ($P < 0.05$); 潜伏时间与 5 种皂苷总量、 Rg_1 含量和总蛋白含量呈显著或极显著正相关 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。抗

表 3 不同三七饮片化学成分和抗凝血、镇痛活性的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis of chemical components and anticoagulant and analgesic activities of different *P. notoginseng* pieces

指标 index	R ₁	R _{g₁}	Re	Rb ₁	Rd	5种皂苷总量 sum of five saponins	总多糖 total polysaccharides	总黄酮 total flavonoids	总酚 total phenols	总蛋白 total protein
APTT	-0.808	0.249	-0.795	0.344	0.872	0.188	0.937	0.203	0.846	0.177
PT	-0.789	1.000**	0.365	0.997*	0.710	0.996	-0.077	-0.886	-0.281	0.995
TT	0.318	0.356	0.999*	0.262	-0.429	0.415	-0.966	-0.731	-0.999*	0.424
扭体次数 number of twists	0.589	0.058	0.942	-0.041	-0.681	0.121	-0.999*	-0.492	-0.968	0.131
潜伏时间 latency time	-0.762	1.000**	0.404	0.993	0.680	0.999*	-0.120	-0.905	-0.321	0.998*

注: APPT. 部分凝血酶时间, PT. 凝血酶原时间, TT. 凝血酶时间; “*”和“**”分别表示在0.05和0.01水平上相关。
Note: APPT. activated partial thrombin time, PT. prothrombin time, TT. thrombin time; “*” and “**” indicate correlation at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

炎、止血活性与各成分之间相关性不显著。

2.4 药效验证试验

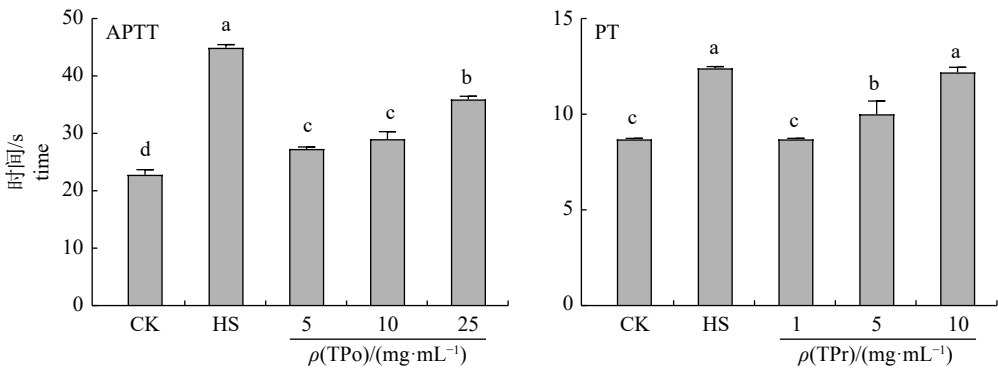
2.4.1 体外抗凝血试验

由图 6 可知: 与空白组相比, 三七总多糖各剂量组可显著延长 APTT、三七总蛋白 5 和 10 mg/mL 剂量组可显著延长 PT ($P<0.05$), 并呈

剂量依赖关系。

2.4.2 醋酸扭体镇痛试验

由图 7 可知: 与空白组相比, 三七总多糖与总蛋白均可显著降低扭体次数 ($P<0.05$), 且三七总多糖的镇痛活性显著优于三七总蛋白 ($P<0.05$); 在延长镇痛潜伏时间中, 与空白组相比, 三七总多



注: 各试剂盒参照区间不同, TPo 与 TPr 选用不同剂量。
Note: The reference interval of each kit is different, and different dose groups are selected for TPo and TPr.

图 6 三七总多糖 (TPo) 与总蛋白 (TPr) 的抗凝活性

Fig. 6 Anticoagulant activity of *P. notoginseng* total polysaccharides (TPo) and total protein (TPr)

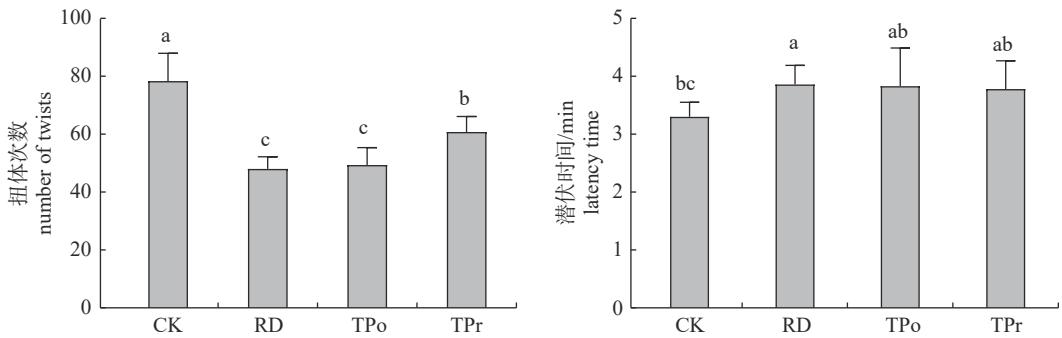


图 7 三七总多糖 (TPo) 与总蛋白 (TPr) 的镇痛活性

Fig. 7 Analgesic activity of *P. notoginseng* total polysaccharide (TPo) and total protein (TPr)

糖与总蛋白潜伏时间小幅度提高,但无显著差异。

3 讨论

三七产业化发展存在以下主要问题:(1)三七传统干燥工艺难以把控质量标准,如自然晾晒法处理后的三七农残及重金属含量易超标,受阴雨天气影响较大,易发霉变质;(2)三七新型饮片开发具有生产规模大、成本低、耗时短和操作简单等特点,但冷冻干燥技术设备昂贵、耗能大、投入高,限制了冻干三七的产业化发展^[4];(3)2020年版中国药典^[15]中,三七药材及饮片成分的质量标准仅包括对皂苷类成分的要求,对非皂苷成分无要求,然而皂苷类成分可能难以反映三七饮片质量的全貌,导致市场上的三七饮片质量不均一。

本研究中的快速干燥技术可直接将湿料在 3 min 内加工成干料,是一种干燥与成粉一体化的新型中药材加工技术,与自然晾晒和冷冻干燥技术相比具有成本低、节能减排、易于大规模生产和便于质量标准把控等优点。此外,本研究中 3 种干燥方式引起的皂苷类成分变化较小,但对非皂苷成分影响较大。鲜三七快干粉的总多糖和总酚含量显著高于热风干燥粉;与热风干燥法相比,冷冻干燥法对热敏成分影响较小,可减少三七皂苷和蛋白的流失,但皂苷含量只是小幅度提升,远不如总多糖和总蛋白变化量高。西洋参^[16]、香椿^[17]和仿刺参^[18]同样采用冷冻干燥法以减少皂苷和蛋白的流失,但总皂苷含量变化不大。XIONG 等^[19]通过不同温度炮制三七发现温度对皂苷影响较大,高温可促进皂苷的流失和转变。本研究发现:热风干燥粉的 R_1 含量高于鲜三七快干粉和冻干三七粉,但除 Re 外的其他单体皂苷成分含量则少于后 2 种干燥方式,可见,在热风干燥工艺环境下发生了部分皂苷的转变。

本研究的药理试验均设置 4 个剂量组,最高剂量组为 1.50 g/kg,最低剂量组为 0.25 g/kg,但在耳肿胀抗炎试验和醋酸扭体镇痛试验中发现:1.50 g/kg 给药组与其他剂量组不存在量效关系,故将 1.00 g/kg 设为高剂量组。不同处理方式引起的成分变化直接影响药效。李志强等^[20]通过研究不同生长年限霍山石斛对小鼠急性肝损伤的保护作用发现:除单体成分石斛酚外,总多糖成分在急性肝损伤中起主导作用。本研究发现:镇痛潜伏时间与 R_{g1} 含量极显著正相关、与 5 种皂苷总

含量显著正相关,可见, R_{g1} 在镇痛活性中起主导作用;延长 TT 与 5 种皂苷总量无相关性,但与 Re 含量显著正相关,所以 Re 在延长 TT 中起主导作用;延长 PT 与 5 种皂苷总量无相关性,但分别与 R_{g1} 和 R_{b1} 含量呈极显著和显著正相关,所以 R_{g1} 和 R_{b1} 在延长 PT 中起主导作用。朱再标等^[21]和杨金凤等^[22]通过比较不同光强和水分处理下垂盆草的保肝活性发现:保肝活性与异鼠李素正相关,其机制可能与抗氧化有关;总黄酮和总酚含量与细胞抗氧化系数虽呈正相关,但无显著性差异。随即通过研究验证垂盆草中的总黄酮可通过抗氧化活性降低乙酰氨基酚诱导的 L02 肝细胞损伤,并可通过降低异鼠李素毒性起到辅助作用^[23]。本研究中,三七总多糖含量与 APTT 正相关、与扭体次数显著负相关,推测三七多糖除免疫调节和抗肿瘤^[24]外可能存在镇痛和抗凝功效;同样地,三七总蛋白含量与 PT 正相关、与镇痛潜伏时间显著正相关,也可能存在潜在抗凝与镇痛活性。经体外抗凝和体内醋酸扭体验证试验发现:总多糖和总蛋白可分别延长 APTT 和 PT,降低醋酸导致的扭体次数,体现抗凝和镇痛活性,因此,在 3 种干燥饮片引起的药效差异中,不仅仅是皂苷类成分起主要作用,非皂苷成分也起着很重要的角色。

4 结论

鲜三七快速干燥粉是一种“鲜药材—饮片”的中药材加工一体化新型饮片,与热风干燥粉相比,其皂苷类成分与非皂苷成分均有不同程度的提升。成分—药效相关性分析和药效验证试验中发现了皂苷类成分、三七总多糖和总蛋白的抗凝和镇痛活性。因此,除皂苷成分外,非皂苷成分也可作为评价饮片品质的指标,为三七新型饮片的加工提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 蔡琳,彭鹏.三七药理作用的研究进展[J].山东化工,2021,50(3):70. DOI: 10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2021.03.029.
- [2] LIU H B, LU X Y, HU Y, et al. Chemical constituents of *Panax ginseng* and *Panax notoginseng* explain why they differ in therapeutic efficacy[J]. Pharmacological Research, 2020, 161: 105263. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105263.
- [3] WANG D D, LYU L Y, XU Y, et al. Cardioprotection of *Panax notoginseng* saponins against acute myocardial in-

- farction and heart failure through inducing autophagy[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 136: 111287. DOI: [10.1016/J.BIOPHA.2021.111287](https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111287).
- [4] 孙玉琴,高明海,朱云飞,等. 烤房快速干燥对三七品质的影响研究[J]. *现代农业科技*, 2016(3): 317. DOI: [10.3969/j.issn.1007-5739.2016.03.186](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-5739.2016.03.186).
- [5] LIU X S, QIU Z F, WANG L H, et al. Quality evaluation of *Panax notoginseng* extract dried by different drying methods[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2010, 89(1): 11. DOI: [10.1016/j.fbp.2010.03.008](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.03.008).
- [6] 刘勇,徐娜,陈骏飞,等. 不同干燥方法对三七药材外观性状与内在结构及其品质的影响[J]. *中草药*, 2019, 50(23): 5717. DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.011](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.011).
- [7] 宋建平,姜洁,张志信,等. 不同干燥条件的三七中三七素含量的测定[J]. *文山学院学报*, 2019, 32(3): 7.
- [8] 张君,孙思勉,赵琳,等. 普通和冻干三七粉的有效成分及药理作用比较[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(3): 282. DOI: [10.3969/j.issn.1000-1565.2020.03.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-1565.2020.03.007).
- [9] LIU S N, YANG Y, QU Y, et al. Structural characterization of a novel polysaccharide from *Panax notoginseng* residue and its immunomodulatory activity on bone marrow dendritic cells[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 161(3): 800. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2020.06.117](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.117).
- [10] 蔡群虎,刘石磊,袁敏惠,等. 三七多糖含量测定方法比较[J]. *云南中医中药杂志*, 2020, 41(8): 60. DOI: [10.16254/j.cnki.53-1120/r.2020.08.020](https://doi.org/10.16254/j.cnki.53-1120/r.2020.08.020).
- [11] 何晶晶,杜江. 苗药景天三七干、鲜品质量对比研究[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(11): 2753. DOI: [10.3969/j.issn.1008-0805.2017.11.067](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-0805.2017.11.067).
- [12] 李晓梅,睢博文,赵雨,等. 三七蛋白提取及热稳定性研究[J]. *食品工业*, 2017, 38(8): 165.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [14] 徐磊. 真空冷冻干燥技术在云南三种道地药材新型饮片加工中的应用研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2018.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [16] 陆国胜. 西洋参真空冷冻干燥工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(14): 117. DOI: [10.3969/j.issn.1005-6521.2018.14.020](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-6521.2018.14.020).
- [17] 王晓敏,王赵改,史冠莹,等. 两种干燥方式对香椿粉品质特性的影响[J]. *保鲜与加工*, 2019, 19(4): 145. DOI: [10.3969/j.issn.1009-6221.2019.04.023](https://doi.org/10.3969/j.issn.1009-6221.2019.04.023).
- [18] 陈子豪. 脱盐及干燥工艺对干制仿刺参品质的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- [19] XIONG Y, CHEN L J, MAN J H, et al. Chemical and bioactive comparison of *Panax notoginseng* root and rhizome in raw and steamed forms[J]. *Journal of Ginseng Research*, 2019, 43(3): 391. DOI: [10.1016/j.jgr.2017.11.004](https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.11.004).
- [20] 李志强,周红秋,欧阳臻,等. 不同生长年限霍山石斛的主要成分分析及其对急性肝损伤保护作用的比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(2): 301. DOI: [10.19540/j.cnki.cjcmm.20201023.102](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20201023.102).
- [21] 朱再标,杨金凤,郭巧生,等. 不同光强下生长的垂盆草对CCl₄致HepG₂细胞损伤的保护作用[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(10): 2476. DOI: [10.19540/j.cnki.cjcmm.20210124.101](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20210124.101).
- [22] 杨金凤,郭巧生,朱再标,等. 不同水分处理垂盆草对CCl₄致HepG₂细胞损伤的保护作用[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(20): 4114. DOI: [10.19540/j.cnki.cjcmm.20180530.004](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20180530.004).
- [23] 蒋志涛,王雪,王建春,等. 垂盆草总黄酮及异鼠李素对乙酰氨基酚诱导的L02细胞损伤的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(6): 123. DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20180631](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20180631).
- [24] LIU Y H, QIN H Y, ZHONG Y Y, et al. Neutral polysaccharide from *Panax notoginseng* enhanced cyclophosphamide antitumor efficacy in hepatoma H22-bearing mice[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21: 37. DOI: [10.1186/s12885-020-07742-z](https://doi.org/10.1186/s12885-020-07742-z).

责任编辑: 何馨成