微波-超声辅助三七素提取工艺的优化及其抗炎活性研究

李慧婷,樊远红,彭效明*,居瑞军,杨思敏,管 洁,严晓强
(北京石油化工学院新材料与化工学院,恩泽生物质精细化工北京市重点实验室,北京 102617)

摘要:以三七(*Panaxnotoginseng*)植株为研究对象,分别对其根、茎、叶、花、整株中的三七素质量分数进行分析。通过微波-超声辅助提取工艺提取三七植株中三七素,用响应面优化对工艺进行优化,利用HPLC检测三七素质量分数。结果表明,三七花中的三七素质量分数最高,其次是叶,整株与根的质量分数接近,茎中质量分数最低。最佳提取工艺条件是:超声时间为25 min、微波温度为80℃、料液比(g/mL)为1∶31、超声功率为180 W、微波时间为10 min,该工艺条件下提取的三七素质量分数为30.77 mg/g,将溶液浓缩冻干得到三七素冻干粉质量分数达到46.59 mg/g。用MTT测定提取物对细胞活力的影响以及经LPS刺激后RAW264.7细胞NO释放量。结果显示,三七素提取物在10~200 μg/mL质量浓度范围内可显著抑制NO的释放,具有良好的抗炎活性。

关键词:三七素;提取工艺;HPLC;响应面优化;抗炎活性
中图分类号:R282.4 **文献标志码**:A **文章编号**:0253-4320(2023)10-0154-06
DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2023.10.029

Optimization of microwave-ultrasound assisted extraction process for dencichine and study on its anti-inflammatory activity

LI Hui-ting, *FAN Yuan-hong*, *PENG Xiao-ming**, *JU Rui-jun*, *YANG Si-min*, *GUAN Jie*, *YAN Xiao-qiang*
(Beijing Key Laboratory of Enze Biomass Fine Chemicals, College of New Materials and Chemical Engineering, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China)

Abstract: Taking *Panax notoginseng* plant as the research object, the contents of dencichine in root, stem, leaf, flower and plant are analyzed. Dencichine is extracted from Panax *notoginseng* plants through microwave-ultrasound assisted extraction. Response surface optimization method is used to optimize the extraction process, and the content of dencichine is determined by means of HPLC. The results show that the content of dencichine in the flowers of *Panax notoginseng* is the highest, followed by the leaves. The content of dencichine in the whole plant is close to that in the root, and the lowest in the stem. The optimum conditions are that the ultrasonic time is 25 min, the microwave temperature is 80℃, solid-liquid ratio is 1∶31 $g \cdot mL^{-1}$, ultrasonic power is 180 W and the microwave time is 10 min. Under these conditions, the content of dencichine extracted is 30.77 $mg \cdot g^{-1}$, and the content of dencichine reaches 46.59 $mg \cdot g^{-1}$ after the solution is concentrated and lyophilized. The effect of extracts on cell viability is determined by means of MTT, and the released amount of NO from RAW264.7 cells after LPS stimulation is also detected. It is indicated that dencichine extracts can significantly inhibit the release of NO in the concentration range of 10-200 $\mu g \cdot mL^{-1}$, showing a good anti-inflammatory activity.

Key words: dencichine; extraction process; HPLC; response surface optimization; anti-inflammatory activity

三七素化学名为β-*N*-草酰-*L*-α,β-二氨基丙酸(β-*N*-*Oxalyl*-*L*-α,β-*diaminopropionicacid*,β-*ODAP*),主要来源于五加科人参属植物三七 *Panax-pseudo-ginsengWall. var. notoginseng* (*Burkill*) *Hoo & Tseng*,是一种天然非蛋白质氨基酸,具有非常强的止血功能。现代医学研究表明,三七素具有止血、抗炎、神经保护、弱化糖尿病和肾病损伤等药理作用[1]。三七素作为三七的主要止血成分,能够促进凝血、抑制纤溶,起到止血作用[2]。黄超等[3]用三七素改善了糖尿病肾损伤,通过抑制氧化应激,下调肾细胞凋亡和纤维化相关蛋白,从而保护了肾组织损伤。

近年来,随着三七素药用价值的不断提高,其提取方法也趋于多样化,如超声提取、回流提取、冷浸

收稿日期:2022-12-22;**修回日期**:2023-08-08
基金项目:国家自然科学基金项目(21406015,81703453);北京市教委科技计划一般项目(KM202210017011,KM202310017009);北京石油化工学院校内学科平台建设项目(2019XK006);北京石油化工学院交叉科研探索项目(BIPTCSF-019);北京石油化工学院致远科研基金(2023013);北京市科协青年人才托举工程项目(BYESS2023259)
作者简介:李慧婷(1998-),女,硕士研究生,研究方向为天然产物研究与开发,lht2020520057@163.com;彭效明(1983-),男,博士,副教授,研究方向为天然产物研究与开发,通讯联系人,pengxiaoming@bipt.edu.cn。

提取和水煎煮法等。张玉萍等[4]首先应用 10 倍乙醚冷浸 6 次,然后用适量的乙醇浸泡过夜,将残渣晾干。用蒸馏水浸泡 24 h 后超声提取 6 次,每次 30 min 获得三七素。谭朝阳等[5]通过冷浸提取的方法提取三七素,用 50%乙醇浸泡过夜,用 12 倍量乙醇渗透提取,并将乙醇浸出液合并,再用 732 强酸型阳离子树脂分离制得三七素。三七素常见的检测方法有毛细管区待电泳检测法、氨基酸分析仪分析法和色谱-质谱检测法[6]。赵亮等[7]通过毛细管区待电泳检测法检测三七素和高精氨酸。李琳等[8]通过 HPLC 检测方法并采用四丁基氢氧化铵和甲醇为流动相检测三七素。综上,目前提取三七素所用方法提取时间长、提取率较低、检测过程复杂且价格昂贵。因此,如何高效且简便地提取和检测三七素成为当下研究的重点。

炎症是机体对炎症因子刺激发生的局部组织防御反应[9],市面上的相关药物(如非甾体类抗炎药和甾体类抗炎药)长期使用会引起多种脏器的不良反应。相比之下,中药在治疗炎症方面具有毒副作用小、疗效较好等优点,已然成为当下研究的新热点[10]。三七的抗炎活性多数研究集中在三七皂苷,然而三七素的抗炎报道很少,中国药典的三七药材质量标准不含有三七素,但是美国 FDA 已经在三七质量控制标准中采用了三七素[11],因此,笔者采用响应面法对微波-超声联合辅助提取三七素的工艺进行优化,并建立三七素方法学。进一步探究了三七抗炎活性,旨在为今后三七素进一步应用研究提供实验数据参考。

1　仪器与材料

1.1　仪器

QUINTIX35-1CN 电子天平,德国赛多利斯公司生产;SL-100 高速多功能粉碎机,永康市松青五金厂生产;XH-100A 微波催化合成萃取仪,北京祥鹄科技发展技术有限公司生产;JY-IIDN 超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司生产;e2695 型高效液相色谱仪,美国 waters 公司生产;INFINITE-F50 酶标仪,瑞士 TECAN 公司生产;SCIENTZ-50F 冷冻干燥机,宁波新芝生物科技公司生产。

1.2　材料

三七素(批号:No.220309)标准品,北京北方伟业计量技术研究院生产;磷酸(分析纯)、乙腈(色谱纯),阿拉丁试剂有限公司生产;纯净水,娃哈哈公司生产;小鼠巨噬细胞系 RAW264.7,北京中生奥邦生物科技有限公司生产;二甲基亚砜 DMSO,美国 Sigma 公司生产;胎牛血清、0.25%胰酶、PBS 磷酸盐缓冲液、青霉素、链霉素、DMEM 培养基,北京中生奥邦生物科技有限公司生产;一氧化氮(NO)检测试剂盒,碧云天生物技术有限公司生产。

2　方法与结果

2.1　HPLC 检测方法学建立

2.1.1　色谱条件

色谱柱:InertSustain C18 (4.6×250 mm,5 μm);流速:1 mL/min。流动相:乙腈(A)-0.05%磷酸(B),梯度洗脱条件:0 ~ 12 min,95% ~ 95% B;12.01~18 min,95% ~ 90% B;18.01 ~ 20 min,90% ~ 95% B。柱温:25℃。检测波长:220 nm;进样量:10 μL。

2.1.2　标准品溶液制备

用天平称量三七素标准品 3.21 mg,置于 20 mL 容量瓶中,随后用纯化水溶解、定容得到标准品质量浓度为 1.605 mg/mL,滤膜过滤,备用。

2.1.3　供试品溶液制备

用药材粉碎机将晒干的三七磨碎后过 45 目筛,密封避光保存。称量 5.0 g 药材粉末,按料液比 1∶20 g/mL 加入纯化水 100 mL,倒入磨口烧瓶。先置于超声仪中,设置参数为超声功率为 90 W,处理 5 min。再置于微波提取设备中,设置微波温度为 40℃、功率为 600 W,微波处理 15 min 后,将溶液放入低速离心机,取上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

2.1.4　线性关系

按“2.1.1”色谱条件,取 1、2、5、10、15、20、25、50 μL 三七标准品的溶液注入 HPLC 仪器,标准品色谱图如图 1 所示,以三七素质量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,得到线性方程及线性范围分别为 $y=0.000\ 001x+0.07$,其中 y 的范围是:0.160 5 ~ 4.012 5 μg。

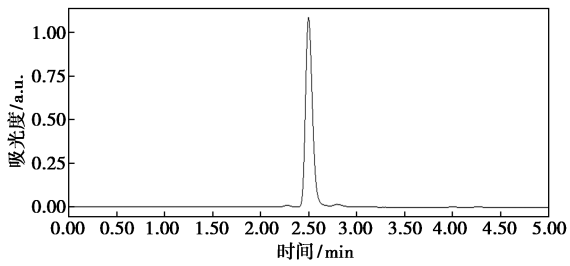


图 1　三七素标准品的 HPLC 图

2.1.5 精密度试验

取三七素标准品溶液,连续进样 6 次,按 2.1.1 中色谱条件对三七素进行分析,并计算三七素峰面积的 *RSD* 值,结果 *RSD* 为 0.59%,表明仪器的精密度良好。

2.1.6 重复性试验

称量 6 份三七素标准品溶液,按 2.1.1 中色谱条件进样并计算三七素的 *RSD* 值,结果 *RSD* 为 1.68%,表明该方法重复性良好。

2.1.7 检测限和定量限

取三七素对照样品溶液,稀释至一定浓度后,按 2.1.1 中色谱条件取样,以 3 倍信噪比为检测限,10 倍信噪比为定量限,得到三七素的检测限和定量限分别为 12.01 ng 和 60.05 ng。

2.1.8 加样回收率

取含量已知的三七样品溶液,按 2.1.1 中色谱条件,分别添加样品溶液的 0.5、1、1.5 倍三七素标准品,测定并计算三七素的加样回收率及 *RSD* 值。结果表明,加样回收率分别为 103.27%、103.81%、103.13%;*RSD* 分别为 4.61%、1.80%、2.63%。

2.2 三七药材部位筛选

2.2.1 三七药材部位筛选设计

用药材粉碎机将晒干后的三七根、茎、叶、花、整株磨碎后过 45 目筛,称量 5.0 g 药材粉末,按料液比 1∶20 g/mL 加入 100 mL 纯化水,倒入三口烧瓶。先置于超声仪器中,设置超声功率为 90 W,处理 5 min。再置于微波提取设备中,设置微波温度为 40℃、功率 600 W,选择微波时间 5、10、25、30 min 后,将溶液放入离心机中,取上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后。按 2.1.1 中色谱条件进样,并计算样品中三七素质量分数。

2.2.2 三七药材部位筛选结果

三七素在三七不同部位的质量分数如表 1 所示。由表 1 可知,三七各个部位均有三七素分布,其中三七素在花中质量分数最高,其次是叶,整株与根中三七质量分数接近,结果表明,提取三七素原料选用三七花。

表 1 微波时间对三七不同部位的三七素质量分数的影响

mg/g

时间/min	三七叶	三七根	三七花	三七茎	三七整株
5	21.86	8.89	21.74	5.64	9.04
10	21.46	8.96	28.13	5.97	9.21
25	20.53	8.95	32.58	5.83	9.08
30	20.58	8.89	32.13	5.84	8.85

2.3 单因素试验

2.3.1 单因素试验设计

称量 5 g 三七粉,初始工艺参数为:加入药材 20 倍量的纯化水,设置超声时间为 5 min、功率为 90 W;设置微波时间为 15 min、功率为 600 W、温度为 40℃。在上述初始工艺相同情况下,分别考察微波时间(5、10、15、20、25、30 min)、微波温度(30、40、50、60、70、80℃)、超声功率(90、180、270、360、450 W)、料液比(1∶10、1∶15、1∶20、1∶25、1∶30、1∶35 g/mL)、超声时间(5、15、20、25、30 min)对微波-超声辅助提取工艺的影响。微波萃取完成后,将溶液放入离心机,取上清液备用,记录提取液体积。根据 2.1.1 中色谱条件进样,并代入 2.1.4 中线性方程中,计算三七素总质量分数:

$$\text{三七素质量分数(mg/g)} = \sum \text{三七素质量(mg)} / \text{三七药材粉末质量(g)} \quad (1)$$

2.3.2 单因素试验结果

各单因素试验结果如表 2~表 6 所示。在单因素试验中,随着微波时间的增加,三七素质量分数呈现先增后降的趋势。在微波时间 20 min 时三七素质量分数最高,大于 20 min 总质量分数下降。由于微波时间过长,杂质分子吸收足够能量随之析出,稀释三七素,考虑经济效益,选择微波时间 10 min 较为适合。当微波温度较低时,溶剂没有渗入药材,不能充分提取三七素。当微波辐射增大,溶质吸收热量,产生的热应力加速使三七素成分溶出,在微波温度为 60℃时达到高峰。然而,过高温度会破坏有效成分结构,三七素质量分数开始减少。因此,选择微波温度为 60℃。超声功率为 270 W 时,三七素质量分数最高,随着功率的增大,质量分数略微下降。声强过高产生大量的气泡,这些气泡会将声波反射出去,从而降低能量的传输。此外,超声功率对总质量分数影响并不显著,考虑经济效益,选择超声功率为 180 W。由于超声波产生的效应会加速细胞壁破碎,在 25 min 时三七素质量分数最高,但时间增加到一定程度,高能量会使皂苷结构分解,导致质量分数出现下降,所以选择超声时间为 25 min。当液料

表 2 微波时间对三七素质量分数的影响

微波时间/min	三七素质量分数/(mg·g^{-1})	微波时间/min	三七素质量分数/(mg·g^{-1})
5	24.17	20	26.78
10	26.12	25	26.28
15	26.37	30	26.22

表 3　微波温度对三七素质量分数的影响

微波温度/℃	三七素质量分数/(mg·g^{-1})	微波温度/℃	三七素质量分数/(mg·g^{-1})
30	21.46	60	26.36
40	24.78	70	24.51
50	25.35	80	22.76

表 4　超声功率对三七素质量分数的影响

超声功率/W	三七素质量分数/(mg·g^{-1})	超声功率/W	三七素质量分数/(mg·g^{-1})
90	26.40	360	26.78
180	26.70	450	26.72
270	26.80		

表 5　超声时间对三七素质量分数的影响

超声时间/min	三七素质量分数/(mg·g^{-1})	超声时间/min	三七素质量分数/(mg·g^{-1})
5	25.55	25	28.17
15	26.37	30	28.03
20	27.53		

表 6　料液比对三七素质量分数的影响

料液比/(g·mL^{-1})	三七素质量分数/(mg·g^{-1})	料液比/(g·mL^{-1})	三七素质量分数/(mg·g^{-1})
1∶10	21.39	1∶25	28.25
1∶15	26.35	1∶30	28.33
1∶20	27.36		

比过低时,不利于成分扩散,料液比为 1∶30 时三七素质量分数最高,此后变化不大,这是由于三七素扩散很快达到了平衡,但剂量过高会导致成本增加。因此,选择液料比 1∶25 g/mL。

2.4　响应面试验

2.4.1　响应面试验设计

根据 Box-Behnken 测试设计原理,以三七素作为响应面进行超声时间、微波温度和料液比优化比较试验,自变量因素变化水平设计结果如表 7 所示。

表 7　三七素的响应面试验的因素与水平

水平	超声时间(A)/min	微波温度(B)/℃	料液比(C)/(g·mL^{-1})
-1	20	40	1∶10
0	25	60	1∶25
1	30	80	1∶40

2.4.2　三七素响应面试验结果

采用 DesignExpert V8.0.6 软件中的 Box-Behnken 方法设计测试,结果如表 8 和表 9 所示。自变量超声时间(A)、微波温度(B)、料液比(C)和三七素质量分数(Y)的二次多项式回归方程是对表 8 试验结果进行拟合分析得到:

$$Y = 29.47 + 0.1436A + 0.4663B + 3.74C - 0.1652AB - 0.1351AC - 0.3686BC - 0.6242A^2 + 0.1251B^2 - 4.02C^2 \quad (2)$$

表 8　三七素的 Box-Behnken 试验设计与结果

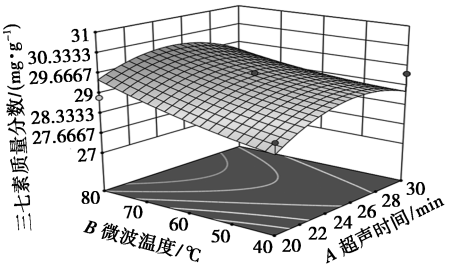
序号	超声时间(A)/min	微波温度(B)/℃	料液比(C)/(g·mL^{-1})	三七素质量分数/(mg·g^{-1})
1	1	0	1	28.55
2	1	0	-1	21.17
3	0	0	0	28.78
4	-1	1	0	28.87
5	1	1	0	29.06
6	0	-1	1	28.65
7	0	-1	-1	20.62
8	0	0	0	28.87
9	0	0	0	29.56
10	-1	-1	0	28.56
11	1	-1	0	29.41
12	-1	0	1	28.77
13	0	1	1	29.80
14	0	0	0	28.82
15	0	1	-1	23.24
16	0	0	0	31.34
17	-1	0	-1	20.85

由表 9 可知,模型相关系数 $R^2 = 0.964\ 9$,$R^2_{adj} = 0.919\ 8$,模型 $p<0.01$,表明回归模型拟合程度较好,三七素的提取率与各自变量之间的回归关系极显著,试验误差小,失拟项 $p=2>0.05$,影响不显著,说明该试验数据和模型符合程度显著,可以用该模型分析和预测微波-超声辅助三七素的提取。从 F 值可知,各因素对三七素提取率的影响顺序为 $C>B>A$,即料液比>微波温度>超声时间;C 和 C^2 通过因素显著性分析得出显著性。不同影响因素的三维响应面图如图 2 所示。从图 2 可知,料液比和微波温度、超声时间和微波温度 2 组交互作用最强。

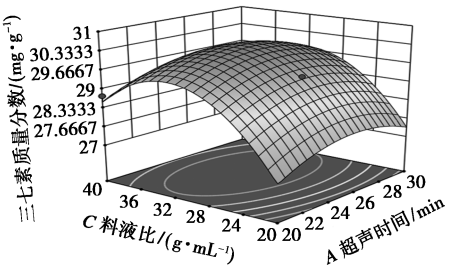
表 9 三七素的响应面方差分析及显著性检验

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*p* 值
模型	185.34	9	20.59	21.38	0.0003 * *
A	0.1651	1	0.1651	0.1713	0.6913
B	1.74	1	1.74	1.81	0.2209
C	111.69	1	111.69	115.93	<0.0001 * *
AB	0.1092	1	0.1092	0.1133	0.7463
AC	0.0731	1	0.0731	0.0758	0.791
BC	0.5434	1	0.5434	0.564	0.4771
A^2	1.64	1	1.64	1.7	0.2332
B^2	0.0659	1	0.0659	0.0684	0.8012
C^2	67.99	1	67.99	70.58	<0.0001 * *
残差	6.74	7	0.9634		
失拟项	2	3	0.6665	0.562	0.6682
误差项	4.74	4	1.19		
总和	192.08	16			

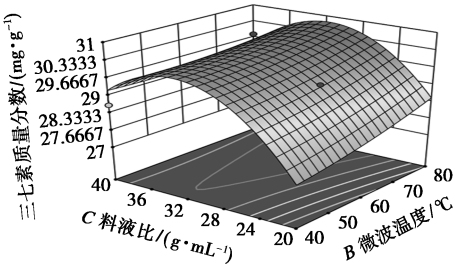
注：* 代表差异显著（$p<0.05$）；* * 代表差异极显著（$p<0.01$）。



（a）超声时间与微波温度对三七素质量分数影响的响应面



（b）超声时间与料液比对三七素质量分数影响的响应面



（c）微波温度与料液比对三七素质量分数影响的响应面

图 2 不同影响因素的三维响应面图

2.4.3 响应面最佳工艺验证

经 DesignExpertV8.0.6 软件优化后三七素的最佳工艺条件：超声时间为 25 min、微波温度为 80℃、料液比为 1∶31 g/mL，在该条件下验证最优工艺，得出与模型预测值相近三七素质量分数为 30.55 mg/g，表明建立的模型良好，将三七素溶液制成冻干粉得到三七素的质量分数达到 46.59 mg/g。

2.5 体外抗炎活性研究

2.5.1 细胞活力检测

RAW264.7 细胞在含有 DMEM 培养基（10%胎牛血清和 1%青霉素/链霉素抗生素）、37℃、5%二氧化碳下培养。加入 150 μL 1.2×10^4 个细胞至 96 孔板培养 12 h。三七素提取物浓缩后制成冻干粉样品，用 DMSO 配成 2 mg/mL 的储备液，使用时用 DMEM 培养基稀释。测试分为空白组（DMEM）、LPS 组（10 μg/mL）、阳性对照组（LPS10 μg/mL+地塞米松 0.05 mg/mL）、三七素组（LPS 10 μg/mL+10、25、50、75、100、150、200 μg/mL 三七素提取物）。当细胞贴壁后，弃去旧的培养基，每孔加入 150 μL 培养基，37℃培养箱孵育 24 h 后，每孔加入 20 μL MTT（5 mg/mL），培养箱孵育 4 h，弃去上清液加入 200 μL DMSO，酶标仪 492 nm 检测 96 孔板的 *OD* 值，以细胞存活率表示毒性大小：

细胞存活率 = [（给药组 *OD* 值 − 空白组 *OD* 值）/空白组 *OD* 值] × 100%

2.5.2 NO 释放量检测

种板步骤按 2.5.1 项，每孔 150 μL 1.2×10^4 个细胞至 96 孔板培养 12 h。试验分为空白组（DMEM）、LPS 组（10 μg/mL）、阳性对照组（LPS 10 μg/mL+地塞米松 0.05 mg/mL）、三七素组（LPS 10 μg/mL+10、25、50、75、100、150、200 μg/mL 三七素提取物）。每孔加入 150 μL，培养温度为 37℃，在二氧化碳体积分数为 5%的条件下培养 24 h。用培养基稀释亚硝酸盐（$NaNO_2$）标准品，采集室温静置 5 min 的 96 孔板细胞上清液 50 μL，分别加入 50 μL Griess 试剂Ⅰ和 50 μL Griess 试剂Ⅱ，测量 96 孔板在 540 nm 处的 *OD* 值，并带入 $NaNO_2$ 对照曲线计算产生的 NO 量。

2.5.3 三七素提取物对细胞活力影响

采用 MTT 法考察三七提取物在不同质量浓度下对 RAW264.7 细胞存活率的影响，结果如表 10 所示。从表 10 中可以看出，三七素质量浓度在 10~200 μg/mL 范围内与 LPS 组对比对存活率的影响无显著差异，说明在此质量浓度范围内三七素对细胞无毒性。结果表明，选择 10~200 μg/mL 质量浓度范围进行后续试验。

表 10　三七素提取物对细胞的存活率

实验组	细胞存活率/%	*SD* 值
control	0. 94	0. 05
LPS	0. 75	0. 12
LPS+地塞米松	0. 77	0. 08
LPS+10 μg/mL	0. 70	0. 05
LPS+25 μg/mL	0. 69	0. 08
LPS+50 μg/mL	0. 70	0. 03
LPS+75 μg/mL	0. 74	0. 07
LPS+100 μg/mL	0. 73	0. 07
LPS+150 μg/mL	0. 83	0. 08
LPS+200 μg/mL	0. 77	0. 09

2. 5. 4　三七素提取物对 NO 释放量的影响

根据 Griess 法测定上清液中炎症介质 NO 的浓度,结果如表 11 所示。由表 11 可知,与对照组相比,NO 的释放的细胞经 LPS 处理后有显著增加。三七素提取物与 LPS 组相比,三七素提取物能明显抑制 NO 的释放量,并且随着质量浓度的增加,NO 释放量呈现减少趋势。当三七素质量浓度为 150 μg/mL 时与阳性对照接近,说明三七素提取不具有良好的抗炎活性。

表 11　三七素提取物对 LPS 诱导后的 NO 释放量

实验组	NO 质量浓度/(μg·mL^{-1})	*SD* 值
control	2. 30	0. 47
LPS	7. 90	0. 89
LPS+地塞米松	4. 02	0. 27
LPS+10 μg/mL	7. 17	0. 60
LPS+25 μg/mL	6. 57	0. 90
LPS+50 μg/mL	5. 49	0. 32
LPS+75 μg/mL	5. 31	0. 71
LPS+100 μg/mL	4. 64	0. 88
LPS+150 μg/mL	3. 57	0. 55
LPS+200 μg/mL	3. 48	0. 39

3　结论

采用微波-超声辅助提取工艺对三七中三七素进行提取可有效缩短提取时间,HPLC 检测三七素检测过程灵敏、准确性高、分析过程简便,获得主要结论如下:

(1)以三七为原料,采用微波-超声联合辅助提取三七素,通过三七部位筛选发现三七素中花中的质量分数最高,其次是三七叶,其中三七整株与三七根质量分数接近,三七茎的质量分数最低。

(2)最优工艺参数由单因素和 Box-Behnken 响应面法得到:超声时间为 25 min、微波温度选择 80℃、料液比 1∶31 g/mL,在该条件下进行最优工艺的验证,得到三七素质量分数为 30. 55 mg/g,与模型预测值 30. 77 mg/g 相近,表明模型建立良好,将溶液浓缩冻干得到三七素冻干粉质量分数达到 46. 59 mg/g。

(3)LPS 是一种重要炎症反应的致病因子,可与 RAW264. 7 细胞表明抗原受体相合刺激细胞,引起机体严重的炎症反应。使用 MTT 测定提取物对细胞活力的影响,明确无毒性范围,经 LPS 刺激后 RAW264. 7 细胞 NO 释放量。结果表明,10 ~ 200 μg/mL 的三七素提取物能抑制 NO 的释放量,呈现一定剂量关系,并对细胞存活率无显著性影响。证明三七素一定程度上可以通过抑制 NO 的释放量来抵抗炎症且对细胞无毒性。综上,三七素有良好开发以及利用前景。

参考文献

[1] 张希,王文倩,许旭东,等.三七素的药理作用研究进展[J].现代药物与临床,2019,34(10):3192-3196.

[2] 舒斌,林娜,丁亚军.注射用三七素对动物实验性损伤的止血作用[J].云南中医学院学报,2018,41(3):12-16.

[3] Huang C, Cheng L, Feng X, *et al*. Dencichine ameliorates renal injury by improving oxidative stress, apoptosis and fibrosis in diabetic rats[J]. Life Sciences, 2020, 258: 118146.

[4] 张玉萍,余琼.三七中三七素的提取分离及含量测定[J].山西中医,2009,25(10):55-56.

[5] 谭朝阳,袁宏佳,尤昭玲.三七有效成分的分离纯化研究[J].中医药导报,2010,16(1):63-65.

[6] 顾龙龙,黄霞.三七素的应用进展[J].家庭生活指南,2021,37(8):158-159.

[7] Zhao L, Chen X, Hu Z, *et al*. Analysis of β-*N*-oxalyl-l-α,β-diaminopropionic acid and homoarginine in Lathyrus sativus by capillary zone electrophoresis[J]. Journal of Chromatography A, 1999, 857(1-2): 295-302.

[8] 李琳,杨晓艳,杨野,等.三七素体外经皮渗透特性研究[J].中草药,2015,46(17):2563-2567.

[9] 庞会婷,罗朵生,郭姣.三七化学成分分析及其抗炎机制的网络药理学探讨[J].中草药,2020,51(21):5538-5547.

[10] 李鑫波,谢晓丽.中药皂苷类成分抗炎作用的研究进展[J].中药新药与临床药理,2019,30(8):1008-1016.

[11] 李琳,王承潇,曲媛,等.反相离子对色谱法测定三七中的三七素含量[J].中国中药杂志,2015,40(20):4026-4030■