

· 工艺与制剂 ·

## 三七叶总皂苷酶解产物的制备及抗抑郁活性评价

张华林<sup>1</sup>, 李梦涛<sup>2</sup>, 彭灏<sup>2</sup>, 周中流<sup>1</sup>, 杨红艳<sup>1</sup>, 项辉<sup>2\*</sup>

(1. 湛江师范学院化学科学与技术学院, 广东 湛江 524048; 2. 中山大学生命科学学院, 广州 510006)

**[摘要]** **目的:** 优选三七叶总皂苷的酶解工艺并评价其酶解产物的抗抑郁活性。**方法:** 以人参皂苷类成分的转化率为指标, 通过单因素试验优选三七叶总皂苷的酶解工艺。建立小鼠慢性温和性不可预见应激模型评价酶解产物的抗抑郁活性。**结果:** 选择蜗牛酶为转化酶, 酶解 pH 4.5, 温度 50 °C, 时间 12 h, 人参皂苷类成分的转化率达 50%。小鼠建模 6 周后, 呈现出体重下降、快感缺失、行动迟缓等抑郁症相似行为, 表明建模成功。第 7~9 周给药期内给药组小鼠体重及糖水偏好率显著增加, 自主活动水平亦有一定程度的改善。第 9 周时与模型组相比, 酶解产物不同(低、中、高)剂量组、氟西汀组小鼠的体重分别增加了 9.33%, 12.44%, 18.13%, 15.03%; 糖水偏好率分别提高了 22.64%, 19.87%, 19.38%, 20.85%; 自主活动水平分别提高了 8.35%, 41.30%, 13.33%, 12.06%, 其中酶解产物中剂量组呈现极显著性差异。**结论:** 三七叶总皂苷酶解产物对抑郁小鼠模型具有良好的抗抑郁作用。

**[关键词]** 三七叶总皂苷; 人参皂苷类成分; 酶解产物; 慢性温和性不可预见应激模型; 抑郁症; 单因素试验

**[中图分类号]** R283.6; R284.2; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)03-0001-05

**[doi]** 10.11653/syjf2014030001

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131128.1407.003.html>

**[网络出版时间]** 2013-11-28 14:07

## Preparation of Enzymatic Hydrolysates from Total Saponins in Leaves of *Notoginseng Radix Et Rhizoma* and Evaluation of Its Antidepressant Effects

ZHANG Hua-lin<sup>1</sup>, LI Meng-tao<sup>2</sup>, PENG Hao<sup>2</sup>, ZHOU Zhong-liu<sup>1</sup>, YANG Hong-yan<sup>1</sup>, XIANG Hui<sup>2\*</sup>

(1. College of Chemistry Science and Technology, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang 524048, China;

2. School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize enzymolysis technology of total saponins in leaves of *Notoginseng Radix Et Rhizoma* and evaluate antidepressant activity of its enzymatic hydrolysates. **Method:** Single factors tests were adopted to optimize enzymolysis technology of total saponins in leaves of *Notoginseng Radix Et Rhizoma* with the conversion rate of ginsenosides as index. Antidepressant activity of enzymatic hydrolysates was evaluated in chronic unpredictable mild stress (CMS) model of mice. **Result:** Helicase was chosen as invertase, hydrolysis pH 4.5, reaction temperature at 50 °C, 12 h for reaction time. Under these conditions, the conversion rate of ginsenosides was about 50%. After continuous treatments with unpredictable mild stress for 6 weeks, mice showed depression-like behaviors, such as reduced body weight, decrease in locomotor activity and anhedonia, which indicated that CMS model of mice was prepared. Then mice were orally received drugs from week 7 to week 9, body weight and sucrose preference of mice were significantly increased, and locomotor activity levels of mice also improved to some extent. In week 9, compared with the model group, body weight of different (low, middle and

**[收稿日期]** 20130924(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81202435); 广东高校优秀青年创新人才培养计划项目(LYM11088)

**[第一作者]** 张华林, 博士, 讲师, 从事天然药物有效成分研究, Tel:0759-39943043, E-mail: zhanghualin303@163.com

**[通讯作者]** \* 项辉, 博士, 教授, 从事神经药理学研究, Tel:020-84115583, E-mail: malhoor@163.com

high) dose groups of enzymatic hydrolysates and fluoxetine group increased by 9.33%, 12.44%, 18.13% and 15.03%, respectively (all groups showed significant difference); Sucrose preference rates of these four groups improved by 22.64%, 19.87%, 19.38% and 20.85%, respectively (all groups showed significant difference); locomotor activity levels of these four groups increased by 8.35%, 41.30%, 13.33% and 12.06% (only the middle group of enzymatic hydrolysates showed significant difference). **Conclusion:** Enzymatic hydrolysates of total saponins in leaves of *Notoginseng Radix Et Rhizoma* had a good antidepressant effects on CMS model of mice.

**[Key words]** total saponins in leaves of *Notoginseng Radix Et Rhizoma*; ginsenosides; enzymatic hydrolysates; model of chronic unpredictable mild stress; depression; single factor tests

三七叶总皂苷为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 叶子的提取物,为传统中成药七叶神安片的主要原料,具有益气安神、活血止痛的功效<sup>[1]</sup>。文献报道人参总皂苷具有明显的抗抑郁作用<sup>[2]</sup>,其有效成分包括人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 和人参皂苷 C-K<sup>[3]</sup>,前期研究发现人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 亦具有显著的抗抑郁活性<sup>[4]</sup>。由于人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>3</sub> 均为三七叶总皂苷的主要成分<sup>[5]</sup>,故推测三七叶总皂苷具有抗抑郁活性。研究表明人参皂苷类成分会在动物胃肠液及肠内菌的作用下产生系列代谢产物而发挥药理药效作用<sup>[6-7]</sup>,体外研究表明酶解法可适当降解三七叶总皂苷而获得较多的次级皂苷或者皂苷元<sup>[8]</sup>,故推测三七叶总皂苷的体外酶解产物具有较好的抗抑郁作用。本实验拟制备三七叶总皂苷的酶解物,采用小鼠慢性温和性不可预知应激模型初步评价其抗抑郁活性,为基于三七叶总皂苷为原料的抗抑郁新药的开发提供参考。

## 1 材料

LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), 202A1 型数显电热恒温干燥箱(上海锦屏仪器仪表公司), ZH-ZFT 型自发活动实验装置及视频分析系统(淮北正华生物仪器设备有限公司)。三七叶总皂苷(广东环球制药有限公司), 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub> 对照品(均购自中国食品药品检定研究院,批号分别为 110704-200318, 111715-200802, 111686-200501), 人参皂苷 C-K, Rh<sub>2</sub>, Rc 及原人参二醇对照品(均购自南京泽朗医药有限公司,批号分别为 39262-14-1-100312, 78214-33-22000103, 11021-14-0-100507, 7755-01-3-100414), 蜗牛酶、纤维素酶、果胶酶、B-葡聚糖酶(北京诺唯信公司), 盐酸氟西汀胶囊(上海中西制药有限公司), D101 型大孔树脂(山东鲁抗树脂厂), 甲醇为色谱纯, 水为蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

NIH 小鼠, 18~22 g, SPF 级, 雄性, 购自广东省

实验动物中心, 许可证号 SCXK(粤)2008-0002。

## 2 方法与结果

**2.1 酶解条件的优化** 以人参皂苷类成分的转化率接近 50% 为目标, 通过单因素试验优选酶解的 pH、温度和时间等参数, 人参总皂苷含量以三七叶总皂苷中人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rb<sub>3</sub> 含量总和标示。

$$\text{转化率} = (1 - \text{酶解后人参总皂苷含量} / \text{酶解前人参总皂苷含量}) \times 100\%$$

**2.1.1 酶的种类** 精密称取三七叶总皂苷 4 份, 每份 4 g, 分别溶解于 100 mL 磷酸盐缓冲液(pH 4.5)中, 80 °C 水浴加热 30 min(消除其他酶的影响), 冷却至室温, 依次加入蜗牛酶、纤维素酶、果胶酶、B-葡聚糖酶 0.5 g 溶解, 50 °C 水浴 12 h, 自来水冷却至室温停止反应, 浓缩, 干燥, 即得酶解物样品, 测定三七叶总皂苷酶解前后人参总皂苷含量。结果发现采用蜗牛酶酶解时, 人参总皂苷含量明显减少, 而采用其他酶酶解时人参总皂苷含量变化不大。

**2.1.2 酶解 pH** 精密称取三七叶总皂苷 7 份, 每份 4 g, 分别溶解于 100 mL 不同 pH(3.0, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.0)的磷酸盐缓冲液中, 80 °C 水浴加热 30 min, 冷却至室温, 各加入蜗牛酶 0.5 g, 其他操作同 2.1.1 项, 计算人参总皂苷转化率分别为 15.34%, 24.74%, 47.38%, 39.23%, 20.54%, 11.03%, 3.66%, 表明随着 pH 的增大, 转化率呈现先增大后减小的趋势, 在偏酸性条件下酶解效果较好, 确定酶解 pH 4.5。

**2.1.3 酶解温度** 精密称取三七叶总皂苷 5 份, 每份 4 g, 分别溶解于 100 mL pH 4.5 的磷酸盐缓冲液中, 80 °C 水浴加热 30 min, 冷却至室温, 各加入蜗牛酶 0.5 g, 在不同水浴温度下(40, 50, 60, 70, 80 °C)反应 12 h, 其他操作同 2.1.1 项, 计算人参总皂苷转化率分别为 23.96%, 54.88%, 63.42%, 44.68%, 11.06%, 说明温度过高可能会导致酶失活, 综合考

虑,确定酶解温度 50 ℃。

**2.1.4 酶解时间** 精密称取三七叶总皂苷 5 份,每份 4 g,分别溶解于 100 mL pH 4.5 的磷酸盐缓冲液中,80 ℃水浴加热 30 min,冷却至室温,各加入蜗牛酶 0.5 g,依次于 50 ℃水浴中反应 6,9,12,15,18 h,其他操作同 2.1.1 项,计算人参总皂苷转化率分别为 30.78%,42.61%,53.75%,64.11%,83.72%,故确定酶解时间 12 h。

**2.2 酶解产物的富集纯化**<sup>[9]</sup> 采用树脂法富集纯化酶解产物中的人参皂苷类成分,酶解产物用水溶解,以 2 BV·h<sup>-1</sup> 的流速通过预处理好的 D-101 型大孔树脂柱内进行吸附,加 3 BV 水以 4 BV·h<sup>-1</sup> 的流速洗脱杂质,用 90% 乙醇 4 BV 洗脱,收集乙醇洗脱液,浓缩,干燥,即得。

**2.3 酶解产物的含量测定** 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub> 的含量测定方法参照文献<sup>[10]</sup>。酶解产生的原人参二醇、人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 和人参皂苷 C-K 的 HPLC 测定条件为 Ultimate AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(86:14),流速 0.7 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 25 ℃,检测波长 203 nm,进样量 10 μL。结果显示三七叶总皂苷中人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rh<sub>2</sub>, C-K 及原人参二醇的质量分数分别为 3.78%, 9.35%, 3.46%, 18.58%, 1.26%, 0.66%, 0.89%, 而酶解产物中上述成分的质量分数则分别为 2.62%, 5.89%, 1.37%, 8.12%, 8.73%, 4.32%, 5.67%。酶解产物经过树脂纯化后转移率达 86.37%。三七叶总皂苷酶解后人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub> 的质量分别减少了 40.14%, 45.59%, 65.80%, 62.25%, 而微量的人参皂苷 Rh<sub>2</sub>, C-K 和原人参二醇则明显增加,表明三七叶总皂苷经蜗牛酶水解后,人参皂苷类成分发生了一定程度的降解,生成相应的次级皂苷或皂苷元。

## 2.4 抗抑郁活性评价

**2.4.1 建模方法**<sup>[11]</sup> 每天随机给予小鼠任意一种刺激(行为限制 30 min,4 ℃冰水游泳 2 min,断水 24 h,断粮 24 h,夹尾 5 min,通宵照明,白噪音 30 min 及 45°斜笼等),使小鼠不能预料刺激的发生,在建模前及建模后每隔 1 周进行行为学指标测定,以判断慢性温和性不可预知应激模型(CMS)是否建模成功。

**2.4.2 动物分组及给药** 小鼠随机分为空白组,模型组,人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组,氟西汀组,酶解产物低、中、高剂量组共 7 组。建模成功后,人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组按

40 mg·kg<sup>-1</sup> 给予人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 溶液,氟西汀组按 10 mg·kg<sup>-1</sup> 给予氟西汀溶液,酶解产物低、中、高剂量组分别按 20,40,80 mg·kg<sup>-1</sup> 给药,空白组和模型组小鼠给予等剂量蒸馏水,连续给药 3 周。

**2.4.3 慢性应激建模及药物对小鼠体重的影响** 分别在造模前 1 d(0 周)、造模期(第 1~6 周)及给药期(第 7~9 周)测定小鼠体重,观测小鼠体重变化情况,结果见表 1。建模前 1 周为小鼠适应期,各组间小鼠无显著性差异;第 1~2 周时各组小鼠体重均有所增加,但各组间无显著性差异;第 3~6 周空白组小鼠体重持续增加,模型组及各给药组小鼠体重则持续减少,与空白组相比具有显著性差异(0~4 周试验数据省略)。第 6 周时,与空白组相比,模型组、人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组、氟西汀组及酶解产物不同(低、中、高)剂量组小鼠体重分别降低了 16.44%, 16.00%, 16.00%, 16.89%, 16.00%, 17.33%, 慢性应激导致小鼠体重的明显减少表明建模成功。第 7~9 周为给药期,除模型组外,其余 6 组小鼠体重呈明显增加趋势。在第 9 周时,人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组、氟西汀组及酶解产物不同(低、中、高)剂量组与模型组相比,小鼠体重分别增加了 9.84%, 15.03%, 9.33%, 12.44%, 18.13%, 均具有极显著性差异;但与空白组相比,小鼠体重分别降低了 12.03%, 7.88%, 12.45%, 9.96%, 5.39%, 均具有显著性差异,表明各给药组小鼠给药 3 周后,小鼠体重虽能显著提高,但不能恢复至正常水平。在第 7~9 周的给药期内,给予人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 和氟西汀后可极显著地恢复小鼠体重,表现出明显的抗抑郁作用;而三七叶总皂苷酶解产物则呈现较低剂量发生抗抑郁作用的时间较长,高剂量起效较快的特点。

**2.4.4 慢性应激建模及药物对小鼠糖水消耗的影响** CMS 小鼠会出现快感缺失现象,通常以糖水偏好率行为学指标来测定小鼠快感缺失的程度,同时可反映各给药组的抗抑郁药效。建模前对小鼠糖水消耗基线进行测定,结果空白组、模型组、人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组、氟西汀给药组及酶解产物不同(低、中、高)剂量组的糖水消耗量分别为(6.82 ± 0.497), (6.92 ± 0.462), (6.78 ± 0.447), (6.87 ± 0.359), (6.69 ± 0.765), (6.89 ± 0.554), (6.85 ± 0.571) g, 各组间无显著性差异,表明可以进行糖水消耗试验。采用双瓶法,试验前断水 24 h,分别给予 2 个已称重的喂水瓶,一瓶为 1% 蔗糖水,一瓶为自来水,24 h 后分别称定 2 个水瓶的质量,按糖水偏好率 = 蔗糖瓶饮用量 / (蔗糖瓶饮用量 + 自来水瓶饮用

量) × 100% 计算,见表 2。结果显示建模第 1~4 周各建模组小鼠的糖水偏好率均有一定下降,但与空白组相比无显著性差异,故试验数据省略;在第 5 周时,各建模组小鼠的糖水偏好率下降至约 68.5%,与空白组相比下降明显,但仍无显著性差异;建模第 6 周时各建模组小鼠的糖水偏好进一步下降,与空白组相比,模型组、人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组、氟西汀组及酶解产物不同(低、中、高)剂量组分别降低了 12.98%, 11.44%, 13.24%, 16.07%, 16.32%, 11.57%, 均具有显著性差异,表明建模成功。第 7~9 周为给药期,与模型组相比,第 7 周时氟西汀给药组小鼠糖水偏好率明显提高了 23.30%,而酶解

物产物不同剂量组和人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组小鼠则无明显影响;第 8 周时人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 组、氟西汀组及酶解产物不同(低、中、高)剂量组小鼠的糖水偏好率较模型组分别提高了 25.09%, 26.19%, 21.95%, 23.19%, 21.06%, 均具有极显著性差异,第 9 周时上述各给药组的糖水偏好率分别提高了 15.47%, 20.85%, 22.64%, 19.87%, 19.38%, 同样具有极显著性差异,逆转了 CMS 小鼠的快感缺失现象,表现出良好的抗抑郁作用。在第 7 周时,给予氟西汀后可马上恢复 CMS 小鼠的快感缺失行为,起效较快,而三七叶总皂苷酶解产物及人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 在第 8, 9 周时才发挥作用,呈现起效较慢的特点。

表 1 三七叶总皂苷酶解产物对慢性应激模型小鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周	第 9 周
空白	-	25	22.1 ± 0.26	22.5 ± 0.26	23.7 ± 0.69	23.6 ± 0.32	24.1 ± 0.35
模型	-	25	18.9 ± 0.12 <sup>2)</sup>	18.8 ± 0.31 <sup>2)</sup>	19.2 ± 0.30 <sup>2)</sup>	19.3 ± 0.18 <sup>2)</sup>	19.3 ± 0.16 <sup>2)</sup>
人参皂苷 Rb <sub>3</sub>	40	25	19.1 ± 0.16 <sup>2)</sup>	18.9 ± 0.31 <sup>2)</sup>	20.1 ± 0.29	20.7 ± 0.29 <sup>4)</sup>	21.2 ± 0.22 <sup>1)4)</sup>
氟西汀	10	25	19.1 ± 0.14 <sup>2)</sup>	18.9 ± 0.26 <sup>2)</sup>	21.1 ± 0.32 <sup>3)</sup>	21.5 ± 0.29 <sup>4)</sup>	22.2 ± 0.22 <sup>1)4)</sup>
酶解产物	20	10	19.0 ± 0.24 <sup>2)</sup>	18.7 ± 0.42 <sup>2)</sup>	20.0 ± 0.45	20.7 ± 0.36	21.1 ± 0.36 <sup>1)4)</sup>
	40	10	19.0 ± 0.25 <sup>2)</sup>	18.9 ± 0.38 <sup>2)</sup>	21.1 ± 0.78	20.8 ± 0.39 <sup>3)</sup>	21.7 ± 0.34 <sup>1)4)</sup>
	80	10	18.9 ± 0.23 <sup>2)</sup>	18.6 ± 0.33 <sup>2)</sup>	21.4 ± 0.45 <sup>3)</sup>	21.5 ± 0.37 <sup>4)</sup>	22.8 ± 0.32 <sup>1)4)</sup>

注:与空白组相比<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01;与模型组相比<sup>3)</sup>P < 0.05<sup>4)</sup>P < 0.01(表 2, 3 同)。

表 2 三七总皂苷酶解产物对 CMS 小鼠糖水偏好率的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周	第 9 周
空白	-	25	79.2 ± 1.89	77.8 ± 2.62	76.3 ± 4.08	77.2 ± 1.73	75.0 ± 1.86
模型	-	25	68.6 ± 5.57	67.7 ± 3.04 <sup>1)</sup>	57.5 ± 5.19 <sup>2)</sup>	56.5 ± 1.89 <sup>2)</sup>	61.4 ± 2.51 <sup>2)</sup>
人参皂苷 Rb <sub>3</sub>	40	25	68.2 ± 3.83	68.9 ± 2.92 <sup>1)</sup>	67.7 ± 3.89	70.7 ± 2.70 <sup>4)</sup>	70.9 ± 1.95 <sup>4)</sup>
氟西汀	10	25	69.5 ± 4.13	67.5 ± 3.84 <sup>1)</sup>	70.9 ± 3.43 <sup>3)</sup>	71.3 ± 2.13 <sup>4)</sup>	74.2 ± 1.89 <sup>4)</sup>
酶解产物	20	10	67.9 ± 3.59	65.3 ± 4.96 <sup>1)</sup>	60.7 ± 8.10	68.9 ± 2.83 <sup>4)</sup>	75.3 ± 3.76 <sup>4)</sup>
	40	10	68.5 ± 5.09	65.1 ± 4.88 <sup>1)</sup>	68.2 ± 5.99	69.6 ± 2.66 <sup>4)</sup>	73.6 ± 2.51 <sup>4)</sup>
	80	10	68.3 ± 5.01	68.8 ± 3.26 <sup>1)</sup>	61.7 ± 4.23	68.4 ± 2.12 <sup>4)</sup>	73.3 ± 2.14 <sup>4)</sup>

**2.4.5 慢性应激建模及药物对小鼠自主活动的影响** 将小鼠放入 ZH-ZFT 型自发活动实验装置中,适应 2 min,录像记录小鼠在随后 5 min 内的活动总路程,使用自带的分析系统对录得结果进行分析。在建模前及建模 1~4 周时,各给药组、模型组和空白组间均无显著性差异,但各给药组、模型组和空白组的自主活动总路程均呈现较明显的下降趋势,试验数据省略,建模第 5~9 周时小鼠自主活动记录见表 3。第 5~6 周时,各给药组、模型组和空白组小鼠的自主活动总路程继续呈现较明显的下降趋势,但各给药组、模型组和空白组间依然无显著性差异,

表明长期饲养及慢性应激可降低小鼠的自主活动水平。第 7~9 周为给药期,第 7 周时各组小鼠的自主活动水平进一步下降,但无显著性差异;第 8~9 周给药后,各给药组小鼠的自主活动水平呈现明显的恢复趋势,与模型组相比,第 9 周时氟西汀组及酶解产物不同(低、中、高)剂量组小鼠的自主活动水平分别提高了 12.06%, 8.35%, 41.30%, 13.33%, 表明各给药组的自主活动水平有一定程度的改善。

### 3 讨论

三七叶总皂苷含有人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rb<sub>3</sub> 等成分,预试验对不同酶解程度的三七叶总皂苷产

表3 三七总皂苷酶解产物对CMS小鼠开场试验活动总路程的影响( $\bar{x} \pm s$ )

cm

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	n	第5周	第6周	第7周	第8周	第9周
空白	-	25	4 532.5 ± 129.9	3 821.3 ± 223.6	3 489.7 ± 210.5	4 857.1 ± 117.9	4 613.5 ± 197.6
模型	-	25	4 000.8 ± 231.6	3 686.6 ± 145.7	3 131.7 ± 238.1	4 390.1 ± 205.9	3 242.5 ± 207.9 <sup>2)</sup>
人参皂苷 Rb <sub>3</sub>	40	25	4 089.9 ± 304.5	3 784.7 ± 297.2	2 667.4 ± 275.7	4 295.0 ± 284.1	3 215.6 ± 173.4
氟西汀	10	25	3 844.7 ± 224.7	3 736.2 ± 286.1	2 701.8 ± 164.5	3 927.4 ± 183.7	3 633.7 ± 147.6
酶解产物	20	10	4 018.8 ± 320.3	3 771.9 ± 333.3	2 449.6 ± 202.6	3 400.5 ± 121.7 <sup>3)</sup>	3 513.2 ± 305.8
	40	10	3 982.3 ± 246.2	3 746.6 ± 376.2	2 636.8 ± 290.4	3 777.9 ± 276.0	4 581.6 ± 339.9 <sup>4)</sup>
	80	10	3 914.5 ± 220.4	3 659.3 ± 357.6	2 950.4 ± 172.5	4 445.8 ± 309.5	3 674.8 ± 233.9

物进行筛选,结果发现人参皂苷类成分的转化率接近50%时,酶解产物的抗抑郁活性最佳。

CMS是抑郁症研究中常用的动物抑郁模型,可模拟人类抑郁症中体重下降、快感缺失、自主活动下降等核心症状<sup>[11-14]</sup>。NIH小鼠建模6周后,呈现出体重下降、快感缺失、行动迟缓等抑郁症相似的行为表现,说明建模成功;在第7~9周给药期内,三七叶总皂苷酶解产物能恢复小鼠的体重,提升小鼠的糖水偏好率,缓解小鼠快感缺失情况,恢复小鼠自主活动水平,表明酶解产物具有良好的抗抑郁作用。

抑郁症作为慢性疾病,需要长期服药,故必须要考虑抗抑郁药的长期耐受性和与其他药物相互作用的安全性等问题。目前,主流的抗抑郁西药如氟西汀、帕罗西汀、西酞普兰等虽然起效快,但由于化学结构特征和作用机制的特点,不可避免地会产生5-HT综合征、胃肠道反应、性功能障碍、抗利尿激素异常分泌综合征、戒断反应等不良反应。三七叶总皂苷作为安神补脑药用于精神科疾病已有多年,安全可靠,毒副作用少,至今未发现不良反应的报道,因此,以三七叶总皂苷为原料开发疗效显著、低毒、安全的人参皂苷类抗抑郁新药具有重要意义。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:423.
- [2] Dang H X, Chen Y, Liu X M, et al. Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2009, 33(8):1417.
- [3] Yamada N, Araki H, Yoshimura H. Identification of antidepressant-like ingredients in ginseng root (*Panax ginseng* C. A. Meyer) using a menopausal depressive-like state in female mice: participation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors[J]. Psychopharmacol, 2011, 216(4):589.

- [4] Cui J H, Jiang L X, Xiang H. Ginsenoside Rb<sub>3</sub> exerts antidepressant-like effects in several animal models[J]. J Psychopharmacol, 2012, 26(5):697.
- [5] 周家明,崔秀明,曾鸿超,等. 三七茎叶的综合开发利用[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(3):32.
- [6] Qian T X, Cai Z W. Biotransformation of ginsenosides Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>3</sub> and Rh<sub>2</sub> in rat gastrointestinal tracts[J]. Chin Med, 2010, 5(19):1.
- [7] Park C S, Yoo M H, Noh K H, et al. Biotransformation of ginsenosides by hydrolyzing the sugar moieties of ginsenosides using microbial glycosidases [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 87(1):9.
- [8] 姜彬慧,韩颖,赵余庆,等. 酶转化三七叶总皂苷制备人参皂苷 C-K 的工艺优化[J]. 中草药, 2004, 35(9):986.
- [9] 姜彬慧,赵余庆,韩颖,等. 三七叶皂苷酶水解产物的提取分离及结构鉴定[J]. 中国天然药物, 2004, 2(4):202.
- [10] 张华林,郭静,袁春平,等. 三七叶抗抑郁活性提取物 PnGL 中皂苷类成分分析[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6):652.
- [11] Zhou Y Z, Lu L L, Li Z F, et al. Antidepressant-like effects of the fractions of Xiaoyaosan on rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(1):236.
- [12] Xu F, Peng D Y, Tao C L, et al. Anti-depression effects of Danggui-Shaoyao-San, a fixed combination of traditional Chinese medicine, on depression model in mice and rats[J]. Phytomedicine, 2011, 18(13):1130.
- [13] 高洪元,田青. 佛手挥发油的抗抑郁作用机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):231.
- [14] 张丽萍,武丽,张曼,等. 加味温胆汤对抑郁模型大鼠海马神经细胞内钙离子浓度的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1):188.

[责任编辑 仝燕]