中国医院药学杂志
Chinese Journal of Hospital Pharmacy
ISSN 1001-5213,CN 42-1204/R

《中国医院药学杂志》网络首发论文

题目：　人参二醇组皂苷和三醇组皂苷对血虚模型大鼠的治疗作用
作者：　张兰曹，梁祖国，张玉尧，张旭，张鹤
收稿日期：　2022-08-15
网络首发日期：　2022-12-08
引用格式：　张兰曹，梁祖国，张玉尧，张旭，张鹤．人参二醇组皂苷和三醇组皂苷对血虚模型大鼠的治疗作用[J/OL]．中国医院药学杂志.
https://kns.cnki.net/kcms/detail//42.1204.R.20221207.1739.003.html

网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

人参二醇组皂苷和三醇组皂苷对血虚模型大鼠的治疗作用

张兰曹[1]，梁祖国[1]，张玉尧[1]，张旭[1]，张鹤[1,2]

（1.长春中医药大学/吉林省中药生物大分子重点实验室，吉林 长春 130117；2.长春中医院大学附属医院，吉林 长春 130021）

*通信作者 张鹤，女，博士，副教授，研究方向：中药物质基础

摘要 目的：比较人参二醇组皂苷（panaxadiol saponin，PDS）和人参三醇组皂苷（panaxatriol saponin，PTS）对环磷酰胺（cyoclphosphnalide，CP）和乙酰苯肼（acetylphenylhydrazine，APH）诱导的血虚模型大鼠的治疗作用。方法：采用高效液相色谱仪检测皂苷组成；采用 CP 和 APH 建立血虚模型，将大鼠随机分为空白对照组、模型组、PDS 组和 PTS 组，血液分析仪检测大鼠血常规指标；采用酶联免疫吸附试验（ELISA）检测血清中相关造血因子和炎症因子的含量；采用流式细胞术检测骨髓、胸腺和脾脏的细胞周期。结果：在皂苷分析中，PDS 中主要包括 Rb1、Rc、Rb2 和 Rd，原人参二醇型皂苷约占 91.58%；PTS 中主要包括 Re、Rg1 和 Rf，原人参三醇型皂苷约占 77.10%。与空白组相比，模型组大鼠血常规、造血因子和炎症因子水平均显著下降；骨髓、脾脏和胸腺细胞的 G0/G1 期比例显著降低，同时 S 期比例显著增加。与模型组相比，PDS 组和 PTS 组以上指标均不同程度改善。结论：PDS 和 PTS 均可改善 CP 和 APH 引起的大鼠血虚，且 PDS 的作用明显优于 PTS。

关键词 人参二醇组皂苷；人参三醇组皂苷；血虚模型大鼠；治疗作用

中图分类号 R965 **文献标志码** A

Therapeutic effects of panaxadiol saponins and panaxatriol saponins on blood deficiency model rats

Zhang Lan-cao[1], Liang Zu-guo[1], Zhang Yu-yao[1], Zhang Xu[1], Zhang He[1,2]

(1.Changchun University of Chinese Medicine/Jilin Provincial Key Laboratory of Biomacromolecules of Chinese Medicine, Jilin Changchun 130117, China; 2.Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Jilin Changchun 130021, China)

Abstract OBJECTIVE To compare the therapeutic effects of panaxadiol saponins (PDS) and panaxatriol saponins (PTS) on blood deficiency model rats induced by cyclophosphamide (CP) and acetylphenylhydrazine (APH). METHODS The composition of saponins was detected by high performance liquid chromatography, rats were randomly divided into blank control group, model group, PDS group and PTS group, the blood deficiency model was established by CP and APH. The blood routine index of rats was detected by a hematology analyzer. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of related hematopoietic factors and inflammatory factors in serum. Cell cycle was detected in bone marrow, thymus, and spleen by Flow Cytometry. RESULTS In the analysis of saponins, PDS mainly included Rb1, Rc, Rb2 and Rd, and protopanaxadiol saponins accounted for about 91.58%; PTS mainly included Re, Rg1 and Rf, and protopanaxatriol saponins accounted for about 77.10%. Compared with the control group, the blood routine, hematopoietic factors and inflammatory factors of model rats decreased significantly, and the G0/G1 phase of bone marrow, spleen and thymus decreased significantly, while the S phase increased significantly. PDS and PTS could improve the above indexes compared with the model group. CONCLUSION Both PDS and PTS improve the blood deficiency induced by CP and APH in rats, and the effect of PDS is better than that of PTS.

Key words panaxadiol saponin; panaxatriol saponin; blood deficiency model rats; therapeutic effects

收稿日期：2022-08-15
基金项目：国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目（编号：U19A2013）
作者简介：张兰曹，女，硕士研究生在读，研究方向：中药物质基础
网络首发时间：2022-12-08 15:48:21 网络首发地址：https://kns.cnki.net/kcms/detail//42.1204.R.20221207.1739.003.html

《中国药典》记载人参具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津和安神的功效[1]。人参皂苷（ginsenosides）是人参的药效物质基础，由皂苷元与糖相连构成的糖氧苷类化合物，为四环三萜的达玛烷型结构，主要分为原人参二醇型皂苷（panaxadiol saponin，PDS）和原人参三醇型皂苷（panaxatriol saponin，PTS）两大类，PDS 主要包括 Ra2、Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd 和 Rg3 等，具有抗氧化[2]、抗肿瘤[3]和促进造血功能[4]等作用；PTS 主要包括 Re、Rf、Rg1、nR1 和 Rh1 等，具有抗炎、免疫调节和促进造血功能等药理作用[5]。

环磷酰胺（cyclophosphamide，CP）是临床上常用的一种抗肿瘤药物，可引起骨髓抑制、免疫抑制、肝肾功能损伤等严重的不良反应[6]。乙酰苯肼（acetylphenylhydrazine，APH）对红细胞产生氧化损伤，引起造血系统功能紊乱。二者联用常被用来造血虚模型[7]。人参中皂苷类成分不仅能抑制癌细胞，同时还能减轻 CP 引起的免疫低下等不良反应，增强机体的免疫功能[8]。本课题组前期研究发现，PDS 和 PTS 能显著预防 CP 引起的骨髓抑制，增强骨髓的造血功能，提高机体的免疫能力，同时发现 PDS 的预防作用明显优于 PTS[5]。PDS 和 PTS 结构上的差异导致二者在体内吸收、分布、代谢和排泄的差异较大；PDS 的半衰期长、血浆结合率高于 PTS，而 PTS 吸收较快，PDS 的。因此本研究在前期实验的基础上，比较 PDS 和 PTS 对血虚模型大鼠的治疗作用，进一步验证 PDS 的治疗效果优于 PTS，为人参皂苷的深入研究提供理论基础。

1. 材料与方法

1.1 药材与试剂

人参为生晒参，购自抚松县万良人参市场；注射用环磷酰胺（批号 WXBC9630V）和乙酰苯肼（批号 H1608015），购自美国 Sigma-Aldrich 公司；血清细胞因子 TNF-α（批号 BY-EM210852）、IFN-γ（批号 BY-EM210140）、IL-4（批号 BY-EM210186）、EPO（批号 BY-EM210352）、GM-CSF（批号 BY-EM210476）、TPO（批号 BY-EM210763）ELISA 试剂盒（南京博研生物）；细胞周期试剂盒（批号 2139328，美国 BD 公司）。

1.2 仪器

SX-700 立式压力蒸汽灭菌器（日本 Tomy 股份有限公司）；XW-80A 微型旋涡混合仪（上海沪西分析仪器厂有限公司）；Infinite200Pro 型酶标仪（瑞士 Tecan 公司）；AL204 电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；UltiMate-300 型高效液相色谱仪和 ST-40R 型高速离心机（美国赛默飞公司）；XT-2000i 全自动血液分析仪（日本 Sysmex Corporation 公司）；DxFLEX 流式细胞仪（美国 Becman 公司）。

1.3 实验动物

选用 SPF 级健康 Wistar 雄性大鼠 32 只，*6 周龄*，体质量（200±20）g，购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司，许可证号：SCXK（吉）-2016-0003。该实验方案及操作规程均符合长春中医药大学生物伦理学委员会要求（动物伦理批号：2020247）。

1.4 方法

1.4.1 人参二醇型皂苷和人参三醇型皂苷制备

取生晒人参，粉碎，按料液比 1∶10 加纯化水，煎煮提取 3 次，合并上清液、过滤、浓缩，得到的人参提取物浓缩液；经大孔吸附树脂柱吸附，先后进行水和不同浓度的乙醇洗脱，回收乙醇至浸膏状，加入 95%乙醇沉淀、滤过、洗脱，滤液合并浓缩，采用脱色树脂和活性炭进行脱色后得人参总皂苷[9]。人参总皂苷进一步用乙醇溶解，加等体积的沉淀剂（乙醚与丙酮体积比 1∶1），静止，待上清液澄清后过滤。滤液调 pH=7，过脱色树脂及阳离子树脂，接收流出液，浓缩至干燥，即得人参三醇皂苷。沉淀部分用水溶解，调 pH=7，加乙醇，过脱色树脂及阳离子树脂，接收流出液，浓缩至干燥，即得人参二醇皂苷[10]。

1.4.2　皂苷含量测定

采用赛默飞 UltiMate-300 高效液相色谱仪检测 PDS 和 PTS 中常见皂苷组成，包括 nR1，Rg1，Re，pF11，Rf，Ra2，Rb1，Rc，9-Ro，Rb2，Rb3，Rd 和 20（R）-Rg3，色谱条件和色谱图参照课题组前期的研究结果[5]。

1.4.3　造模、分组和给药

32 只雄性大鼠适应性饲养 5 d 后，随机分为空白对照组、模型组、PDS 组和 PTS 组，每组 8 只。空白对照组和模型组大鼠灌胃给予等体积纯化水，PDS 组和 PTS 组给药剂量均为 250 mg • kg^{-1}，连续给药 49 d；除空白组外，模型组、PTS 组和 PDS 组均在第 22、25 天皮下注射含 2% APH 的生理盐水溶液 20 mg • kg^{-1}，第 25 天皮下注射 APH 2 h 后，按 25 mg • kg^{-1} 的剂量，腹腔注射 CP 生理盐水溶液，连续给药 4 d（第 25~28 天）；在第 28 天造模后继续给药 PDS 和 PTS 至 49 d。末次给药 24 h 后，腹腔注射 10%戊巴比妥钠麻醉大鼠，腹主动脉取血后直接用于血常规、造血因子和炎症因子等指标测定。

1.4.4　指标测定

（1）血常规：采腹主动脉血加入 0.5 mL EDTA-K2 抗凝管中，使用血液分析仪分析 WBC、RBC、HGB、PLT 以及 RET 的数量。

（2）血清因子：取大鼠血浆 3000 r • min^{-1} 离心 10 min，取上清，采用酶联免疫吸附测定法检测造血因子和炎症因子水平。其中造血因子包括 EPO、GM-CSF 和 TPO；炎症因子包括 IL-4、IFN-γ 以及 TNF-α。具体步骤参照说明书。

（3）细胞周期：取大鼠的右侧股骨、胸腺和脾脏，在无菌操作下分别制备成细胞悬液加入 1.5 mL 离心管中，4 ℃、1 500 r • min^{-1} 离心 5 min，弃去大部分上清，留少许上清重悬细胞；将细胞悬液缓慢加入到提前分装并预冷的 75%酒精中，4℃固定过夜；次日 4 ℃、1 500 r • min^{-1} 离心 5 min 去上清，用 1 mL PBS 重悬，洗去固定液；重悬后调整细胞数为 1×10^6 个/mL，每管加入 0.5 mL 碘化丙啶染色液，室温下避光孵育 30 min 后上机检测各个组织样本的细胞周期。

1.5　统计学处理

实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，利用 Prism8.0 软件进行单因素方差分析（One-way ANOVA）。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　皂苷组成分析

表 1 结果显示，PDS 和 PTS 中 13 种皂苷的总含量分别为 768.45，714.34 mg • g^{-1}；PDS 中未检测到 nR1 和 F11，PTS 中未检测到 Ro 和 Rb3。在 13 种皂苷中，Ra2、Rb1、Rc、Rb2、Rb3 和 20（*R*）-Rg3 属于原人参二醇型皂苷，在 PDS 中占 91.58%；nR1、Rg1、Re 和 Rf 属于原人参三醇型皂苷，在 PTS 中占 77.10%。

表1　皂苷组成分析($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab. 1　Saponin composition analysis ($\bar{x}\pm s$, n=3)

序号	皂苷名称	皂苷类型	PDS/（mg • g^{-1}）	PTS/（mg • g^{-1}）
1	notoginsenoside R1 (nR1)	原人参三醇型	-	7.08±0.51
2	ginsenoside Rg1 (Rg1)	原人参三醇型	2.37±0.20	129.19±6.45
3	ginsenoside Re (Re)	原人参三醇型	30.38±1.08	334.74±6.02
4	pseudoginsenoside F11 (pF11)	奥克梯隆型	-	3.80±0.15
5	ginsenoside Rf (Rf)	原人参三醇型	19.33±1.18	68.03±3.02

6	ginsenoside Ra2 (Ra2)	原人参二醇型	17.02±0.76	2.12±0.19
7	ginsenoside Rb1 (Rb1)	原人参二醇型	225.78±6.57	18.04±0.31
8	ginsenoside Rc (Rc)	原人参二醇型	151.09±7.66	48.40±2.22
9	ginsenoside Ro (Ro)	齐墩果烷型	12.16±0.49	-
10	ginsenoside Rb2 (Rb2)	原人参二醇型	165.52±5.98	15.43±0.32
11	ginsenoside Rb3 (Rb3)	原人参二醇型	28.61±0.62	-
12	ginsenoside Rd (Rd)	原人参二醇型	107.63±8.82	59.87±3.30
13	20®- ginsenoside Rg3 (20(*R*)-Rg3)	原人参二醇型	3.24±0.19	12.36±0.58
	总含量		768.45±22.10	714.34±7.60

2.2 PDS 和 PTS 对大鼠血常规的影响

表 2 结果显示，与空白组比较，模型组大鼠血浆中各项指标显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），表明 CP 与 APH 严重影响大鼠的造血功能。与模型组比较，PDS 组和 PTS 组大鼠血浆中 WBC、RBC、HGB、PLT 和 RET 的水平能显著提高（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）；同时 PDS 改善模型鼠 RBC 和 HGB 的作用明显优于 PTS。

表2 PDS和PTS对大鼠血常规的影响（$\bar{x}\pm s$, n=8）

Tab. 2 Effects of PDS and PTS on blood routine in rats ($\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	WBC/（$\times10^9\cdot L^{-1}$）	RBC/（$\times10^{12}\cdot L^{-1}$）	HGB/（$g\cdot L^{-1}$）	PLT/（$\times10^9\cdot L^{-1}$）	RET/（$\times10^9\cdot L^{-1}$）
空白组	4.47±1.09^c	10.49±0.42	163.7±4.8^d	1275.00±139.19	517.75±68.34
模型组	2.27±0.46^a	8.92±0.24	148.4±6.8^b	809.20±135.63	287.06±30.05
PDS	4.63±1.22^d	11.68±0.65	189.1±6.3	1248.00±189.84	437.7±69.20^c
PTS	4.30±0.69^c	10.32±0.56^d	165.7±5.7^d	1060.86±84.43^c	419.88±94.08^c

注（note）：与空白组比较（*vs*. control group），$^aP<0.05$，$^bP<0.01$；与模型组比较（*vs*. model group），$^cP<0.05$，$^dP<0.01$。

2.3 PDS 和 PTS 对大鼠造血因子的影响

表 3 结果显示，与空白组相比，模型组大鼠血清中 EPO、TPO 和 GM-CSF 含量均明显下降（$P<0.01$）；与模型组相比，PDS 组大鼠血清中 EPO、TPO 和 GM-CSF 含量显著增加（$P<0.05$）；PTS 组大鼠血清中的 TPO 和 GM-CSF 含量显著增加（$P<0.05$）；EPO 含量有增加趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。在 EPO 和 GM-CSF 指标中，PDS 的作用明显优于 PTS（$P<0.05$）。

表3 PDS和PTS对大鼠造血因子的影响($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab. 3 Effects of PDS and PTS on hematopoietic factors in rats($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	EPO/（$pg\cdot mL^{-1}$）	TPO/（$pg\cdot mL^{-1}$）	GM-CSF/（$pg\cdot mL^{-1}$）
空白组	73.36±2.90^c	77.72±3.94	67.37±2.56^c
模型组	62.74±2.86^a	61.99±4.25	58.27±5.69^a
PDS	70.74±5.06^{bd}	79.27±6.42	83.15±1.94
PTS	64.33±1.85	72.26±4.23^b	71.57±3.66

注（note）：与空白组比较（*vs*. control group），$^aP<0.01$；与模型组比较（*vs*. model group），$^bP<0.05$，$^cP<0.01$；与 PTS 组比较（*vs*. PTS group），$^dP<0.05$。

2.4 PDS 和 PTS 对大鼠炎症因子的影响

表 4 结果显示，与空白组相比，模型组大鼠血清中 TNF-α、IL-4 和 IFN-γ 水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组相比，PDS 和 PTS 组大鼠血清中的炎症因子水平显著增加（$P<0.01$）；与 PTS 作用比较，PDS 提高模型大鼠的 IFN-γ 的作用更强（$P<0.05$）。

表4　PDS和PTS对大鼠炎症因子的影响($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab. 4　Effects of PDS and PTS on inflammatory factors in rats($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	TNF-α/（pg·mL^{-1}）	IFN-γ/（pg·mL^{-1}）	IL-4/（pg·mL^{-1}）
空白组	26.26±1.24	30.95±2.03	23.97±1.58^{b}
模型组	18.43±0.65	22.25±1.13	19.66±0.76^{a}
PDS	25.01±0.23	33.85±1.29^{d}	25.38±1.12^{c}
PTS	24.33±1.70^{c}	30.43±1.08^{c}	26.37±1.60^{c}

注（note）：与空白组比较（*vs*. control group），^{a}P<0.05；与模型组比较（*vs*. model group），^{b}P<0.05，^{c}P<0.01；与 PTS 组比较（*vs*. PTS group），^{d}P<0.05。

2.5　细胞周期

2.5.1　骨髓细胞周期

与空白组相比，模型组大鼠骨髓 G0/G1 期细胞比例显著降低（P＜0.01），S 期细胞比例显著升高（P＜0.05）。与模型组相比，PDS 组和 PTS 组大鼠骨髓 G0/G1 期细胞比例显著增加（P＜0.05 或 P＜0.01），S 期细胞比例降低（P＜0.05）。见表 5。

表5　PDS和PTS对大鼠骨髓细胞周期的影响($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab. 5　Effects of PDS and PTS on the cell cycle of rat bone marrow($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	G0/G1/%	G2/M/%	S/%
空白组	60.05±2.62^{d}	24.97±1.54	14.98±2.40^{c}
模型组	53.02±0.94^{b}	25.33±2.04	21.64±1.09^{a}
PDS	59.41±1.28^{d}	26.56±1.96	14.03±2.39^{c}
PTS	58.68±0.48^{c}	25.15±1.24	16.17±1.71^{c}

注（note）：与空白组比较（*vs*. control group），^{a}P<0.05，^{b}P<0.01；与模型组比较（*vs*. model group），^{c}P<0.05，^{d}P<0.01。

2.5.2　脾脏细胞周期

与空白组相比，模型组大鼠脾脏细胞的 G0/G1 期细胞比例显著降低，处于 S 期的细胞比例显著升高（P＜0.05）。与模型组比较，PDS 和 PTS 组大鼠脾脏 G0/G1 期细胞比例显著增加，且 PTS 作用强于 PDS（P＜0.05）；PTS 能显著降低 S 期细胞比例（P＜0.05），而 PDS 对降低模型大鼠脾脏细胞 S 期细胞比例无统计学意义（P>0.05）。见表 6。

表6　PDS和PTS对大鼠脾脏细胞周期的影响($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab. 6　Effects of PDS and PTS on cell cycle in rat spleen($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	G0/G1/%	G2/M/%	S/%
空白组	52.77±0.37	35.04±0.11	12.19±0.46^{b}
模型组	45.60±1.49	32.38±4.36	22.02±2.88^{a}
PDS	53.81±1.51^{c}	30.33±3.44	15.86±4.93
PTS	57.43±0.37	32.11±1.48	10.46±1.13^{b}

注（note）：与空白组比较（*vs*. control group），^{a}P<0.05；与模型组比较（*vs*. model group），^{b}P<0.05；与 PTS 组比较（*vs*. PTS group），^{c}P<0.05。

2.5.3　胸腺细胞周期

表 7 显示，模型组大鼠胸腺 G0/G1 期细胞比例明显低于空白组（P＜0.05）；而 S 期细胞比例显著增加（P＜0.01）。与模型组相比，PDS 和 PTS 可降低胸腺 S 期细胞的比例，但差异无统计学意义（P＞0.05）。

表7　PDS和PTS对大鼠胸腺细胞周期的影响($\bar{x}\pm s$, n=3)

Tab. 7　Effects of PDS and PTS on the cell cycle of rat thymus ($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	G0/G1/%	G2/M/%	S/%
空白组	62.34±2.57^{c}	32.19±1.22	5.47±1.38^{d}
模型组	55.20±3.26^{a}	33.20±4.07	11.60±1.69^{b}
PDS	53.55±2.39	36.00±1.26	10.44±1.24
PTS	55.50±2.29	35.19±0.99	9.30±1.49

注（note）：与空白组比较（*vs*. control group），^{a}P<0.05 和 ^{b}P<0.01；与模型组比较（*vs*. model group），^{c}P<0.05 和 ^{d}P<0.01。

3　讨论

CP 作为一种很强的免疫抑制剂，在机体内与细胞的 DNA 发生烷基化作用，主要用于恶性肿瘤等

疾病的治疗，常见不良反应为骨髓抑制、免疫抑制等[11]。骨髓抑制主要通过影响造血细胞的增殖、分化，促进细胞凋亡等途径抑制骨髓造血[12]。APH 是一种强氧化剂，通过干扰还原型谷胱甘肽的生成而破坏红细胞膜的稳定性，导致红细胞数量减少，引起溶血性贫血[13]。本研究结果显示，CP 和 APH 联合应用降低了 WBC、RBC、HGB、PLT 和 RET 数量，影响造血因子 EPO、TPO 和 GM-CSF 水平，抑制炎症因子 TNF-α、IL-4 和 IFN-γ 水平，同时引起骨髓、脾脏和胸腺的细胞周期阻滞，表明 CP 和 APH 建立的血虚模型大鼠造模成功。

血细胞由造血系统在某些激素和因子的调节下产生，血液中含有大量的免疫细胞，因此血液内免疫细胞的组成和变化是评价机体稳态和免疫能力的指标之一[14]。CP 通过影响造血功能和直接损伤血细胞等机制导致血细胞数的改变[15]。WBC 作为参与机体免疫的重要组成部分，其总数的显著降低说明 CP 和 APH 抑制了机体免疫功能[16]。RBC 是血液中数量最多的血细胞，也是脊椎动物体内通过血液运送氧的主要媒介，同时还具有免疫功能[17]。而 HGB 是红细胞的主要组成部分，其含量高低直接反映贫血的程度。RET 是尚未完全成熟的红细胞，在血液中的数值可直接反映骨髓红细胞的生成功能，是判断贫血和相关疾病疗效的重要指标[18]。PLT 是由骨髓造血组织中的巨核细胞产生，在止血、炎症反应和血栓形成等生理和病理过程中起到重要作用[19]。本研究结果发现，模型组大鼠 WBC、RBC、HGB、PLT 和 RET 与空白组比较显著降低，说明 CP 和 APH 联用引起大鼠血细胞异常，严重损伤了骨髓的造血功能。而给予 PDS 和 PTS 能显著恢复血常规的各项指标，改善造模药物对大鼠血液细胞的破坏作用。

CP 和 APH 联合抑制骨髓造血功能，多种造血因子在骨髓造血功能中起重要的调节作用[20]。EPO 是由肾皮质肾小管周围间质细胞分泌的一种激素样物质，作用于骨髓红系造血祖细胞并促进其增殖分化，可刺激红细胞生成[21]。GM-CSF 是具有广谱效应的造血生长因子，能兴奋骨髓的造血功能，刺激粒细胞、单核细胞和 T 细胞的增殖，并能促进单核细胞和粒细胞的成熟[22]。TPO 可作用于骨髓巨核细胞系，使巨核细胞系向血小板的合成增加，促进血小板的产生。本研究结果显示，PDS 和 PTS 均能显著提升模型大鼠血清中 EPO、TPO 和 GM-CSF 水平，表明 PDS 和 PTS 能增加造血因子分泌，从而促进骨髓造血功能的恢复，改善器官损伤。

细胞因子具有多种生物学活性，主要参与机体免疫应答与免疫调节，调节细胞免疫（Th1）和体液免疫（Th2），同时具有刺激造血功能等作用。TNF-α 是细胞免疫反应的重要细胞因子，能够通过自分泌调节白细胞的功能，加强细胞的免疫防御功能[23]。IFN-γ 上调转录因子 T-bet，促进 Th1 细胞分化，作用于巨噬细胞增强抗菌免疫[24]。IL-4 作用于 B 细胞，促进 B 细胞的增殖和活化，促进未成熟 T 细胞向 Th2 细胞分化，增强体液免疫功能[25]。本研究结果中，CP 和 APH 破坏了机体免疫水平的动态平衡，抑制了大鼠促炎细胞因子和抗炎细胞因子的释放，导致机体免疫系统功能下降，而 PDS 和 PTS 可增强 TNF-α、IFN-γ 和 IL-4 的分泌和表达，使细胞因子水平明显升高至正常生理水平。提示 PDS 和 PTS 均能刺激 Th1 和 Th2 细胞的分泌，从而调节免疫应答，防止 Th1 和 Th2 细胞之间的非动态平衡。

细胞周期与细胞增殖关系密切，通过检测周期中 G0/G1 期、S 期、G2/M 期各期细胞比例，能反映细胞的增殖状态及变化[26]。免疫器官分为中枢免疫器官和外周免疫器官，前者由胸腺和骨髓组成，后者主要由脾脏、淋巴结等组成。胸腺是发生最早的免疫器官，具有诱导淋巴细胞增殖分化为免疫活性细胞的功能，是 T 细胞分化、发育和成熟的场所。脾脏是机体最大的免疫器官，具有造血和滤血作用，当骨髓造血功能受损时，脾脏可代偿性造血[27]。骨髓细胞是分泌造血因子和免疫因子的重要场所，骨髓细胞周期是反映造血系统功能的重要指标之一。本研究结果表明，CP 和 APH 联合使用可引起大鼠骨髓、脾脏和胸腺细胞 G0/G1 期比例明显下降，同时出现 S 期细胞比例升高，引起细胞 S 期阻滞，使 DNA 合成与细胞增殖受到抑制。经药物干预后可显著提高骨髓和脾脏 G0/G1 期细胞比例，同时显著改善 S 期细胞阻滞，促进造血功能，减轻细胞损伤。提示 PDS 和 PTS 可有效改善 CP 和 APH 对大鼠骨髓细胞和脾脏细胞的损伤，促进免疫器官细胞 DNA 合成、细胞增殖分化的作用。本研究结果中 PDS 和 PTS 对 CP 和 APH 引起的胸腺细胞周期阻滞的改善作用不明显，此部分结果在未来

实验中需要进一步验证。

人参皂苷是人参属植物的主要药效活性成分。在皂苷分析中，PDS 主要包括原人参二醇型皂苷的 Rb1、Rc、Rb2 和 Rd（占 91.58%），PTS 主要包括原人参三醇型皂苷的 Re、Rg1 和 Rf（占 77.10%）。通过比较 PDS 和 PTS 对 CP 和 APH 诱导的血虚模型大鼠的治疗作用中发现，在 RBC、HGB、EPO、GM-CSF 和 IFN-γ 指标中，PDS 的改善作用明显优于 PTS；在脾脏的 G0/G1 期中 PTS 的作用优于 PDS。PDS 和 PTS 均属于达玛烷型化合物，二者羟基的位置和数目不同，PDS 为 C-3，C-12 和 C-20 位三羟基取代，而 PTS 为 C-3，C-6，C-12 和 C-20 位四羟基取代，由于 C-6 位有较多的水解产物，因此 PTS 在体内吸收和消除的速率比 PDS 快[28]。PDS 和 PTS 糖取代基的位置和组成也有所不同，PDS 的糖取代位在 C-3 和 C-20 上，而 PTS 的糖取代位在 C-6 和 C-20 上。这种结构上的差异导致二者生物利用度的巨大差异。Sun[29]通过对人参皂苷的药动学研究发现，PDS 与血浆蛋白结合率高于 PTS，PDS 在体内代谢转化途径种类较多，更利于人体吸收。

本研究比较 PDS 和 PTS 对 CP 和 APH 诱导的血虚模型大鼠的治疗作用，通过观察模型大鼠血常规、造血因子、炎症细胞因子及免疫器官骨髓和脾脏细胞周期等多项指标，从多角度说明了 PDS 和 PTS 均具有一定的治疗作用，其中 PDS 的治疗作用强于 PTS，这与原人参二醇型皂苷和它的次级代谢产物具有高的生物利用度和高的生物活性密切相关。本研究的结果为人参皂苷的深入研究提供了实验基础，后续将从代谢组学等方面对人参二醇组皂苷和三醇组皂苷进行更加深入的研究

参考文献：

[1] 国家药典委员会．中华人民共和国药典 2020 年版（一部）[S]．北京：中国医药科技出版社，2020：8-9．

[2] 刘迪， 张聪， 张浩， 等． 人参皂苷抗氧化应激研究进展[J]． 吉林医药学院学报， 2020， 41（5）： 358-360．

[3] Jo H, *et al*. Ginsenoside 20(S)-protopanaxadiol induces cell death in human endometrial cancer cells via apoptosis[J]. J Ginseng Res, 2021, 45(1): 126-133.

[4] 牛泱平， 陈小红， 宋必卫， 钱煦岱， 金锦梅． 人参二醇、三醇皂苷对小鼠骨髓造血干/祖细胞体外增殖的影响[J]． 中国药理学通报， 2004， 20（11）： 1316-1317．

[5] Zhang H, *et al*. Prevention effect of protopanaxadiol-type saponins saponins and protopanaxatriol-type saponins on myelosuppression mice induced by cyclophosphamide[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 845034.

[6] 郑厚胜， 郑斯文， 王英平， 等． 人参皂苷 Rg3 对环磷酰胺致免疫功能低下小鼠的免疫调节作用[J]． 中成药， 2021， 43（11）： 3202-3206．

[7] 冯蓓蓓， 张丹． 中医药治疗化疗后骨髓抑制研究进展[J]． 山东中医药大学学报， 2017， 41（3）： 290-293．

[8] 吴东东， 刘琪． 人参皂苷 Rg3 对环磷酰胺的增效作用[J]． 医药导报， 2010， 29（7）： 850-853．

[9] 蔡雄， 刘中秋， 王培训， 刘良． 大孔吸附树脂富集纯化人参总皂苷工艺[J]． 中成药， 2001， 23（9）： 631-634．

[10] 孙成鹏， 高维平， 赵宝中， 等． D101C 大孔吸附树脂分离提纯原人参二醇组皂苷研究[J]． 东北农业大学学报， 2013， 44（6）： 90-95．

[11] 宋雁， 贾旭东， 崔文明， 等． 不同途径和剂量环磷酰胺建立小鼠免疫抑制模型的对比研究[J]． 中国食品卫生杂志， 2013， 25（3）： 218-225．

[12] 王颖飞， 龙飞， 唐振， 等． 化疗减毒汤对环磷酰胺所致小鼠骨髓抑制的保护作用[J]． 四川大学学报（医学版）， 2016， 47（2）： 214-216， 261．

[13] 杜先婕， 宋林奇， 谢人明， 等． 复方阿胶浆对乙酰苯肼所致小鼠溶血性贫血模型的实验研究[J]． 中成药， 2009， 31（5）： 790-793．

[14] 王付， 程秀娟， 王帮民， 等． 甘遂半夏汤对大鼠血常规血糖及甲状腺形态的影响[J]． 中国实验方剂学杂志， 2015， 21（8）： 165-168．

[15] 康慧琳， 樊卫平， 雷波， 等． 不同剂量环磷酰胺对小鼠免疫功能的影响[J]． 免疫学杂志， 2018， 34（4）： 308-312．

[16] 胡建， 靳二辉， 胡忠泽． 桂附地黄丸对环磷酰胺致免疫抑制小鼠血常规和血清生化指标影响[J]． 井冈山大学学报（自然科学版）， 2022， 43（2）： 67-72．

[17] 周维臻． 不同血液 AST 浓度男性单次高强度抗阻运动后 RBC 指标变化[J]． 基因组学与应用生物学， 2018， 37（2）： 550-555．

[18] 曹璐， 陈智聪， 张楠， 等． 溶血三项联合网织红细胞参数在新生儿溶血病早期诊断中的应用价值[J]． 中国妇幼保健， 2020， 35（23）： 4512-4514．

[19] 赵艳芳， 刘琳， 邬云红． 血小板相关因子在血栓性疾病中的作用[J]． 中国生物制品学杂志， 2014， 27（4）： 578-581．

[20] 徐岩， 成光宇， 仇志凯， 等． 参红补血颗粒对乙酰苯肼/环磷酰胺再生障碍性贫血模型动物造血功能及造血因子 Multi-CSF、EPO 含量的影响[J]． 人参研究， 2014， 26（4）： 16-19．

[21] 邢秀玲， 赵海鹰， 李丽君， 等． 党参多糖对环磷酰胺所致小鼠贫血的治疗效果观察[J]． 临床误诊误治， 2022， 35（1）： 99-102．

[22] Metcalf D, *et al*. Hematopoietic cytokines[J]. Blood, 2008, 111(2): 485-491.

[23] 包雪娇， 王树叶． 炎症相关细胞因子在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中作用的研究进展[J]． 现代肿瘤医学， 2020， 28（12）： 2141-2145．

[24] 蔡盈盈， 杜昌升． 多发性硬化疾病及模型小鼠中疾病相关细胞因子和转录因子研究进展[J]． 中国细胞生物学学报， 2012， 34（8）： 826-836．
[25] 王彬， 邵宽芙蓉， 董晨． CD4+ T 淋巴细胞亚群在过敏性紫癜发病机制中的研究进展[J]． 医学综述， 2020， 26（15）： 2940-2944， 2950．
[26] 刘开江， 王文娟， 贾春蓉， 等． 补肾生血药干预不同时间对环磷酰胺所致骨髓抑制小鼠细胞周期与细胞增殖的影响[J]． 世界中西医结合杂志， 2021， 16（2）： 281-287．
[27] 张振巍， 崔璀， 张娜娜． 茜草总蒽醌对环磷酰胺诱导小鼠白细胞降低的保护作用及其作用机制[J]． 中医药信息， 2019， 36（2）： 53-56．
[28] 徐利云， 杨志宏， 孙晓波． 达玛烷型人参皂苷的药物代谢动力学研究概述[J]． 中国实验方剂学杂志， 2017， 23（1）： 220-227．
[29] Sun JH, *et al*. Pharmacokinetic study of ginsenoside Rc and simultaneous determination of its metabolites in rats using RRLC-Q-TOF-MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 88: 16-21.