

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202303007

郑花婵, 孟令儒, 何苗, 等. 2024. 珠子参叶皂苷对脂肪酶抑制机制及降血脂研究 [J]. 广西植物, 44(6): 1182–1194.  
ZHENG HC, MENG LR, HE M, et al., 2024. Inhibition mechanisms and hypolipidemic effects on lipase of saponins from *Panax japonicas* var. *major* leaves [J]. *Guihaia*, 44(6): 1182–1194.



## 珠子参叶皂苷对脂肪酶抑制机制及降血脂研究

郑花婵<sup>1,2</sup>, 孟令儒<sup>1,2</sup>, 何苗<sup>1,2</sup>, 黄文丽<sup>1,2</sup>, 但林蔚<sup>1,2</sup>, 徐虹<sup>1,2</sup>,  
邓翀<sup>1,2</sup>, 张化为<sup>1,2</sup>, 姜祎<sup>1,2\*</sup>, 宋小妹<sup>1,2</sup>

(1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

**摘要:** 珠子参叶是五加科(Araliaca)植物珠子参(*Panax japonicas* var. *major*)的干燥带梗叶,为秦巴地区特色中药材。为合理开发利用珠子参叶并阐明其化学成分,该研究利用 HPLC 方法分析珠子参叶皂苷部位的主要化学成分,测定珠子参叶皂苷部位的脂肪酶抑制活性及抑制类型,通过分子对接及动物实验验证脂肪酶抑制机制及降血脂作用。结果表明:(1)珠子参叶皂苷部位主要成分为 20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>、人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rh<sub>2</sub>。(2)珠子参叶皂苷部位、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>对脂肪酶具有较强的抑制作用,其 IC<sub>50</sub>分别为 0.14、2.30 μmol · L<sup>-1</sup>。(3)珠子参叶皂苷部位、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>对脂肪酶的抑制为可逆性抑制,抑制类型为非竞争型抑制。(4)配体与 ARG337B、ASP331B、ILE248B 残基结合可能有助于提高配体的脂肪酶抑制活性。(5)珠子参叶总皂苷可以显著降低高脂血症小鼠血清中胆固醇和甘油三酯的含量。该研究为珠子参叶在降血脂方面的深入开发和利用提供了理论参考。

**关键词:** 珠子参叶, 皂苷, 脂肪酶, 酶动力学, 分子对接, 体内验证

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2024)06-1182-13

## Inhibition mechanisms and hypolipidemic effects on lipase of saponins from *Panax japonicas* var. *major* leaves

ZHENG Huachan<sup>1,2</sup>, MENG Lingru<sup>1,2</sup>, HE Miao<sup>1,2</sup>, HUANG Wenli<sup>1,2</sup>, DAN Linwei<sup>1,2</sup>,  
XU Hong<sup>1,2</sup>, DENG Chong<sup>1,2</sup>, ZHANG Huawei<sup>1,2</sup>, JIANG Yi<sup>1,2\*</sup>, SONG Xiaomei<sup>1,2</sup>

(1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, China; 2. Shaanxi Provincial Key Laboratory of Basic and New Drug Research in Traditional Chinese Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, China)

**Abstract:** The dry aerial part of *Panax japonicus* var. *major* is called “Zhuzishen Ye”, it is a characteristic Chinese herbal medicine in Qinba area. In order to rationally develop and utilize “Zhuzishen Ye” and clarify its chemical

收稿日期: 2023-06-04 接受日期: 2023-12-06

基金项目: 陕西省科技厅项目(2018ZDXM-SF-007); 陕西中医药大学创新团队项目(2019-YL12); 陕西中医药大学质量提升工程项目(ZG031)。

第一作者: 郑花婵(1998—), 硕士研究生, 主要从事中草药药效物质基础研究, (E-mail) zhenghuachan678@163.com。

\*通信作者: 姜祎, 教授, 主要从事中草药药效物质基础研究, (E-mail) 966812@qq.com。

constituents, the main chemical constituents of the saponin fractions from “Zhuzishen Ye” were analyzed with HPLC, the inhibitory activities and inhibition types of the saponin fractions of “Zhuzishen Ye” on lipase were determined, and the lipase inhibition mechanisms and hypolipidemic effects were verified with molecular docking and animal experiments. The results were as follows: (1) The chemical constituents of saponin fractions from “Zhuzishen Ye” were 20(*S*)-ginsenoside Rg<sub>2</sub>, 20(*R*)-ginsenoside Rg<sub>2</sub>, ginsenoside Rb<sub>2</sub>, ginsenoside Rb<sub>3</sub>, ginsenoside Rd and ginsenoside Rh<sub>2</sub>. (2) The saponin fractions of “Zhuzishen Ye” and 20(*R*)-ginsenoside Rg<sub>2</sub> had strong inhibitory effects on lipase with IC<sub>50</sub> values of 0.14 and 2.30 μmol · L<sup>-1</sup>, respectively. (3) The saponin fractions of “Zhuzishen Ye”, 20(*R*)-ginsenoside Rg<sub>2</sub> and ginsenoside Rb<sub>3</sub> were all reversible inhibition, and the inhibition type was non-competitive inhibition. (4) The binding of ligands to ARG337B, ASP331B and ILE248B residues might help to improve the lipase inhibitory activity of ligands. (5) Saponins of “Zhuzishen Ye” could significantly reduce the content of cholesterol and triglyceride in serum of hyperlipidemia mice. This study provides the theoretical references for the further development and utilization of “Zhuzishen Ye”.

**Key words:** *Panax japonicas* var. *major* leaves, saponin, lipase, enzyme kinetics, molecular docking, verification *in vivo*

珠子参叶是五加科 (Araliaceae) 植物珠子参 (*Panax japonicus* var. *major*) 的干燥带梗叶, 性微寒, 苦, 甘; 归肝、肺、胃经, 具有清肺止咳、生津、润喉、防暑、滋补强壮的功效, 在民间多泡茶饮用 (宋小妹, 2011; 国家药典委员会, 2020)。珠子参叶的应用历史可追溯到清朝, 由于当时人参和人参叶价格日渐昂贵, 珠子参叶作为人参和人参叶的替代品开始使用 (赵学敏, 1963; 陆维承, 2016)。

脂肪酶是水解膳食中脂质的关键酶 (Jaeger & Reetz, 1998; 廖家乐, 2022), 参与脂肪消化、吸收、利用的全过程 (王哲等, 2013); 抑制其活性能有效减少脂质的消化吸收, 从而降低血脂水平, 抑制脂肪酶的活性是治疗高脂血症、肥胖、非酒精性脂肪肝等疾病的有效策略 (Yun, 2007; de la Garza et al., 2011)。三萜皂苷类化合物具有脂肪酶抑制作用, 是潜在的有效治疗肥胖及其相关疾病的化合物 (Han et al., 2005; Yoshizumi et al., 2006; Ercan & El, 2016; Liu et al., 2017; 冯海燕, 2019; 邱悦, 2020; Navarro Del Hierro et al., 2020)。

珠子参作为常用中药材, 生长缓慢成药周期长, 目前野生珠子参已处于濒危状态, 而珠子参叶作为非药用部位被遗弃, 造成资源浪费。前期课题组研究发现, 珠子参叶的主要化学成分是三萜类化合物, 包括 20(22) *E*, 24-达玛二烯-3β, 6α, 12β-三醇、人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 和人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rs<sub>2</sub>、西洋参皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rs<sub>1</sub>、三七皂苷 Fe、人参皂苷 Rd<sub>2</sub>、Gypenoside IX、20(21), 24-达玛二烯-

3β, 6α, 12β-三醇、20(22) *Z*, 24-达玛二烯-3β, 6α, 12β-三醇、珠子参皂苷 Z 等, 还有 5, 7-二羟基-8-甲氧基黄酮 (赵东东等, 2013; 何瑞等, 2014; 杨延等, 2019; 张化为等, 2020)。因此, 探究珠子参叶的化学物质基础和生物活性, 对提高珠子参全植株的利用率具有重要意义。目前, 珠子参叶皂苷的脂肪酶抑制机制及降血脂作用尚未见报道。本研究以珠子参叶为研究对象, 依托完善的天然产物开发研究平台, 综合利用现代色谱分离手段和现代药理学方法, 拟探讨以下问题: (1) 珠子参叶皂苷部位主要成分为哪些; (2) 珠子参叶皂苷部位对脂肪酶是否具有抑制作用; (3) 珠子参叶皂苷部位对脂肪酶抑制类型为哪种; (4) 珠子参叶皂苷部位成分与哪种残基结合可提高脂肪酶抑制活性; (5) 珠子参叶皂苷部位是否可以降脂。

## 1 仪器与材料

### 1.1 主要实验仪器和药品

分析电子天平 [EX125ZH 型, 奥豪斯仪器 (常州) 有限公司]; 多功能酶标仪 (Synergy TM H1 型, 美国宝特 Bio-Tek); 高效液相色谱仪 (Waters e2695 型, 美国 Waters 公司); 奥利司他胶囊 (批号: 190204, 重庆华森制药有限公司); 移液器 (Research Plus 系列, 德国艾本德股份公司 Eppendorf AG); 低速台式离心机 (TDL-50B 型, 上海安亭科学仪器厂); 高速台式离心机 (TG16-WS 型, 湘仪离心机仪器有限公司); 皱褶假丝酵母脂

肪酶(批号:S25740)、4-硝基苯基棕榈酸酯(4-nitrophenyl palmitate, 4-NPP, 批号:EC250112)、柠檬酸钠(批号:75164),以上试剂均购自美国 Sigma 公司;色谱乙腈(AH015型, Honeywell); DMSO(批号:D6370)购自北京博奥拓达科技有限公司; D101型大孔树脂购自天津南开大学化工厂; 20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>(货号:B21058)、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>(货号:B21727)、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>(货号:B21051)、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>(货号:B21052)、人参皂苷 Rd(货号:B21054)均购自上海源叶生物科技有限公司;人参皂苷 Rh<sub>2</sub>(货号:111748)购自中国药品生物制品鉴定所; 50 mmol · L<sup>-1</sup> Tris-HCl(pH:7.8)(批号:BB0512)购自陕西中晖赫彩生物医药科技有限公司。

## 1.2 实验动物

SPF级SD小鼠,共60只,体重为18~22 g,购自成都达硕实验动物有限公司,实验动物生产许可证号为SCXK(川)2020-030,适应性饲养5 d。

## 2 实验方法

### 2.1 HPLC 法分析化学成分

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Agela Technologies Innoval ODS-2 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相:水溶液(A)-乙腈溶液(B),梯度洗脱:0~10 min, 10%→28%B; 10~27 min, 28%→28%B; 27~33 min, 28%→31%B; 33~46 min, 31%→31%B; 46~50 min, 31%→36%B; 50~55 min, 36%→39%B; 55~70 min, 39%→60%B; 柱温30℃; 进样量10 μL, 检测波长203 nm; 流速1.0 mL · min<sup>-1</sup>。

2.1.2 供试品溶液的制备 本实验所用药材由陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为五加科人参属珠子参(*Panax japonicus* var. *major*)的干燥叶。参照赵东东等(2013)的方法提取珠子参干燥叶。取干燥的70%乙醇洗脱部位粉末约0.05 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定重量,超声提取10 min,放冷,称定重量,用甲醇补足损失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,经0.22 μm微孔滤膜滤过,得到所需浓度的溶液。

2.1.3 对照品溶液的配制 精密称取对照品20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>、人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rh<sub>2</sub>,用甲醇分别制成浓度为0.10、0.25、0.10、

0.25、0.11、0.50 mg · mL<sup>-1</sup>的溶液。

### 2.2 脂肪酶抑制实验及动力学机制研究

2.2.1 不同皂苷对脂肪酶活性的影响 脂肪酶抑制活性测定参考(Liu et al., 2018; 王亚凤等, 2020; 黄桂等, 2021)报道的方法稍加修改,脂肪酶 Tris-HCl 溶液浓度为280 U · mL<sup>-1</sup>。4-NPP 的 DMSO 溶液浓度750 μmol · mL<sup>-1</sup>, 奥利司他的浓度为250 μmol · mL<sup>-1</sup>, 珠子参叶皂苷部位以 DMSO 为溶剂配制成浓度为2.52 mg · mL<sup>-1</sup>的溶液, 20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>、人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 以 DMSO 为溶剂配制成500 μmol · mL<sup>-1</sup>的溶液,使用时稀释成不同浓度,用于后续实验。

将25 μL 珠子参叶皂苷部位(珠子参叶皂苷部位摩尔质量按奥利司他摩尔质量算,终浓度为0、0.625、6.25、62.5、125 μmol · mL<sup>-1</sup>)、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>(终浓度为0、5、12.5、125、250 μmol · mL<sup>-1</sup>)、20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>(终浓度为0、1、2.5、5、12.5 μmol · mL<sup>-1</sup>)、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>(终浓度为0、25、50、125、250 μmol · mL<sup>-1</sup>)、人参皂苷 Rb<sub>2</sub>、人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rh<sub>2</sub>(终浓度为0、12.5、25、125、250 μmol · mL<sup>-1</sup>)和45 μL 胰脂肪酶于96孔板中37℃孵育30 min,再加入90 μL 的4-NPP(终浓度为750 μmol · mL<sup>-1</sup>)37℃恒温反应20 min,加入柠檬酸钠终止反应,405 nm下测定吸光度。

按照如下公式计算胰脂肪酶活性:

$$\text{胰脂肪酶活力} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{样品对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}) \times 100\%$$

式中:  $A_{\text{样品}}$  为加入样品和活性酶反应后的吸光度;  $A_{\text{样品对照}}$  为加入样品和失活酶反应后的吸光度;  $A_{\text{空白}}$  为加入活性酶和 DMSO 反应后的吸光度;  $A_{\text{空白对照}}$  为加入失活酶和 DMSO 反应后的吸光度。所有反应中均有4-NPP。

2.2.2 不同皂苷对脂肪酶活性的抑制机理 按照“2.2.1”项下的珠子参叶皂苷部位、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>、20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 样品浓度和4-NPP 底物浓度,参照陈静等(2021)的方法稍加修改,通过改变脂肪酶浓度(终浓度为0、70、140、280、560 U · mL<sup>-1</sup>)测定不同浓度样品在不同浓度脂肪酶催化下水解4-NPP 底物产生的吸光度。将25 μL 不同样品及浓度的皂苷和45 μL 胰脂肪酶于96孔板中37℃孵育30 min,加入90 μL 4-NPP(终浓度为750

$\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 405 nm 下测定吸光度。按下式计算相对酶活力:

$$\text{相对酶活力} = (A_2 - A_1) / (A_4 - A_3) \times 100\%$$

式中:  $A_1$  和  $A_2$  是不同皂苷、脂肪酶与 4-NPP 反应初末的吸光度;  $A_3$  和  $A_4$  是脂肪酶与 4-NPP 反应初末的吸光度。

2.2.3 不同皂苷对脂肪酶活性的抑制类型和抑制常数 按照“2.2.2”项下的测定方法, 固定脂肪酶的浓度, 改变 4-NPP (终浓度为 0.375、0.75、1.5、3  $\text{mmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 测定不同浓度皂苷对脂肪酶催化水解 4-NPP 后产生的吸光度。

### 2.3 分子对接数据库及软件

所用软件包括 ChemBioDraw3D、AutoDock Tools1.5.6、PyMOL、CADD1.5.6、Vision1.5.6。从 PubChem 数据库中下载相关化合物的 2D 结构文件, 靶蛋白的晶体结构从 PDB 数据库中获取, 利用 PyMOL 软件对靶蛋白进行去除水分子、加氢等前处理, 使用软件 AutoDock Tools1.5.6 对化合物和靶蛋白进行分子对接。靶蛋白及其结合位点为 ILPB 蛋白的 A-BOG 位点。

### 2.4 动物实验

2.4.1 药物的制备及给药 实验前将小鼠随机分为 6 组: 空白组 (10 只)、高脂血症模型组 (10 只)、奥利司他组 (10 只)、皂苷部位高中低剂量组 (各 10 只)。其中, 空白组饲喂基础饲料, 其他组饲喂高脂饲料, 建立高脂血症模型。

高脂饲料配方如下: 15% 猪油、5% 蛋黄、20% 糖、0.5% 盐、0.5% 香油。

给予小鼠高脂饲料 35 d 后开始给药, 空白组及高脂血症模型组给予一定剂量的生理盐水, 奥利司他组按照  $46.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  灌胃给药, 各给药组剂量按人每日服用量和提取物收率计算, 高剂量组按照  $117.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给予小鼠珠子参叶皂苷部位提取物 (相当于 70 kg 的成人每日服用 20 g 提取物), 中剂量组按照  $58.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给予小鼠珠子参叶皂苷部位提取物, 低剂量组按照  $29.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给予小鼠珠子参叶皂苷部位提取物, 每日给药一次, 连续灌胃 3 周, 于末次给药后称量体重。空白组、高脂血症模型组小鼠给药期间分别继续饲喂基础饲料及高脂饲料, 期间受试小鼠均正常摄食饮水。

2.4.2 样本采集及处理 末次给药后, 所有小鼠禁食不禁水, 16 h 后眼球取血, 全血静置, 于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下保存, 再以  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的转速离心 15 min, 分离

血清, 按组依次分装, 于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中保存, 备用。

2.4.3 生化指标的测定 血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和甘油三酯 (triglyceride, TG) 的含量分别按照试剂盒的说明书进行测定。

### 2.5 统计学处理

所有的统计分析均使用 Graphpad Prism 8.0.1 软件, 计量数据以“均数  $\pm$  标准差” ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组比较用  $t$  检验, 多组之间两两比较采用单因素方差分析。

## 3 结果与分析

### 3.1 色谱数据采集

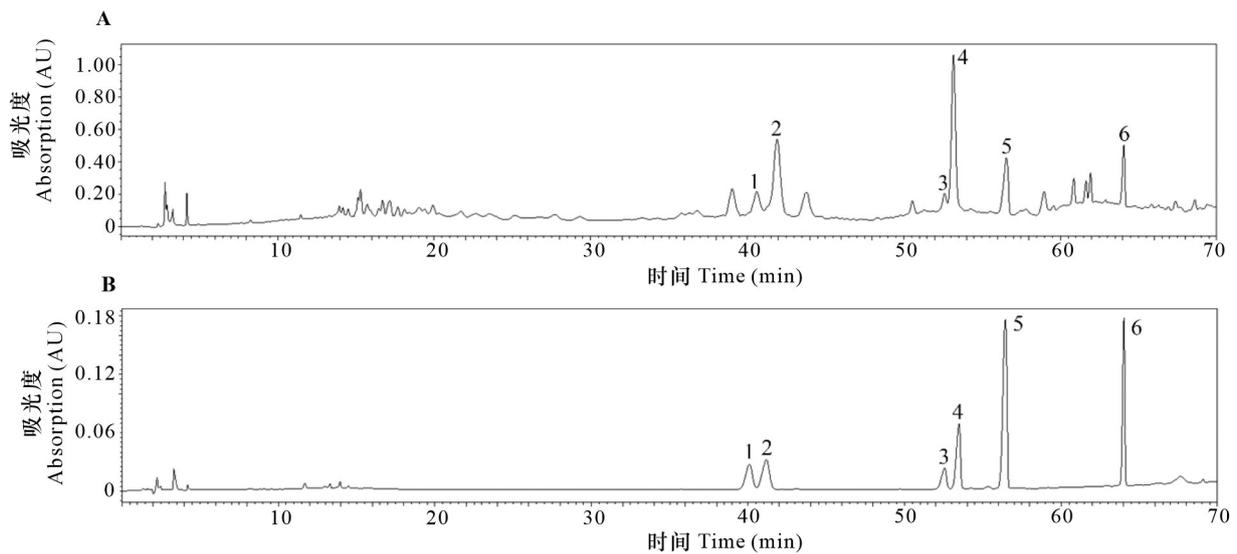
由图 1 可知, 珠子参叶皂苷部位的主要成分为 20(S)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$ 、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$ 、人参皂苷  $\text{Rb}_2$ 、人参皂苷  $\text{Rb}_3$ 、人参皂苷  $\text{Rd}$ 、人参皂苷  $\text{Rh}_2$ 。

### 3.2 脂肪酶活性测定结果

以“2.2.1”所述方法测定各皂苷的脂肪酶抑制活性, 测试结果见表 1。由图 2 可知, 珠子参叶皂苷部位、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$ 、人参皂苷  $\text{Rb}_3$  反应体系吸光度随时间的延长而逐渐增大, 吸光度随时间变化的曲线通过原点, 不存在迟滞效应。在相同反应时间下, 随着珠子参叶皂苷部位、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$ 、人参皂苷  $\text{Rb}_3$  样品浓度的增大, 曲线的斜率不断减小, 即脂肪酶催化水解 4-NPP 的速度不断降低, 说明其具有抑制脂肪酶活性的作用。在反应 0~7.5 min 时  $A_{405 \text{ nm}}\text{-Time}$  曲线近似呈线性关系, 随着时间的延长, 曲线逐渐平坦, 斜率降低, 反应的速度也随之降低, 此时测得的酶活力不能代表真实的酶活力, 故取反应 7.5 min 时的反应速度为初速度。由表 1 和图 3 可知, 珠子参叶皂苷部位、人参皂苷  $\text{Rb}_2$ 、人参皂苷  $\text{Rd}$ 、人参皂苷  $\text{Rh}_2$ 、20(S)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$ 、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$ 、人参皂苷  $\text{Rb}_3$  的  $\text{IC}_{50}$  分别为 0.14、28.00、31.00、18.00、8.73、2.30、60.76  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 3.3 不同皂苷对脂肪酶的抑制作用机理

按照“2.2.2”项下的测定方法, 将反应液置于酶标仪中  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温, 间隔 20 s 测定 1 次共 7.5 min, 选取 (0~7.5 min 吸光度随时间的改变拟合方程, 其斜率) 即为酶活力值。以相对酶活力对酶浓度作图, 根据图像判断不同皂苷对脂肪酶活性的抑制作用是否可逆。如果作图结果为一组直线且



1. 20(*S*)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>; 2. 20(*R*)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>; 3. 人参皂苷 Rb<sub>2</sub>; 4. 人参皂苷 Rb<sub>3</sub>; 5. 人参皂苷 Rd; 6. 人参皂苷 Rh<sub>2</sub>。  
1. 20(*S*)-ginsenoside Rg<sub>2</sub>; 2. 20(*R*)-ginsenoside Rg<sub>2</sub>; 3. Ginsenoside Rb<sub>2</sub>; 4. Ginsenoside Rb<sub>3</sub>; 5. Ginsenoside Rd; 6. Ginsenoside Rh<sub>2</sub>.

图 1 珠子参叶皂苷部位 (A) 与混合对照品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of saponin fractions from *Panax japonicus* var. *major* leaves (A) and mixed reference substance solution (B)

表 1 皂苷和奥利司他的脂肪酶半数抑制浓度  
Table 1 The half inhibitory concentration on lipase of saponins and orlistat

化合物 Compound	半数抑制浓度 IC <sub>50</sub> Half inhibitory concentration IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
奥利司他 Orlistat	3.84 (1 904.60 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
珠子参叶皂苷部位 Saponins fraction of <i>Panax japonicus</i> var. <i>major</i> leaves	69.40 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (相当于奥利司他 0.14 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Equivalent to orlistat 0.14 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
人参皂苷 Rb <sub>2</sub> Ginsenoside Rb <sub>2</sub>	28.00
人参皂苷 Rd Ginsenoside Rd	31.00
人参皂苷 Rh <sub>2</sub> Ginsenoside Rh <sub>2</sub>	18.00
20( <i>S</i> )-人参皂苷 Rg <sub>2</sub> 20( <i>S</i> )-ginsenoside Rg <sub>2</sub>	8.73
20( <i>R</i> )-人参皂苷 Rg <sub>2</sub> 20( <i>R</i> )-ginsenoside Rg <sub>2</sub>	2.30
人参皂苷 Rb <sub>3</sub> Ginsenoside Rb <sub>3</sub>	60.76

通过原点,则为可逆抑制;如果只得到一组平行直线,则为不可逆抑制。

由图 4 可知,以酶活力对酶浓度作图时,得到一组通过原点的直线,该直线的斜率随着珠子参叶皂苷部位、20(*R*)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>浓度的增大而逐渐降低,表明珠子参叶皂苷部位、20(*R*)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>是通过抑制脂肪酶活力导致脂肪酶催化水解 4-NPP 的速度减慢,而不是通过降低有效酶量所导致的,说明珠子参叶皂苷部位、20(*R*)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>对脂肪酶活性的抑制属于可逆型抑制。

### 3.4 不同皂苷对脂肪酶活性的抑制类型和抑制常数

利用“2.2.3”项下的测定结果按照  $V = \Delta A_{405} / t$  计算催化反应速度,以反应速度的倒数 ( $1/V$ ) 对底物浓度的倒数 ( $1/S$ ) 作图,判断珠子参叶皂苷部位、人参皂苷 Rb<sub>3</sub>、20(*S*)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>对脂肪酶活性的抑制类型和抑制常数。

由 Lineweaver-Burk 双倒数图(图 5)可知,3 个样品图均为相交于横轴一点的线,随着样品浓度的增大, $K_m$ 值不变, $V_m$ 值逐渐减小,符合非竞争型抑制类型的特征。以 Lineweaver-Burk 曲线中的斜

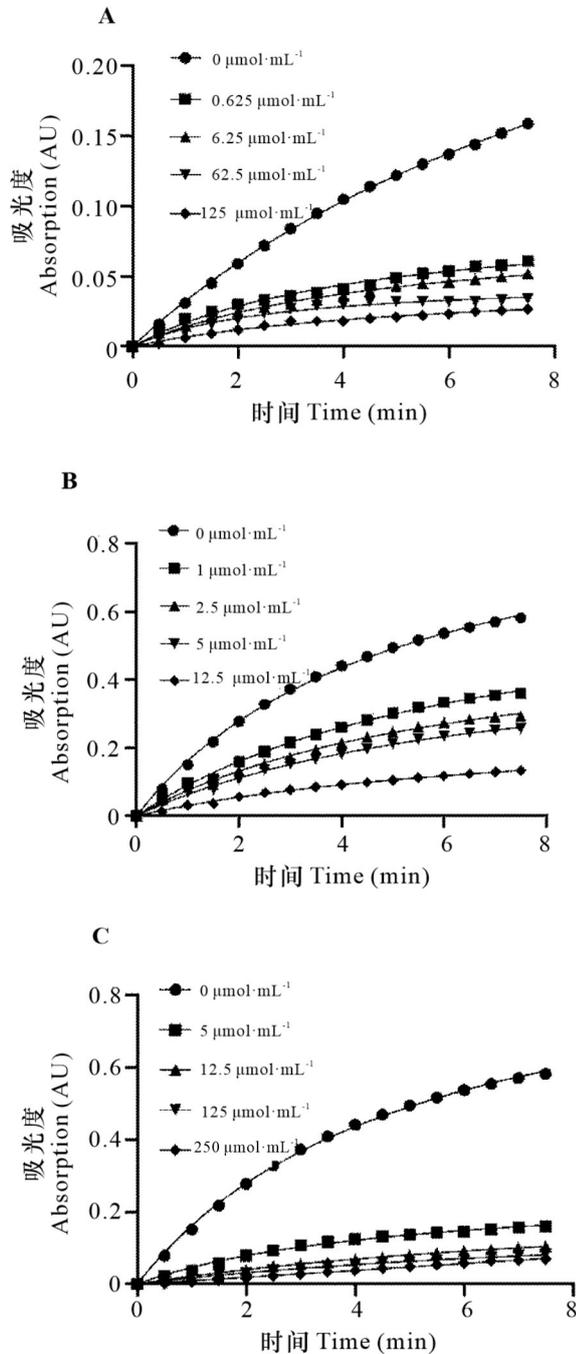


图 2 珠子参叶皂苷部位(A)、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>(B) 及人参皂苷 Rb<sub>3</sub>(C)对脂肪酶的抑制作用曲线

Fig. 2 Effect curves of saponin fractions from *Panax japonicas* var. *major* leaves (A), 20(R)-ginsenoside Rg<sub>2</sub>(B) and ginsenoside Rb<sub>3</sub> on lipase (C)

率对 3 个样品浓度作图,得到 3 个样品的  $K_m$  值分别为 1.07、0.83、8.64(图 5),抑制剂的结合常数  $K_i$  分别为 0.27、2.53、0.17(图 6),以截距对浓度得到

抑制常数  $K_{is}$  分别为 21.46、28.00、3.80(图 7)。

### 3.5 分子对接结果

采用分子对接技术探讨配体与蛋白 ILPB 的相互作用。20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 与 ILPB 的 ARG38A、LEU41A、ASP331B、SER333B、ARG337B、LYS367B 形成氢键结合,与 HIS30A、ALA40A、ILE248B 等氨基酸残基形成疏水互作,见图 8:A;20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 与 ILPB 的结合方式与 20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 相似见图 8:B,其不同之处在于 20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 糖苷基 4 位和 5 位氢键同时与 SER333B 氨基酸残基连接;人参皂苷 Rb<sub>2</sub> 与 ILPB 的结合方式见图 8:C,人参皂苷 Rb<sub>2</sub> 与 GLU13A、GLN29A、ASP31A、LEU36A、SER35A、ARG13A、CYS39A、ASP331B、ARG337B、LYS367B 形成氢键结合,与 GLU13A 残基形成疏水互作,人参皂苷 Rb<sub>2</sub> 与 LYS367B 之间形成  $\pi$ -阳离子相互作用力,嵌入 ILPB 蛋白活性口袋中实现与 ILPB 的结合;人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 与 ILPB 的结合方式见图 8:D,人参皂苷 Rb<sub>3</sub> 与 ASP31A、LEU36A、LEU41A、LYS42A、CYS61A 形成氢键结合,GLU13A、ARG38A、ALA40A 等氨基酸残基形成疏水互作,嵌入 ILPB 蛋白活性口袋中实现与 ILPB 的结合;人参皂苷 Rd 与 ILPB 的结合方式见图 8:E,人参皂苷 Rd 与 ASP31A、ARG38A、ALA40A、ALA43A、ARG44A 形成氢键结合,与 GLU13A、ALA40A、LEU41A、ALA43A 等氨基酸残基形成疏水互作,嵌入 ILPB 蛋白活性口袋中实现与 ILPB 的结合;人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 与 ILPB 的结合方式见图 8:F,人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 与 GLN29A、LYS42A、GLU48A、CYS61A 形成氢键结合,与 GLU13A、ALA40A、LEU41A、ILE248B、ALA332B 氨基酸残基形成疏水互作,嵌入 ILPB 蛋白活性口袋中实现与 ILPB 的结合;奥利司他与 ILPB 的结合方式见图 8:G,奥利司他与 ARG337B、ALA332B、ASP331B 形成氢键结合,ILE248B 和 LEU41A 氨基酸残基形成疏水互作,嵌入 ILPB 蛋白活性口袋中实现与 ILPB 的结合。

### 3.6 胆固醇和甘油三酯测定结果

由图 9 可知,高脂血模型组小鼠血清中 TG、TC 含量均明显高于空白组( $P < 0.01$ ),说明高脂血症模型造模成功;皂苷部位的低、中、高剂量组小鼠血清中的 TG、TC 含量均明显低于高脂血模型组( $P < 0.01$ ),其中高剂量组降低 TG 作用与奥利司他组相当,降低 TC 作用优于奥利司他组。

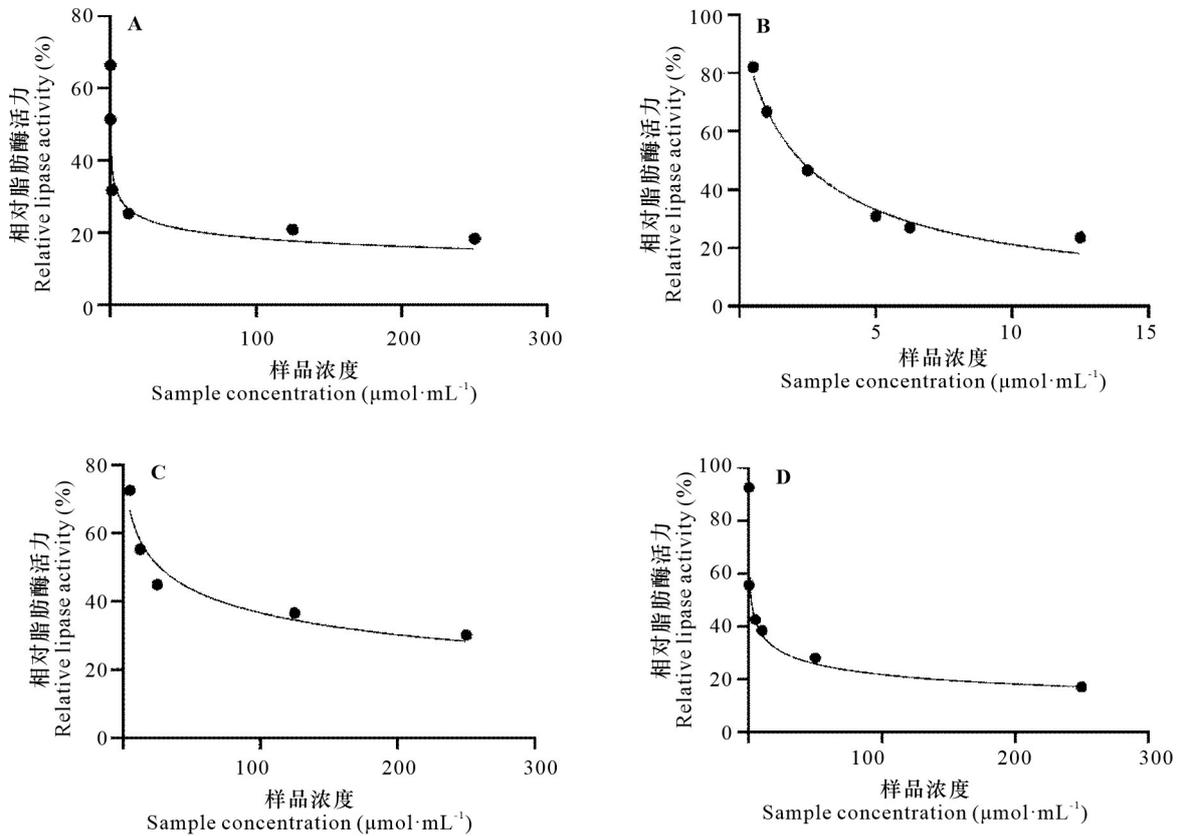
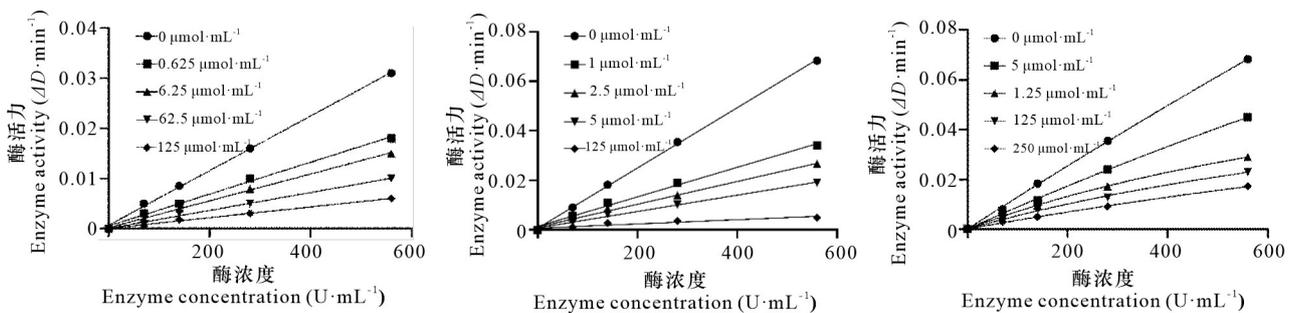


图 3 珠子参叶皂苷部位(A)、20(R)-人参皂苷  $Rg_2$  (B)、人参皂苷  $Rb_3$  (C) 及奥利司他(D)对脂肪酶活力的影响  
 Fig. 3 Effects of *Panax japonicas* var. *major* leaves saponin fractions (A), 20(R)-ginsenoside  $Rg_2$  (B) and ginsenoside  $Rb_3$  (C) and orlistat (D) on lipase activity



A. 珠子参叶皂苷部位; B. 20(R)-人参皂苷  $Rg_2$ ; C. 人参皂苷  $Rb_3$ 。

A. Saponin fractions from *Panax japonicas* var. *major* leaves; B. 20(R)-ginsenoside  $Rg_2$ ; C. Ginsenoside  $Rb_3$ 。

图 4 不同浓度样品下酶浓度与酶活力的关系

Fig. 4 Relationship between enzyme concentration and enzyme activity under different concentrations of samples

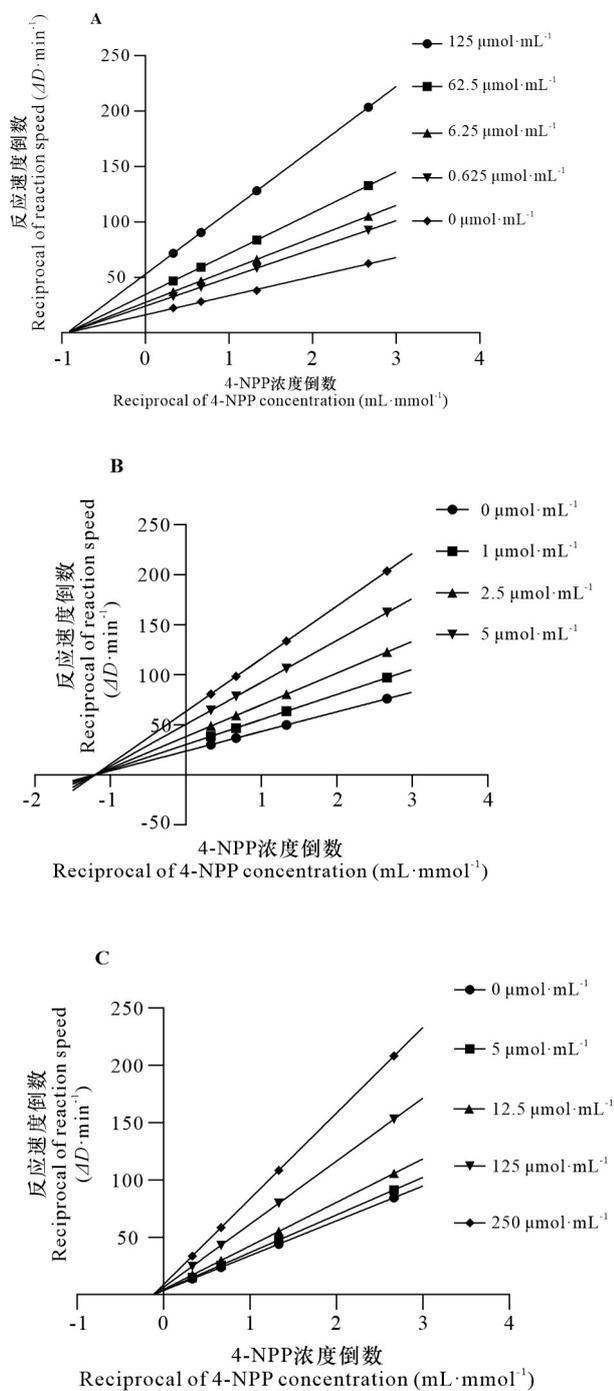


图 5 珠子参叶皂苷部位 (A)、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$  (B)、人参皂苷  $\text{Rb}_3$  (C) 的抑制类型  
 Fig. 5 Inhibitory types of saponin fractions from *Panax japonicus* var. *major* leaves (A), 20(R)-ginsenoside  $\text{Rg}_2$  (B) and ginsenoside  $\text{Rb}_3$  (C)

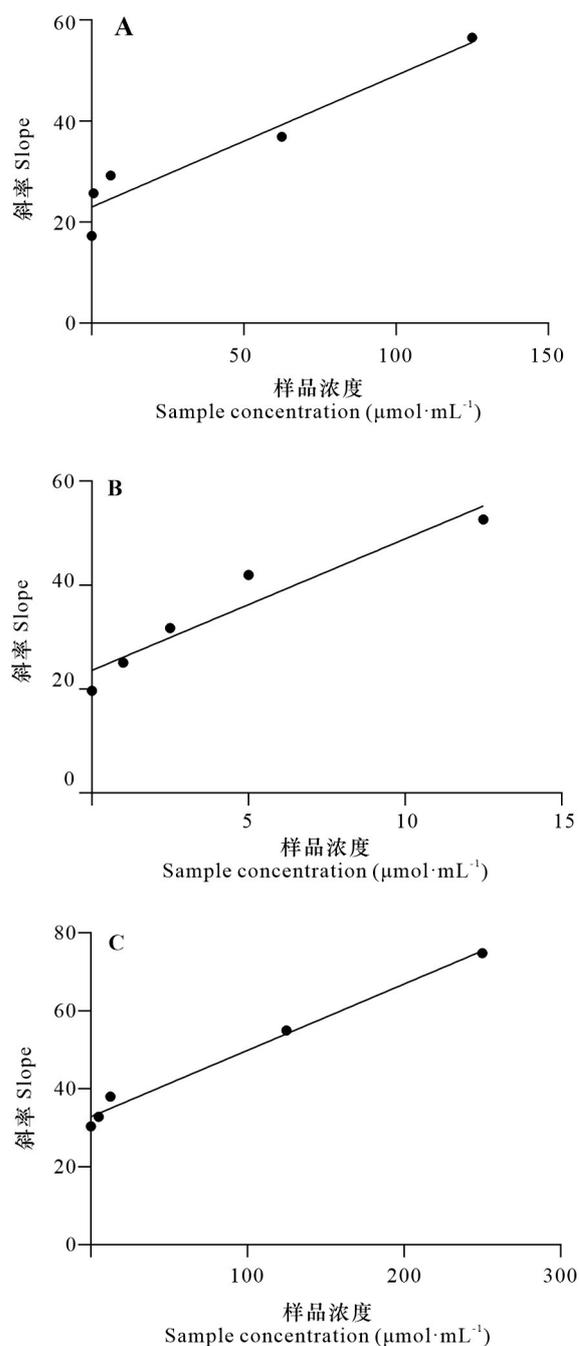


图 6 珠子参叶皂苷部位 (A)、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$  (B)、人参皂苷  $\text{Rb}_3$  (C) 的抑制常数  $K_i$   
 Fig. 6 Inhibition constant  $K_i$  of saponin fractions from *Panax japonicus* var. *major* leaves (A), 20(R)-ginsenoside  $\text{Rg}_2$  (B) and ginsenoside  $\text{Rb}_3$  (C)

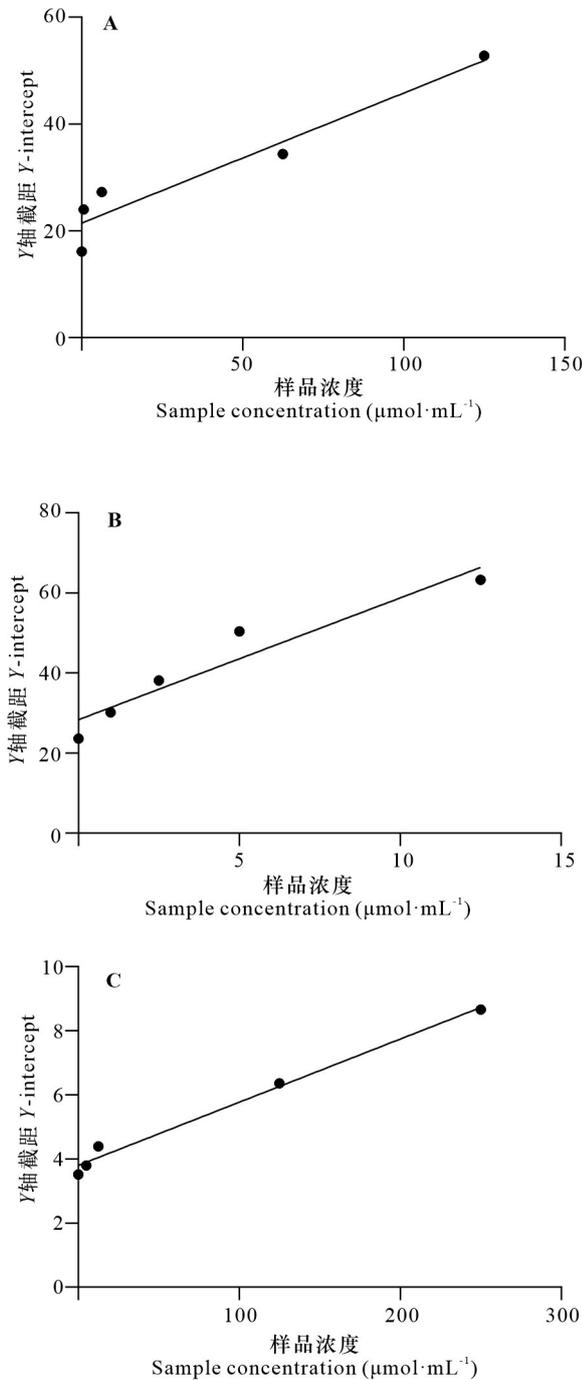


图 7 珠子参叶皂苷部位 (A)、20(R)-人参皂苷  $\text{Rg}_2$  (B)、人参皂苷  $\text{Rb}_3$  (C) 的抑制常数  $K_{1s}$

Fig. 7 Inhibitory constant  $K_{1s}$  of saponin fractions from *Panax japonicas* var. *major* leaves (A), 20(R)-ginsenoside  $\text{Rg}_2$  (B) and ginsenoside  $\text{Rb}_3$  (C)

## 4 讨论与结论

长期以来,由于对合理开发利用中药植物资源认识不足,导致对中药植物资源进行掠夺式过度采收,使得一些中药资源处于濒危状态。为了保护 and 合理开发珠子参资源,对珠子参整株植物进行系统化学研究和药用价值探索,以提高珠子参资源的利用率。珠子参地下部分为传统药用部位,其地上部分的药用价值有待开发,而在地下部分采收过程中地上部分大多被遗弃,药农仅保留少量在民间泡茶饮用,造成一定的资源浪费。另外,珠子参为多年生草本植物,每年秋季种植基地和野生资源的珠子参地上部分自然枯萎腐烂,未被合理采收使用。前期研究发现,珠子参叶主要成分为三萜皂苷类化合物且具有脂肪酶抑制作用,本研究采用 HPLC 确定珠子参叶皂苷部位的主要单体成分,测定其体内外脂肪酶抑制作用,为珠子参资源合理开发利用提供了依据。

脂肪进入小肠后被胰脂肪酶水解,中链甘油三酯被水解为游离脂肪酸和甘油,中链脂肪酸与白蛋白结合,通过门静脉转移到肝脏;长链甘油三酯被水解为游离脂肪酸、单酰基甘油酯和甘油,长链脂肪酸在小肠中形成乳糜微粒,经淋巴管流入静脉系统被输送到脂肪组织和肌肉等外周组织,一部分被氧化,另一部分重新合成甘油三酯储存在组织中 (Buhman et al., 2002; Takeuchi et al., 2002; Siddiqi, et al., 2006; 姚晓琳等, 2018)。脂肪酶负责水解胃肠中 50%~70% 膳食脂肪,是防治肥胖的一个关键靶点,而脂肪酶抑制剂可通过降低该酶的活性减少消化器官中膳食脂肪的分解和吸收,进而改善肥胖和高脂血症等代谢性疾病 (苗志国, 2009)。奥利司他是临床上常用的胰脂肪酶抑制剂,是美国 FDA 批准的唯一脂肪酶抑制剂 (Kang & Park, 2012),能够抑制胰脂肪酶、胃肠道的羧基酯酶和磷脂酶  $\text{A}_2$  的活性,减慢胃肠道中食物脂肪的水解过程,进而减少饮食中 25%~30% 的脂肪水解和吸收 (Zhi et al., 1999; Benet et al., 2011),进而减少热量摄入,控制体重,降低因肥胖带来的一系列健康问题。因此,本研究选择奥利司他作为阳性药。皱褶假丝酵母脂肪酶和 4-NPP 常用于测定化合物的脂肪酶抑制活性 (Doolittle & Ben-Zeev, 1999; 侯成波, 2016)。本实验结果表明

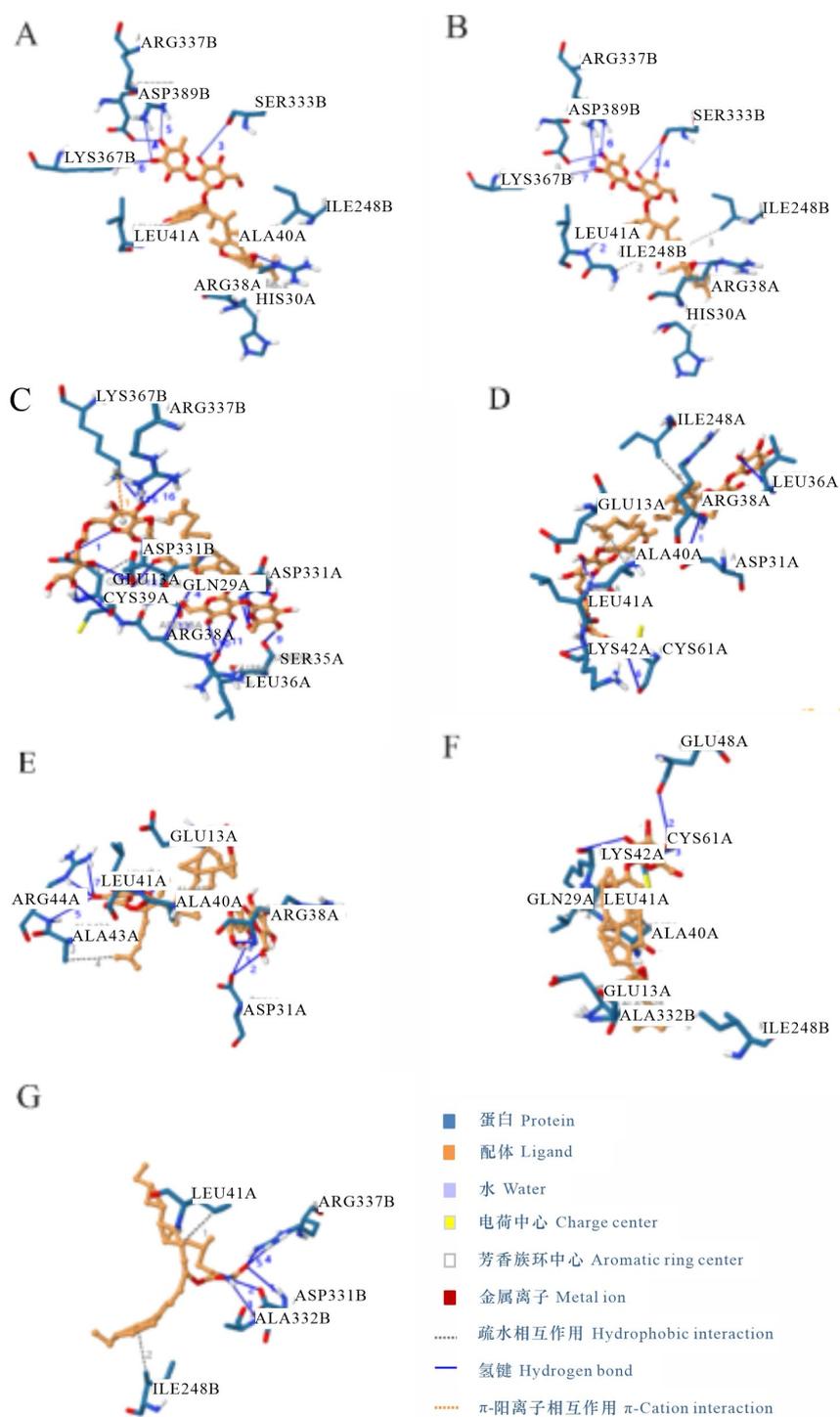
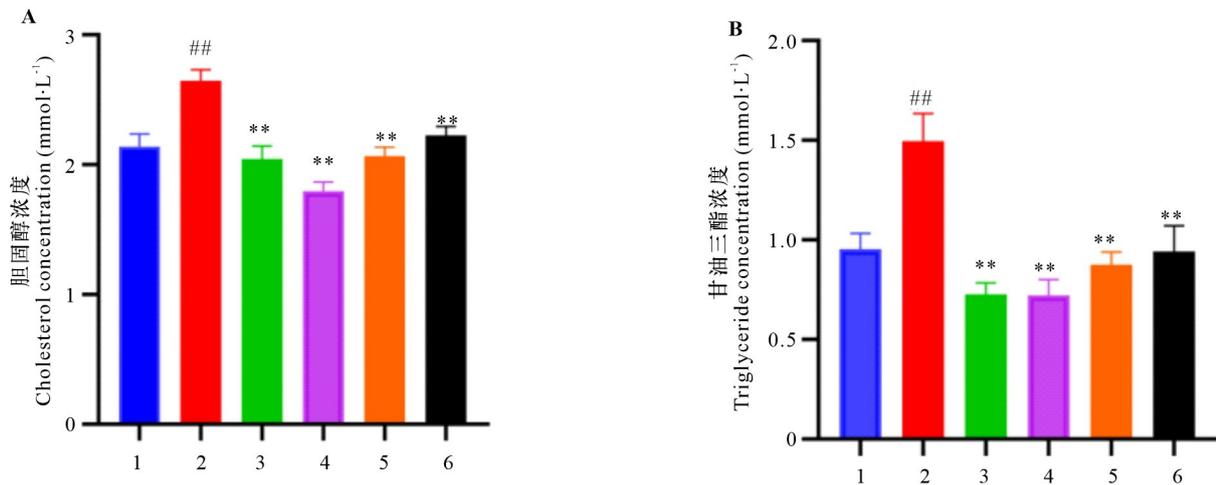


图 8 各皂苷单体和奥利司他与脂肪酶 ILPB 残基的相互作用三维图

Fig. 8 Three-dimensional maps of the interactions of each saponin monomer and orlistat with the acid residues of lipase ILPB



1. 对照组; 2. 模型组; 3. 奥利司他组; 4. 高剂量组; 5. 中剂量组; 6. 低剂量组。##. 与对照组比较  $P < 0.01$ ; \*\*. 与模型组比较  $P < 0.01$ 。

1. Blank group; 2. Model group; 3. Orlistat group; 4. High dose group; 5. Middle dose group; 6. Low dose group. ##. Comparing with blank group ( $P < 0.01$ ); \*\*. Comparing with model group ( $P < 0.01$ ).

图 9 珠子参叶皂苷部位对小鼠血清 TC (A) 和 TG (B) 的影响

Fig. 9 Effects of saponin fractions from *Panax japonicas* var. *major* leaves on serum TC (A) and TG (B) in mice

珠子参叶皂苷部位和 20(R)-人参皂苷  $Rg_2$  表现出良好的脂肪酶抑制作用,是潜在的脂肪酶抑制剂。

由于珠子参叶皂苷部位和 20(R)-人参皂苷  $Rg_2$  具有较强的脂肪酶抑制作用,并且人参皂苷  $Rb_3$  在珠子参叶皂苷部位峰面积最高,因此本研究测定 3 个样品对脂肪酶的抑制机制。动力学分析发现,珠子参叶皂苷部位、20(R)-人参皂苷  $Rg_2$ 、人参皂苷  $Rb_3$  对脂肪酶均为可逆性非竞争性抑制,表明该化合物不仅与游离酶结合,还与酶-底物复合物结合,为阐明其脂肪酶抑制机制提供了依据。

分子对接技术是一种模拟生物大分子与配体小分子结合及计算结合强度的手段,通过分子对接的方式来筛选活性分子,从而评价配体小分子与受体的相互作用(欧海亚等,2021;席佳越等,2022)。分子对接结果显示,珠子参叶皂苷成分与 ARG337B、ASP331B、ILE248B 残基结合可能有助于提高配体的脂肪酶抑制活性。抑制脂肪酶的活性可有效减少脂质的消化吸收,从而降低血脂水平。动物实验发现,珠子参叶皂苷部位能显著降低高血脂小鼠血清中的 TG 和 TC 含量,提示珠子参叶皂苷部位可能是通过抑制脂肪酶的活性来发挥降脂作用。

中药中常含有多种活性成分,而中药治疗疾病往往是多种活性成分相互协同作用的结果(王四旺,2008)。珠子参叶皂苷部位的脂肪酶抑制活性强于 6 个单体成分,可能是珠子参叶皂苷部位多组分之间相互协同作用的结果,也可能是珠子参叶中含有高活性脂肪酶抑制作用的单体化合物尚未被发现。本课题组将在今后的研究中,继续分离珠子参叶的化学成分,进一步阐明化学物质基础及生物活性。

#### 参考文献:

- BENET LZ, BROCCATELLI F, OPREA TI, 2011. Bddes applied to over 900 drugs [J]. *AAPS J*, 13(4): 519-547.
- BUHMAN KK, SMITH SJ, STONE SJ, et al., 2002. DGAT1 is not essential for intestinal triacylglycerol absorption or chylomicron synthesis [J]. *J Biol Chem*, 277(28): 25474-25479.
- CHEN J, WEI JT, PEI D, 2021. Study on the inhibitory effect of oleuropein on tyrosinase [J]. *Nat Prod Res Dev*, 33(12): 1998-2003. [陈静,魏鉴腾,裴栋等,2021. 橄榄苦苷对酪氨酸酶抑制作用的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 33(12): 1998-2003.]

- DE LA GARZA AL, MILAGRO FI, BOQUE N, et al., 2011. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment [J]. *Planta Med*, 77(8): 773–785.
- DOOLITTLE MH, BEN-ZEEV O, 1999. Immunodetection of lipoprotein lipase: antibody production, immunoprecipitation, and western blotting techniques [J]. *Methods Mol Biol*, 109: 215–237.
- ERCAN P, EL SN, 2016. Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase [J]. *Food Chem*, 205: 163–169.
- FENG HY, 2019. Rapid identification, separation and identification of active components inhibiting lipase in *Ilex cornuta* leaves [D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine. [冯海燕, 2019. 枸骨叶中抑制脂肪酶活性成分的快速识别与分离、鉴定 [D]. 上海: 上海中医药大学.]
- HAN LK, ZHENG YN, YOSHIKAWA M, et al., 2005. Anti-obesity effects of chikusetsusaponins isolated from *Panax japonicus* rhizomes [J]. *BMC Complement Altern Med*, 5(1): 9.
- HE R, LIU Q, LIU YH, et al., 2014. Chemical constituents of leaves of *Panax japonicus* var. *major* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 39(9): 1635–1638. [何瑞, 刘琦, 刘银环, 等, 2014. 珠子参叶化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 39(9): 1635–1638.]
- HOU CB, 2016. Evaluation of lipase inhibition and intestinal absorption in lotus leaves [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine: 38–59. [侯成波, 2016. 荷叶脂肪酶抑制及肠吸收评价研究 [D]. 北京: 北京中医药大学: 38–59.]
- JAEGER KE, REETZ MT, 1998. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology [J]. *Trends Biotechnol*, 16(9): 396–403.
- KANG JG, PARK CY, 2012. Anti-obesity drugs: a review about their effects and safety [J]. *Diabetes Metab J*, 36(1): 13–25.
- LIU R, ZHENG Y, CAI Z, et al., 2017. Saponins and flavonoids from adzuki bean (*Vigna angularis* L.) ameliorate high-fat diet-induced obesity in ICR mice [J]. *Front Pharmacol*, 8: 687.
- LIU TT, HE XR, XU RX, et al., 2018. Inhibitory mechanism and molecular analysis of furoic acid and oxalic acid on lipase [J]. *Int J Biol Macromol*, 120: 1925–1934.
- LIAO JL, FANG TL, FAN YL, 2022. Inhibitory effect of *Lycium barbarum* leaves flavonoids on pancreatic lipase activity [J]. *Chin Inst Food Sci Technol*, 22(5): 43–53. [廖家乐, 方甜, 范艳丽, 2022. 枸杞叶黄酮对胰脂肪酶活性的抑制作用 [J]. *中国食品学报*, 22(5): 43–53.]
- LU WC, 2016. Inhibitory effect of flavonoids from *Lycium barbarum* leaves on pancreatic lipase activity [J]. *J Chin Med Mat*, 39(1): 213–215. [陆维承, 2016. 人参叶和参叶考辨 [J]. *中药材*, 39(1): 213–215.]
- MIAO ZG, 2009. Study on the difference of fat metabolism and digestive function between Jinhua and Landrace [D]. Hangzhou: Zhejiang University: 100–116. [苗志国, 2009. 金华猪与长白猪脂肪代谢和消化功能发育差异的研究 [D]. 杭州: 浙江大学: 100–116.]
- National Pharmacopoeia Committee, 2020. Chinese Pharmacopoeia: Part I [S]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press: 283–284. [国家药典委员会, 2020. 中华人民共和国药典: 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社: 283–284.]
- NAVARRO DEL HIERRO J, CASADO-HIDALGO G, REGLERO G, et al., 2020. The hydrolysis of saponin-rich extracts from fenugreek and quinoa improves their pancreatic lipase inhibitory activity and hypocholesterolemic effect [J]. *Food Chem*, 338: 128113.
- OU HY, YE XP, JI YC, et al., 2021. Based on molecular docking technology to explore the potential material basis and medication rules of herbs in inhibiting human pancreatic lipase (HPI) activity [J]. *Mod Trad Chin Med Mat Med - World Sci Technol*, 23(11): 4211–4221. [欧海亚, 叶小鹏, 纪意纯, 等, 2021. 基于分子对接技术探讨中药抑制人胰脂肪酶活性的潜在物质基础以及用药规律研究 [J]. *世界科学技术 - 中医药现代化*, 23(11): 4211–4221.]
- QIU Y, 2020. Extraction, purification and physiological activity of total saponins from *Xanthoceras sorbifolia* leaves [D]. Changchun: Jilin Agricultural University. [邱悦, 2020. 文冠果叶总皂苷的提取纯化及其生理活性研究 [D]. 长春: 吉林农业大学.]
- SIDDIQI SA, MAHAN J, SIDDIQI S, et al., 2006. Vesicle-associated membrane protein 7 is expressed in intestinal ER [J]. *J Cell Sci*, 119(Pt 5): 943–950.
- SONG XM, 2011. Research and application of Taibai Qiyao [M]. Beijing: Peoples' Medical Publishing House Co., Ltd.: 101–111. [宋小妹, 2011. 太白七药研究与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社出版: 101–111.]
- TAKEUCHI H, KASAI M, TAGUCHI N, et al., 2002. Effect of triacylglycerols containing medium- and long-chain fatty acids on serum triacylglycerol levels and body fat in college athletes [J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 48(2): 109–114.
- WANG YF, ZHANG ZX, HE RJ, et al., 2020. Study on the

- chemical constituents of the aerial parts of *Polygonatum sibiricum* and its pancreatic lipase inhibitory activity [J]. *Nat Prod Res Dev*, 32(11): 1811-1817. [王亚凤, 张祖湘, 何瑞杰, 等, 2020. 黄精地上部位化学成分及其胰脂肪酶抑制活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 32(11): 1811-1817.]
- WANG SW, 2008. Molecular composition theory of Chinese medicinal materials and modern traditional Chinese medicine [J]. *Asia-Pacific Trad Med*, 4 (3) : 9-12. [王四旺, 2008. “分子中药学”内涵与现代中医药 [J]. *亚太传统医药*, 4(3): 9-12.]
- WANG Z, WANG P, HUANG J, 2013. Progress on the study of properties and catalytic mechanism of lipases based on computer-aided molecular simulation [J]. *Chem Ind Eng*, 32 (10): 2475-2479. [王哲, 王普, 黄金, 2013. 分子模拟技术在脂肪酶性质及催化机理研究中的应用进展 [J]. *化工进展*, 32(10): 2475-2479.]
- XI JY, ZHANG DX, NIE HF, et al., 2022. Teaching practice of molecular docking technology in pharmaceutical chemistry experiment [J]. *Res Exp Lab*, 41(3): 231-234. [席佳越, 张东旭, 聂慧芳, 等, 2022. 分子对接技术在药物化学实验中的教学实践 [J]. *实验室研究与探索*, 41(3): 231-234.]
- YAO XL, NIE K, CHEN Y, et al., 2018. Effect of composite interface on lipid digestion in food emulsion [J]. *Food Sci*, 39 (2) : 1-7. [姚晓琳, 聂珂, 陈玉, 等, 2018. 复合界面对食品乳液中脂肪消化的影响 [J]. *食品科学*, 39(2): 1-7.]
- YANG Y, ZHANG X, JIANG S, et al., 2019. Research progress on saponins and pharmacological activities *Panax japonicus* [J]. *Sci Technol Food Ind*, 40 (2) : 347-356. [杨延, 张翔, 姜森, 等, 2019. 珠子参中皂苷成分及其药理活性研究进展 [J]. *食品工业科技*, 40(2): 347-356.]
- YOSHIZUMI K, HIRANO K, ANDO H, et al., 2006. Lupanetype saponins from leaves of *acanthopanax sessiliflorus* and their inhibitory activity on pancreatic lipase [J]. *J Agric Food Chem*, 54(2): 335-341.
- YUN JW, 2010. Possible anti-obesity therapeutics from nature—a review [J]. *Phytochemistry*, 71(14/15): 1625-1641.
- ZHANG HW, JIANG Y, HUANG WL, et al., 2020. A new triterpenoid saponin from leaves of *Panax japonicas* var. *major* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 51 (1) : 26-30. [张化为, 姜祎, 黄文丽, 等, 2020. 珠子参叶中 1 个新的三萜皂苷 [J]. *中草药*, 51(1): 26-30.]
- ZHAO DD, SONG XM, TANG HF, et al., 2013. Saponin constituents from leaves of *Panax japonicus* var. *major* [J]. *Cent South Pharm*, 11 (2) : 85-88. [赵东东, 宋小妹, 汤海峰, 等, 2013. 珠子参叶的皂苷成分研究 [J]. *中南药学*, 11(2): 85-88.]
- ZHAO XM, 1963. *Compendium of materia medica* [M]. Beijing: Peoples' Medical Publishing House Co., Ltd.: 61. [赵学敏, 1963. *本草纲目拾遗* [M]. 北京: 人民卫生出版社: 61.]
- ZHI J, MULLIGAN TE, HAUPTMAN JB, 1999. Long-term systemic exposure of orlistat, a lipase inhibitor, and its metabolites in obese patients [J]. *J Clin Pharmacol*, 39(1): 41-46.

(责任编辑 李 莉 王登惠)