

DOI:10.19403/j.cnki.1671-1521.2019.06.015

人参皂苷结构修饰的研究进展

谢丽娟,苑冰冰,李健豪,徐芳菲,李 蕾,王国明,郭畅冰,曹志强*

(吉林人参研究院·吉林 通化·134001)

摘 要: 人参为我国长白山道地药材,人参皂苷为其主要活性物质,其中以次级皂苷的药理活性最为突出。本文综述了人参皂苷结构修饰的物理转化法、化学转化法及生物转化法的研究进展,分别概述了三种方法的优缺点,并对人参皂苷结构修饰的研究前景进行了展望,为今后研究人参皂苷的结构修饰提供了参考,同时为人参化学成分的研究提供了理论依据。

关键词: 人参皂苷;结构修饰;研究进展

Research progress of structural modification of ginsenosides

XIE Li-juan, YUAN Bing-bing, LI Jian-hao, XU Fang-fei, LI Lei, WANG Guo-ming, GUO Chang-bing, CAO Zhi-qiang*
(Jilin Ginseng Research Institute, Jilin Tonghua, 134001)

Abstract: Ginseng is the medicinal material of Changbai Mountain in China, and ginsenosides are the main active substances, among which the pharmacological activity of secondary saponin is the most prominent. In this paper, the research progress of physical transformation, chemical transformation and biotransformation of ginsenoside structure modification is reviewed. The advantages and disadvantages of the three methods are summarized respectively, and the research prospects of ginsenoside structure modification are prospected, which provided a reference for the study of structural modification of ginsenosides in the future and a theoretical basis for the study of chemical constituents of ginseng.

Keywords: Ginsenoside; Structural modification; Research progress

人参皂苷是五加科人参属植物人参、西洋参、三七中的主要活性物质,具有一定的药理活性和功能,具体表现为抗肿瘤、抗氧化、延缓衰老、抗疲劳、抗龋保护、调节血糖平衡、改善心脑血管、增强免疫力等^[1-3],其中次级皂苷的药用价值更高。人参皂苷按照苷元结构的不同,分为三类,分别为:达玛烷型人参皂苷、奥克梯隆型人参皂苷和齐墩果酸型人参皂苷。其中达玛烷型人参皂苷包括二醇型人参皂苷和三醇型人参皂苷,属于四环三萜类化合物,在人参皂苷中占大部分,被认为是人参中的主要活性成分之一,主要有人参皂苷 Re、Rb1、Rh1、Rh2 和 Rg3 等^[4],其结构特点是 C-3、C-12、C-20 均有羟基取代,三醇型人参皂苷 C-6 位也有羟基取代。近年来,次级人参皂苷因其生物活性比初级皂苷更强,备受研究人员的青睐,但是次级人参皂苷的天然含量极低,且对其简单初始产物进行化学合成较为困难,使其在医疗和科研上的应用受到限制。国内外研究人员发现利用有效的技术对初级人参皂苷进行结构修饰,对提高次级人参皂苷的产量和生物利用度具有重要意义。人参皂苷结构修饰的方法主要有三种,分别为物理转化法、化学转化法及生物转化法^[5]。本文综述了人参皂苷结构修饰的不同方法,为人

参单体皂苷的开发及利用提供了重要参考。

人参皂苷结构修饰研究方法的现状见图 1,其中物理转化法占 19%,生物转化法占 35%,化学转化法占 46%。

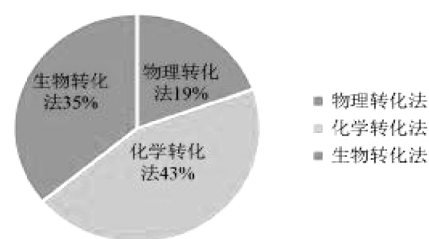


图 1 人参皂苷结构修饰研究方法占比

1 物理转化法

物理转化法是指人参通过蒸制而产生的人参单体皂苷转化的过程。即对人参进行高温高压处理使其失去部分糖基,产生次级人参皂苷^[5]。通过控制蒸制的温度和时间,使人参中含量高的主要皂苷转化为生物活性更高的次级人参皂苷如 Rg3、Rh1、Rh4 等^[6]。金凤鸾等人^[7]利用不同温度分别分阶段加热处理鲜参,得到的红参比传统的红参人参皂苷单体 Rh1、Rh2 和

基金项目:吉林省行业科研专项,吉科发财[2016]40号。

作者简介:谢丽娟,女,研究实习生,硕士,主要从事植物化学研究、食品研发以及检测工作。

* 通信作者:曹志强,男,研究员,主要从事人参、西洋参研究、标准制定、产品研发、规范化种植。E-mail:th5161@163.com。

Copyright © 2019 China Academic Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Rg3等的含量更高。Lee 等人^[8]对人参反复蒸制 9 次后制成黑参,得到主要成分为人参皂苷 Rg3、Rk3 和 Rh4 等。物理转化法有利于保持人参外形的完整度,但加工时间长、耗能大且制备出的次级人参皂苷的产率较低,增加了生产成本。常见的结构修饰路线见图 2。

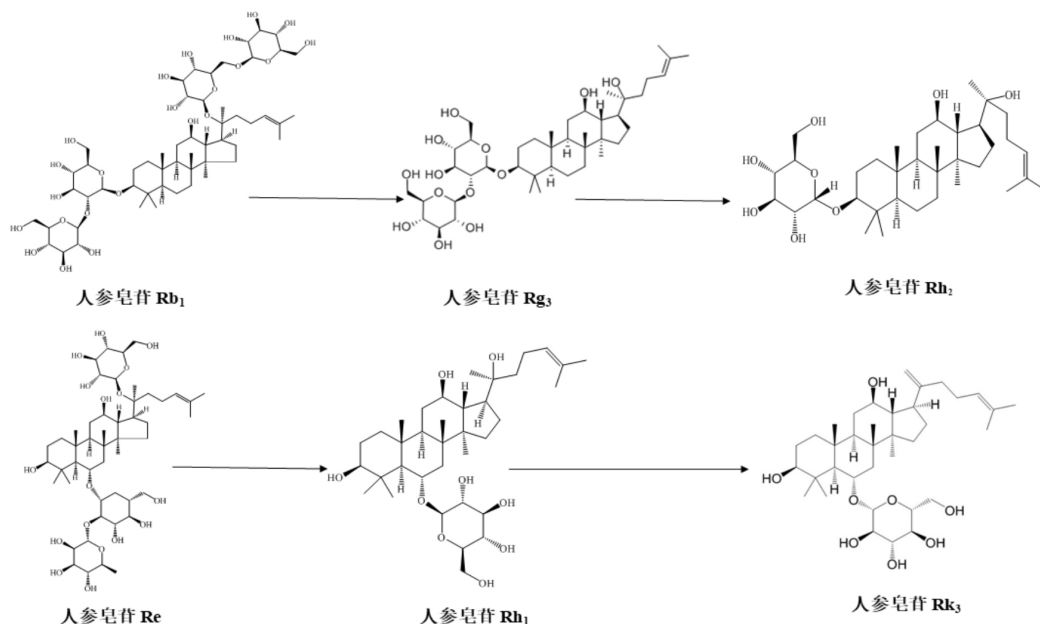


图 2 常见的人参皂苷结构修饰路线

2.1 酸水解法

酸水解法操作简单,根据溶剂及其酸度的差异,可得到不同的次级产物。Kaku 和 Kawashima^[9]研究发现使用 50%乙酸溶液对人参皂苷 Rb1、Rc、Rd 进行水解处理,得到了人参皂苷 20(S)-Rg3 和 20(R)-Rg3 的混合物。Teng 等人^[10]对三七总皂苷进行弱酸水解,最终得到 20 种人参皂苷。刘迎^[11]利用醋酸进行酸水解制备了人参皂苷降解产物,最终分离鉴定出 15 种稀有人参皂苷。陈妍心^[12]以三七茎叶皂苷为原料利用醋酸溶液降解,再进行分离,得到了 20(S)-人参皂苷 Rh2、20(R)-人参皂苷 Rh2、20(S)-人参皂苷 Rg3 和 20(R)-人参皂苷 Rg3;并研究发现了在醋酸溶液浓度 20%、料液比 1:15、温度 90℃、时间 1.5 h 的条件下,Rb1、Rb2、Rb3、Rc 和 Rd 转化为 20(R)-人参皂苷 Rh2 的转化率为 10.7%,此转化法可制备单一构型的目标产物且转化率较高。梁志齐等人^[13]利用盐酸作为催化剂水解人参二醇型皂苷,温度 90℃、时间 3.0 h 的条件下,可以将其转化完全。成乐琴等人^[14]以原人参二醇组皂苷为原料,利用乳酸催化,制得 Rg3。杨烁等人^[15]以人参茎叶皂苷提取物为原料,用柠檬酸水解出 Rk3、Rh4、Rg3 和 Rk1 等 7 种产物。

酸水解法虽方法简单、目标产物较为单一,但有些强酸反应条件稍有剧烈,产生的副产物相对较多,利用一些弱酸,如柠檬酸进行酸水解条件较为温和,反应易控制。人参皂苷结构修饰酸水解法总结见表 1。

表 1 人参皂苷酸水解法

酸种类	酸浓度 (%)	反应温度 (°C)	反应时间 (h)	转化率 (%)
醋酸	20~50	65~100	1~10	2~15
盐酸	10~50	70~90	1~5	2~15
乳酸	3~7	80~85	1~3	18~50
柠檬酸	20~40	65~80	1.5~2.5	27~35

2.2 碱水解法

碱水解法与酸水解法相比条件稳定,适用于遇酸不稳定的人参皂苷,且可选择性断裂糖苷键,从而得到单一糖苷键的次级人参皂苷。目前常用的碱水解法有高温碱水解法和常温碱水解法,由于人参皂苷在常温碱溶液条件下降解缓慢,通常采用高温碱水解法制备。Cui 等人^[16]用氢氧化钠溶液水解人参总皂苷,使得人参皂苷 Rg1 和 Re 大部分水解为 20(S)-原人参三醇及少量的 20(S)-人参皂苷 Rh1 和 F1,人参皂苷 Rb1、Rc 和 Rd 则降解为 20(S)-原人参二醇。Im 等人^[17]对人参叶总皂苷进行降解时发现利用甲醇钠-无水吡啶溶液进行降解可制备 PPD 和 PPT,此方法几乎只含有皂苷元,产物较为简单。李绪文等人^[18]研究发现将西洋参茎叶总皂苷和强碱溶于高沸点的有机溶剂中制备出的 20(S)-原人参二醇产率为 5.01%,纯度为 98.56%,该方法得到的产物产率和纯度较高,成

本较低。碱水解法得到的次级皂苷结构单一,适合单体的制备,但使用的碱溶液过多,温度要求较高,反应较为剧烈不易控制,并容易对环境造成污染。

3 生物转化法

生物转化法包括微生物转化法和酶解法,利用细胞或细胞器及生物酶对人参皂苷进行修饰,能够有选择性的制备次级人参皂苷,具有反应条件温和、易于控制、对环境危害小的优点,近年来成为研究的热点。

3.1 微生物转化法

微生物转化法是指利用生物酶的专一性和特异性对人参皂苷等物质进行转化^[19],来制备次级人参皂苷,国内外现在用于转化人参皂苷的微生物主要来自于栽培人参植物的土壤、肠道菌群、食品级微生物、药用真菌及人工诱变育种等^[11]。Gao 等人^[20]从土壤中分离获得了 *Penicillium oxalicum* sp. 68, 并从发酵液中分离纯化得到 β -糖苷酶,利用其可分别将人参皂苷 Rb1、Rb2、Rc 及 Rd 转化活性更高的次级人参皂苷 C-K。侯耀达等人^[21]利用 7 年生林下参根部土壤中分离的菌种对人参根总皂苷进行微生物转化,发现霉菌 GS1-33 能将人参根总皂苷转化为人参次级皂苷 C-K 及 Rh1。陈新梅^[22]发现人参皂苷 Rg1 在人工胃液中 2 h 可全部降解,在大鼠肠内菌群的代谢下可转化为一对同分异构体人参皂苷 Rh1 和人参皂苷 F1。近年,韩国关于微生物次级人参的研究较多,Quan 等人^[23]从韩

国泡菜中分离出菌株 *Leuconostoc mesenteroides* DC102,利用从菌株中分离出的粗酶液成功地将人参皂苷 Rb1 转化为次级人参皂苷化合物 K。邵淇等人^[24]从酸奶、酸菜汁、辣白菜、水果中筛选出乳酸菌,对人参皂苷 Rb1 进行生物转化,除菌株 L2 外其他菌株具有转化能力;金艳等人^[25]从橙汁中分离的菌株 CZ2,成功地将人参皂苷 Rb1 转化为次级皂苷 F2 和 gypenoside-XV,这两种方法为今后利用食品级微生物转化人参皂苷提供参考。Yan 等人^[26]降解人参皂苷 Rb1 时选用 *Paecilomyces Bainier* sp. 229 菌,得到次级人参皂苷 C-K。Kim 等人^[27]在红参的发酵时选用微生物 *Lactobacillus plantarum* M1,制得人参皂苷 Rg2、Rg3 和 Rh1 等;Hong 等人^[28]也对红参总皂苷进行了相关研究,利用 KMU103 *Monascus pilosus* 转化出 Rh1、Rh2 和 Rg3。梁志齐等人^[29]从 28 株菌种中筛选出的菌株 GS514 能够高效转化人参二醇组皂苷产生次级人参皂苷,并利用基因工程技术得到 *bgp2* 基因,能够高效地转化人参皂苷 Rg3 为 Rh2,具有广阔的应用前景。

微生物法具有副产物少、成本要求低、生产周期短、产物更安全等优点,即可通过广泛的筛选得到可以定向合成得到菌株,再筛培出高产的菌株,对今后大规模生产次级人参皂苷具有重要意义。不同种类微生物对人参皂苷的结构修饰见表 2。

表 2 不同种类微生物对人参皂苷的结构修饰

底物	转化菌株	产物	参考文献
Rb1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> DC102	K	[23]
	乳酸菌	F ₂	[24]
	CZ ₂	F ₂ 、gypenoside-XV	[25]
Rg3	<i>Paecilomyces Bainier</i> sp. 229	C-K	[26]
	GS514	Rh2	[29]
Rb1、Rb2、Rc 及 Rd	<i>Penicillium oxalicum</i> sp. 68	C-K	[20]
红参总皂苷	<i>Lactobacillus plantarum</i> M1	Rg2、Rg3、Rh1	[27]
	KMU103 <i>Monascus pilosus</i>	Rh1、Rh2、Rg3	[28]
人参根总皂苷	霉菌 GS1-33	C-K、Rh1	[21]

3.2 酶解法

酶解法利用不同类型酶的选择性的不同,对人参皂苷的不同组成糖和不同构型的苷键进行水解,从而得到目标皂苷产物。酶解法具有高效性、专一性,转化过程可控等特点,被广泛应用于人参皂苷的结构修饰。KO 等人^[30]将人参主要皂苷成分人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg1 作为降解底物,利用青霉属获取乳糖酶和黑曲霉属获取半乳糖苷酶来制备次级人参皂苷 Rg2 和 Rh1。Kim 等人^[31]研究发现不同酶对人参皂苷水解的作用不同,经淀粉酶处理后的人参提取物,再经 Rapidase 处理,发现可显著提高次级人参皂苷的总含量。金豆豆等人^[32]利用酶转化和金属离子催化联用的二步法催化三醇类人参皂苷 Re 转化,优化出最佳反应条件,为次级人参皂苷 Rh1 组异构体的制备提供了新方法。崔莹莹^[33]研究了糖苷酶在人参皂苷单体分

离纯化和制备其降解产物中的作用并成功分离纯化出人参皂苷 Rb2、Rb3 和 Rc,并制备了相应皂苷的降解产物 C-O、C-Y、C-Mx1、C-Mx、C-Mc1 和 C-Mc,为以上九种人参皂苷的大量生产提供了新方法,且糖苷酶的应用为人参皂苷单体的分离纯化提供了新的思路。刘莉等人^[34]对人参次级皂苷的酶解法进行了研究,发现使用湿热酶能够转化原人参二醇型皂苷生成 Rg3 和 C-K,该方法为大规模工业化生产次级人参皂苷奠定基础。王彩艳等人^[35]选用 *Aspergillus niger* sp. G8 菌所产酶与 *Aspergillus niger* sp. G4 菌所产酶的等体积混合酶对三七茎叶总皂苷进行转化,在最佳反应条件下,得到 C-K、C-Mx、Fc 和 R7 四种产物,其中 C-K 的转化得率可达 32.7%,为三七茎叶总皂苷的充分利用提供了新的研究方向。

4 存在问题与前景展望

近年来人参及人参衍生产品越来越受到人们的关注,人参皂苷早在20世纪60年代被分离出来,对活性优良的人参皂苷进行结构修饰对新药的研发有着指导价值,且在体外将初级人参皂苷转化为次级皂苷,对人参皂苷进行结构修饰可以提高人参的生物利用率和药用价值。人参皂苷的物理转化法更有利于保持人参的原有形态;化学转化法方法相对简单、产物相对单一、转化率较高,探索反应条件温和和弱酸制备出单一、活性较强的人参皂苷有利于今后的工业化生产;酶解法由于一些酶易失去活性且最适温度较高,大大增加了生产成本,寻找热稳定性好的耐热重组酶将是我们今后的研究重点;微生物转化法其工艺流程简单、价格低廉,但目前菌种的转化率不高,研究出一种高转化率的菌种,对得到药理活性强、应用性高的人参皂苷具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 赵鹏云. 西洋参茎叶皂苷高温高压碱降解方法及产物的抗氧化活性研究[D]. 吉林大学, 2018.
- [2] 南博, 游颖, 王雨珊, 等. 微生物法转化人参皂苷的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017(14): 205~208.
- [3] 孙德亚. 达玛烷型人参皂苷元结构修饰及其抗肿瘤活性研究[D]. 吉林大学, 2014.
- [4] 崔玉娜, 张怡轩, 赵余庆. 利用生物转化法制备稀有人参皂苷的研究进展[J]. 中草药, 2009, 40(5): 676~680.
- [5] 宋艳. 人参(根)生物转化研究[D]. 吉林大学, 2014.
- [6] 丛悦怡. 黑曲霉发酵人参茎叶转化单体皂苷的研究[D]. 吉林农业大学, 2018.
- [7] 金凤燮, 鱼红闪, 张春枝, 等. 高活性红参的制作方法[P]. 中国专利: CN1846720A, 2006, 10, 18.
- [8] Lee M R, Yun B S, Sung C K. Comparative study of white and steamed black *Panax ginseng*, *P. quinquefolium*, and *P. notoginseng* on cholinesterase inhibitory and antioxidative activity [J]. *Journal of Ginseng Research*, 2012, 36(1): 93.
- [9] Kaku T, Kawashima Y. Isolation and characterization of ginsenoside-Rg2, 20R-prosapogenin, 20S-prosapogenin and delta 20-prosapogenin. Chemical studies on saponins of *Panax ginseng* C. A. Meyer, Third report[J]. *Arzneimittelforschung*, 1980, 30(6): 936~943.
- [10] Teng R W, Li H Z, Wang D Z, et al. Hydrolytic reaction of plant extracts to generate molecular diversity: New dammarane glycosides from the mild acid hydrolysate of root saponins of *Panax notoginseng*[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2004, 87(5): 1270~1278.
- [11] 刘迎. 稀有人参皂苷的制备方法及其抗过敏活性研究[D]. 2018.
- [12] 陈妍心. 原人参二醇型次级人参皂苷的制备方法研究[D]. 2016.
- [13] 梁志齐, 张京楼, 金海珠, 等. 盐酸水解人参总皂苷制备20(R)-人参皂苷Rg[J]. 人参研究, 2018, 30(04): 8~10.
- [14] 成乐琴, 刘治刚, 孙成鹏. 乳酸催化水解人参总皂苷制备抗癌活性物质人参皂苷Rg3工艺优化[J]. 亚太传统医药, 2013(07): 48~50.
- [15] 杨烁, 刘一桐, 余欣鑫, 等. 柠檬酸水解法获得稀有人参皂苷工艺的优化 [J]. 吉林农业大学学报, 2018, 40(05): 49~54.
- [16] Cui J F, Garle M, Lund E, et al. Analysis of ginsenosides 2020 by HPLC and mass spectrometry: release of 20S-protopanaxadiol and 20S-protopanaxatriol for quantitation [J]. *Analytical Biochemistry*, 1993, 210(2): 411~415.
- [17] Im K S, Chang E H, Je N G. A modified alkaline hydrolysis of total ginsenosides yielding genuine aglycones and prosapogenols [J]. *Archives of Pharmacol Research*, 1995, 18(6): 454~457.
- [18] 李绪文, 金永日, 桂明玉, 等. 碱催化降解法制备抗癌活性化合物20(S)-原人参二醇[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(3).
- [19] 明有山. 微生物转化人参皂苷Re制备Rh1[D]. 辽宁科技大学, 2017.
- [20] Gao J, Xu W J, Fang Q, et al. Efficient biotransformation for preparation of pharmaceutically active ginsenoside Compound K by *Penicillium oxalicum* sp. 68[J]. *Ann Microbiol*, 2013, 63(1): 139.
- [21] 侯耀达, 费丽坤, 尹成日, 等. 微生物转化人参根总皂苷为稀有皂苷C-K和Rh1 [J]. 延边大学农学报, 2011, 33(2): 108~111.
- [22] 陈新梅. 大鼠肠道酶和菌群对人参皂苷Rg1的代谢转化研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 210~212.
- [23] Quan L H, Piao J Y, Min J W, et al. Biotransformation of ginsenoside Rb1 to Prosapogenins, gypenoside XVII, ginsenoside Rd, ginsenoside F2, and compound K by *Leuconostoc mesenteroides* DC102 [J]. *J Ginseng Res*, 2011, 35(3): 344.
- [24] 邵淇, 陈贺, 尹成日. 乳酸菌对人参皂苷Rb1的生物转化研究[J]. 延边大学学报(自然科学版), 2016(2).
- [25] 金艳, 金香梅, 尹成日. 微生物转化人参皂苷Rb1为稀有皂苷F2[J]. 延边大学农学报, 2011, 33(2): 112~116.
- [26] Yan Q, Zhou W, Shi X L, et al. Biotransformation pathways of ginsenoside Rb1 to compound K by β -glucosidases in fungus *Paecilomyces bainier* sp. 229 [J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(9): 1550~1556.
- [27] Kim B G, Choi S Y, Kim M R, et al. Changes of ginsenosides in Korean red ginseng (*Panax ginseng*) fermented by *Lactobacillus plantarum* M1 [J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(8): 1319~1324.
- [28] Hong S Y, Jeewan O H, Lee I. Simultaneous enrichment of deglycosylated ginsenosides and monacolin K in red ginseng by fermentation with *Monascus pilosus* [J]. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2011, 75(8): 1490~1495.
- [29] 梁志齐, 张京楼, 金海珠, 等. 人参皂苷Rg3生物转化法制备Rh2[J]. 人参研究, 2018(3).
- [30] KO S R, CHOI K J, KEI S, et al. Enzymatic preparation of ginsenosides Rg2, Rh1 and F1 [J]. *Pharmaceutical Society of Japan*, 2003, 51(4): 404~408.
- [31] Kim E H, Lim S, Kim S O, Ahn S H, Choi Y J. Optimization of enzymatic treatment for compound K production from white ginseng extract by response surface methodology. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2013, 77(5): 1138~1140.
- [32] 金豆豆, 刘春莹, 徐龙权, 等. 二步法制备稀有人参皂苷Rh1组异构体[J]. 食品工业科技, 2019(16).
- [33] 崔莹莹. 酶法分离和转化人参皂苷Rb2、Rb3和Rc的研究[D]. 东北师范大学, 2019.
- [34] 刘莉, 齐滨, 胡娜, 等. 酶法转化人参皂苷的研究[J]. 长春中医药大学学报, 2013, 29(4): 729~730.
- [35] 王彩艳, 刘春莹, 肖永坤, 等. 酶转化三七茎叶总皂苷制备稀有人参皂苷C-K[J/OL]. 食品与发酵工业: 1~10 [2019-10-17]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/fs.0211480>. rights reserved. <http://www.cnki.net>