

人参皂苷 Rg₅ 的研究进展

叶安琪 张仔豪 成乐琴*

(吉林化工学院 化学与制药工程学院 吉林 吉林 132022)

摘要: 目的 综述人参皂苷 Rg₅ 的制备、分离及药理活性的研究进展。方法 通过检索国内外相关文献,对人参皂苷 Rg₅ 的不同制备方法、分离方法及药理作用进行详细综述。结果 人参皂苷 Rg₅ 可以通过加工人参、人参粉、原人参二醇组皂苷为原料制备,其分离方法主要包括制备型高效液相色谱分离法及柱色谱法。药理活性研究结果表明,人参皂苷 Rg₅ 具有抗癌、抗过敏和抗炎、抗记忆障碍、抗抑郁、促细胞生长、抗糖尿病、美白等作用。结论 人参皂苷 Rg₅ 单体的研究目前还处在起步阶段,对 Rg₅ 进行合理的制备及分离,并对其药理机制进行探究,为稀有人参皂苷 Rg₅ 的进一步开发提供有价值的参考。

关键词: 人参皂苷 Rg₅; 制备; 分离; 药理作用

中图分类号: R 284 **文献标志码:** A

人参被称为“百草之王”,是中国传统的名贵中草药之一^[1],在治疗人体免疫力过低^[2]、神经退化^[3]、癌症^[4-5]、心血管疾病^[6]等方面具有显著作用。人参皂苷是人参的主要活性成分,现已从人参根中分离得到 80 多种不同类型的人参皂苷单体^[7]。近年来,国内外对人参皂苷的药理作用及其分子机制进行了大量的研究。

人参皂苷 Rg₅ 是红参的主要成分之一,1996 年首次被韩国的科研团队所分离^[8],是由人参中原人参二醇组皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rd(简称 PPD 皂苷)等通过区域选择性水解,再通过立体选择性脱水得到的次级皂苷^[9](见图 1)。在动物和人类临床试验研究中表明,Rg₅ 在降低顺铂诱导的肾毒性^[10]、抗癌^[11]、改善肺部炎症^[12]以及改善记忆^[13]等方面不仅具有显著效果,而且表现出良好的安全性。近年来,随着人参皂苷 Rg₅ 在癌症、炎症、记忆等方面良好治疗效果,对 Rg₅ 的研究正在逐步深入,本文主要从人参皂苷 Rg₅ 的制备、分离和药理活性方面,就国内外对该化合物的研究进行综述。

1 人参皂苷 Rg₅ 的制备方法

人参皂苷 Rg₅ 在人参、三七等加工产物中微

量存在^[14],目前,国内外有关稀有人参皂苷 Rg₅ 单体的制备研究比较少,传统的制备方法是将人参通过加热处理制成加工人参,再从中提取分离人参皂苷 Rg₅。随着对人参皂苷的各种分离、制备技术以及物理化学特性的研究不断深入,人们逐渐尝试用人参粉直接提取制备人参皂苷 Rg₅ 或以 PPD 皂苷的结构修饰制备人参皂苷 Rg₅(见图 2)。

1.1 以加工人参为原料制备

1.1.1 加工人参制作方法——蒸制法

中药的加工方法已经发展了数千年,它们包括蒸、烤、煮、用酒、醋或其他液体浸泡等。蒸煮人参,其药理活性的增强可能是由于生成了低极性人参皂苷 Rg₃、Rk₁ 和 Rg₅ 等^[15]。以鲜参为原料,通过在不同条件下风干或蒸制干燥,可以制备含有不同含量稀有人参皂苷的加工人参,如白参(white ginseng)、红参(red ginseng)、黑参(black ginseng,又叫紫参)、仙参(sun ginseng)等。

红参是由鲜参在 95~100℃ 下蒸制 3 h,50~60℃ 下烘干而成的加工人参^[16]。KIM 等^[17]用水、体积分数为 70%、100% 的甲醇溶液直接超声提取或先用水浸泡 2 h 后再用体积分数为 100% 甲醇溶液超声提取红参 3 h,四种提取方法均未检

收稿日期: 2019-09-26

基金项目: 吉林省科技厅项目(20180201073YY); 吉林化工学院重大科技项目(吉化院重大合字[2015]第 005 号)

作者简介: 叶安琪(1996-),女(汉族),安徽桐城人,硕士研究生, E-mail 2523167142@qq.com; * 通信作者: 成乐琴(1969-),女(朝鲜族),黑龙江林口人,教授,博士,主要从事天然化合物结构修饰及药物合成研究工作, Tel. 13843227135, E-mail chengleiqin@126.com。

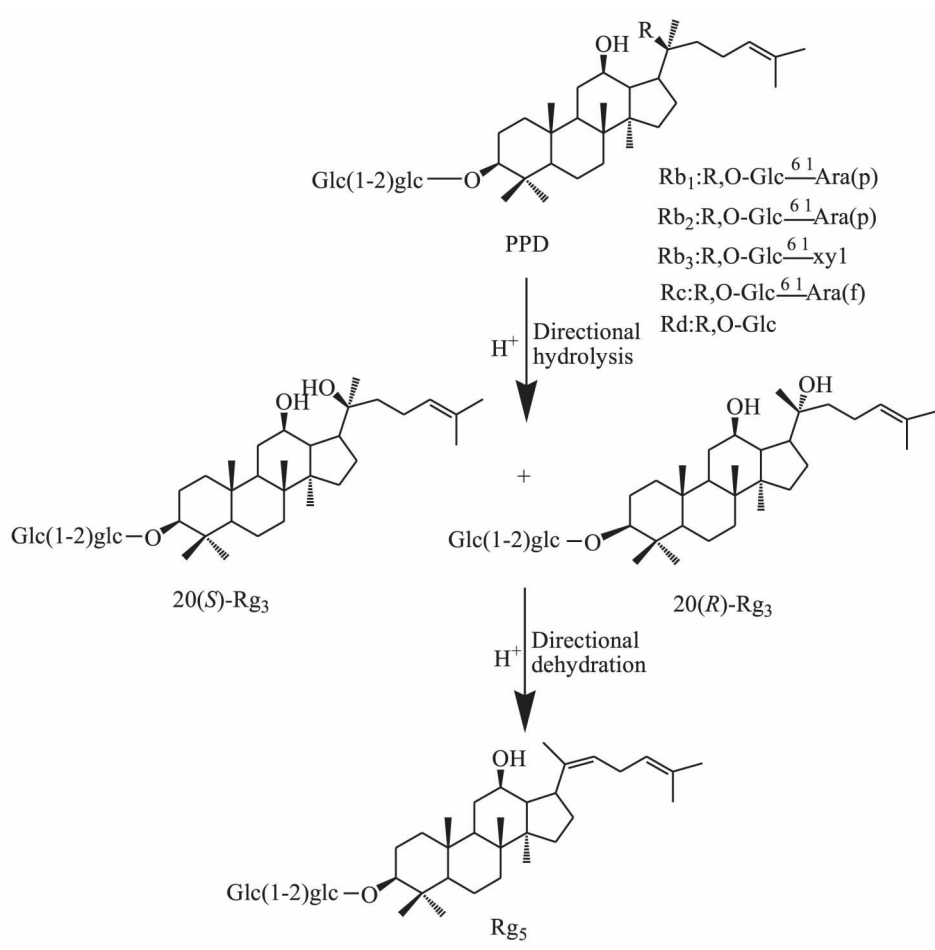


Fig. 1 The pathway of protopanaxadiol saponins transformation to ginsenoside Rg₅

图 1 原人参二醇组皂苷转化生成人参皂苷 Rg₅ 的路径

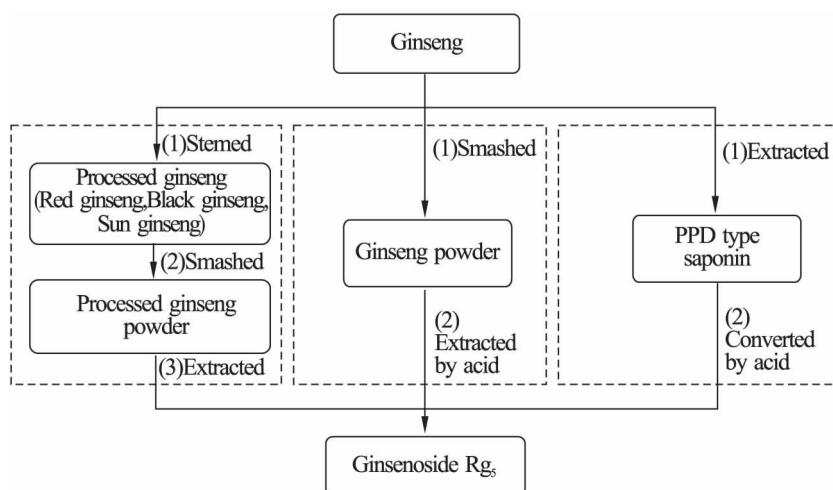


Fig. 2 The method for preparation of ginsenoside Rg₅

图 2 人参皂苷 Rg₅ 的制备方法

出人参皂苷 Rg₅。KWON 等^[18]将鲜参在 120 °C 下蒸制 3 h 后,再以甲醇热回流提取 6 h,人参提取物中 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃, Rk₁ 和 Rg₅ 的含量明显提高,其中 Rg₅ 的含量达到人参提取物的 3.3%。KIM 等^[19]为了研究不同蒸制温度对人参

化学成分及生物活性的影响,将鲜参分别在 100 °C、110 °C 和 120 °C 下蒸制,结果表明,在 120 °C 蒸制的人参中,人参皂苷 Rg₃ 和 Rg₅ 含量最高,分别占总皂苷质量的 39% 和 19%。从红参中未检出 Rg₅ 到提高加工温度时 Rg₅ 的含量增

多,均说明在一定范围内温度的升高,有利于稀有人参皂苷 Rg_5 的生成。

以鲜参为原料,55℃干燥7天,可以制得总含水率小于14%的白参。将白参在98℃条件下蒸煮30h,50℃下干燥24h,然后以5h为间隔,蒸30~45h,再次烘干得到最终的加工人参(re-sultant ginseng)^[20]。液相色谱分析人参主根和须根之间人参皂苷含量发现,蒸制须根比主根能够产生更多的 Rg_3 、 Rk_1 、 Rg_5 。从蒸制时间的影响来看,60~70h之间,稀有人参皂苷的含量随着蒸制时间的延长逐渐增多,但蒸制时间进一步延长,稀有人参皂苷的含量反而略有下降,此时新生成人参皂苷 20(S)- Rg_3 、20(R)- Rg_3 、 Rk_1 、 Rg_5 含量分别为2.398%、1.501%、1.136%、1.756%。实验结果表明,在一定时间范围内,长时间的蒸制更有利于人参皂苷 Rg_3 、 Rk_1 和 Rg_5 的生成。该蒸煮方法对人参皂苷的高效制备具有重要意义。

黑参是由鲜参在97℃下蒸制3h,60℃下干燥,历经九蒸九晒,反复蒸制烘干得到的一种加工人参^[21]。SHIN等^[16]发现,黑参中主要人参皂苷 Rb_1 、 Rb_2 、 Rc 、 Rg_1 的含量明显低于红参,与此形成对比的是稀有人参皂苷 Rg_3 、 Rk_1 、 Rg_5 的含量明显高于红参,其中 Rk_1 、 Rg_5 总含量可以达到总皂苷的14.2%。

仙参是将白参在120℃温度下加热3h制得的一种加工人参^[22]。将仙参在70℃下甲醇回流提取2h,经分析,仙参提取物中总皂苷质量分数约为10%,主要由皂苷 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、20(S)- Rg_3 、20(R)- Rg_3 、 Rk_1 、 Rg_5 组成,其中以人参皂苷 Rg_5 (占总皂苷的22.8%)为代表的低极性稀有人参皂苷在仙参总皂苷中占70%。

由于鲜参加工方式的差异,红参、白参、黑参、仙参产生了不同的人参皂苷分布,在蒸制过程中,适当地提高蒸制干燥温度的升高或时间延长,有利于生成更多的稀有人参皂苷 Rg_3 、 Rk_1 和 Rg_5 。

除了人参,西洋参、三七等其他人参属植物同样可以通过蒸制的方法制备人参皂苷 Rg_5 。例如,将三七根在120℃下以0.12MPa的压力蒸12h,制得加工三七。将蒸制的加工三七,以体积分数为80%的甲醇水溶液在室温下提取,每克三七粉中得到 Rg_5 的含量为0.287%^[14]。

蒸制工艺促进了人参皂苷由主要人参皂苷向次级人参皂苷的转化。这与以往关于高温条件下出现 Rk_1 、 Rg_5 、 Rg_3 等新型人参皂苷的报道一

致^[23],但蒸制法具有目的性差、效率低、耗时长等优点,还需要进一步改善。

1.1.2 加工人参制作方法——蒸参加膨化法

膨化法是通过热压改变食品理化性质的方法。短时间的高温膨化,会引起食物、中草药的物理及化学变化。膨化后,人参的提取率和粗皂苷含量均有所提高,并含有较多的人参皂苷 Rg_3 、 Rg_5 和 Rk_1 ^[24-25]。将白参、红参、黑参样品与大米一起混合 [m (人参): m (大米)=1:4],采用传统的旋转式膨化机对混合料进行加热。当室表压力达到490kPa时,打开阀门将压力降至196kPa,再将腔室重新加热至784kPa,得到膨化的人参样品^[26]。据资料显示,几种极性人参皂苷在人参烘烤过程中转化为低分子量的非极性稀有人参皂苷。根据HPLC色谱图显示,白参、红参、黑参中稀有人参皂苷 Rk_1 和 Rg_5 的含量分别占总皂苷的17.2%、18.5%、16.1%,说明通过膨化过程可以极大地改变白参、红参、黑参中人参皂苷的分布,是一种皂苷转化率较高、处理时间短、能耗成本低的加工人参工艺^[16]。

1.2 以人参粉为原料制备

HUANG等^[27]以人参粉为原料,酒石酸诱导原人参二醇组皂苷制备了人参皂苷 Rg_5 、 Rg_3 ,并采用扩展柱吸附层析对人参皂苷 Rg_5 和 Rg_3 进行了分离。实验结果表明,10g人参粉经0.8mol·L⁻¹的D,L-酒石酸条件下用体积分数为10%的乙醇水溶液超声提取和柱色谱分离,可得纯度为14.6%的 Rg_3 组分22.2mg及纯度为11.9%的 Rg_5 组分13.3mg。该方法与常规方法相比,制备时间显著缩短,但 Rg_5 的生成量较低。GUO等^[28-29]以人参须根粉为原料,以盐酸为催化剂,利用微波辅助法直接从人参须根粉提取制备了稀有人参皂苷 Rg_5 ,并采用响应面优化人参皂苷的提取方法,得到最佳提取工艺条件为提取功率500W、提取液酸浓度0.12mol·L⁻¹、固液比1:42(g·mL⁻¹)、提取时间9min,此时,人参皂苷 Rg_5 的得率为3.14%(以人参须根粉的质量为基准计算)。WANG等^[30]最近的一篇报道显示,可以通过称取10.0g黑参粉,溶于1.5L体积分数为0.1%的甲酸溶液,在高压釜中120℃蒸2h,每克黑参中含3.05%的 Rg_5 。

与传统提取分离人参皂苷 Rg_5 的蒸制工艺相比,以人参粉为原料直接制备人参皂苷 Rg_5 ,显著缩短了制备时间,提高效率,而且目的性强,是一

种比较理想的人参皂苷 Rg₅ 的制备方法。

1.3 以原人参二醇组皂苷为原料制备

GUAN 等^[31] 通过人参茎叶皂苷的酸处理制备了人参皂苷 Rg₅。以 300 mg 人参茎叶皂苷粉末为原料, 加入体积分数为 0.05% 的酸, 体积分数为 50% 乙醇溶液, 在 0.12 MPa 压力下反应了 2 h, 得到了 19.88% 收率的稀有人参皂苷 Rk₁ 和 Rg₅。SUN 等^[32] 以柠檬为催化剂, 原人参二醇组 (PPD) 为原料, 以 21.53% 收率制备了稀有人参皂苷 Rg₅。柠檬中含有柠檬酸和苹果酸, 用其催化 PPD, 具有成本低、易操作、环境友好等优点。另外, LIU 等^[33] 通过响应面法优化了微波辅助降解三七茎叶总皂苷制备稀有人参皂苷 Rg₅ 的工艺条件, 当微波功率 540 W、微波温度 153 °C、微波时间 20 min 时, Rg₅ 产率可以达到 43.07%, 该方法可以快速制备人参皂苷 Rg₅, 且收率相对较高。

通过加工人参提取制备稀有人参皂苷 Rg₅ 是目前最为常用的方法, 但提取时间较长, 提取效率低, 与之相比, 人参膨化工艺具有耗时短、转化率较高等优点。人参粉直接提取制备人参皂苷 Rg₅ 可以大幅度降低制备时间, 而且 Rg₅ 的得率较高, 是一种方便快捷制备人参皂苷 Rg₅ 的方法。由原人参二醇组提取制备 Rg₅ 的操作简单, 反应时间短, 收率高, 是目前生产较高含量人参皂苷 Rg₅ 的最优选择。

2 人参皂苷 Rg₅ 的分离

随着人参皂苷 Rg₅ 药理活性研究的逐步开展, 如何分离纯化得到高纯度的 Rg₅ 单体成为首要考虑的问题, 这对于人参皂苷 Rg₅ 的工业化生产及各领域的应用具有重要的研究意义。

2.1 制备型液相色谱分离

制备型液相色谱常用于生物制药及天然产物的分析, 是一种快速、有效地分离有机化合物的工具, 目前技术手段愈加成熟、应用愈加广泛。KIM^[8] 等利用制备型液相色谱对人参皂苷 Rg₅ 进行分离纯化。取 250 g 红参粉甲醇提取物, 用水和正丁醇混合溶液进行萃取, 旋蒸得到 114 g 正丁醇萃取物。红参粉正丁醇萃取物以 CHCl₃-MeOH-H₂O (10:3:1→9:3:1) 和 n-BuOH-EtOAc-H₂O (10:10:0.5) 为洗脱剂分别进行硅胶柱色谱分离, 得到 250 mg 粗皂苷, 采用制备型液相色谱进一步纯化 [CH₃CN-H₂O (V:V=4:6), 流速 2.5 mL·min⁻¹] 得到高纯度的 Rg₅。2017 年,

WANG 等^[30] 将 10 g 黑参粉的甲醇提取液用饱和 NaHCO₃ 中和, 水饱和和正丁醇萃取, 45 °C 蒸除溶剂, 残留物经 CHCl₃-MeOH (V:V=8.5:1.5) 过硅胶柱, 得到人参皂苷 Rk₁ 和 Rg₅ 混合物, 再经半制备型高效液相色谱 [MeOH:H₂O (V:V=65:35), 流速 2.5 mL·min⁻¹] 进行分离, 得到纯度为 98.0% 的 Rg₅。制备型高效液相色谱能够快速得到高纯度组分, 与其他方法相比, 具有方便快捷等优点, 对 Rg₅ 的分离具有更好的效果。

2.2 柱色谱分离

柱色谱一般用于纯化和分离有机或无机物, KIM 等^[34] 将黑参须根用乙醇提取、过滤, 旋转蒸发仪浓缩得乙醇提取物, 再用乙醚脱脂、水饱和和正丁醇萃取, 旋蒸, 以 CHCl₃-MeOH-H₂O (70:30:4) 为流动相进行柱色谱分离, 得到亚组分 F1-F5。将其中 2.59 g F4 组分进一步用 500 g 的 C-18 填料进行反相柱色谱 (60% 乙腈) 分离, 得到 0.19 g 人参皂苷 Rg₅。GU 等^[14] 将三七的甲醇提取液, 经 D101 柱色谱脱糖得 2.12 kg 总皂苷, 通过 CHCl₃-MeOH-H₂O (85:15:1→75:25:2) 为洗脱剂进行柱色谱分离, 得到八个组分 A-H。将组分 B 经 RP-18 CC (MeOH-H₂O 1:1→9:1) 分离, 得到 5 个亚组分 B1-B5。组分 B1 经 RP-18 CC (MeOH-H₂O, V:V=7:3) 再次分离纯化, 在 MeOH-H₂O (V:V=75:25) 中重结晶, 得到 43 g 人参皂苷 Rg₅。2017 年, GUO 等^[29] 对人参须根粉酸水解制备的 Rg₅ 进行脱糖、脱脂处理后, 再以 CHCl₃-MeOH (V:V=8.5:1.5) 为洗脱剂, 经硅胶柱色谱分离后, 得到纯度为 85.31% 的人参皂苷 Rg₅ 产品, 为 Rg₅ 单体的初步研究提供了简单易行的方案。柱色谱作为一种重要的分离分析方法, 具有操作简单、效率高、处理量大等优点, 随着色谱技术的应用与发展, 柱色谱分离发挥着越来越广泛的作用。

3 药理活性

人参被认为是一种延年益寿的草药, 人参和含人参成分的中药配方常被广泛应用于中药之中。目前, 对人参皂苷 Rg₅ 药效的研究还处在初步阶段。随着现代分离、分析技术的逐渐成熟, 人参皂苷 Rg₅ 在抗癌、抗过敏及抗炎、改善记忆力、抗抑郁、促细胞生长等方面的诸多药理活性被发现, 其药理活性研究成为了近年来研究的热点。

3.1 抗癌作用

人参皂苷在预防癌症方面的作用已经确立,人参的抗肿瘤作用主要是由于人参皂苷能诱导影响癌细胞的凋亡和转移。研究表明,人参皂苷 Rg₅ 能抑制多种癌细胞的增殖,诱导癌细胞周期阻滞和凋亡,是一种很有前途的抗肿瘤药物。

乳腺癌是女性中常见的恶性肿瘤之一,据资料显示,乳腺癌死亡率在女性癌症中位居首位。在我国,乳腺癌发病率呈逐年上升的趋势且逐渐趋于年轻化。2014年,KIM等^[34]从黑参须根中提取 Rg₅ 进行了 MCF-7 乳腺癌的抗癌活性研究,采用细胞周期法和蛋白质印迹法分析 Rg₅ 的抗癌作用机制。为了检测 Rg₅ 是否通过降低细胞存活率,采用双染色后流式细胞仪对细胞进行检测分析,结果发现 Rg₅ 是通过调控细胞周期蛋白及相关凋亡蛋白,在 G₀/G₁ 期刺激乳腺癌细胞周期阻滞及细胞凋亡。

LIANG等^[35]研究发现,人参皂苷 Rg₅ 诱导癌细胞的 DNA 损伤,试验结果表明 DNA 的损伤程度与 Rg₅ 浓度成正比,Rg₅ 浓度增加,DNA 的损伤加剧。人参皂苷 Rg₅ 被发现在 HeLa 和 MS751 宫颈癌细胞中也具有明显的基因毒性,说明其具有作为宫颈癌细胞化疗药物的潜力。在宫颈癌细胞中,Rg₅ 通过降低细胞周期蛋白依赖性激酶活性来阻断癌细胞周期的转化。

ZHANG等^[36]用不同浓度的人参皂苷 Rg₅ 对食道癌 Eca109 细胞处理了 24 h,观察到线粒体膜电位降低,胞质游离钙水平升高,凋亡率显著增加。经研究发现 PI3K/Akt 信号通路在人类癌症中会被激活,人参皂苷 Rg₅ 通过抑制 PI3K/Akt 信号通路活性,抑制人食道癌细胞 Eca-109 的增殖。Rg₅ 通过磷酸肌醇-3 激酶、磷酸化蛋白激酶 B 信号通路诱导人食道癌细胞的凋亡,且细胞凋亡率与 Rg₅ 作用时间及浓度呈正比^[37-38]。

LI等^[39-40]发现人参皂苷 Rg₅ 对胃癌 BGC-823 细胞的侵袭与迁移有抑制作用。胃癌 BGC-823 细胞的增殖和凋亡、凋亡相关因子及 Bcl-2 相关蛋白的表达均受到 Rg₅ 的调控,与空白组相比,高浓度的 Rg₅ 组 Bcl-2 蛋白表达降低($P < 0.05$),表明人参皂苷 Rg₅ 可有效抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖。

微波辅助工艺有效提高提取产物中人参皂苷的结构转换,Rg₃、Rg₅、Rk₁ 的含量显著增多,尤其是 Rg₅、Rk₁ 具有较好的药用效果^[41]。稀有人参

皂苷 Rg₅、Rk₁ 的含量与微波时间呈正比例增加,微波辐射 60 min 后,人参皂苷 Rk₁ 和 Rg₅ 的生成量达到最大值,将其对 5 个人类癌细胞系进行处理检测,Rg₅ 及 Rk₁ 的含量增多对癌细胞的抑制及抗增殖有明显加强作用。

化疗药物的多药耐药性(MDR)仍然是临床癌症治疗的一大挑战。当肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性,在杀死癌细胞同时也杀死正常细胞,引起越来越大的不良反应。如今,减轻肿瘤细胞对化疗药产生的耐受性成为治疗癌症急需攻克的难关。FENG等^[42]首次发现 Rg₅ 在非细胞毒性浓度下显著增强阿霉素(DOX)、紫杉醇(PTX)、多烯紫杉醇(TXT)、柔毛霉素(DON)等化疗药物对MDR细胞株 A2780/T、A549/T 的抗肿瘤作用,但不影响敏感细胞的毒性。Rg₅ 克服了 ABCB1 转运体介导的化疗多药耐药性,提高了化疗药物的疗效,证明 Rg₅ 可能是良好的治疗多药耐药性的候选药物。

3.2 抗过敏及抗炎作用

2015年,AHN等^[43]为了验证稀有人参皂苷 Rg₅/Rk₁ 的抗特异性皮炎(AD)作用,分别用人的角质形成细胞和巨噬细胞来评估 Rg₅/Rk₁ 的体外抗 AD 作用。角质形成细胞和巨噬细胞产生不同的趋化因子和细胞因子被认为是 AD 发病机制的关键调控因子。研究发现趋化因子及细胞因子在受到 TNF- α /IFN- γ 和脂多糖刺激时,表达分别有所加强。Rg₅/Rk₁ 的预处理减弱了 NF- κ B/p38 MAPK/STAT1 的信号传递,降低了巨噬细胞中脂多糖诱导的一氧化氮和活性氧(ROS)的生成,此外,TNF- α /IFN- γ 及脂多糖诱导的趋化因子及细胞因子均被明显抑制。经研究,Rg₅/Rk₁ 对 NF- κ B/p38 MAPK/STAT1 的信号及角质形成细胞、巨噬细胞的 mRNA 和蛋白表达均表现出强抑制作用,说明该化合物具有潜在的抗 AD 的作用。为了评估人参皂苷 Rg₅ 及其代谢产物的抗过敏效果,口服、腹腔注射人参皂苷 Rg₅,发现均能有效抑制小鼠由 IgE 抗原复合物引起的被动皮肤过敏反应(PCA),此外,它们对 TAP-诱导的小鼠耳皮炎具有抗炎作用。药理活性研究结果表明,口服人参皂苷 Rg₅ 可以有效减轻 IgE 诱导的过敏性症状,如鼻炎、哮喘等^[44]。人参皂苷 Rg₅ 还可以改善皮肤炎症性疾病,如接触性皮炎或银屑病等^[45]。

LEE等^[46]对人参皂苷 Rg₅ 在脂多糖刺激的

BV2 小胶质细胞中的抗炎作用及其分子机制进行了研究报道。结果显示,Rg₅抑制脂多糖诱导的一氧化氮的产生,而且促进了TNF- α 分泌。除此之外,Rg₅抑制由脂多糖引起的iNOS、TNF- α 、IL-1 β 、COX-2和MMP-9的mRNA表达,可为各种神经炎症性疾病提供有效治疗。LEE等^[47]将人参皂苷Rd在120℃下蒸煮3h,制备稀有皂苷Rk₁和Rg₅,并将其用于治疗盲肠结扎穿孔刺所致的脓毒症,结果发现,可以有效降低死亡率及体内组织损伤。研究发现,Rk₁和Rg₅可能通过抑制HMGB1分泌及HMGB1受体的表达治疗脓毒症,经治疗后患病小鼠的生存率明显提高。这表明Rk₁和Rg₅可用于治疗严重的血管炎症性疾病,如脓毒症和感染性休克。

3.3 对神经系统的作用

人参皂苷Rg₅是人参总皂苷中一个主要活性单体,有利于治疗阿尔茨海默症^[48]。研究发现,Rg₅可显著抑制小鼠的记忆障碍、认知功能障碍,提高学习记忆能力。2017年,CHOI等^[49]发现,热应激会导致HT22海马细胞的周期阻滞,此外,还会致使HT22细胞损伤激活,减少记忆相关分子。Rg₅作为一种具有神经保护作用的天然化合物,通过调节,可以有效控制氧化应激和热应激诱导的认知损伤。资料表明,东莨菪碱会对健康的年轻人造成记忆障碍,症状类似于老年痴呆。老年痴呆症患者的胆碱能系统与阿尔茨海默症功能性缺失相关,而东莨菪碱被作用于胆碱能系统,导致其受损。人参皂苷Rg₅和Rh₃可能通过抑制乙酰胆碱酯酶活性、增加神经营养因子表达及活化cAMP反应因子与蛋白的结合来保护记忆缺陷^[50]。为了探讨人参皂苷Rg₅等对乙醇致小鼠记忆阻碍的影响作用,采用被动回避穿越法对小鼠进行电击刺激记忆,分析结果发现人参皂苷Rg₅、Rk₁等对记忆减退症状具有明显的改善作用,具有益智功效^[3]。

抑郁症又称抑郁障碍,临床表现为心情低落、动作迟缓等。近年来,随着工作压力的增大以及生活节奏的加快,抑郁症患病率逐年攀升。2017年,经研究发现^[51]Rg₅通过调节海马源性神经营养因子信号通路的活性,对小鼠起到抗抑郁作用,这为开发疗效更高,副作用更少的新型抗抑郁药提供了思路。

3.4 促细胞生长作用

从20世纪80年代起,我国就开始用人参来

治疗心血管疾病,但当时对其作用机制并不清楚。最近研究表明^[52]Rg₅在血管系统中作为一种新型的天然激动剂IGF-1R,可改善高血压、促进血管生成和血管舒张。Rg₅通过促进血管生成激活多种信号通路,通过血管舒张降低血压,对新生血管和内皮功能有明显修复作用。利用Rg₅治疗由内皮功能障碍引起的心血管疾病(如缺血或高血压)有较积极的意义。成骨细胞分化标志物包括碱性磷酸酶(ALP)活性、胶原含量、细胞钙沉积和矿化,细胞受到各种生长和分化因子的刺激,经过一个发育周期,细胞分化为成熟的成骨细胞。研究表明Rg₅/Rk₁通过增加ALP活性、胶原合成和矿化结节形成来刺激细胞的生长和分化。成骨细胞分化标志物的明显增加表明,在体外系统中,Rg₅/Rk₁导致的成骨作用促进成骨细胞的生长和分化。由此可见,使用Rg₅/Rk₁可增强骨骼发育和预防骨代谢紊乱,如骨质疏松症等,可能有助于新型治疗药物的开发^[53]。

3.5 其他作用

另外,人们还研究了人参皂苷Rg₅在糖尿病、解肝肾毒性、美白等方面的作用。PONNURAJ等^[54]研究发现Rk₁/Rg₅复合治疗可以增加IGF-2R受体的结合位点,加强葡萄糖的吸收,通过CHOP介导的信号通路,改善胰岛素敏感状态并使其产生应答,起到治疗糖尿病的作用。人参皂苷Rg₅还可以通过改善顺铂诱导的小鼠肾毒性(包括减轻氧化应激、抑制炎症和细胞凋亡等)加强对肾脏的保护作用^[10],因此,可以拓宽铂化合物在抗癌方面的临床应用。同时,Rg₅对乙酰氨基酚(APAP)的过量使用导致的急性肝衰竭也有一定的药理作用^[30]。人参皂苷Rg₅除了在药理作用方面有良好效果以外,在美容方面也显示出了较好的效果。2018年,JIN等^[55]就人参的美白活性进行了评估。以人皮肤和斑马鱼胚胎为实验材料,测试了样本的美白效果,研究结果表明,人参皂苷中的Rg₅/Rk₁通过激活MEK-ERK信号通路达到美白作用,此研究首次证明了黑参提取物的美白作用。

4 讨论与展望

人参是中国和韩国常用的一种天然草药,在亚洲被认为是一种祛病延年的草药,已有数千年的历史。人参皂苷是从人参中分离得到的主要活性成分,人参皂苷Rg₅作为次级稀有皂苷,在

人参中含量较低,制备困难,对其药理活性的研究还未能广泛进行。因此更加细致深入地研究人参皂苷 Rg₅ 单体的制备、分离、药理分析、构效关系及其临床应用等对新型药物的研发有重要的参考价值。人参皂苷 Rg₅ 具有多种生物活性和药理作用,随着现如今对天然药物生产及应用的重视,人参皂苷 Rg₅ 的开发利用将成为中药材研究的又一热点。

参考文献:

- [1] SUN G Z, LIU Z, ZHANG J J. General situation about the pharmacological research on Ginsen Panaxadiol Saponins [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin (中国农学通报) 2005(5): 136-140.
- [2] HONG Y J, KIM N, LEE K, et al. Korean red ginseng (Panax ginseng) ameliorates type 1 diabetes and restores immune cell compartments [J]. Journal of Ethnopharmacology 2012, 144(2): 225-233.
- [3] ZHANG J, WANG S R, CHEN Q C, et al. Effects of ginsenosides Rg₃(R), Rg₃(S) and Rg₅/Rk₁ on memory improvement of ethanol treated Mice [J]. Journal of Jilin Agricultural University (吉林农业大学学报) 2006, 28(3): 283-284.
- [4] KIM Y J, KWON H C, KO H, et al. Anti-tumor activity of the ginsenoside Rk₁ in human hepatocellular carcinoma cells through inhibition of telomerase activity and induction of apoptosis [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin 2008, 31(5): 826-830.
- [5] LIU T G, HUANG Y, CUI D D, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg₃ combined with gemcitabine on angiogenesis and growth of lung cancer in mice [J]. BMC Cancer 2009, 9(1): 250.
- [6] REN S G. Studies on the nutritional and physicochemical properties of micronized soybean meal powder (超微粉碎豆粕的理化营养特性研究) [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University 2009.
- [7] DOU D, CHEN Y, REN J, et al. Ocotillone-type ginsenoside from leaves of panax ginseng [J]. J Chin Pharmacol Sci 2002; 11(4): 119-121.
- [8] KIM S I, PARK J H, RYU J H, et al. Ginsenoside Rg₅ a genuine dammarane glycoside from Korean red ginseng [J]. Archives of Pharmacal Research (Seoul) 1996, 19(6): 551-553.
- [9] LEE S M, SHON H J, CHOI C S, et al. Ginsenosides from heat processed ginseng [J]. Chem Pharm Bull, 2009, 57(1): 92-94.
- [10] LI W, YAN M H, LIU Y, et al. Ginsenoside Rg₅ ameliorates Cisplatin-Induced nephrotoxicity in mice through inhibition of inflammation, oxidative stress, and apoptosis [J]. Nutrients 2016, 8(9): 566-583.
- [11] LIANG L, TAO H E, TINGWEI D U, et al. Ginsenoside-Rg₅ induces apoptosis and DNA damage in human cervical cancer cells [J]. Molecular Medicine Reports 2015, 11(2): 940-946.
- [12] KIM T W, JOH E H, KIM B, et al. Ginsenoside Rg₅ ameliorates lung inflammation in mice by inhibiting the binding of LPS to toll-like receptor-4 on macrophages [J]. International Immunopharmacology, 2012, 12(1): 110-116.
- [13] YAO H, JIN Y R, YANG J, et al. Conversion rule of rare ginsenosides produced from major ginsenosides by confined microwave promoted degradation method [J]. Chemical Journal of Chinese Universities (高等学校化学学报) 2014, 35(11): 2317-2323.
- [14] GU C Z, LV J J, ZHANG X X, et al. Triterpenoids with promoting effects on the differentiation of PC12 cells from the steamed roots of panax notoginseng [J]. Journal of Natural Products, 2015, 78(8): 1829-1840.
- [15] MIAO X S, METCALFE C D, HAO C, et al. Electrospray ionization mass spectrometry of ginsenosides [J]. Journal of Mass Spectrometry, 2002, 37(5): 495-506.
- [16] SHIN J H, PARK Y J, KIM W, et al. Change of ginsenoside profiles in processed ginsengs by drying, steaming, and puffing [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology 2019, 29(2): 222-229.
- [17] KIM S N, HA Y W, SHIN H, et al. Simultaneous quantification of 14 ginsenosides in Panax ginseng C. A. Meyer (Korean red ginseng) by HPLC-ELSD and its application to quality control [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 45(1): 164-170.
- [18] KWON S W, HAN S B, PARK I H, et al. Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng [J]. Journal of Chromatography A 2001, 921: 335-339.
- [19] KIM W Y, KIM J M, HAN S B, et al. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity [J]. Journal of Natural Products, 2000, 63(12): 1702-1704.
- [20] JO S K, KIM I S, YOON K S, et al. Preparation of ginsenosides Rg₃, Rk₁, and Rg₅-selectively enriched ginsengs by a simple steaming process [J]. European Food Research and Technology, 2015, 240(1): 251-256.
- [21] LEE J H, SHEN G N, KIM E K, et al. Preparation of black ginseng and its antitumor activity [J]. Korean J Orient Physiol Pathol 2006, 20: 951-956.
- [22] KANG K S, YAMABE N, KIM H Y, et al. Effect of sun ginseng methanol extract on lipopolysaccharide-in-

- duced liver injury in rats [J]. *Phytomedicine* 2007, 14 (12): 840–845.
- [23] KANG K S, KIM H Y, YAMABE N, et al. Stereospecificity in hydroxyl radical scavenging activities of four ginsenosides produced by heat processing [J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2006, 16 (19): 5028–5031.
- [24] AN Y E, AHN S C, YANG D C, et al. Chemical conversion of ginsenosides in puffed red ginseng [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44 (2): 370–374.
- [25] KIM J H, AHN S C, CHOI S W, et al. Changes in effective components of ginseng by puffing [J]. *Korean Soc* 2008, 51(3): 188–193.
- [26] LEE J H, SHEN G N, KIM E K, et al. Preparation of black ginseng and its antitumor activity [J]. *Korean J Orient Physiol Pathol* 2006, 20: 951–956.
- [27] HUANG D, LI Y, ZHANG M, et al. Tartaric acid induced conversion of protopanaxadiol to ginsenosides R_{g3} and R_{g5} and their in situ recoveries by integrated expanded bed adsorption chromatography [J]. *Journal of Separation Science* 2016, 39(15): 2995–3001.
- [28] GUO D D, CHENG L Q, LI L, et al. Preparation of ginsenoside R_{g5} with ginseng fibrous root powder [J]. *Science and Technology of Cereals oils and Foods(粮油食品科技)* 2017(3): 70–76.
- [29] GUO D D, CHENG L Q, LI L, et al. Optimization of microwave assisted extraction of ginsenoside R_{g5} from ginseng fibrous root powder by response surface methodology [J]. *Science and Technology of Food Industry(食品工业科技)* 2017(11): 229–239.
- [30] WANG Z, HU J, YAN M, et al. Caspase-mediated anti-apoptotic effect of ginsenoside R_{g5}, a main rare ginsenoside, on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(42): 9226–9236.
- [31] GUAN D P, WANG H, LI W, et al. Optimization of preparing technology of ginsenoside R_{k1} and R_{g5} by high-temperature pyrolysis [J]. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine(上海中医药杂志)*, 2015(1): 91–95.
- [32] SUN C P, GAO W P, ZHAO B Z, et al. On conversion of protopanaxadiol type saponins to ginsenoside R_{g5} by lemon [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine(中成药)* 2013, 35(12): 2694–2698.
- [33] LIU H Y, WANG C X, YANG Y, et al. Optimization of production of ginsenoside R_{g5} by microwave-assistant degradation method of total saponins from stems and leaves of *Panax notoginseng* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药)*, 2018(14): 3245–3251.
- [34] KIM S J, KIM A K. Anti-breast cancer activity of Fine Black ginseng (*Panax ginseng* Meyer) and ginsenoside R_{g5} [J]. *J Ginseng Res*, 2015, 39(2): 125–134.
- [35] LIANG L, TAO H E, TINGWEI D U, et al. Ginsenoside-R_{g5} induces apoptosis and DNA damage in human cervical cancer cells [J]. *Molecular Medicine Reports* 2015, 11(2): 940–946.
- [36] ZHANG D M, WANG A F, FENG J P, et al. Ginsenoside R_{g5} induces apoptosis in human esophageal cancer cells through the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B signaling pathway [J]. *Molecular Medicine Reports* 2019, 19: 4019–4026.
- [37] ZHANG D M, ZHANG Q, LIU L L, et al. Ginsenoside R_{g5} promotes apoptosis of esophageal cancer Eca-109 cells by down-regulating Bcl-2 protein [J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis(中国实验诊断学)*, 2018, 22(4): 700–703.
- [38] MEI Z H, DING Y M, LI F, et al. Effect of ginsenoside R_{g5} on human esophageal cancer cells [J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis(中国实验诊断学)* 2016(12): 1982–1985.
- [39] LI W, LIU W, ZOU J J. Effect of ginsenoside R_{g5} on invasion and migration of gastric cancer BGC-823 cells via miR-125b/STARD13/NEU1 signaling pathway [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae* 2018, 24(22): 138–142.
- [40] LI W, LIU W, ZOU J J. The effect of ginsenoside R_{g5} on proliferation, apoptosis and related factors of apoptosis of BGC-823 cellin gastric cancer [J]. *Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine(中国中医急症)* 2018(6): 955–958.
- [41] CHOI P, PARK J Y, KIM T, et al. Improved anticancer effect of ginseng extract by microwave-assisted processing through the generation of ginsenosides R_{g3}, R_{g5} and R_{k1} [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 14: 613–622.
- [42] FENG S L, LUO H B, CAI L A, et al. Ginsenoside R_{g5} overcomes chemotherapeutic multidrug resistance mediated by ABCB1 transporter: *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Journal of Ginseng Research* 2018, 44(2): 247–257.
- [43] AHN S, SIDDIQI M H, ACEITUNO V C, et al. Ginsenoside R_{g5}; R_{k1} attenuates TNF- α /IFN- γ -induced production of thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) and LPS-induced NO production via downregulation of NF- κ B/p38 MAPK/STAT1 signaling in human keratinocytes and macrophages [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal* 2016, 52(3): 287–295.
- [44] SHIN Y W, BAE E A, HAN M J, et al. Metabolism of

- ginsenoside Rg₅, a main constituent isolated from red ginseng, by human intestinal microflora and their anti-allergic effect [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2006, 16(11): 1791–1798.
- [45] SHIN Y W, BAE E A, KIM D H. Inhibitory effect of ginsenoside Rg₅ and its metabolite ginsenoside Rh₃ in an oxazolone-induced mouse chronic dermatitis model [J]. *Archives of Pharmacal Research (Seoul)* 2006, 29(8): 685–690.
- [46] LEE Y Y, PARK J S, JUNG J S, et al. Anti-inflammatory effect of ginsenoside Rg₅ in Lipopolysaccharide-Stimulated BV2 microglial cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences* 2013, 14(5): 9820–9833.
- [47] LEE W, CHO S H, KIM J E, et al. Suppressive effects of ginsenoside Rh₁ on HMGB1-mediated septic responses [J]. *The American Journal of Chinese Medicine* 2019, 47(1): 1–15.
- [48] JIN L, JIN X S. Protective effect of red ginseng saponin Rg₅ on MPP⁺ induced oxidative stress injury in SH-SY5Y cells [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research (时珍国医国药)* 2015(4): 878–880.
- [49] CHOI S Y, KIM K J, SONG J H, et al. Ginsenoside Rg₅ prevents apoptosis by modulating heme-oxygenase-1/Nrf2 signaling and alters the expression of cognitive impairment-associated genes in thermal stress-exposed HT22 cells [J]. *Journal of Ginseng Research*, 2018, 42(2): 225–228.
- [50] KIM E J, JUNG I H, VAN LE T K, et al. Ginsenosides Rg₅ and Rh₃ protect scopolamine-induced memory deficits in mice [J]. *Journal of Ethnopharmacology* 2013, 146(1): 294–299.
- [51] XU D, WANG C, ZHAO W, et al. Antidepressant-like effects of ginsenoside Rg₅ in mice: Involving of hippocampus BDNF signaling pathway [J]. *Neuroscience Letters* 2017, 645: 97–105.
- [52] CHO Y L, HUR S M, KIM J Y, et al. Specific activation of insulin-like growth factor-1 receptor by ginsenoside Rg₅ promotes angiogenesis and vasorelaxation [J]. *Journal of Biological Chemistry* 2015, 290(1): 467–477.
- [53] SIDDIQI M H, SIDDIQI M Z, AHN S, et al. Stimulative effect of Ginsenosides Rg₅: Rk₁ on murine osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. *Phytotherapy Research*, 2014, 28(10): 1447–1455.
- [54] PONNURAJ S P, SIRAJ F, KANG S, et al. Amelioration of insulin resistance by Rk₁ + Rg₅ complex under endoplasmic reticulum stress conditions [J]. *Pharmacognosy Research* 2014, 6(4): 292–296.
- [55] JIN Y, KIM J H, HONG H D, et al. Ginsenosides Rg₅ and Rk₁, the skin-whitening agents in black ginseng [J]. *Journal of Functional Foods* 2018, 45: 67–74.

Research progress of ginsenoside Rg₅

YE Anqi, ZHANG Zaihao, CHENG Leqin*

(Jilin Institute of Chemical Technology, School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Jilin 132022, China)

Abstract: **Objective** To reviewed the research progress of the preparation, isolation and pharmacological activity of ginsenoside Rg₅. **Methods** The preparation, separation and pharmacological action of ginsenoside Rg₅ were reviewed in detail by searching relevant domestic and foreign literatures. **Results** Ginsenoside Rg₅ could be prepared by processing ginseng, ginseng powder and original ginsenoside. The results of pharmacological activity studies indicated that ginsenoside Rg₅ has anti-cancer, anti-allergy and anti-inflammation, anti-memory disorder, anti-depression, promote cell growth, anti-diabetes and whitening effects. **Conclusion** The study on Rg₅ monomer of ginsenoside is still in the initial stage. The rational preparation and separation of Rg₅ and its pharmacological mechanism are studied, which provide valuable reference for the further development of Rg₅ of rare ginsenoside.

Key words: ginsenoside Rg₅; preparation and separation; pharmacologic action