

4 种达玛烷型人参皂苷元结构改造及生物活性研究进展

刘朝金¹, 张晓梅¹, 度呈杰¹, 王跃平¹, 汤素云¹, 周 博¹, 赵映梅^{2*}, 赵 庆^{1*}

(1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500; 2. 昆明市呈贡区人民医院, 云南 昆明 650500)

摘要: 达玛烷型人参皂苷元是人参皂苷在机体内的活性代谢产物, 在抗癌、抗菌、抗炎、保护心脑血管系统等方面均具有独特的药理作用, 已被广泛作为结构改造的研究对象。通过结构改造, 可以增强达玛烷型人参皂苷元的水溶性、提高生物利用度、增强生物活性和减少毒副作用, 扩大临床应用范围。近年来, 通过化学方法和生物转化法对达玛烷型人参皂苷元进行结构改造及生物活性的研究取得了重要进展。其中: 化学方法主要是针对分子中的羟基进行结构改造, 结构改造的方法主要有酯化、酰胺化、引入含氮官能团等; 生物转化法的改造位点多样化, 该法具有特异性强、转化率高、微生物来源丰富的特点。本文对 4 种达玛烷型皂苷元的结构改造及生物活性研究进行综述, 以期为人参皂苷元衍生物的设计合成与进一步开发利用以及为云南省丰富的三七资源开发与利用提供参考。

关键词: 达玛烷型; 人参皂苷元; 结构改造; 生物活性

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2024)03-0082-12

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2024.03.014

Research Progress on Structural Transformations and Biological Activities of Four Dammarane-type Ginsengenins

LIU Chaojin¹, ZHANG Xiaomei¹, TUO Chengjie¹, WANG Yueping¹,

TANG Suyun¹, ZHOU Bo¹, ZHAO Yingmei², ZHAO Qing¹

(1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Chenggong District Hospital, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Dammarane-type ginsengenins are active metabolites of ginsenosides in body, which have unique pharmacological effects of anti-tumor, antibacterial, anti-inflammatory, and protection of heart and brain system. Structural transformations of ginsengenins have been widely conducted in order to enhance their water solubility, bioavailability, and biological activity, reduce their side effects, and expand their clinical application. In recent years, some progress has been made in the structural transformations and biological activities of dammarane-type ginsengenins. In chemical methods, modification sites are mainly focused on hydroxyl groups of the molecule. Chemical methods included esterification, amidation, and introduction of nitrogen-containing group, etc. Biotransformation method has the characteristics of high specificity, high conversion, and abundant sources of microorganism. In this paper, structural transformations and biological activities of four dammarane-type ginsengenins were reviewed, in order to provide reference for the design, synthesis, further development, and utilization of ginsengenin derivatives, and for the development and utilization of rich *Panax notoginseng* resources in Yunnan Province.

KEY WORDS: Dammarane-type; ginsengenins; structural transformations; bioactivities

人参属(*Panax* L.)为五加科(Araliaceae)植物, 其中的人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)、三七[*Panax*

notoginseng(Burk.)F. H. Chen]、西洋参(*Panax quinquefolium* L.)在中国、日本、韩国等地作为药物或滋

基金项目: 国家自然科学基金(82260687, 82360697); 云南省科技厅-中医联合专项(202101AZ070001-204)

作者简介: 刘朝金(1998-), 男, 在读硕士研究生, E-mail: 2284568951@qq.com

* 通信作者: 赵映梅(1975-), 女, 副主任药师, 研究方向: 药物化学, E-mail: 1041771279@qq.com;

赵 庆(1969-), 男, 教授, 研究方向: 天然药物化学, E-mail: qingzhaokm2008@126.com

补品已被广泛使用,具有很高的药用价值。人参属植物中富含多种结构类型的人参皂苷,这些皂苷类物质经酸^[1]、碱^[2]或酶水解^[3-4]可得到相应的皂苷元,其结构类型主要有达玛烷型皂苷元、齐墩果酸型皂苷元和奥克梯隆型皂苷元。研究表明,次生皂苷和苷元比水解前的人参皂苷往往具有更好的生物活性^[5]。在由二醇型或三醇型皂苷水解制备皂苷元时,由于水解条件的不同,可得到侧链保持不变的皂苷元原人参二醇(protopanaxadiol, PPD)和原人参三醇(protopanaxatriol, PPT)以及侧链发生闭环的皂苷元人参二醇(panaxadiol, PD)和人参三醇(panaxatriol, PT)^[6-7]。在酸性条件下,水解产物易发生构型转变,得不到原苷元,而是主要得到PD和PT及其C-20位差向异构体^[8]。碱水解法比酸水解法反应温和,特别适用于遇酸不稳定的皂苷水解,在碱性条件下,水解产物成分较少,反应进行得较完全,且C-20位的S构型不变^[9]。上述人参皂苷元也是人参皂苷在机体内的活性代谢产物,在抗癌^[10-13](尤其是肝癌、肺癌、乳腺癌、宫颈癌和结肠癌)、抗炎^[14-15]、抗菌^[16]和保护心脑血管系统^[17]等方面均具有独特的药理作用。

三七为著名的云南道地药材,其资源丰富,总皂苷含量高于人参,而三七总皂苷是三七主要的活性物质。三七中富含二醇型人参皂苷 Rb1、Rd 和三醇型人参皂苷 Rg1、Re 和 R1,上述5种皂苷的含量占了三

七总皂苷的85%左右,在适当条件下水解后主要得到PD和PT,或者PPD和PPT。上述4种皂苷元易从三七总皂苷水解获得,且本身具有良好的生物活性,可作为理想的起始原料。研究表明,通过对人参皂苷的分子结构进行改造,可以大幅度提高其水溶性^[18]和稳定性^[19],从而提高其生物活性,减少毒副作用,扩大临床应用范围。近年来,国内外学者对PD、PPD、PT和PPT的结构改造及生物活性研究取得了重要进展,本文对这4种皂苷元的结构改造及生物活性研究进行综述,旨在为达玛烷型人参皂苷元衍生物的设计合成及生物活性研究以及为云南省丰富的三七资源开发与利用提供参考。

1 人参二醇(PD)与人参三醇(PT)及其衍生物的研究进展

PD和PT均为闭环型的人参皂苷元(图1)。现代药理学研究表明,PD具有广泛的生物活性,包括抗肿瘤^[20]、保护神经系统^[21]、抗高血脂^[22]等。PT与PD结构相似,差别在于PT的C-6位多一个羟基(图1)。研究表明,PT具有抗肿瘤^[23]、保护心血管系统^[24]和治疗糖尿病^[25]等作用。当由二醇型或三醇型人参皂苷酸水解制备人参二醇、人参三醇时,C-20位构型对酸高度敏感,并发生差向异构,形成处于平衡状态的2种差向异构体的混合物^[26](图1)。PD与PT分子结构中C-3、C-6及C-12羟基是结构改造的关键基团。

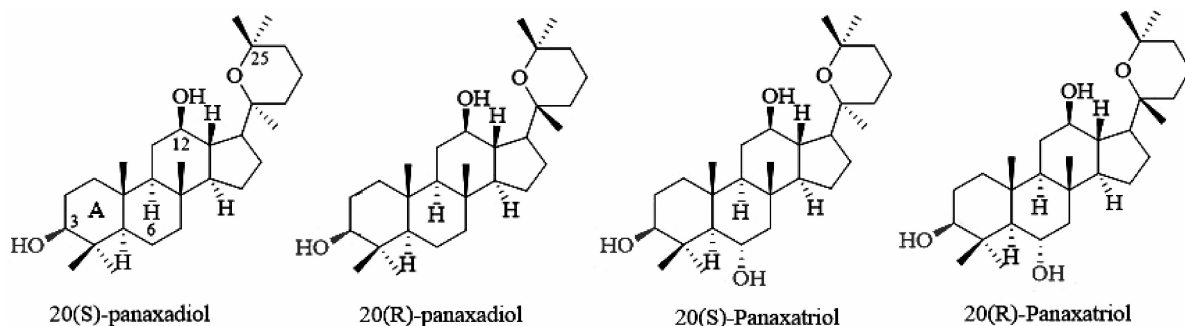


图1 人参二醇与人参三醇的结构

1.1 酰化衍生物的制备及活性研究 周金娜等^[27]通过对PD的C-3位羟基进行酰化,制备一系列酰化衍生物(图2),并测定其舒张大鼠胸主动脉活性。结果显示,化合物1~5具有舒张作用,并且化合物1和3的舒张血管活性优于PD。此外,该研究发现PD衍生物的舒张血管活性与C-3位的取代基类型有关,且取代基如果是芳环,则芳环上的取代基对活性也

有显著影响。

Xiao等^[28]以PD为原料,与氯乙酰氯和溴乙酰溴反应合成了一系列酰化衍生物(图3)。采用MTT法测试了它们对3种人肿瘤细胞(HCT-116、BGC-823和SW-480)及3种正常细胞(人胃上皮细胞系GES-1、毛囊真皮乳头细胞系HHDPc和大鼠心肌细胞系H9C2)的体外抗肿瘤活性。结果表明,化合物6、8和9

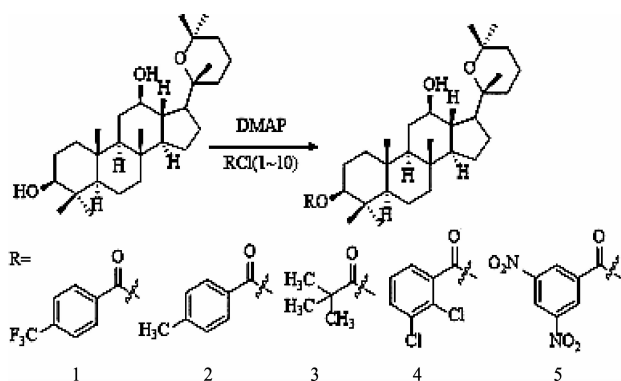


图 2 人参二醇酯化衍生物合成

对 3 种肿瘤细胞株均表现出显著的抗肿瘤活性,其中,化合物 **8** 对 HCT-116 的活性最高(IC_{50} 为 $3.836 \mu M$),化合物 **6**、**8** 和 **9** 对正常细胞不表现出细胞毒性(IC_{50} 值均大于 $100 \mu M$)。该研究表明,当 C-3 位羟基被氯乙酰基或溴乙酰基取代后,其对 3 种肿瘤细胞的细胞毒活性均显著提高,而对正常细胞的毒性降低。

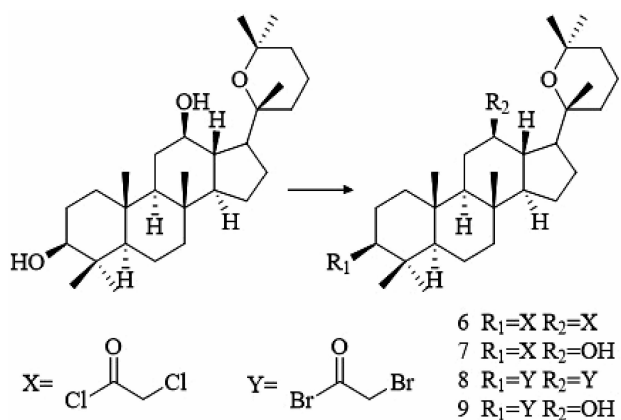


图 3 人参二醇氯乙酰和溴乙酰衍生物

Wang 等^[29]以 PD 为原料,在 C-3 位与脂肪酸及二酸进行酯化反应,合成了一系列酯化衍生物(图4)。

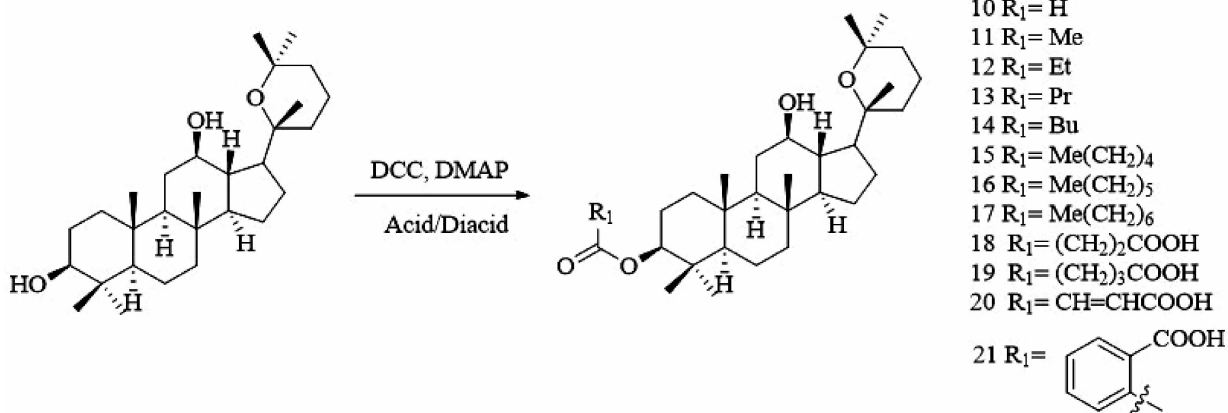


图 4 人参二醇脂肪酸及二酸衍生物合成路线

采用 MTT 测定衍生物对 3 种不同的肿瘤细胞系(HL-60、THP-1 和 PC-3)的抗增殖活性。PD 作为参比化合物。结果表明,衍生物的抗肿瘤活性与 PD 相比大幅提高;且末端具有羧基的 PD 衍生物抗肿瘤活性大多优于末端无羧基的 PD 衍生物。在脂肪酰氧型衍生物中,化合物 **15** 表现出最好的抗白血病细胞增殖活性, IC_{50} 值为 $3.47 \mu M$ 。在二酸衍生物中,化合物 **21** 对 THP-1、HL-60 和 PC-3 细胞系表现出较好的细胞毒活性, IC_{50} 值分别为 5.81 、 15.37 和 $6.73 \mu M$ 。可见,适当长度脂肪酰氧基的引入可以显著提高 PD 的抗肿瘤活性,可能是脂肪酰化后 PD 的亲脂性增强。

1.2 含氮类衍生物的制备及活性研究 蒲洪等^[30]以二醇型皂苷为原料,通过琼斯氧化得到化合物 **22**,将 **22** 经过衍生反应制备 C-3 位具有含氮取代基的化合物 **23~29**(图 5)。采用 MTT 法对其中 6 个化合物进行人白血病细胞株(HL-60)、肝癌细胞株(SMMC-7721)、肺癌细胞株(A-549)、乳腺癌细胞株(MCF-7)及结肠癌细胞株(SW480)的细胞毒活性筛选。结果表明,所得化合物 **24** 对 SMMC-7721、A-549、MCF-7 及 SW480 等肿瘤细胞增殖有一定的抑制作用,可能与其分子中含有硝基有关。化合物 **22** 以及经转化成氨基后的化合物 **23** 未显示出细胞增殖抑制作用,这可能与人参二醇的六元醚环被破坏,变成五元内酯环有关。

Han 等^[31]采用 Fisher 吡啶合成法,合成了 18 个新的 PD 吡啶衍生物(图 6)。采用 MTT 法对 6 株人肿瘤细胞(A549、HepG-2、HCT116、SGC-7901、MDA-MD-231 和 PC-3)和 1 种正常卵巢细胞株(IOSE144)进行细胞毒活性评价。结果表明,PD 吡啶衍生物对不

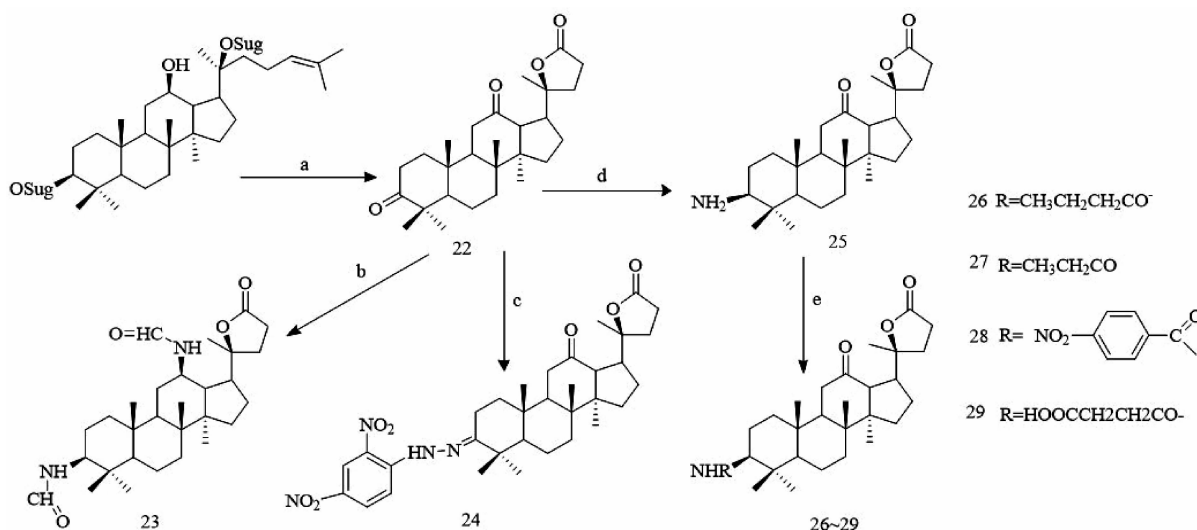


图5 降解人参二醇衍生物

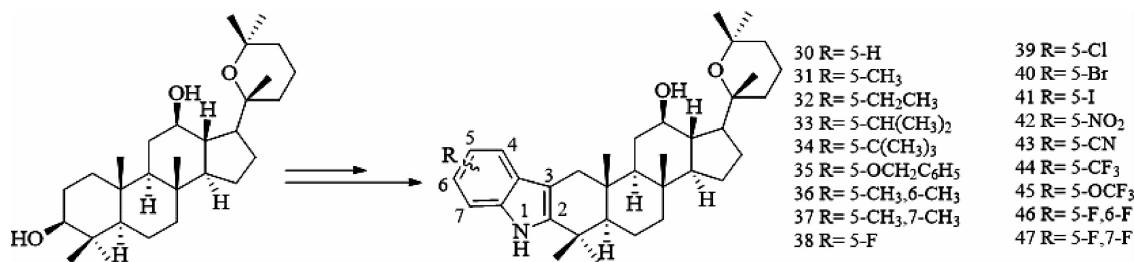


图6 PD 吲哚衍生物合成路线

同类型的肿瘤细胞表现出不同程度的细胞毒活性,与化合物 PD 相比,所有衍生物的细胞毒活性均显著提高,且所有衍生物对 IOSE144 细胞均未表现出细胞毒性($IC_{50} > 100 \mu M$),表明所有衍生物都具有生物安全性。其中,对甲基吲哚-PD(化合物 **31**)表现出最高的细胞毒活性,在 A549 细胞中,其 IC_{50} 值为 $5.01 \sim 0.87 \mu M$,活性约为 PD 的 12 倍及 5-氟尿嘧啶的 5 倍。细胞形态学分析和 Annexin V-FITC/PI 检测结果表明,化合物 **31** 可以诱导细胞凋亡。分子对接结果表明,化合物 **31** 的氢键相互作用和 $\pi-\pi$ 堆积以及疏水网络的建立可能是其生物活性增强的主要原因。Xiao 等^[32]以 PD 为原料,在 C-3 位引入 1,2,4-三唑基团,合成了 18 个 PD 三唑衍生物(图 7)。采用 MTT 法检测衍生物对 5 株肿瘤细胞和 1 株正常细胞的细胞毒活性。结果表明,大部分衍生物均能抑制肿瘤细胞增殖,其中,化合物 **48** 的抗增殖活性最为显著,其对 HepG-2 细胞的 IC_{50} 值为 $(4.21 \pm 0.54) \mu M$,比 PD 活性高近 15 倍。机制研究表明,化合物 **48** 可通过线粒体途径诱导 HepG-2 细胞凋亡,并能增强 Cl-cas-

pase-3、Cl-caspase-9 和 Cl-PARP 的表达。

Dai 等^[33]通过噻二唑类化合物与 PD 反应,合成了一系列 PD 衍生物(图 8),以研究苯环上取代基的位置和类型以及脂肪链长度的改变对肿瘤细胞增殖抑制作用的影响。采用 MTT 法测定衍生物对 3 种人肿瘤细胞系 A549、HepG-2、PC-3 和 1 种小鼠肿瘤细胞系 RM-1 的细胞毒活性。结果表明,衍生物具有良好的抗肿瘤活性。其中,化合物 **89** 的细胞毒活性最强,其对多种肿瘤细胞的生长具有明显的抑制作用。进一步的研究表明,化合物 **89** 可降低 A549 细胞中 CDKs 蛋白家族和 Cyclin D1 的表达水平,提示化合物 **89** 可能具有阻滞细胞周期的作用。

Wu 等^[34]以 PT 为原料,将五元和六元杂环引入 PT 的 A 环上,合成了一系列新型 PT 杂环衍生物,以提高其对心肌细胞的保护活性。体外研究表明,与 PT 相比,大约一半的 PT 衍生物对氧-糖剥夺和再灌注损伤具有更强的保护活性。构效关系研究表明,稠合杂环的存在可以极大地提高 PT 的活性,并且杂环上取代基的电性效应会对其活性产生重大的影响。

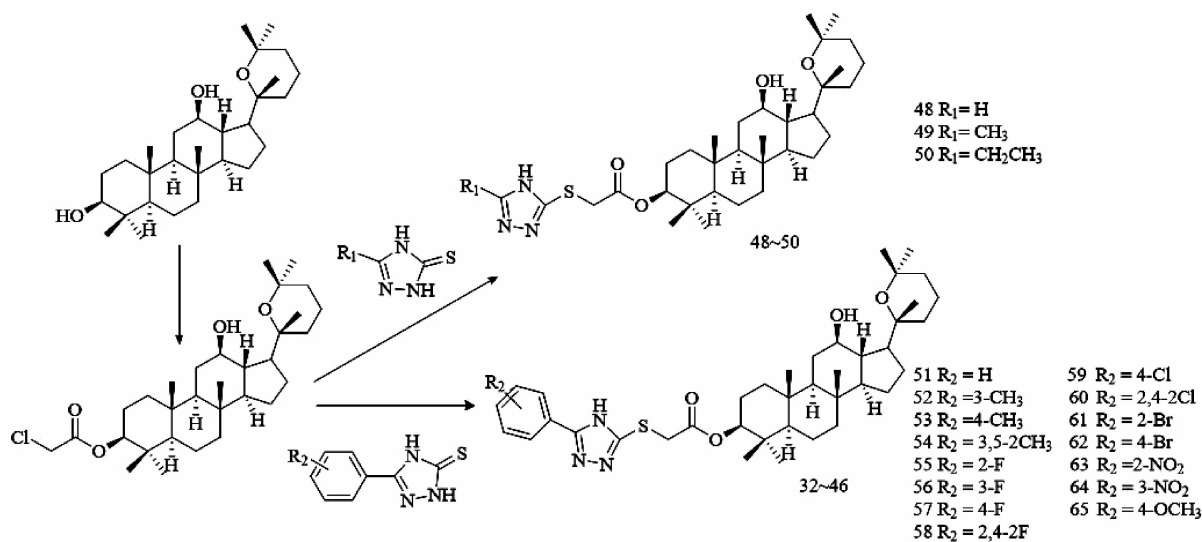


图 7 人参二醇三唑衍生物合成路线

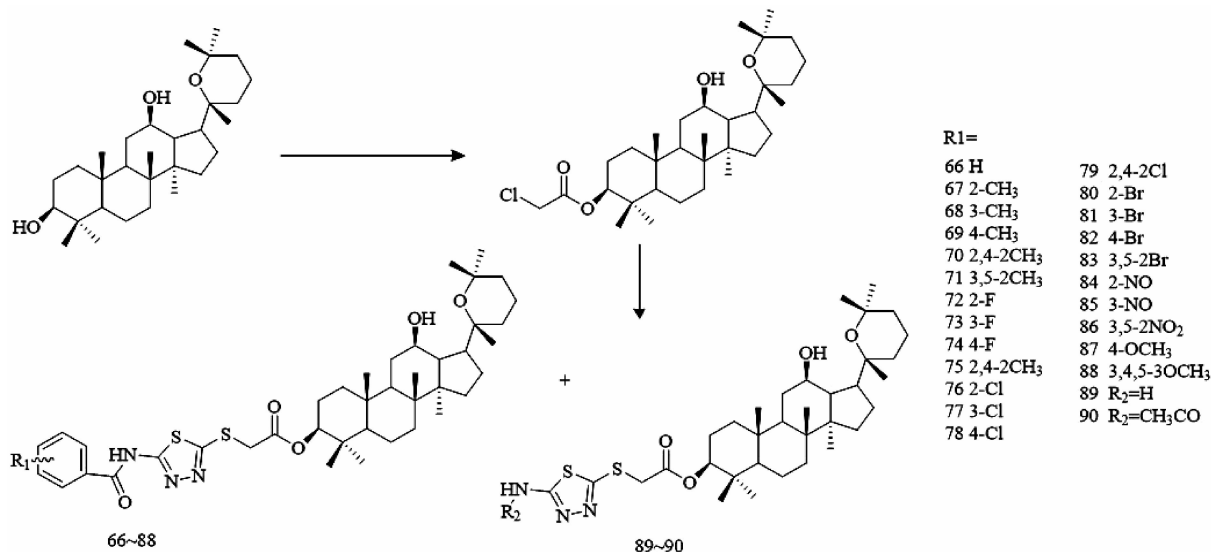


图 8 人参二醇噻二唑衍生物合成路线合成路线

郭红艳^[35]以 PT 为原料,合成了一系列 C-3 和 C-6 位有取代基的 PT 衍生物(图 9)。采用 MTT 测定法研究 PT 及其衍生物在 Hep3B 细胞中的细胞毒性。结果表明,与化合物 PT 相比,大多数衍生物对 HIF-1 α 转录活性具有更好的抑制作用。其中,具有叔丁氧羰基甘氨酸的化合物 **A92** 抑制作用最强,其在 Hep3B 细胞系中抑制 HIF-1 α 转录活性的 IC₅₀ 值小于 0.3 μM ,它的作用是 PT 的 100 倍以上。此外,机制研究表明化合物 **A92** 可呈剂量依赖性地抑制缺氧诱导的 HeLa 细胞中 HIF-1 α 蛋白表达水平,还能抑制 HeLa 细胞的迁移、促进细胞凋亡并抑制 HeLa 细胞增殖。

1.3 开环衍生物的制备及活性研究 赵一纯等^[36]以 PD 和 PT 为原料制备衍生物(图 10),得到 4 个开环产物,并采用 MTT 法进行体外细胞毒性筛选。结果表明,开环产物 **94**、**95** 均具有细胞毒活性。其中化合物 **94** 对乳腺癌细胞株 MCF-7 的抑制活性超过顺铂(DPP)。化合物 **95** 对人白血病细胞株 HL-60 也有较好的抑制活性。Wu 等^[37]合成了一系列 PT 衍生物并评估了其对 Na⁺, K⁺-ATP 酶的抑制活性。结果表明,与 PT 相比,超过一半的衍生物表现出更高的抑制活性。在这些化合物中,具有 3,4-seco 骨架的化合物(图 11)显示出最强的抑制活性,IC₅₀ 值为 (0.26 $\pm$ 0.03) μM ,与标准药物地高辛 IC₅₀ 值[(0.27 $\pm$ 0.03) μM]相当。

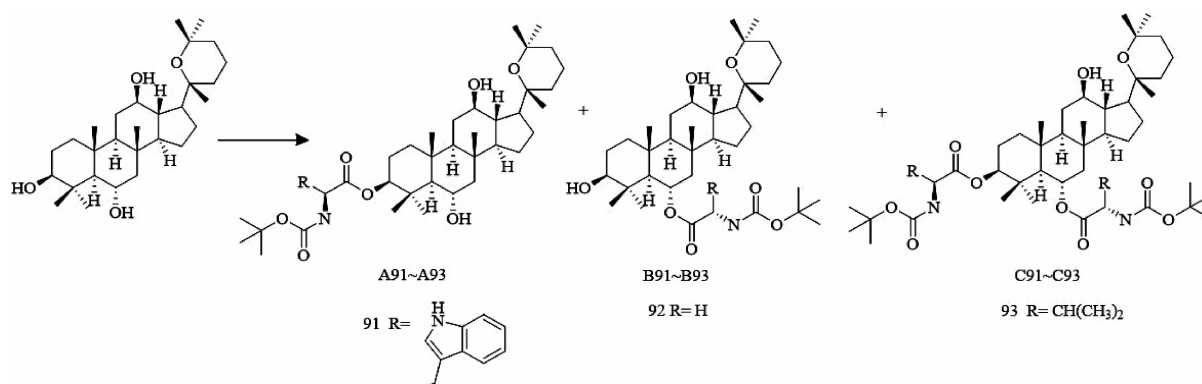


图9 A91~A93、B91~B93、C91~C93的合成路线

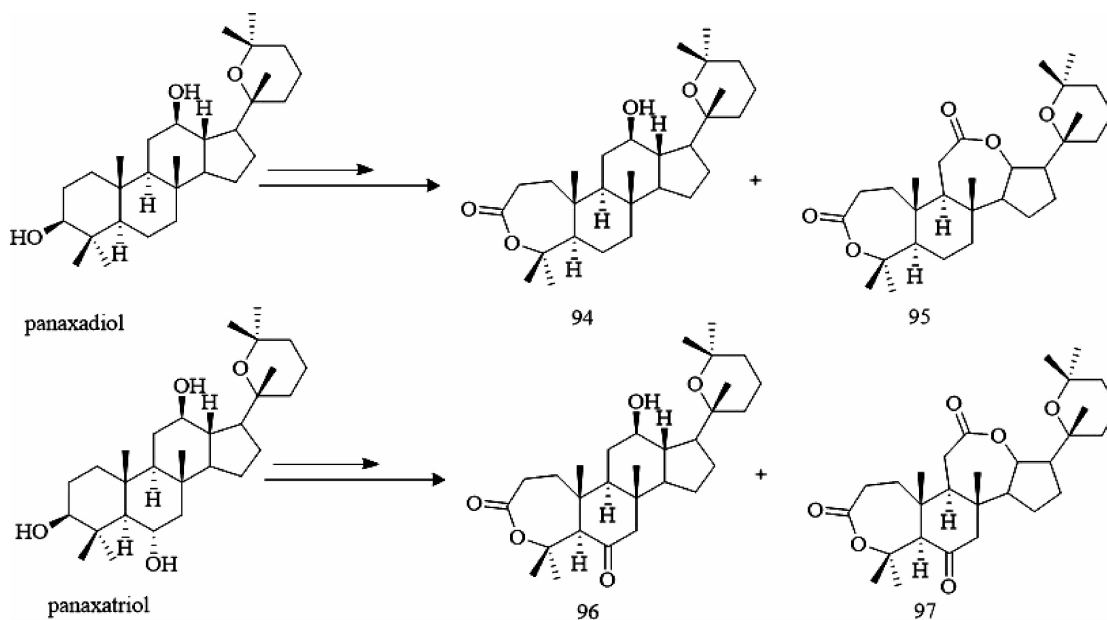


图10 PD与PT开环衍生物合成路线

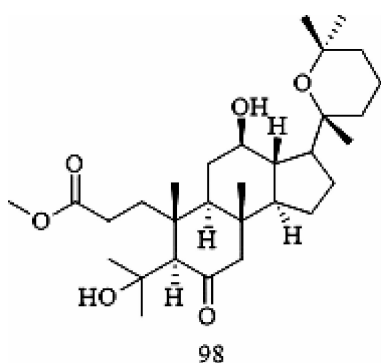


图11 具有3,4-seco骨架的化合物

1.4 微生物转化及活性研究 Yan等^[38]研究了黑曲霉对20(R)-PD的生物转化,20(R)-PD被真菌黑曲霉AS 3.3926代谢为其C-3羰基化产物和其他5个羟基化产物(99~104),结构鉴定为3-羰基-20(R)-人参二醇(99)、3-羰基-7 β -羟基-20(R)-人参

二醇(100)、3-羰基-7 β ,23 α -二羟基-20(R)-人参二醇(101)、3,12-二羰基-7 β ,23 β -二羟基-20(R)-人参二醇(102)、3-羰基-1 α ,7 β -二羟基-20(R)-人参二醇(103)和3-羰基-7 β ,15 β -二羟基-20(R)-人参二醇(104)。其中,化合物100~104为新化合物。通过肝星状细胞(HSC-T6)的NF- κ B依赖性荧光素酶生物测定法对底物PD和化合物99~104的体外抗肝纤维化活性进行了测试。研究结果表明,化合物104在50 μ g/mL水平下表现出显著的抗肝纤维化活性。

Song等^[39]报道了蓝色犁头霉(*Absidia coerulea*)对20(R)-PD的生物转化,获得了6种产物(105~110),其中化合物106~108为新化合物。产物的结构被鉴定为3-羰基-20(R)-人参二醇(105)、3-羰基-7 β -羟基-20(R)-人参二醇(106)、3-羰基-22 β -羟

基-20(*R*)-人参二醇(**107**)、3-羰基-7 β ,22 β -二羟基-20(*R*)-人参二醇(**108**)、3-羰基-7 β ,24 β -二羟基-20(*R*)-人参二醇(**109**)和 3-羰基-7 β ,24 α -二羟基-20(*R*)-人参二醇(**110**)。此外,通过肝星状细胞(HSC-T6)的 NF- κ B 依赖性荧光素酶生物测定法对 6 种产物的体外抗肝纤维化活性进行了测试,发现化合物 **107** 和 **108** 表现出显著的抗肝纤维化活性。Lin 等^[40]通过真菌黄曲霉 Link AS 3.3950 对 20(*R*)-PT 进行微生物转化,获得了 4 个新化合物,结构鉴定为 24 β -羟基-20(*R*)-人参三醇(**111**)、24 α -羟基-20(*R*)-人参三醇(**112**)、23 β -羟基-20(*R*)-人参三醇(**113**)和 15 β -羟基-20(*R*)-人参三醇(**114**),以及两个已知化合物 3,6-二羰基-22 β -羟基-20(*R*)-人参三醇(**115**)和 3,6,23-三羰基-20(*R*)-人参三醇(**116**)。采用 MTT 法检测化合物对 K562/ADR、Du-145、HeLa、MCF-7 和 HepG2 细胞的抑制作用。结果表明,化合物 **114** 通过阻滞细胞周期对人白血病细胞株 K562/

ADR 产生选择性抑制作用,并使细胞周期蛋白 B1、D1 和细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)1/2/4/6 蛋白表达明显降低。

2 原人参二醇(PPD)与原人参三醇(PPT)及其衍生物的研究进展

PPD 是二醇型人参皂苷水解的最终产物之一,人参皂苷经浓盐酸水解后,再经碱处理得到 20(*S*)-PPD 和 20(*R*)-PPD^[41-42],也可以通过人体肠道菌群代谢产生^[43],20(*S*)-PPD 在抗炎、血管生成和肿瘤治疗方面具有潜在的作用^[44-48],但关于 20(*R*)-PPD 的药理报道很少。PPT 是人参三醇皂苷(Re、Rg1、Rg2 和 Rh1 等)的苷元,是 PPT 型皂苷的水解产物或体内代谢产物,其结构式见(图 12)。研究表明,PPT 具有抗肿瘤^[49]、保护心血管系统^[50]、保护神经系统^[51]、抗炎^[52]、治疗糖尿病^[53]等药理作用。PPD 与 PPT 结构中 C-3、C-12 及 C-20 位(特别是 C-3 和 C-20 位)所连接的羟基都是可以进行结构改造的部位。

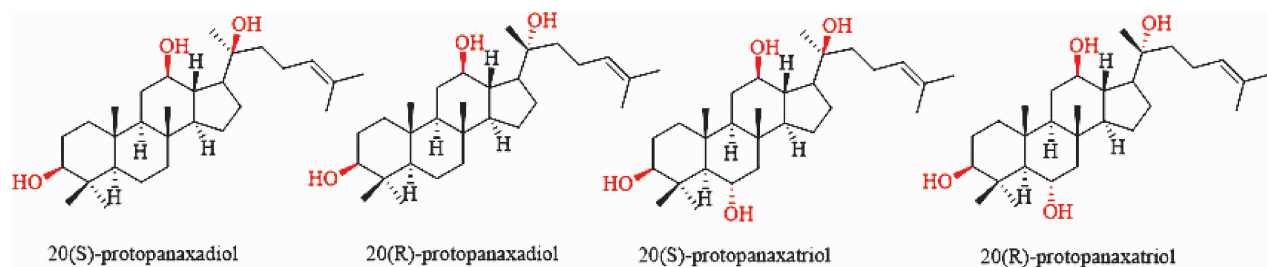


图 12 原人参二醇与原人参三醇

2.1 酰化衍生物的制备及活性研究 周金娜^[54]以 PPT 为原料,与乙酸酐、丙酸酐、丁酸酐进行酰化反应,生成 C-3、C-6 及 C-12 位均被取代的脂肪酸酯衍生物。程磊^[55]以 PPT 为起始原料,与 Boc-甘氨酸进行酯化反应,合成了 2 种氨基酸酯衍生物。张莹^[56]以 PPT 为原料,选择 C-3 位羟基作为反应位点,与氨基酸进行酯化反应,制备了 10 个氨基酸酯衍生物(图 13)。采用 CCK-8 法检测了氨基酸酯衍生物对人肝癌细胞(HepG2 细胞)、人肺癌细胞(A549 细胞)、人乳腺癌细胞(MCF-7 细胞)、人宫颈癌细胞(HeLa 细胞)以及人结肠癌细胞(HCT-116 细胞)等 5 种肿瘤细胞增殖的影响。结果表明:多数衍生物的抗肿瘤活性优于 PPT,且氨基酸的亲水性越好,衍生物活性越强;脱 Boc 的衍生物活性优于未脱 Boc 的衍生物。

2.2 含氮衍生物的制备及活性研究 Pan 等^[57]报道了 20(*S*)-PPD 能够抑制破骨细胞分化、骨吸收区和 F-肌动蛋白环形成;Wang 等^[58]认为 PPD 具有开发新型抗骨质疏松药的潜力,并以 PPD 为原料,合成了一系列在 C-2 和 C-3 位耦合杂环(吡嗪、恶二唑、异恶唑、吡唑和嘧啶)的 PPD 衍生物(图 14),并评价了它们对 RANKL 诱导的破骨细胞形成的抑制作用。结果表明,化合物 **135**(SH491)对 RANKL 诱导的破骨细胞形成表现出最有效的抑制活性,SH491 的 IC₅₀ 值低至 11.8 nM,比化合物 PPD(IC₅₀ = 10.3 μ M)强约 873 倍。而且 SH491 在有效的破骨细胞抑制浓度(0.1 μ M)下也表现出良好的成骨细胞分化促进作用。机制研究表明,SH491 可以显著抑制破骨细胞生成相关标志基因(TRAP、CTSK、MMP-9 和 ATP 酶

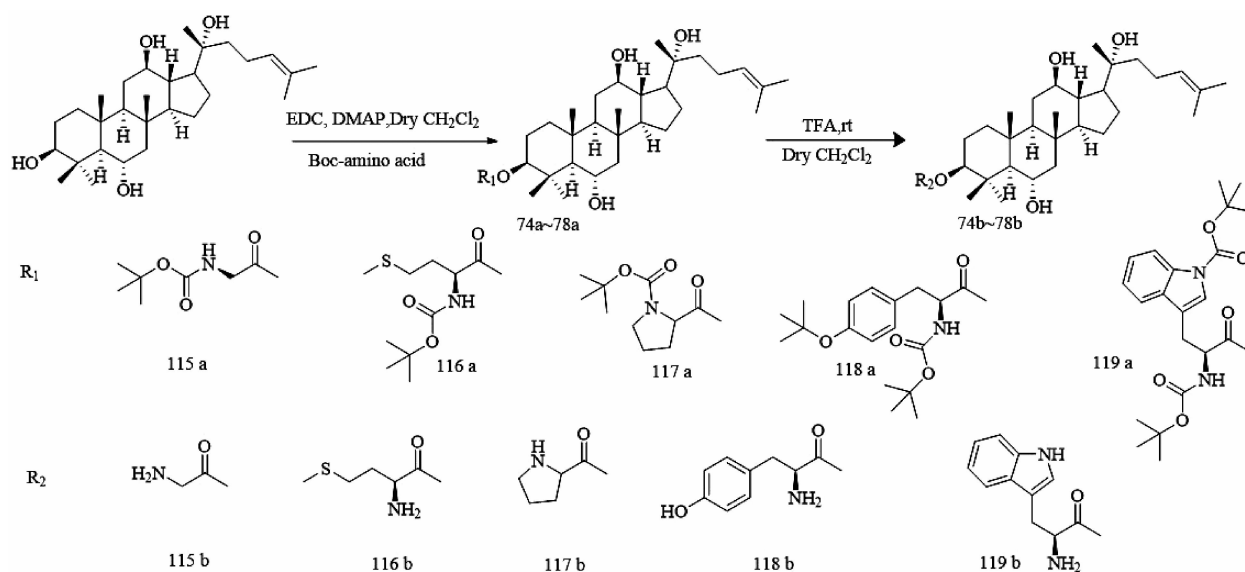


图 13 氨基酸酯衍生物合成路线

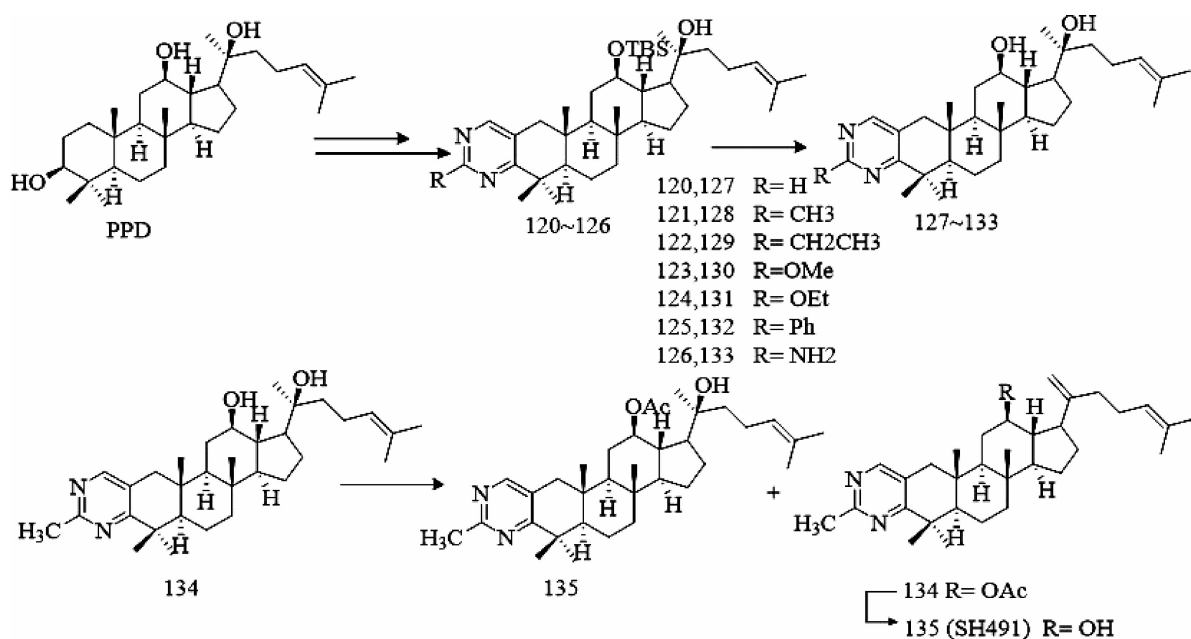


图 14 稠合杂环(吡嗪、恶二唑、异恶唑、吡唑和噻唑)的 PPD 衍生物

v0d2)及蛋白质(TRAP、CTSK 和 MMP-9)的表达,并呈时间依赖性。化合物 SH491 在体外和体内均显著抑制破骨细胞生成并调节破骨细胞活性。

2.3 其他衍生物的制备及活性研究 张馨妍等^[59]以 PPD 为原料,经乙酰化、加成、消除等反应步骤制备中间体 25-烯-PPD,再经过手性结构修饰制备出 (25S)-26-OH-PPD。采用 CCK8 法评价其对 HeLa 细胞增殖的影响,结果显示:随着 (25S)-26-OH-PPD 剂量的增大,对 HeLa 细胞的抑制率呈剂量依赖性增高;

合成的 (25S)-26-OH-PPD 具有一定的抗宫颈癌活性。李晨晨^[60] 选择两个具有抗肿瘤活性的化合物 20(S)-PPD 与 2-脱氧葡萄糖, 利用拼合原理将两个化合物拼合在一个分子中, 形成一种新的杂交分子 2'-脱氧 Rh2。MTT 法测试结果表明, 2'-脱氧 Rh2 可抑制骨肉瘤 U2OS 细胞增殖, 对乳腺癌 MCF-7 细胞的抑制作用更为显著, 并且呈浓度和时间依赖性, 而正常细胞对 2'-脱氧 Rh2 敏感性较低。乳酸脱氢酶检测、Western blot 检测、葡萄糖摄取实验、SeahorseXF 代谢

通量分析仪测定 OCR 及 ECAR 等实验结果表明,2'-脱氧 Rh2 可抑制 MCF-7 细胞有氧糖酵解进而抑制细胞的生长。

2.4 微生物转化及活性研究 Chen 等^[61]通过真菌伞房犁头霉 AS 3.3387 对 20(S)-PPD 进行生物转化产生 5 个产物(**136**~**140**),并将其结构鉴定为 26-羟基-20(S)-原人参二醇(**136**)、23,24-烯-25-羟基-20(S)-原人参二醇(**137**)、25-羟基-20(S)-原人参二醇(**138**)、7 β -羟基-20(S)-原人参三醇(**139**)和 7-羰基-20(S)-原人参三醇(**140**),其中 **139** 和 **140** 为新化合物。用两种人前列腺癌细胞系 DU-145 和 PC-3 评价了这 5 个产物及底物的细胞毒活性,发现所有化合物和底物对 DU-145 和 PC-3 细胞均表现出中等活性。其中,化合物 **136**、**139** 和 **140** 对 DU-145 和 PC-3 细胞的抑制作用均强于底物 PPD,表明 C-7 β 、C-26 位羟基化和 C-7 位脱氢作用可增强其细胞毒活性。在 *A.corymbifera* AS 3.3387 的反应中,侧链氧化还原、羟基化和羰基化反应是主要的反应类型,从该生物过程中产生特定的 7 β 单羟基化产物(**139**)和羰基化产物(**140**),表明 20(S)-PPD 的生物转化具有明显的区域和立体专一性。Yang 等^[62]利用刺毛霉对 20(S)-PPT 进行微生物转化,得到两个新化合物和 8 个已知化合物,并将其结构鉴定为 12-羰基-20(S)-原人参三醇(**141**)、23,24-烯-25-甲氧基-20(S)-原人参三醇(**142**)、29-羟基-20(S)-原人参三醇(**143**)、20(S),24(S)-环氧-达玛烷-3,6,12,25-三醇(**144**)、12-羰基-27-羟基-20(S)-原人参三醇(**145**)、12-羰基-26-羟基-20(S)-原人参三醇(**146**)、12-羰基-23-羟基-20(S)-原人参三醇(**147**)、12-羰基-11-羟基-20(S)-原人参三醇(**148**)、12-羰基-15-羟基 20(S)-原人参三醇(**149**)和 12-羰基-25,26-烯-15-羟基-20(S)-原人参三醇(**150**)。其中,**142** 和 **150** 为新化合物。使用 7 种癌细胞系 Du-145、HeLa、K562、K562/ADR、SH-SY5Y、HepG2 和 MCF-7 以及 1 种正常细胞系 Vero 评估了这 10 个化合物的细胞毒活性。结果发现,与 PPT 相比,化合物 **142** 对所有细胞系表现出更强的细胞毒活性,特别是 Du-145、HeLa 和 K562/ADR 细胞株,IC₅₀ 值分别为 11.3、8.2 和 7.4 μ M。该结果表明,如果分子具有 23,24-烯-25-甲氧基的侧链,

则可提高细胞毒活性。化合物 **149** 和 **150** 对 K562/ADR 细胞株表现出更强的细胞毒活性,IC₅₀ 值分别为 9.1 和 10.7 μ M,表明 12-羰基和 15 α -羟基可提高分子的细胞毒活性。生物转化方法具有高度选择性,可以制备采用化学方法时难以得到的成分。因此,生物转化是制备结构多样化的天然产物,以寻找新的活性成分或先导化合物的有效方法之一。

3 总结

PD、PT、PPD 和 PPT 很容易由三七总皂苷水解得到,它们也是人参属植物的代谢产物,具有抗肿瘤、保护神经、保护血管、抗炎、治疗糖尿病等生物活性。通过对药物的化学结构进行改造,可以有效解决影响药物疗效的种种缺点,如改善药物的吸收性能、降低药物的毒副作用、提高药物的生物活性和增强药物的疗效等。因此,对人参皂苷元的结构改造逐渐引起国内外学者的关注。

在人参皂苷元的结构改造中,化学方法和生物转化法均可以获得活性更高的衍生物。在化学方法中,酯类衍生物主要是通过结构中的羟基与衍生化试剂通过酰化或酯交换反应引入酯基,从而改变其理化性质和生物活性。在酰化衍生物中,适当长度脂肪酰氧基的引入可以显著提高人参皂苷元的抗肿瘤活性。如:氯乙酰基或溴乙酰基的引入可以显著增强其抗肿瘤活性;氨基酸酯的引入可以改善苷元的抗肿瘤活性,且氨基酸亲水性越好,衍生物活性越强;脱 Boc 衍生物活性优于未脱 Boc 衍生物。在杂环衍生物中,吡啶、三唑等基团的引入可以极大地提高人参皂苷元对肿瘤细胞的细胞毒活性,在结构中引入稠合杂环也可以显著增强其活性。另外,人参皂苷元的母核结构发生改变,也可以得到活性更高的产物,如 PD 与 PT 的开环衍生物有可能表现出更强的活性。在生物转化法中,一些微生物可以选择性地催化结构中碳原子的脱氢、侧链氧化还原、羟基化和羰基化反应等,这些高度特异性的反应在化学合成中是比较困难的。因此,生物转化是制备结构多样化的天然产物,以寻找新的先导化合物的有效方法之一。综上所述,通过化学法和生物转化法对人参皂苷元进行结构改造,为研究人参皂苷元衍生物的构效关系,进一步研制出药理活性更强的药物提供参考。

目前的研究表明,PD、PT、PPD、PPT及其衍生物主要通过诱导细胞凋亡和自噬、抑制信号通路或激活抑癌基因等途径发挥抗肿瘤作用,然而,确切的机制仍有待研究。此外,现有的研究结果大多来自于体外实验,需要进一步采用体内模型进行验证。本文对4种达玛烷型皂苷元结构改造及衍生物的生物活性研究进行综述,以期为人参皂苷元衍生物的设计合成及药理活性研究提供参考。随着对人参皂苷元结构修饰和药理作用研究的不断深入,达玛烷型皂苷元及其衍生物将发挥着更加重要的作用。通过对人参皂苷元结构修饰及其衍生物药理作用的研究,可为研究传统人参属药材(特别是云南道地药材三七),拓展延伸其价值,寻找新的生物活性成分或先导化合物提供参考。

参考文献:

- [1] 马丽媛,杨秀伟. 人参茎叶总皂苷酸水解产物化学成分研究[J]. 中草药,2015,46(17):2522-2533.
- [2] 马丽媛,杨秀伟. 人参茎叶总皂苷碱水解产物中的新人参皂苷 20(R)-人参皂苷 Rh₁₉[J]. 中草药,2016,47(1):6-14.
- [3] 杨文华,顾秋亚,余晓斌. 原人参二醇型皂苷水解酶及制备人参皂苷 Compound K 的研究进展[J]. 生物工程学报,2023,39(3):978-992.
- [4] 李有海,韩文敬,陆仕坤,等. 人参茎叶总皂苷酶水解产物成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2016,28(5):655-660,672.
- [5] LEE J, LEE E, KIM D, et al. Studies on absorption, distribution and metabolism of ginseng in humans after oral administration[J]. J Ethnopharmacol, 2009,122(1):143-148.
- [6] 陈英杰,张绍林,姚新生,等. 甾键的碱裂解法研究[J]. 沈阳药学院学报,1988(2):149.
- [7] NAGAI Y, TANAKA O, SHIBATA S. Chemical studies on the oriental plant drugs—XXIV: structure of ginsenoside-Rg₁, a neutral saponin of ginseng roto[J]. Tetrahedron, 1971,27(5):881-892.
- [8] 陈业高,张燕. 人参达玛烷型皂甙的化学[J]. 云南师范大学学报(自然科学版),2001(3):39-42.
- [9] 陈业高,黄荣,桂世鸿,等. 三七叶甙制备抗癌活性成分 20(R)-人参皂甙-Rh₂ 和人参皂甙 Rg₃[J]. 化学研究与应
- 用,2004(1):69-70.
- [10] DING H, BAI L P, WONG V K W, et al. The in vitro structure-related anti-cancer activity of ginsenosides and their derivatives[J]. Molecules,2011,16(12):10619-10630.
- [11] JO H, JANG D, PARK S K, 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.
- [12] SUN L, WANG Q, LIU X, et al. Anti-cancer effects of 20 (S)-protopanaxadiol on human acute lymphoblastic leukemia cell lines Reh and RS4;11[J]. Med Oncol,2011,28(3):813-821.
- [13] YANG L, ZHANG X Y, LI K, et al. Protopanaxadiol inhibits epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma by targeting STAT3 pathway[J]. Cell Death Dis,2019,10(9):630.
- [14] WANG J Y, XING Y, LI M Y, et al. Panaxadiol inhibits IL-1 β secretion by suppressing zinc finger protein 91-regulated activation of non-canonical caspase-8 inflammasome and MAPKs in macrophages[J]. J Ethnopharmacol,2022,283:114715.
- [15] CHEN J, LU P, LIU J, et al. 20(S)-Protopanaxadiol saponins isolated from Panax notoginseng target the binding of HMGB1 to TLR4 against inflammation in experimental ulcerative colitis[J]. Phytother Res,2023,37(10):4690-4705.
- [16] BAE E A, HAN M J, BAEK N I, et al. In vitro anti-helicobacter pylori activity of panaxytriol isolated from ginseng[J]. Arch Pharm Res,2001,24(4):297-299.
- [17] ZHANG B B, HU X L, WANG Y Y, et al. Neuroprotective effects of dammarane-type saponins from Panax notoginseng on glutamate-induced cell damage in PC12 cells[J]. Planta Med,2019,85(9/10):692-700.
- [18] 周武喜,杨宁,赵余庆. 人参皂苷类化合物水溶性提升方法的研究进展[J]. 药物评价研究,2016,39(2):322-327.
- [19] TAO C, ZHANG J, WANG J, et al. Ginsenoside drug nanocomposites prepared by the aerosol solvent extraction system for enhancing drug solubility and stability[J]. Pharmaceutics,2018,10(3):95.
- [20] LI X L, WANG C Z, MEHENDALE S R, et al. Panaxadiol, a purified ginseng component, enhances the anti-can-

- cer effects of 5-fluorouracil in human colorectal cancer cells[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64(6): 1097–1104.
- [21] LIANG X, YAO Y, LIN Y, et al. Panaxadiol inhibits synaptic dysfunction in Alzheimer's disease and targets the Fyn protein in APP/PS1 mice and APP-SH-SY5Y cells[J]. *Life Sci*, 2019, 221: 35–46.
- [22] KWON B M, KIM M K, BAEK N I, et al. Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase inhibitory activity of ginseng saponins, produced from the ginseng saponins[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9(10): 1375–1378.
- [23] YU R, ZHANG Y, XU Z, et al. Potential antitumor effects of panaxatriol against DU-15 human prostate cancer cells is mediated via mitochondrial mediated apoptosis, inhibition of cell migration and sub-G1 cell cycle arrest [J]. *J BUON*, 2018, 23(1): 200–204.
- [24] 王斌, 时沛. 人参三醇对老年大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(16): 4013–4015.
- [25] TAKAMURA Y, KITAMURA K, IWAMOTO T, et al. PP001-SUN: outstanding abstract: ingestion of panaxatriol ameliorates insulin resistance in KK-A^Y mice by promoting insulin dependent glucose uptake in skeletal muscle[J]. *Clin Nutr*, 2014, 33: S19.
- [26] 吴立军. 天然药物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 271.
- [27] 周金娜, 张荣平, 邹澄, 等. 人参二醇酰化产物的合成及其对大鼠离体胸主动脉的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(4): 627–632.
- [28] XIAO S, CHEN S, SUN Y, et al. Synthesis and anti-tumor evaluation of panaxadiol halogen -derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(17): 4204–4211.
- [29] WANG Z, DING M, LIN Z, et al. Esterified derivatives of panaxadiol and their inhibitory effect on HL-60, THP-1, and PC-3 cell lines[J]. *Chem Biodivers*, 2019, 16(8): e1900188.
- [30] 蒲洪, 董成梅, 邹澄, 等. 三七二醇型皂苷氧化降解产物衍生物的合成及其抗肿瘤活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(5): 749–753.
- [31] HAN L, LI T, MIAO D, et al. Design, synthesis and cytotoxicity evaluation of novel indole derivatives of panaxadiol[J]. *Chem Biodivers*, 2022, 19(8): e202200372.
- [32] XIAO S, WANG X, XU L, et al. Novel panaxadiol triazole derivatives induce apoptosis in HepG-2 cells through the mitochondrial pathway[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 102: 104078.
- [33] DAI R, WEI X, LI T, et al. Synthesis and antitumor activity of panaxadiol pyrazole and isooxazole derivatives [J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20(8): e202300507.
- [34] WU Q, WANG R, SHI Y, et al. Synthesis and biological evaluation of panaxatriol derivatives against myocardial ischemia/reperfusion injury in the rat[J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 185: 111729.
- [35] 郭红艳. 松萝酸衍生物的抗弓形虫活性研究及人参三醇衍生物的抗肿瘤活性研究[D]. 延吉: 延边大学, 2021.
- [36] 赵一纯, 曹青青, 邹澄, 等. 人参二醇与人参三醇衍生物的氧化及细胞毒活性[J]. *昆明医科大学学报*, 2017, 38(10): 11–15.
- [37] WU Q, CHEN P, TU G, et al. Synthesis and evaluation of panaxatriol derivatives as Na⁺, K⁺-ATPase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(17): 2885–2889.
- [38] YAN B, CHEN Z, ZHAI X, et al. Microbial carbonylation and hydroxylation of 20(R)-panaxadiol by *aspergillus niger*[J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(7): 782–787.
- [39] SONG Y, YAN S S, LIN H J, et al. (R)-Panaxadiol by whole cells of filamentous fungus *Absidia coerulea* AS 3.3382[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(8): 719–726.
- [40] LI J L, DING P, JIANG B, et al. Biotransformation of 20(R)-panaxatriol by the fungus *aspergillus flavus* Link AS 3.3950[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(10): 1393–1398.
- [41] SHIBATA S, TANAKA O, ANDO T, et al. Chemical studies on oriental plant drugs. XIV. Protopanaxadiol, a genuine saponin of ginseng saponins[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1966, 14(6): 595–600.
- [42] NAGAI M, TANAKA O, SHIBATA S. The stereochemistry of protopanaxadiol the absolute configuration of C(20) of dammareniol-I and -II[J]. *Tetrahedron Lett*, 1966, 7(40): 4797–4801.
- [43] HASEGAWA H, SUNG J H, MATSUMIYA S, et al. Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria [J]. *Planta Med*, 1996, 62(5): 453–457.
- [44] HUANG Y W, ZHANG M, WANG L T, et al. 20(S)-Protopanaxadiol decreases atherosclerosis in ApoE KO mice by increasing the levels of LDLR and inhibiting its

- binding with PCSK9[J]. Food Funct, 2022, 13(13):7020–7028.
- [45] LI C, ZHAN Y, ZHANG R, et al. 20(S)-Protopanaxadiol suppresses hepatic stellate cell activation via WIF1 demethylation-mediated inactivation of the Wnt/ β -catenin pathway[J]. J Ginseng Res, 2023, 47(4):515–523.
- [46] SONG C, SHEN T, KIM H G, et al. 20(S)-Protopanaxadiol from *Panax ginseng* induces apoptosis and autophagy in gastric cancer cells by inhibiting Src [J]. Am J Chin Med, 2023, 51(1):205–221.
- [47] LEE S G, CHO K H, NGUYEN T T L, et al. Inhibitory effect of 20(S)-protopanaxadiol on cytochrome P450: potential of its pharmacokinetic interactions in vivo[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153:113514.
- [48] LEE H, NGUYEN HOANG A T, LEE S J. Ginsenoside protopanaxadiol protects adult retinal pigment epithelial-19 cells from chloroquine by modulating autophagy and apoptosis[J]. PloS One, 2022, 17(12):e0274763.
- [49] LEE C S, NAM G B, PARK J S. Protopanaxatriol inhibits melanin synthesis through inactivation of the pCREB – MITF – tyrosinase signalling pathway in melanocytes [J]. Clin Exp Dermatol, 2019, 44(3):295–299.
- [50] WANG Z, SU G, ZHANG Z, et al. 25-Hydroxyl-protopanaxatriol protects against H₂O₂-induced H9c2 cardiomyocytes injury via PI3K/Akt pathway and apoptotic protein down-regulation[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99:33–42.
- [51] 卢聪. 四种达玛烷型三萜皂苷益智作用特点及机制研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2017.
- [52] JIANG J, SUN X, AKTHER M, et al. Ginsenoside metabolite 20(S)-protopanaxatriol from *Panax ginseng* attenuates inflammation-mediated NLRP3 inflammasome activation[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 251:112564.
- [53] DENG J, LIU Y, DUAN Z, et al. Protopanaxadiol and protopanaxatriol-type saponins ameliorate glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus in high-fat diet/streptozocin-induced mice[J]. Front Pharmacol, 2017, 8:506.
- [54] 周金娜. 三七皂苷与类似物结构改造及舒张心脑血管活性研究[D]. 昆明:昆明医科大学, 2020.
- [55] 程磊. 碱降解人参茎叶三醇组皂苷工艺的研究及产物的结构修饰[D]. 长春:吉林大学, 2013.
- [56] 张莹. 人参皂苷元氨基酸酯衍生物的合成、抗肿瘤活性及药代动力学研究[D]. 长春:吉林大学, 2022.
- [57] PAN C, SHAN H, WU T, et al. 20(S)-Protopanaxadiol inhibits titanium particle-induced inflammatory osteolysis and RANKL-mediated osteoclastogenesis via MAPK and NF- κ B signaling pathways[J]. Front Pharmacol, 2019, 9:1538.
- [58] WANG S J, ZHANG J, ZHANG J Z, et al. Synthesis and biological evaluation of heterocyclic ring-fused 20(S)-protopanaxadiol derivatives as potent antiosteoporosis agents[J]. J Med Chem, 2023, 66(17):11965–11984.
- [59] 张馨妍, 吴迪, 韩诗淇, 等. (25S)-26-OH-人参二醇的合成及抗宫颈癌活性研究[J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(5):335–337.
- [60] 李晨晨. 2'-脱氧 Rh2 的设计、合成、抗肿瘤活性及其作用机制研究[D]. 长春:吉林大学, 2023.
- [61] CHEN G, YANG M, NONG S, et al. Microbial transformation of 20(S)-protopanaxadiol by *Absidia corymbifera*. Cytotoxic activity of the metabolites against human prostate cancer cells[J]. Fitoterapia, 2013, 84:6–10.
- [62] YANG X, GE H, SONG Y, et al. Microbial transformation of 20(S)-protopanaxatriol by *Mucor spinosus*[J]. Biotechnol Lett, 2015, 37(2):397–402.

(收稿日期:2024-02-24)