

人参皂苷 Rd 的研究进展

周超群, 周 珮*

(复旦大学药学院, 上海 200032)

摘要: 人参皂苷 Rd 是二醇型人参皂苷在人体肠道内的主要代谢产物之一, 具有广泛的生物活性。对心脑血管、神经系统、免疫系统等作用独特; 在镇痛、神经保护作用方面, 人参皂苷 Rd 相对于其他单体皂苷也较强。人参皂苷 Rd 的结构复杂, 化学合成至今尚未成功, 需从植物药中提取以满足医疗和科研的需要, 但因植物中人参皂苷 Rd 的量较低, 从植物中提取的方法难以满足需要。因此, 国内外在有效获取人参皂苷 Rd 方面也进行了大量研究。对人参皂苷 Rd 的生物活性、制备方法等研究进行了详细综述。

关键词: 人参皂苷 Rd; 生物活性; 制备; 代谢

中图分类号: R284.121

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)05-0832-05

Advances in studies on ginsenoside Rd

ZHOU Chao-qun, ZHOU Pei

(School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Key words: ginsenoside Rd; bioactivity; preparation; metabolism

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 是我国传统的名贵中药材, 化学成分复杂, 生物活性广泛, 药理作用独特。随着现代分离和分析技术的进步, 人参化学成分得到了进一步的阐明, 人参皂苷是人参主要的生物活性物质, 到目前为止, 已分离鉴定 40 余种人参皂苷单体, 其中 5 种主要皂苷 (人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc、Re 和 Rg₁) 占总皂苷的 80% 以上^[1]。由于对单体进行生物活性研究, 易于阐明其确切的药理作用, 发现活性较强的化合物, 因此越来越多的学者对人参皂苷单体化合物研究表现了极大的热情和兴趣。人参皂苷单体化合物中 Rg₁、Rb₁、Re、Rb₂ 等量较高, 往往作为主要人参皂苷进行研究, 而 Rd、Rg₃、Rh₂ 和 Compound K 等稀有皂苷, 药理活性则优于主要人参皂苷, 现在也逐渐成为研究的热点。本实验室在国家自然科学基金和上海市科委重点项目的资助下, 已经完成了生物转化合成人参皂苷 Rg₃ 和人参皂苷 Compound K 的酶学研究^[2], 以及人参皂苷 Compound K 微生物转化制备的产业化研究^[3,4]。

人参皂苷 Rd 在植物中的量较低, 而肠道酶可以把主要皂苷 Rb₁ 代谢为 Rd, 但在胃酸作用下 Rb₁ 不能分解成 Rd^[5]。Rd 是主要皂苷代谢后在肠道中吸收利用的主要形式之一, 对神经系统、心脑血管以及肾功能具有良好的药理作用。近年来人参皂苷 Rd 的制备及药理活性研究较多, 本文就国内外对该化合物的研究情况进行综述, 为人参皂苷 Rd 的深入研究提供参考。

1 生物活性

人参皂苷 Rd 药理作用广泛, 有些药理作用与其他人参

皂苷类似, 随着研究的深入, 发现 Rd 具有许多独特的药理作用, 这些作用为 Rd 进一步开发成为药物制剂提供了重要依据。

1.1 保护心脑血管的作用

1.1.1 对血管及血液循环的作用: 微循环、血浆复钙试验证明人参皂苷 Rd 是三七等中药具有活血化瘀作用的有效成分之一。人参皂苷 Rd 能使正常小鼠耳廓细动脉和细静脉的血管口径增大, 耳廓毛细血管开放数量增加; 减轻去甲肾上腺素 (NA) 所致小鼠耳廓毛细血管痉挛收缩的程度, 相对增加毛细血管的开放数量和小鼠耳廓毛细血管血流的速度; Rd 还可延长血浆复钙时间^[6]。人参皂苷 Rd 和 12-*epi*-Rd (Rd C₁₂ 手性异构体) 均可浓度依赖性抑制苯肾上腺素收缩血管环, 收缩大鼠主动脉环^[7]。人参皂苷 Rd 与 12-*epi*-Rd (40、80 μmol/L) 均可浓度依赖性抑制苯肾上腺素收缩血管环的最大效应 [EC₅₀ 分别为 (0.35 ± 0.11)、(0.66 ± 0.11) μmol/L 和 (0.36 ± 0.07)、(0.69 ± 0.10) μmol/L], 其拮抗指数分别为: 4.08 ± 0.15 和 4.07 ± 0.16, 而 Rd 与 12-*epi*-Rd 在两个浓度 EC₅₀ 和对收缩血管环作用差异均无显著性。

自由基及细胞内 Ca²⁺ 超载是缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 和缺氧/再复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 损伤中最为重要的机制。人参皂苷 Rd 可以抑制 H/R 后蛋白酪氨酸磷酸化^[8,9]。蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine kinase, PTK) 的激活可能在 I/R 及 H/R 损伤中扮演着重要的角色。H/R 后人脐静脉内皮细胞的酪氨酸磷酸化蛋白 (tyrosine-phosphorylated proteins, TPP) 水平显著提高,

* 收稿日期: 2008-12-12

作者简介: 周超群 (1982—), 男, 硕士研究生, 主要从事天然产物及生物合成药物研究。E-mail: chaoqun0556@hotmail.com

* 通讯作者 周 珮 Tel: (021) 54237431 Fax: (021) 64225149 E-mail: pz19444@yahoo.com.cn

导致细胞缝隙连接介导的细胞间通讯(gap junctional inter-cellular communication, GJIC)严重受损,人参皂苷 Rd 可有效抑制 H/R 后人脐静脉内皮细胞的 TPP 水平的提高,从而抑制 H/R 导致的 GJIC 损伤;0.5~64 $\mu\text{mol/L}$ Rd 及 12-*epi*-Rd 能浓度依赖性的保护 H/R 的牛主动脉内皮细胞(bovine aortic endothelial cells, BAEC),抑制 H/R 后 BAEC 中 TPP 水平的增强,提示 Rd 及 12-*epi*-Rd 对 BAEC H/R 后 TPP 水平增强的抑制作用可能是其保护 H/R 内皮细胞的重要机制之一^[10]。

1.1.2 对 Ca^{2+} 通道的作用:受体操纵(ROCC)和钙贮库调控(SOCC)钙离子通道广泛分布于兴奋性细胞和非兴奋性细胞中,它们的生理和病理意义不容忽视,在细胞增殖、细胞凋亡、缺氧再灌注引起的脑神经元损伤、脑外伤以及炎症反应等重要过程中起着重要作用。开发和研制具有高度选择性的 ROCC 和 SOCC 调节药物,不仅可以促进实验研究的深入,而且可能成为新型的临床治疗药物。

从 1982 年起,我国临床上就用人参来治疗心血管疾病和中风,但当时对其作用机制并不清楚。最近研究表明^[11]人参皂苷 Rd 可以降低苯肾上腺素和毒胡萝卜素诱导的血管收缩反应和 Ca^{2+} 内流,减弱与 ROCC 和 SOCC 分别相关的毒胡萝卜素和激动剂 1-oleoyl-2-acetyl-sn-glycerol (OAG)诱导的阳离子内流。人参皂苷 Rd 是一种血管平滑肌 ROCC 和 SOCC 钙离子通道抑制剂,可以通过 ROCC 和 SOCC 途径显著地抑制受体操纵性 Ca^{2+} 内流,而对血管平滑肌细胞电压依赖的钙离子通道(VDCC)和 Ca^{2+} 释放没有作用^[12,13]。上述这些作用是人参皂苷 Rd 独有的,其他单体皂苷所不具备的。动物实验表明,Rd 能明显抑制高血压脑血管重构,降低易卒中型自发性高血压大鼠(SHR-SP)中风率及死亡率,保护脑细胞^[14]。人参皂苷 Rd 已完成 I 期临床试验,并进入了 II 期临床试验,可能成为治疗脑中风的新型临床治疗药物。

1.2 清除自由基作用

1.2.1 对肾功能保护作用:Yokozawa 等^[15]从中药方剂中寻找治疗肾病的新制剂时,发现人参提取物可以改善肾功能,为了阐明人参提取物的作用机制,进一步研究发现人参皂苷 Rd 能强烈地抑制肾小球系膜细胞增殖。在缺血再灌注体内外实验中,人参皂苷 Rd 可以保护相关酶系,对氧化应激有抑制作用,具有抗氧化活性。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)作用和过氧化氢酶一样,可以清除由 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生的 H_2O_2 ,使 H_2O_2 还原到 H_2O ,或者还原 LOOH 到相应的酶,人参皂苷 Rd 可以使 GSH-Px 活性显著升高。服用人参皂苷 Rd,血和尿中丙二醛(MDA)的水平也得到改善,表明人参皂苷 Rd 可以修复损坏的自由基清除系统。随着人参皂苷 Rd 用量增加,乳酸脱氢酶(LDH)漏出减缓,抑制细胞内 MDA 漏出。人参皂苷 Rd 通过抑制自由基介导的脂质过氧化反应,避免细胞膜免受氧自由基的影响,具有保护肾近端小管的功能^[16]。

近年来,由药物治疗和检查副作用引起的肾功能损害呈增高趋势,人参皂苷 Rd 对不同类型肾脏细胞有多重活性,

不仅可抑制近曲小管上皮细胞增殖,对肾小球系膜细胞增殖也有抑制作用。人参皂苷 Rd 配合抗生素和抗肿瘤药物使用,可以降低药物引起的对肾脏的不良反应^[17,18]。

1.2.2 抗衰老作用:有关衰老过程的理论中,自由基学说受到广泛关注,提出自由基的毒害作用与衰老相关的功能退化密切相关;该学说认为增强抗氧化防御系统,减少自由基诱导的损伤可以延缓衰老。连续 30 d 每天给 10 月龄快速老化模型小鼠(SAM)1.5 mg/kg 人参皂苷 Rd,还原型谷胱甘肽(GSH)水平显著升高,但是氧化型谷胱甘肽(GSSG)水平降低,使得 GSH/GSSG 比率升高;并且人参皂苷 Rd 可以增强 GSH-Px 和谷胱甘肽还原酶的活性,而这两种酶在老龄 SAM 中的水平都明显低于年轻 SAM。这表明人参皂苷 Rd 通过调节氧化还原平衡态增强抗氧化防御系统能力起到了关键作用。GSH-Px 存在于细胞质和线粒体基质,因而人参皂苷 Rd 可能在细胞质和线粒体基质中发挥作用。此外,脂质过氧化反应的指征血清及肝 MDA 水平,随着衰老而升高,而人参皂苷 Rd 可以抑制脂质过氧化作用,减少氧化损伤,这可能是 Rd 干预 GSH/GSSG 平衡的主要原因^[19]。

1.3 对神经系统的作用:中枢神经系统退行性疾病或创伤都会引起神经元和神经胶质细胞消失。具有分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞潜能的神经干细胞成为最有前景的治疗制剂。神经元生长因子能够调节神经干细胞增殖和分化,能够模仿蛋白生长因子的小分子化合物,可以用于基础研究,有望应用于临床治疗。利用神经干细胞球作为筛选模型,研究了人参皂苷单体的作用,结果只有人参皂苷 Rd 可以将神经干细胞球分化为星形胶质细胞,其他皂苷即使结构类似也没有该作用。突变型 DII 1 神经干细胞球产生的星形胶质细胞比野生型产生的星形胶质细胞要少,人参皂苷 Rd 对突变型模型神经干细胞球分化为星形胶质细胞有显著的促进作用,给予人参皂苷 Rd 后,与对照组(100%)相比,星形胶质细胞比例从 1×10^{-7} mol/L 的 195% 增加到 1×10^{-5} mol/L 的 320%;人参皂苷 Rd 处理组星形胶质细胞呈更加分化的状态,呈星形,且较大^[20]。人参皂苷 Rd 能改善运动系统功能,减小纹状体损伤面积,具有神经保护作用,可以开发成神经保护制剂^[21]。

1.4 镇痛作用:人参在民间常用来缓解牙疼、腹痛、胸痛以及神经痛。研究表明^[22],人参皂苷对扭体试验和福尔马林试验的第 2 阶段疼痛有镇痛作用,而在大鼠甩尾反应试验中没有效果。为了弄清镇痛作用的有效成分,对几种代表性皂苷做了进一步研究,扭体和福尔马林试验表明人参皂苷 Rd、Re 和 Rc 3 种皂苷具有抗伤害性感受能力,并且呈现剂量依赖性关系;Rd 在扭体试验和第 2 阶段福尔马林试验中 ED_{50} 分别为 17 mg/kg 和 45 mg/kg,不会影响到运动功能;Rd 诱导的 30~60 min 低体温模型,治疗剂量为 100 mg/kg,抗伤害性感受不被阿片受体阻断剂纳洛酮阻滞,说明 Rd 主要抑制化学成因疼痛,而对非阿片受体引起的热痛无效^[23]。脊柱注射人参皂苷 Rd,对冷水游泳诱导的抗伤害感受有显著抑制作用,而从脊椎注射则没有此作用,说明 Rd 可以通

过调节和 μ 阿片系统起镇痛作用^[24]。

1.5 增强学习记忆功能: 研究人参皂 Rb_1 和 Rd 对小鼠学习记忆功能的作用,二者分别 ig 和 ip 给药,各设高和低两个剂量组,后者所用剂量为前者剂量的 $1/5$ 。在所用剂量下,人参皂 Rd 的作用强度和 Rb_1 相近,而人参皂 Rb_1 ig 给药时的生物利用度非常低,其吸收率尚不到 0.1% ^[25]。人参皂 Rb_1 对小鼠学习记忆功能的改善作用,可能是其代谢物 Rd 产生的。人参皂 Rd 在肠道中可吸收入血^[26],即口服适当剂量人参皂 Rd 可产生与注射 Rd 同样的改善学习记忆功能的作用。从人参皂 Rd 对东莨菪碱和环己米特造成的小鼠记忆障碍的改善作用来看,其作用机制可能与其增强中枢胆碱能系统活性或促进脑组织蛋白质合成有关。人参皂 Rd 作为促智药有较好的开发前景^[27]。

1.6 调节免疫作用: 人参很早就作为一种滋补和免疫调节剂。以卵清蛋白(OVA)作免疫原,考察人参皂 Rd 诱导 $Th1$ 和 $Th2$ 免疫反应。ICR系小鼠第1天和第15天分别 sc OVA($100\mu g$)、含明矾($200\mu g$)的OVA $100\mu g$ (溶解于生理盐水)以及含 Rd (10 、 25 、 $50\mu g$)的OVA $100\mu g$ (溶解于生理盐水),两周后(第28天),人参皂 Rd 显著提高OVA-免疫小鼠刀豆蛋白A(Con A)、脂多糖(LPS)和OVA刺激的脾细胞增殖,与OVA对照组相比,人参皂 Rd 可以显著提高血清中OVA-特异性IgG、IgG₁和IgG_{2b}抗体滴度,还可以显著提高OVA-免疫小鼠 $Th1$ 和 $Th2$ 细胞因子的量。人参皂 Rd 可以显著提高Con A诱导的小鼠脾细胞白细胞介素-2(IL-2)、干扰素、IL-4和IL-10 mRNA表达,表明人参皂 Rd 有免疫佐剂活性,可以通过调节 $Th1$ 和 $Th2$ 细胞因子的量和基因表达诱发 $Th1$ 和 $Th2$ 免疫反应^[28]。IL-6是一种由免疫细胞(巨噬细胞、T细胞和B细胞)、成纤维细胞、内皮细胞、神经元和神经胶质等多种细胞生成的多功能细胞因子,伴随感染、创伤和压力产生。人参皂 Rd 可以抑制应激小鼠外周IL-6的水平,在一定程度上抑制巨噬细胞中去甲肾上腺素和/或去甲肾上腺素诱导的IL-6水平上升,而对脑中的IL-6水平没有影响。因此,人参皂 Rd 可能成为研究或治疗应激引起紊乱的候选药物^[29]。

1.7 抗肿瘤作用: 人参皂 R_1 、 R_{g_1} 、 R_{h_1} 、 Re 、 Rd 以及三七皂 K 和 R_4 7种皂苷中,人参皂 Rd 抑制人宫颈癌(HeLa)和人结肠癌细胞(COLO 205)的活性最强, Rd 可以通过下调Bcl-2表达,上调Bax表达,降低线粒体跨膜电位,激活caspase-3途径显著抑制HeLa细胞增殖,诱导细胞凋亡^[30]。人参皂 Rd 浓度和时间依赖性抑制HeLa细胞生长, IC_{50} 为(150.5 ± 0.8) $\mu g/mL$ 。人参皂 Rd 处理过的HeLa细胞的细胞周期特征为 G_0/G_1 减短,S期延长,并呈剂量依赖关系; $210\mu g/mL$ Rd 处理HeLa细胞48h,细胞凋亡率为 35.8% 。26S蛋白酶是抗肿瘤药物治疗癌症的重要靶点,人参皂 Rd 是26S蛋白酶特异性抑制剂,抑制率达到 52.9% ,且毒性低^[31]。人参皂 Rd 对人H838肺癌细胞株和PC3前列腺癌细胞株生长的抑制率为 $20\% \sim 90\%$ ^[32]。

1.8 抗炎作用: 环氧合酶(COX)是花生四烯酸转化成前列

腺素和血栓素的限速酶,在生理自体调节(如黏膜分泌、平滑肌收缩)和病理调节(如变应性疾病和类风湿性关节炎)方面发挥着重要的作用。人参皂 Rd ($100\mu g/mL$)可以诱导COX-2表达并增加前列腺素 E_2 (PGE_2)水平。增加COX-2表达是人参皂 Rd 所特有的一种新活性,而人参皂 R_{g_1} 、 R_{g_3} 、 R_{b_1} 和 Re 都没有这样作用。在RAW264.7细胞中,人参皂 Rd 同时增加DNA与CCAAT区/增强子结合蛋白(C/EBP)/和cAMP反应元件结合蛋白(CREB)的结合能力及其核酸水平,而没有增加与p65的结合能力和核酸水平。人参皂 Rd 可增强转录574-bp鼠COX-2启动子细胞荧光素酶报告基因活性,定点突变分析证实是由C/EBP和CREB调节,说明在RAW264.7细胞中, Rd 可以激活C/EBP和CREB,且C/EBP和CREB的激活对COX-2表达至关重要^[33]。

1.9 抗辐射作用: 分别研究人参水提取物、人参二醇、人参三醇、人参皂 R_{b_1} 、 R_{b_2} 、 R_c 、 R_d 、 Re 和 R_{g_1} 对 γ -射线辐射后小鼠空肠隐窝存活、内源性脾结节形成和空肠隐窝细胞凋亡的作用。人参皂 R_d 、 R_c 和 Re 对高剂量和低剂量辐射的小鼠有辐射防护作用,辐照之前预先给予人参皂 R_d 可以减轻辐照引起的细胞凋亡程度,增加内源性脾脏菌落的形成^[34]。

Tamura等^[35]进一步研究了人参皂 Rd 防辐射机制,结果表明 Rd 对肠上皮细胞(IEC-6)辐射有防护作用。 γ -射线辐照前后分别给予人参皂 Rd ,均可以抑制辐照引起的IEC-6细胞凋亡。人参皂 Rd 可以拮抗IEC-6细胞辐照后导致的Akt磷酸化失活。人参皂 Rd 可以降低 γ -射线辐照的IEC-6细胞Bax/Bcl-2和Bax/Bcl-xL两者的比率、细胞色素c水平和裂解型caspase-3的量。结果说明人参皂 Rd 可以通过激活PI3K/Akt,使细胞外信号调节激酶(MEK)失活,以及使线粒体/caspase抑制的途径,挽救肠上皮细胞辐照引起的凋亡。

2 制备方法

20世纪80年代初期,人参茎叶总皂苷的工业化生产就已完成。但时至今日,单体人参皂苷中,只有人参皂 Re 、 R_{g_3} 、 R_{h_2} 3种单体人参皂苷得以实现产业化生产,其他单体皂苷由于分离技术尤其是分离工艺的制约,仅限于实验室少量产品的制备,没有能够实现产业化生产^[36]。人参皂 Rd 的结构复杂,化学合成至今尚未成功,需从人参根、茎、叶中提取以满足医疗的需要,但因植物中人参皂 Rd 的量较低,从植物中提取的方法难以满足需要。

人参皂 R_{b_1} 、 R_{b_2} 、 R_c 与人参皂 Rd 的差别在于20位糖链末端的糖苷键,人参皂 Rd 可以通过水解这些糖基得到。有研究试图利用加热法、酸水解法、碱水解法将主要皂苷转化为活性更高的稀有皂苷。虽然这些化学方法可以使皂苷水解,但是它们的水解条件都十分剧烈,不易控制,而且由于在水解过程中会使皂苷元发生脱水、环合、差向异构、羟化等反应,产生较多副产物,目标产物很难得到。生物转化的区域和立体选择性强、反应条件温和,这就使得酶转化法和微生物转化法制备稀有人参皂苷受到青睐。

2.1 酶转化:酶转化法可以将特定位置糖基水解,得到所需的化合物,专一性强。目前,人参皂苷 Rd 多数都是试图利用纯化的酶转化人参皂苷 Rb₁ 得到;从人参新鲜根里纯化得到人参皂苷-阿拉伯糖苷酶可以水解人参皂苷 Rc 得到 Rd^[37],这也是唯一一个从人参当中分离出的酶。微生物是转化酶的主要来源,绞股蓝皂苷-鼠李糖苷酶^[38]可将绞股蓝皂苷-5 转化成人参皂苷 Rd; *Burkholderia pyrrocinia* GP16, *Bacillus megaterium* GP27 和 *Sphingomonas echinoides* GP50 菌可产生将人参皂苷 Rb₁ 转化成 Rd 的酶^[39]; *Thermus caldophilus* 可产生将主要皂苷 Rb₁ 转化到 Rd 的-葡萄糖苷酶^[40];食品级微生物产生的粗酶可将人参皂苷 Rb₁ 和 Rc 转化得到 Rd^[41]。到目前为止,从人肠道好气菌中只纯化得到一种将人参皂苷 Rb₁ 转化成 Rd 的酶^[42]。

利用微生物来源的酶转化主要皂苷生产人参皂苷 Rd,普遍存在的问题有:转化过程中转化产物不专一;作为转化底物的主要皂苷浓度不能过高;底物对酶的抑制作用等。Kim 等^[39]从 70 多株好气菌中筛选到 12 株产生的酶均可将人参皂苷 Rb₁ 转化成人参皂苷 Rd,底物质量浓度为 0.47 mg/mL;而能将人参皂苷 Rb₁ 较完全转化的 3 株菌株,均有 Compound K 等副产物产生。Son 等^[40]利用 *Thermus caldophilus* 产生的-葡萄糖苷酶将人参皂苷 Rb₁ 转化成 Rd,底物质量浓度为 1 mg/mL,温度为 75℃,由于人参皂苷的抑制作用,该反应底物用人参总提取物替代时,反应时间比用纯 Rb₁ 延长 30 倍;当人参总提取物质量浓度达到 4.2 mg/mL 时,人参皂苷 Rd 的产率从 80%降低到 12%。

2.2 微生物转化:微生物转化是利用微生物细胞作用来进行某种化学反应,人参皂苷 Rd 可以由人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 等通过水解 20 位糖苷键获得。人参皂苷 Rd 是微生物转化制备人参皂苷 Rg₃、Rh₂、compound K 时可能经过的中间体^[3,4,43]。目前,还没有利用微生物全细胞专一性转化获得人参皂苷 Rd 的报道。

微生物资源丰富、繁殖快、酶种类多,并且可以通过变异提高酶的活力。微生物转化反应条件温和,对环境污染小。本实验室从人参土样筛选菌株,通过诱变改造,筛选到一株制备人参皂苷 Rd 的高产菌株,可专一性将人参皂苷 Rb₁、Rc 转化为 Rd,并且对转化底物纯度要求不高,对底物有较高耐受性,具有良好的工业化应用前景。

3 展望

人参皂苷 Rd 是主要人参皂苷 Rb₁ 在肠道中的主要利用形式之一,人参皂苷 Rb₁ 只有通过肠道酶代谢为人参皂苷 Rd 后才能进一步被利用。而人参皂苷 Rd 天然产量并不丰富,因此开发出一种能工业化生产人参皂苷 Rd 方法非常必要。

Rd 具有特异性阻断受体依赖性钙离子通道的功能,在肾功能保护、调节免疫、抑制 HeLa 细胞生长、诱导 COX-2 产生、防辐射方面有其他单体皂苷没有的独特作用;在镇痛、神经保护作用方面,Rd 相对于其他单体皂苷也较强。因此人参皂苷 Rd 可开发成防辐射,治疗心血管疾病、炎症、创伤

以及由损伤引起的体内外出血等方面的药物。不同的给药方式因其代谢途径差异^[44,45],药效也会不同,不同剂型研究将有助于 Rd 更好的发挥药效。

我国是天然药物生产和应用大国,随着现代生物技术的发展,微生物转化技术有了突飞猛进的发展,微生物转化技术在开发新药、提高药物疗效、降低药物不良反应方面有着独特的优势。人参皂苷 Rd 天然产量低,化学合成困难,生物技术显示出其无可比拟的优势,以筛选到的内生菌为出发菌株,采用诱变育种、基因工程技术等进行改造,并从中筛选制备人参皂苷 Rd 的高产菌株,一定能够实现人参皂苷 Rd 的工业化生产,满足临床需要,同时可解决人参、三七等常用中药材的资源紧缺问题。

参考文献:

- [1] Kim M W, Ko S R, Choi K J, et al. Distribution of saponin in various sections of *Panax ginseng* root and changes of its contents according to root age [J]. *Korean J Ginseng Sci*, 1987, 11(1): 10-16.
- [2] Yan Q, Zhou W, Li X W, et al. Purification method improvement and characterization of a novel ginsenoside-hydrolyzing -glucosidase from *Paecilomyces bainier* sp. 229 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(2): 352-359.
- [3] Zhou W, Feng M Q, Li J Y, et al. Studies on the preparation, crystal structure and bioactivity of ginsenoside compound K [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(6): 519-527.
- [4] Zhou W, Yan Q, Li J Y, et al. Biotransformation of *Panax notoginseng* saponins into ginsenoside compound K production by *Paecilomyces bainier* sp. 229 [J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 104(3): 699-706.
- [5] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. Decomposition of ginsenoside-Rg₁ and-Rb₁ in the digestive tract of rats [J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(10): 3691-3697.
- [6] 陈重华, 栗晓黎, 张俊霞, 等. 三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rd 对微循环及凝血作用的影响 [J]. *华西医科大学学报*, 2002, 33(4): 550-552.
- [7] 曾 颢, 关永源, 刘德育, 等. 人参皂苷 Rd C₁₂差向异构体的合成及其对大鼠主动脉环收缩反应的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(3): 282-286.
- [8] Zhang Y W, Morita I, Shao G, et al. Screening of anti-hypoxia/reoxygenation agents by an *in vitro* model. Part 1. Natural inhibitors for protein tyrosine kinase activated by hypoxia/reoxygenation in cultured human umbilical vein endothelial cells [J]. *Planta Med*, 2000, 66(2): 114-118.
- [9] Zhang Y W, Morita I, Zhang L, et al. Screening of anti-hypoxia/reoxygenation agents by an *in vitro* method. Part 2. Inhibition of tyrosine kinase activation prevented hypoxia/reoxygenation-induced injury in endothelial gap junctional intercellular communication [J]. *Planta Med*, 2000, 66(2): 119-123.
- [10] 曾 颢, 关永源, 刘德育, 等. 人参皂苷 Rd 及其 C₁₂手性异构体对缺氧/再复氧后蛋白酪氨酸磷酸化的抑制作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2004, 18(4): 274-278.
- [11] Guan Y Y, Zhou J G, Zhang Z, et al. Ginsenoside-Rd from *Panax notoginseng* blocks Ca²⁺ influx through receptor- and store-operated Ca²⁺ channels in vascular smooth muscle cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 548: 129-136.
- [12] Wei W L, Guan Y Y, He H. The characteristic of Cl⁻ current induced by ATP in bovine aortic endothelial cells [J]. *Drug Dev Res*, 2003, 58(1): 53-56.
- [13] Zhou J G, Qiu Q Y, Zhang Z, et al. Evidence for capacitative and non-capacitative Ca²⁺ entry pathways coexist in A10 vascular smooth muscle cells [J]. *Life Sci*, 2006, 78(14): 1558-1563.
- [14] 关永源, 范富林. 化合物() 其提取方法及包含所述化合物的药物组合 [P]. 中国专利: CN1411466, 2003-04-16.
- [15] Yokozawa T, Iwano M, Dohi K, et al. Inhibitory effects of ginseng on proliferation of cultured mouse mesangial cells [J]. *Nippon Jinzo Gakkai Shi*, 1994, 36(1): 13-18.
- [16] Yokozawa T, Liu Z W, Dong E. A study of ginsenoside-Rd in a renal ischemia-reperfusion model [J]. *Nephron*, 1998, 78: 201-206.

- [17] Yokozawa T, Owada S. Effects of ginsenoside-Rd in cephaloridine-induced renal disorder [J]. *Nephron*, 1999, 81: 200-207.
- [18] Yokozawa T, Liu Z W. The role of ginsenoside-Rd in cisplatin-induced acute renal failure [J]. *Ren Fail*, 2000, 22: 115-127.
- [19] Yokozawa T, Satoh A, Cho E J. Ginsenoside-Rd attenuates oxidative damage related to aging in senescence-accelerated mice [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004, 56: 107-113.
- [20] Shi Q, Hao Q, Bouissac J, et al. Ginsenoside-Rd from *Panax notoginseng* enhances astrocyte differentiation from neural stem cells [J]. *Life Sci*, 2005, 76: 983-995.
- [21] Lian X Y, Zhang Z Z, Stringer J L. Protective effects of ginseng components in a rodent model of neurodegeneration [J]. *Ann Neurol*, 2005, 57: 642-648.
- [22] Shin Y H, Kim S C, Han J W, et al. Study on ginseng protopanaxadiol and protopanaxatriol saponins-induced antinociception [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 1997, 1(2): 143-149.
- [23] Shin Y H, Jung O M, Nah J J, et al. Ginsenosides that produce differential antinociception in mice [J]. *Gen Pharmacol*, 1999, 32: 653-659.
- [24] Choi S S, Lee J K, Suh H W. Effect of ginsenosides administered intrathecally on the antinociception induced by cold water swimming stress in the mouse [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26: 858-861.
- [25] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution, excretion and metabolism of Ginsenosides. The absorption, distribution, excretion of ginsenoside Rb₁ in the rats [J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(3): 1059-1066.
- [26] 陈昕, 周秋丽, 王本祥. 人参皂苷 Rb₁ 在大鼠肠内菌代谢物吸收收入血成分的研究 [J]. *药学学报*, 1999, 34(7): 481-483.
- [27] 陈声武, 王丽娟, 王岩, 等. 人参皂苷 Rb₁ 和 Rd 对不同类型记忆障碍模型小鼠学习记忆功能的影响 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2001, 15(5): 330-332.
- [28] Yang Z G, Chen A Q, Sun H X, et al. Ginsenoside Rd elicits Th1 and Th2 immune responses to ovalbumin in mice [J]. *Vaccine*, 2007, 25: 161-169.
- [29] Kim D H, Moon Y S, Lee T H, et al. The inhibitory effect of ginseng saponins on the stress-induced plasma interleukin-6 level in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2003, 353: 13-16.
- [30] Yang Z G, Sun H X, Ye Y P. Ginsenoside Rd from *Panax notoginseng* is cytotoxic towards HeLa cancer cells and induces apoptosis [J]. *Chem Biodivers*, 2006, 3: 187-197.
- [31] Chang T L, Ding H Y, Kao Y W. Role of ginsenoside Rd in inhibiting 26S proteasome activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(24): 12011-12015.
- [32] Wang W, Zhao Y Q, Rayburn E R, et al. In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng* [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007, 59: 589-601.
- [33] Jeong H G, Pokharel Y R, Han E H, et al. Induction of cyclooxygenase-2 by ginsenoside Rd via activation of CCAAT-enhancer binding proteins and cyclic AMP response binding protein [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 359: 51-56.
- [34] Lee H J, Kim S R, Kim J C, et al. In vivo radioprotective effect of *Panax ginseng* C. A. Meyer and identification of active ginsenosides [J]. *Phytother Res*, 2006, 20: 392-395.
- [35] Tamura T J, Cui X, Sakaguchi N, et al. Ginsenoside Rd prevents and rescues rat intestinal epithelial cells from irradiation-induced apoptosis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46: 3080-3089.
- [36] 魏春雁, 李向高, 王秀全, 等. 环保型人参皂苷 Rb₁ 高获取量产业化分离方法 [P]. 中国专利: CN1473841, 2004-02-11.
- [37] Zhang C Z, Yu H S, Bao Y M, et al. Purification and characterization of ginsenoside -arabinofuranase hydrolyzing ginsenoside Rc into Rd from the fresh root of *Panax ginseng* [J]. *Process Biochem*, 2002, 37: 793-798.
- [38] Yu H S, Liu H, Zhang C Z, et al. Purification and characterization of gypenoside -L-rhamnosidase hydrolyzing gypenoside-5 into ginsenoside Rd [J]. *Process Biochem*, 2004, 39: 861-867.
- [39] Kim M K, Lee J W, Lee K Y, et al. Microbial conversion of major ginsenoside Rb₁ to pharmaceutically active minor ginsenoside Rd [J]. *J Microbiol*, 2005, 43: 456-462.
- [40] Son J W, Kim H J, Oh D K. Ginsenoside Rd production from the major ginsenoside Rb₁ by -glucosidase from *Thermus caldophilus* [J]. *Biotechnol Lett*, 2008, 30: 713-716.
- [41] Chi H, Ji G E. Transformation of ginsenosides Rb₁ and Re from *Panax ginseng* by food microorganisms [J]. *Biotechnol Lett*, 2005, 27: 765-771.
- [42] Park S Y, Bae E A, Sung J H, et al. Purification and characterization of ginsenoside Rb₁-metabolizing -glucosidase from *Fusobacterium K-60*, a human intestinal anaerobic bacterium [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65(5): 1163-1169.
- [43] Chen G T, Yang M, Song Y, et al. Microbial transformation of ginsenoside Rb₁ by *Acremonium strictum* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 77: 1345-1350.
- [44] 杨柳, 许舜军, 曾星, 等. 大鼠尿中人参皂苷 Rd 及其代谢物的 LC-MS 研究 [J]. *药理学学报*, 2006, 41(8): 742-746.
- [45] Wang W, Wang G J, Xie H T, et al. Determination of ginsenoside Rd in dog plasma by liquid chromatography-mass spectrometry after solid-phase extraction and its application in dog pharmacokinetics studies [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 852: 8-14.

数理统计方法在中药质量评价中的应用

樊岩¹, 黎阳², 刘素香^{3*}

(1. 天津工业大学, 天津 300160; 2. 天津中医药大学, 天津 300193; 3. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘要:数理统计是中药质量评价中不可或缺的重要方法, 随着科学技术和经济与社会不断发展, 其内容也逐步扩大。介绍了目前数理统计应用于中药质量控制的几种主要方法。

关键词:数理统计; 中药质量控制; 聚类分析; 主成分分析; 人工神经网络

中图分类号: R28

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)05-0836-05

中药是我国的瑰宝, 但其成分复杂、质量难以控制等问题严重阻碍了其进军国际市场的道路。传统的性状鉴别和显微鉴别技术已经难以满足市场对于中药质量标准的要求, 单一指标难以反映中药复杂体系的作用特点, 因此, 数理统

计越来越多的应用于中药质量控制——模式识别。模式识别是指对表征事物或现象的各种形式的信息进行处理和分析, 以对事物或现象进行描述、辨认、分类和解释的过程。而应用于中药质量控制之中的一般为统计学方法, 是根据中药