

人參属植物高温蒸制前后人參皂苷含量的变化和细胞毒活性研究

顾承真¹, 曾碧雪¹, 张钰佳¹, 王 东², 张颖君^{2*}

1. 福建农林大学生命科学学院, 福建 福州 350001

2. 中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201

摘 要: 目的 研究人參属植物人參 *Panax ginseng*、三七 *P. notoginseng* 和西洋参 *P. quinquefolium* 高温蒸制前后主要人參皂苷的含量变化, 并测定高温蒸制前后样品对 4 株肿瘤细胞的细胞毒活性。方法 采用 HPLC 建立了测定 22 种皂苷含量的分析方法, 测定这些皂苷在人參属植物及其高温蒸制品中的含量。用 MTT 法测定人參属植物及其高温蒸制品对 4 株人类癌细胞 (人类骨髓瘤 HL-60 细胞、肝癌 SMMC-7721 细胞、肺癌 A-549 细胞、乳腺癌 SK-BR-3 细胞) 的细胞毒活性。结果 从人參、三七和西洋参及高温蒸制后的样品中鉴定出 22 个皂苷, 包括人參皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd、Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅、Rb₃、Rh₃、Rk₂, 20(S)-人參皂苷 Rh₁、20(R)-人參皂苷 Rh₁、三七皂苷 Fc、三七皂苷 R₁、绞股蓝皂苷 IX、20(S/R)-三七皂苷 Ft₁、20(S/R)-人參皂苷 Rg₃、人參皂苷 Rs₃、人參皂苷 Rh₂。人參皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂ 和 Rd 为人參的主要成分; 人參皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 和 Rd 为西洋参的主要成分; 人參皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd 和三七皂苷 R₁ 为三七的主要成分, 高温蒸制后这 3 种植物的主要成分全部转化为人參皂苷 Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅ 和 20(S/R)-人參皂苷 Rg₃, 在高温蒸制后的三七中还检测到 20(S)-人參皂苷 Rh₁ 和 20(R)-人參皂苷 Rh₁。三七皂苷 Fc、人參皂苷 Rb₃ 和绞股蓝皂苷 IX 为三七茎叶的主要成分, 高温蒸制后转化为另外 8 个主要成分 20(S/R)-三七皂苷 Ft₁, 20(S/R)-人參皂苷 Rg₃、Rs₃、Rk₁、Rg₅, 20(S/R)-人參皂苷 Rh₂、Rh₃ 和 Rk₂。细胞毒活性结果显示, 高温蒸制三七的细胞毒活性比高温蒸制人參和高温蒸制西洋参强, 高温蒸制三七的细胞毒活性比三七的活性强, 说明高温蒸制后三七的细胞毒活性增强。结论 人參、西洋参和三七经过高温蒸制后原来的主要成分基本消失, 随之转化为其他主要成分, 高温蒸制三七的细胞毒活性最强。

关键词: 人參; 三七; 西洋参; 细胞毒活性; 人參皂苷 Rg₁; 人參皂苷 Re; 人參皂苷 Rb₁; 人參皂苷 Rc; 人參皂苷 Rb₂; 人參皂苷 Rd; 20(S/R)-人參皂苷 Rg₃; 20(S/R)-人參皂苷 Rs₃; 20(S/R)-人參皂苷 Rk₁; 20(S/R)-人參皂苷 Rg₅; 绞股蓝皂苷 IX

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)11-3391-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.11.027

Variation of ginsenosides in raw and processed ginsengs (*Panax* sp.) and their cytotoxicities

GU Cheng-zhen¹, ZENG Bi-xue¹, ZHANG Yu-jia¹, WANG Dong², ZHANG Ying-jun²

1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350001, China

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the changes in the content of the major ginsenosides of the raw roots and the steaming processed ones of three *Panax* plants, e.g. Renshen (*Panax ginseng*), Sanqi (*Panax notoginseng*) and Xiyangshen (*Panax notoginseng*) and evaluate the cytotoxicities of raw roots and the steaming processed ones of three *Panax* plants against four cancer cell lines. **Methods** An HPLC method was established to quantify the amounts of 22 saponins. The amounts of these saponins in the raw roots and the steaming processed ones were quantified. The cytotoxicities of the raw roots and the steaming processed ones against four cancer cell lines (human myeloid leukemia HL-60, hepatocellular carcinoma SMMC-7721, lung cancer A-549, and breast cancer SK-BR-3 cell lines) were evaluated by MTT methods. **Results** From them, 22 saponins, including ginsenosides Rg₁, Re, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd, Rk₃, Rh₄, Rk₁, Rg₅, Rb₃, Rh₃, Rk₂, 20(S)- and 20(R)-ginsenoside Rh₁, notoginsenosides Fc and R₁, gypenoside IX, 20(S/R)-notoginsenoside Ft₁, 20(S/R)-ginsenosides Rg₃, Rs₃, and Rh₂ were identified. Among them, ginsenosides Rg₁, Re, Rb₁, Rc, Rb₂ and Rd, ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁ and Rd, and ginsenoside Rg₁, Re,

收稿日期: 2020-09-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31800332); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目(XJQ201922); 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室开放课题(P2018-KF13)

作者简介: 顾承真(1984—), 男, 安徽五河人, 博士, 讲师, 主要从事天然药物化学研究。Email: guchengzhen1984@126.com

*通信作者: 张颖君(1968—), 女, 云南昆明人, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事天然药物化学研究。Email: zhangyj@mail.kib.ac.cn

Rb₁, Rd and notoginsenosides R₁ were found to be the major saponins in the raw roots of *P. ginseng*, *P. quinquefolium*, and *P. notoginseng*, respectively. However, after steaming process, they all changed to be ginsenosides Rk₃, Rh₄, Rk₁, Rg₅ and 20(S/R)-ginsenosides Rg₃. In case of the steaming processed roots of *P. notoginseng*, two more ginsenosides, 20(S)-ginsenoside Rh₁ and 20(R)-ginsenoside Rh₁ were also detected at the same time. Three saponins, notoginsenoside Fc, ginsenoside Rb₃ and gypenoside IX were detected to be the major saponins in the leaves and stems of *P. notoginseng*, and after steaming process, most of them were changed to other eight saponins, 20(S/R)-notoginsenosides Ft₁, Rg₃, and Rs₃, ginsenosides Rk₁, Rg₅, and 20(S/R)-ginsenoside Rh₂, Rh₃, Rk₂. It was noted that the processed *P. notoginseng* was more cytotoxic than processed *P. ginseng* and processed *P. quinquefolium*. The activity of cytotoxicities of the processed *P. notoginseng* was better than that of raw *P. notoginseng*. It means that after steaming process, *P. notoginseng* become more cytotoxic against four cancer cell lines. **Conclusion** The main ingredients of three *Panax* plants disappeared and transformed to others. The cytotoxicities of processed *P. notoginseng* were stronger than others.

Key words: *Panax ginseng* Meyer; *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; *Panax quinquefolium* L.; cytotoxicity; ginsenosides Rg₁; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rc; ginsenoside Rb₂; ginsenoside Rd; 20(S/R)-ginsenoside Rg₃; 20(S/R)-ginsenoside Rs₃; 20(S/R)-ginsenoside Rk₁; 20(S/R)-ginsenoside Rg₅; gypenoside IX

人参属植物是最有价值的药用植物，人参 *Panax ginseng* Meyer、三七 *P. notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 和西洋参 *P. quinquefolium* L. 都是人参属植物中名贵的中药材。在两千多年前，人参属植物的根就被用来治疗和预防各种疾病^[1]，其茎、叶、花和果实不但是重要的药用资源，还被用作功能性食品和化妆品^[2]。人参和三七主要产于亚洲，西洋参主要产于北美，近些年在中国东北也有种植。人参属植物在高温蒸制前后药理活性不同，所以经常对其进行加工高温蒸制后使用。传统上人参根在使用的时候有白人参和红人参 2 种形式，白人参是收获后直接晾干获得，红人参是经过加热处理后形成的^[3-5]。三七和西洋参的根经常经过浸泡或蒸煮后使用。中药高温蒸制已经有数千年的历史，高温蒸制不但能使药材产生新的药理或治疗作用，还能够减少或消除中药的毒性或副作用。蒸煮、烘焙、焙炒、油炸、浸泡等都是常用的高温蒸制方法。

近些年从人参属植物不同部位分离得到的化合物有 200 多个，包括人参皂苷、多糖、多肽和氨基酸等^[6-8]。从高温蒸制的根、茎、叶和花等部位也分离得到一些转化的人参皂苷^[2,9]。人参皂苷是人参属植物中最典型的活性成分^[2]，根据人参皂苷的结构可将其分为 2 大类，原人参二醇型和原人参三醇型。对人参、三七、西洋参及其高温蒸制品进行研究发现，不同人参属植物中典型的人参皂苷也不同^[10-12]。比如，人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd 和三七皂苷 R₁ 是三七根的主要成分，高温蒸制后三七根的主要成分转化为 20(S/R)-人参皂苷 Rg₃、Rh₁、Rk₁、Rg₅、Rk₃ 和 Rh₄。不同人参属植物由于化学成分不同导致其具有不同的药理

活性，比如抗癌、免疫调节、免疫抑制、抗过敏、抗动脉粥样硬化、降血压、预防糖尿病、抗病毒等^[13-16]。目前，人参属植物在高温蒸制前后化学成分及其含量的变化缺少详细的阐述。

本课题组从事人参属植物研究已有二十多年，对其化学成分进行过系统的研究^[9,16-22]。本实验采用 HPLC 法对人参、三七、西洋参及其高温蒸制品、三七茎叶及其高温蒸制品中的人参皂苷进行了定性和定量分析，并测定了人参属植物及其高温蒸制品对人类 4 株癌细胞（人类骨髓瘤 HL-60 细胞、肝癌 SMMC-7721 细胞、肺癌 A-549 细胞、乳腺癌 SK-BR-3 细胞）的细胞毒活性。

1 材料与仪器

人参 *Panax ginseng* Meyer 和西洋参 *Panax quinquefolium* L. 的干燥根于 2013 年 4 月购买于中国吉林，三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 整株样品于 2013 年 3 月购买于云南文山，并且分为根和茎叶 2 部分。这 3 种样品均由中国科学院昆明植物研究所张颖君研究员鉴定。

对照品人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd、Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅、Rb₃、Rh₃、Rk₂，三七皂苷 Fc 和 R₁，绞股蓝皂苷 IX，20(S/R)-三七皂苷 Ft₁，20(S/R)-三七皂苷 Rg₃、Rs₃、Rh₂，20(S)-人参皂苷 Rh₁，20(R)-人参皂苷 Rh₁ 为实验室从人参属植物中分离获得并用质谱和核磁共振波谱鉴定其结构，HPLC 测定这些皂苷的质量分数均大于 95%。人参皂苷 Rb₂（批号 M21D11S135160）、Rc（批号 M27GB141849）购买于上海同田生物技术有限公司，质量分数均>98%。水用的是 Milli-Q 过滤水（Millipore S.A.S.67120 Molsheim-France facility），色谱级乙腈购买 Merck 公司（Darmstadt，德国），其他溶剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 有效成分测定

2.1.1 供试品溶液的制备 人参、西洋参、三七根和三七茎叶喷洒适量水后放置于高压灭菌锅中, 在 120 ℃ 条件下蒸 12 h, 再保持 24 h, 得到高温蒸制人参根、高温蒸制西洋参根、高温蒸制三七根和高温蒸制三七茎叶。取上述高温蒸制和未高温蒸制的样品各 100 g 用 70% 甲醇水回流提取 3 次, 每次 3 h。提取液浓缩除去有机溶剂, 上 D101 大孔吸附树脂柱, 用水洗脱, 直到用薄层色谱板监控流出液无任何物质为止, 用 90% 乙醇洗脱得到各个样品的总皂苷, 人参根总皂苷、高温蒸制人参根总皂苷、西洋参根总皂苷、高温蒸制西洋参根总皂苷、三七根总皂苷、高温蒸制三七根总皂苷、三七茎叶总皂苷、高温蒸制三七茎叶总皂苷。三七茎叶的 70% 提取物先用石油醚萃取后, 再上 D101 大孔吸附树脂柱。取样品各 200 mg, 样品 F 100 mg, 加甲醇定容至 10 mL, 得到供试品溶液, 然后用 0.45 μm 膜滤过, 备用。

2.1.2 对照品溶液的制备 准确称量 22 个对照品于 5 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇溶解、定容, 得到各个质量浓度的对照品溶液, 然后用 0.45 μm 膜滤过, 得到含 1.05 mg/mL 人参皂苷 Rg₁、0.5 mg/mL 人参皂苷 Re、1.05 mg/mL 人参皂苷 Rb₁、0.9 mg/mL 人参皂苷 Rc、0.9 mg/mL 人参皂苷 Rb₂、1.35 mg/mL 人参皂苷

Rd、0.55 mg/mL 人参皂苷 Rk₃、0.9 mg/mL 人参皂苷 Rh₄、1.0 mg/mL 20(S/R)-人参皂苷 Rg₃、1.75 mg/mL 20(S/R)-人参皂苷 Rk₁、0.6 mg/mL 20(S/R)-人参皂苷 Rg₅、0.524 mg/mL 三七皂苷 R₁、0.95 mg/mL 20(S)-人参皂苷 Rh₁、1.0 mg/mL 20(R)-人参皂苷 Rh₁、5.25 mg/mL 三七皂苷 Fc、0.95 mg/mL 人参皂苷 Rb₃、1.05 mg/mL 绞股蓝皂苷 IX、1.0 mg/mL 20(S/R)-三七皂苷 Ft₁、2.3 mg/mL 20(S/R)-三七皂苷 Rs₃、1.0 mg/mL 20(S/R)-三七皂苷 Rh₂、0.375 mg/mL 20(S/R)-三七皂苷 Rh₃、0.95 mg/mL 20(S/R)-三七皂苷 Rk₂ 的混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 高效液相色谱配备 PAD 检测器; 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 10 μL; 柱温 25 ℃; 检测波长 203 nm; 流动相为乙腈 (A)-水 (B), 梯度洗脱: 0~20 min, 20%~22% A; 20~45 min, 22%~46% A; 45~55 min, 46%~55% A; 55~75 min, 55% A, 75~90 min, 55%~90% A。

2.1.4 线性关系考察 将每个对照品溶液按不同体积 (2、5、10、20、40、80、100 μL) 进高效液相色谱分析, 然后以峰面积为纵坐标 (Y)、进样量为横坐标 (X) 制成每个对照品的标准曲线及线性回归方程, 这 22 个化合物的线性回归方程见表 1。

表 1 化合物的线性方程

Table 1 Linearity, correlation coefficient of compounds

成分	线性方程	线性范围/μg	r
人参皂苷 Rg ₁	$Y=202\ 163 X-24\ 404$	2.1~83.4	1.000 0
人参皂苷 Re	$Y=298\ 619 X+45\ 623$	1.0~20.7	0.999 9
人参皂苷 Rb ₁	$Y=170\ 534 X+283\ 224$	2.1~103.8	0.999 5
人参皂苷 Rc	$Y=227\ 879 X+362\ 519$	1.8~91.0	0.999 6
人参皂苷 Rb ₂	$Y=228\ 126 X+413\ 407$	1.8~90.6	0.999 2
人参皂苷 Rd	$Y=242\ 955 X+475\ 453$	2.7~53.2	0.999 5
人参皂苷 Rk ₃	$Y=454\ 874 X+325\ 197$	1.1~22.6	0.999 7
人参皂苷 Rh ₄	$Y=453\ 576 X-490\ 149$	1.8~26.8	0.998 6
20(S/R)-人参皂苷 Rg ₃	$Y=411\ 198 X+303\ 520$	2.0~15.3	0.999 6
人参皂苷 Rk ₁	$Y=483\ 184 X+859\ 363$	3.5~30.8	0.998 9
人参皂苷 Rg ₅	$Y=263\ 503 X+552\ 382$	1.2~48.5	0.999 8
三七皂苷 R ₁	$Y=253\ 958 X+15\ 634$	1.0~21.0	0.999 5
20(S)-人参皂苷 Rh ₁	$Y=428\ 030 X-19\ 720$	1.9~19.8	0.999 8
20(R)-人参皂苷 Rh ₁	$Y=424\ 336 X+102\ 968$	2.0~20.3	0.999 8
三七皂苷 Fc	$Y=196\ 845 X+141\ 974$	10.5~35.6	0.999 0
人参皂苷 Rb ₃	$Y=186\ 134 X+124\ 455$	1.9~33.5	0.999 9
绞股蓝皂苷 IX	$Y=253\ 662 X+110\ 120$	2.1~15.5	0.999 9
20(S/R)-三七皂苷 Ft ₁	$Y=284\ 795 X+190\ 507$	2.0~15.2	0.999 5
人参皂苷 Rs ₃	$Y=269\ 092 X+601\ 478$	4.6~28.2	0.999 5
人参皂苷 Rh ₂	$Y=313\ 795 X+285\ 995$	2.0~15.0	0.999 9
人参皂苷 Rh ₃	$Y=994\ 004 X-129\ 344$	0.75~15.0	0.999 5
人参皂苷 Rk ₂	$Y=1\ 000\ 000 X+454\ 905$	1.9~9.7	0.999 3

2.1.5 精密度试验 取照品混合液,连续进样6次,测定这22种皂苷色谱峰的峰面积。人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、 Rd 、 Rk_3 、 Rh_4 、 Rk_1 、 Rg_5 、 Rb_3 、 Rh_3 、 Rk_2 , 20(S)-人参皂苷 Rh_1 、20(R)-人参皂苷 Rh_1 、三七皂苷 Fc 、三七皂苷 R_1 、绞股蓝皂苷 IX、20(S/R)-三七皂苷 Ft_1 、20(S/R)-人参皂苷 Rg_3 、人参皂苷 Rs_3 、人参皂苷 Rh_2 峰面积的 RSD 值分别为 0.86%、0.82%、0.57%、0.93%、0.54%、0.66%、0.96%、0.77%、0.69%、0.39%、0.89%、0.91%、1.02%、0.95%、1.04%、0.61%、0.52%、0.46%、0.77%、0.73%、0.69%、0.81%。

2.1.6 稳定性试验 取人参样品分别在配制好后 1、4、8、16、32、48 h 进样测定,计算人参样品中 6 个主要成分人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、 Rd 的 RSD 值分别为 0.68%、0.99%、1.21%、1.32%、1.02%、0.98%。

2.1.7 重复性试验 称取人参样品 100 g,共 6 份。按照供试品溶液制备方法,测定人参样品中 6 个主要成分的含量。人参中 6 个主要成分人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、 Rd 的 RSD 值分别为 1.97%、1.99%、1.58%、1.87%、2.02%、2.13%。

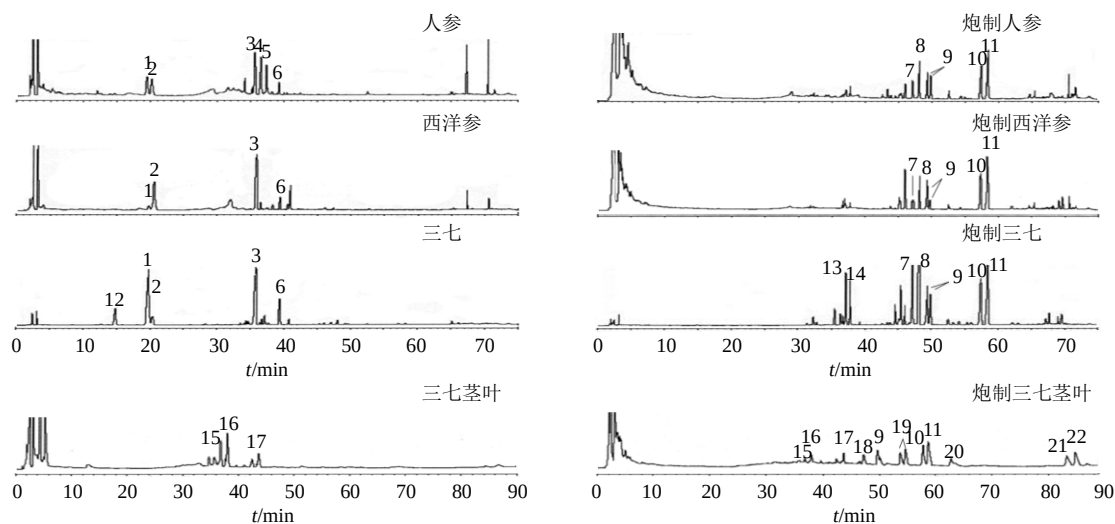
2.1.8 加样回收试验 称取人参样品 100 g,共 6 份。分别加入与样品中 6 个主要成分含量相当的对照品溶液,按照供试品制备方法制备成加样供试品溶液。测

定 6 个主要成分的含量,计算加样回收率。人参中 6 个主要成分人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、 Rd 的加样回收率分别为 97.81%、98.79%、102.31%、101.36%、100.35%、103.12%,RSD 值分别为 1.32%、1.15%、1.21%、1.01%、0.96%、1.19%。

2.1.9 人参皂苷含量测定 用“2.1.3”项色谱条件测定按照“2.1.1”项得到的样品人参根总皂苷、高温蒸制人参根总皂苷、西洋参根总皂苷、高温蒸制西洋参根总皂苷、三七根总皂苷、高温蒸制三七根总皂苷、三七茎叶总皂苷和高温蒸制三七茎叶总皂苷中 22 种皂苷的含量。每个样品重复进样 3 次,取平均峰面积根据线性方程计算皂苷的含量。

2.2 人参皂苷含量测定结果

人参、西洋参、三七和三七茎叶及其高温蒸制品的 HPLC 谱图见图 1,通过紫外吸收和保留时间跟对照品比对,共鉴定出 22 个皂苷类化合物,人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、 Rd 、 Rk_3 、 Rh_4 、 Rk_1 、 Rg_5 、 Rb_3 、 Rh_3 、 Rk_2 , 20(S)-人参皂苷 Rh_1 、20(R)-人参皂苷 Rh_1 、三七皂苷 Fc 、三七皂苷 R_1 、绞股蓝皂苷 IX、20(S/R)-三七皂苷 Ft_1 、20(S/R)-人参皂苷 Rg_3 、 Rs_3 和 Rh_2 。这些化合物在人参、西洋参、三七和三七茎叶及其高温蒸制品中的含量见表 2。



1-人参皂苷 Rg_1 2-人参皂苷 Re 3-人参皂苷 Rb_1 4-人参皂苷 Rc 5-人参皂苷 Rb_2 6-人参皂苷 Rd 7-人参皂苷 Rk_3 8-人参皂苷 Rh_4 9-20(S/R)-人参皂苷 Rg_3 10-人参皂苷 Rk_1 11-人参皂苷 Rg_5 12-三七皂苷 R_1 13-20(S)-人参皂苷 Rh_1 14-20(R)-人参皂苷 Rh_1 15-三七皂苷 Fc 16-人参皂苷 Rs_3 17-绞股蓝皂苷 IX 18-20(S/R)-三七皂苷 Ft_1 19-人参皂苷 Rs_3 20-人参皂苷 Rh_2 21-人参皂苷 Rh_3 22-人参皂苷 Rk_2
1-ginsenoside Rg_1 2-ginsenoside Re 3-ginsenoside Rb_1 4-ginsenoside Rc 5-ginsenoside Rb_2 6-ginsenoside Rd 7-ginsenoside Rk_3 8-ginsenoside Rh_4 9-20(S/R)-ginsenoside Rg_3 10-ginsenoside Rk_1 11-ginsenoside Rg_5 12-notoginsenoside R_1 13-20(S)-ginsenoside Rh_1 14-20(R)-ginsenoside Rh_1 15-notoginsenoside Fc 16-ginsenoside Rs_3 17-gypenoside IX 18-20(S/R)-notoginsenoside Ft_1 19-ginsenoside Rs_3 20-ginsenoside Rh_2 21-ginsenoside Rh_3 22-ginsenoside Rk_2

图 1 人参属植物及其高温蒸制品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of samples from ginsengs and their steaming processed products

表 2 人参属植物及其高温蒸制品中人参皂苷含量
Table 2 Contents of saponins in eight ginseng samples

部位	质量分数/(mg·g ⁻¹)																					
	Rg ₁	Re	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	Rk ₃	Rh ₄	Rg ₃	Rk ₁	Rg ₅	R ₁	S-Rh ₁	R-Rh ₁	Fc	Rb ₃	IX	Ft ₁	Rs ₃	Rh ₂	Rh ₃	Rk ₂
人参	10.52	6.54	17.74	9.37	6.08	3.13																
高温蒸制人参							1.68	3.48	5.77	3.42	10.99											
西洋参	3.13	13.02	39.84			2.23																
高温蒸制西洋参							1.72	2.59	7.17	5.76	17.26											
三七	40.01	3.68	35.58			6.77						7.49										
高温蒸制三七							10.31	18.81	10.02	6.29	18.62		11.63	8.5								
三七茎叶															14.65	16.06	5.57					
高温蒸制三七茎叶									6.87	4.97	10.83				7.49	5.81	5.85	6.99	14.69	6.97	2.25	2.86
Rg ₁ 、Re、Rb ₁ 、Rd、Rk ₃ 、Rh ₄ 、Rk ₁ 、Rg ₅ 、Rb ₃ 、Rh ₃ 、Rk ₂ -人参皂苷 Rg ₁ 、Re、Rb ₁ 、Rd、Rk ₃ 、Rh ₄ 、Rk ₁ 、Rg ₅ 、Rb ₃ 、Rh ₃ 、Rk ₂ Fc、R ₁ -三七皂苷																						
Fc、R ₁ Rg ₃ 、Rs ₃ 、Rh ₂ -20(S/R)-三七皂苷 Rg ₃ 、Rs ₃ 、Rh ₂ IX-绞股蓝皂苷 IX Ft ₁ -20(S/R)-三七皂苷 Ft ₁ S-Rh ₁ 、R-Rh ₁ -20(S)-人参皂苷 Rh ₁ 、20(R)-人参皂苷 Rh ₁																						
Rg ₁ 、Re、Rb ₁ 、Rd、Rk ₃ 、Rh ₄ 、Rk ₁ 、Rg ₅ 、Rb ₃ 、Rh ₃ 、Rk ₂ -ginsenoside Rg ₁ 、Re、Rb ₁ 、Rd、Rk ₃ 、Rh ₄ 、Rk ₁ 、Rg ₅ 、Rb ₃ 、Rh ₃ 、Rk ₂ Fc、R ₁ -notoginsenoside Fc、R ₁ Rg ₃ 、Rs ₃ 、Rh ₂ -20(S/R)-notoginsenoside Rg ₃ 、Rs ₃ 、Rh ₂ IX-gypenoside IX Ft ₁ -20(S/R)-notoginsenoside Ft ₁ S-Rh ₁ 、R-Rh ₁ -20(S)-ginsenoside Rh ₁ 、20(R)-ginsenoside Rh ₁																						

Rg₁、Re、Rb₁、Rd、Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅、Rb₃、Rh₃、Rk₂-人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd、Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅、Rb₃、Rh₃、Rk₂ Fc、R₁-三七皂苷 Fc、R₁ Rg₃、Rs₃、Rh₂-20(S/R)-三七皂苷 Rg₃、Rs₃、Rh₂ IX-绞股蓝皂苷 IX Ft₁-20(S/R)-三七皂苷 Ft₁ S-Rh₁、R-Rh₁-20(S)-人参皂苷 Rh₁、20(R)-人参皂苷 Rh₁
Rg₁、Re、Rb₁、Rd、Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅、Rb₃、Rh₃、Rk₂-ginsenoside Rg₁、Re、Rb₁、Rd、Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅、Rb₃、Rh₃、Rk₂ Fc、R₁-notoginsenoside Fc、R₁ Rg₃、Rs₃、Rh₂-20(S/R)-notoginsenoside Rg₃、Rs₃、Rh₂ IX-gypenoside IX Ft₁-20(S/R)-notoginsenoside Ft₁ S-Rh₁、R-Rh₁-20(S)-ginsenoside Rh₁、20(R)-ginsenoside Rh₁

结果显示, 原人参二醇型和原人参三醇型人参皂苷是人参、三七和西洋参的主要成分, 但在三七的茎叶中只检测到原人参二醇型人参皂苷。人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂ 和 Rd 为人参的主要成分; 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 和 Rd 为西洋参的主要成分; 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd 和三七皂苷 R₁ 为三七的主要成分; 三七皂苷 Fc、人参皂苷 Rb₃ 和绞股蓝皂苷 IX 为三七茎叶的主要成分。人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 和 Rd 是人参属植物原材料中最常见的人参皂苷, 但在不同的人参属植物中, 其含量也不同。人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rd 的含量, 三七>人参>西洋参; 人参皂苷 Re 的含量, 西洋参>人参>三七; 人参皂苷 Rb₁ 的含量, 西洋参>三七>人参。三七皂苷 R₁ 是三七特有的皂苷, 在其他 2 种人参属植物中没有检测到。人参皂苷 Rc 和 Rb₂ 是人参中特有的成分。三七皂苷 Fc, 人参皂苷 Rb₃ 和绞股蓝皂苷 IX 仅存在于三七茎叶中。

高温蒸制后, 人参、三七和西洋参的主成分全部转化为人参皂苷 Rk₃、Rh₄、Rk₁、Rg₅ 和 20(S/R)-人参皂苷 Rg₃。这 5 个人参皂苷在高温蒸制三七中的总含量比在高温蒸制人参和高温蒸制西洋参中的含量高。20(S)-人参皂苷 Rh₁ 和 20(R)-人参皂苷 Rh₁ 仅在高温蒸制三七中检测到, 在其他高温蒸制品中未检出。三七茎叶中的三七皂苷 Fc, 人参皂苷 Rb₃ 和绞股蓝皂苷 IX 经过高温蒸制后转化生成了 20(S/R)-人参皂苷 Rg₃、人参皂苷 Rk₁、Rg₅ 和 20(S/R)-

三七皂苷 Ft₁、人参皂苷 Rs₃、Rh₂、Rh₃ 和 Rk₂。

人参、西洋参、三七和三七茎叶主要皂苷在分子结构的 C-3 位、C-6 位或者 C-20 位连接 2 个或者 3 个不同类型的糖, 高温蒸制过程中先发生脱糖反应, 然后在 C-20/21 位或者 C-20/22 位发生脱水反应后得到高温蒸制人参、西洋参、三七和三七茎叶的主要皂苷成分。

2.3 细胞毒活性

测定人参、西洋参、三七和三七茎叶及其高温蒸制品对 4 株人类癌细胞 (HL-60、SMMC-7721、A-549、SK-BR-3) 的细胞毒活性。采用 MTT 法 [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (Sigma 公司, St. Louis, 美国), 通过 96 孔板测定上述 8 个样品的细胞毒活性^[23]。所有细胞都用 DMEM 培养基 (Hyclone, 美国), 添加 10% 胎牛血清, 5% CO₂、37 °C 条件下培养。将 100 μL 的悬浮液添加到 96 孔板中, 再在 96 孔板中加入不同浓度的供试品溶液, 培养 48 h 后, 在每孔中添加 20 μL MTT 溶液 (5 mg/mL PBS), 继续培养 4 h 得到 formazan 晶体。除去上清液后加入 100 μL 20% 的十二烷基磺酸钠 (SDS), 培养过夜直到 formazan 晶体完全溶解。用酶标仪在 595 nm 条件下测定吸光度, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 值计算采用 Reed 和 Muench 方法。

细胞毒测定结果显示, 人参、高温蒸制人参、西洋参、高温蒸制西洋参、三七和三七茎叶在 100 μg/mL 的质量浓度下对 4 株人类癌细胞 (图 2) 显

示出微弱的抑制活性。高温蒸制三七茎叶和高温蒸制三七对 A-549 和 HL-60 显示出很强的抑制活性, IC_{50} 分别为 43.3、33.8 $\mu\text{g/mL}$ (A549), 21.6、40.0 $\mu\text{g/mL}$ (HL-60), 阳性对照顺铂的 IC_{50} 为 6.7 $\mu\text{g/mL}$ (A549) 和 0.4 $\mu\text{g/mL}$ (HL-60)。高温蒸制三七的细胞毒活性比高温蒸制人参、高温蒸制西洋参和三七强, 说明高温蒸制后三七的细胞毒活性增强。高温

蒸制三七具有较强的细胞毒活性与其化学成分息息相关, 20(S)-人参皂苷 Rh_1 和 20(R)-人参皂苷 Rh_1 只存在于高温蒸制三七中, 并且 20(S/R)-人参皂苷 Rg_3 在高温蒸制三七中的含量比在其他样品中的含量高。前期有研究报道人参皂苷 Rg_3 和 Rh_1 具有一定的细胞毒活性, 导致高温蒸制三七细胞毒活性比其他样品强^[24-25]。

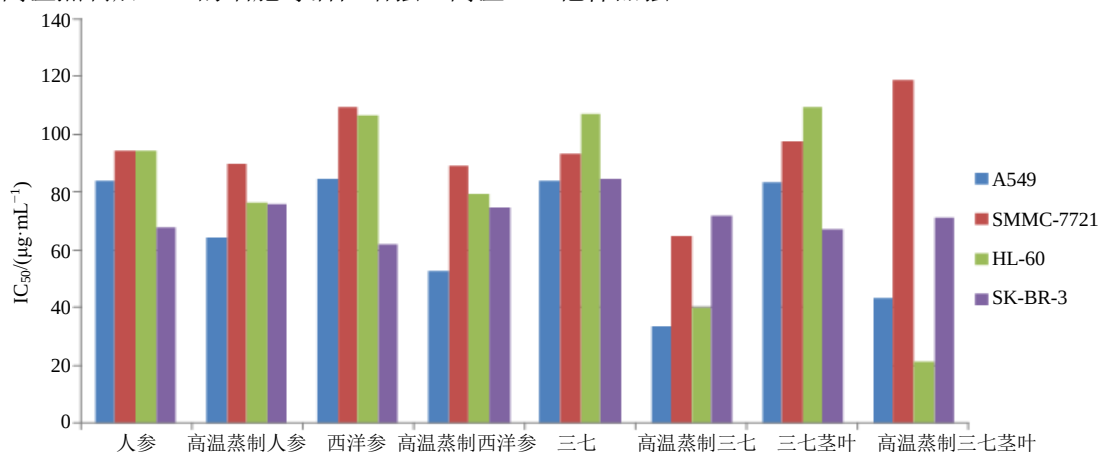


图2 人参属植物及其高温蒸制品的细胞毒活性

Fig. 2 Cytotoxic activities of samples from ginsengs and their processed products

3 讨论

对人参、西洋参、三七和三七茎叶及其高温蒸制品中的人参皂苷进行了定性和定量分析。经过高温蒸制原材料中的主要成分完全消失, 转化为另外5个主成分[人参皂苷 Rk_3 、 Rh_4 、 Rk_1 、 Rg_5 和 20(S/R)-人参皂苷 Rg_3]。三七的细胞毒活性比人参和西洋参强, 高温蒸制三七的细胞毒活性又强于三七, 说明高温蒸制后三七的细胞毒活性增强, 这也符合中药高温蒸制的目的。研究结果为人参、西洋参和三七的研究和应用提供了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Park M J, Kim M K, In J G, et al. Molecular identification of Korean ginseng by amplification refractory mutation system-PCR [J]. *Food Res Int*, 2006, 39(5): 568-574.
- [2] Kim D H. Chemical diversity of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius*, and *Panax notoginseng* [J]. *J Ginseng Res*, 2012, 36(1): 1-15.
- [3] Li C P, Li R C. An introductory note to ginseng [J]. *Am J Chin Med*, 1973, 1(2): 249-261.
- [4] Attele A S, Wu J A, Yuan C S. Ginseng pharmacology: Multiple constituents and multiple actions [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(11): 1685-1693.
- [5] Kennedy D O, Scholey A B. Ginseng: potential for the enhancement of cognitive performance and mood [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003, 75(3): 687-700.
- [6] Wang C Z, McEntee E, Wicks S, et al. Phytochemical and analytical studies of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen [J]. *J Nat Med*, 2006, 60(2): 97-106.
- [7] 王蕾, 王英平, 许世泉, 等. 西洋参化学成分及药理活性研究进展 [J]. 特产研究, 2007, 29(3): 73-77.
- [8] 徐静, 贾力, 赵余庆. 人参的化学成分与人参产品的质量评价 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 199-203.
- [9] Liao P Y, Wang D, Zhang Y J, et al. Dammarane-type glycosides from steamed notoginseng [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(5): 1751-1756.
- [10] 鲍建才. 西洋红参化学成分的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2006.
- [11] 赵向国. 人参、黄芪炮制前后化学成分及活性研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2012.
- [12] Wang D, Liao P Y, Zhu H T, et al. The processing of *Panax notoginseng* and the transformation of its saponin components [J]. *Food Chem*, 2012, 132(4): 1808-1813.
- [13] Liu Z Q. Chemical insights into ginseng as a resource for natural antioxidants [J]. *Chem Rev*, 2012, 112(6): 3329-3355.
- [14] Qi L W, Wang C Z, Yuan C S. Isolation and analysis of ginseng: Advances and challenges [J]. *Nat Prod Rep*,

- 2011, 28(3): 467-495.
- [15] Ng T B. Pharmacological activity of Sanchi ginseng (*Panax notoginseng*) [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2006, 58(8): 1007-1019.
- [16] Pei Y, Du Q, Liao P Y, et al. Notoginsenoside ST-4 inhibits virus penetration of *Herpes simplex virus in vitro* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(6): 498-504.
- [17] Wang X Y, Wang D, Ma X X, et al. Two new dammarane-type bisdesmosides from the fruit pedicels of *Panax notoginseng* [J]. *Helv Chim Acta*, 2008, 91(1): 60-66.
- [18] Wang D, Hong D, Koh H L, et al. Biodiversity in cultivated *Panax notoginseng* populations [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(9): 1137-1140.
- [19] Zhu T F, Deng Q H, Li P, et al. A new dammarane-type saponin from the rhizomes of *Panax japonicus* [J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54(4): 714-716.
- [20] Zhou L G, Zhu H T, Hu H, et al. *Advances in Plant Glycosides, Chemistry and Biology, Proceedings of the International Symposium in Plant Glycosides* [M]. Amsterdam: Elsevier, 1999: 91-98.
- [21] Gu C Z, Lv J J, Zhang X X, et al. Minor dehydrogenated and cleaved dammarane-type saponins from the steamed roots of *Panax notoginseng* [J]. *Fitoterapia*, 2015, 103: 97-105.
- [22] 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]. *J Nat Prod*, 2015, 78(8): 1829-1840.
- [23] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1/2): 55-63.
- [24] 葛迎春, 刘平, 韩信昌. 人参皂甙 Rb₁、Rg₁、Re 和 Rh₁ 对 HeLa 细胞的影响 [J]. *中药药理与临床*, 1997, 13(6): 18-21.
- [25] 华琼, 华海清. 人参皂苷 Rg₃ 抗肝癌作用机制的研究进展 [J]. *中医学报*, 2012, 27(3): 266-269.

[责任编辑 时圣明]