

文章编号:1001-6880(2014)10-1552-06

西洋参总皂苷酶水解产物成分研究

金建明^{1,2*}, 李有海², 张海伦¹, 梁朝宁³, 唐双焱³

¹北京工商大学植物资源研究开发北京市重点实验室, 北京 100048;

²云南民族大学民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 昆明 650500;

³中国科学院微生物研究所 中国科学院微生物生理与代谢工程重点实验室, 北京 100101

摘要: 西洋参总皂苷经 β -糖苷酶催化水解, 采用 HPLC 检测分析确定西洋参总皂苷中的主要原人参二醇型皂苷 Rb₁、Rd、Rc 和 Rb₂ 已经完全被水解。水解产物通过反复硅胶柱层析和反向硅胶柱层析分离纯化得到 7 个皂苷, 通过 NMR 谱图分析分别鉴定为人参皂苷 compound K(1)、人参皂苷 Mc(2)、人参皂苷 Rg₁(3)、人参皂苷 Rg₂(4)、人参皂苷 Re(5)、人参皂苷 F₁(6) 和拟人参皂苷 F₁₁(7)。 β -糖苷酶催化西洋参总皂苷水解实验表明, 西洋参中原人参二醇型皂苷的水解产物是人参皂苷 compound K 和人参皂苷 Mc。

关键词: 西洋参; 原人参二醇型皂苷; 人参皂苷 compound K; β -糖苷酶

中图分类号: R939.9

文献标识码: A

Chemical Constituents of Enzymatic Hydrolysate of Total Ginsenoside Extract of *Panax quinquefolium*

JIN Jian-ming^{1,2*}, LI You-hai², ZHANG Hai-lun¹, LIANG Chao-ning³, TANG Shuang-yan³

¹Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; ²Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan University of Nationalities, Yunnan Kunming 650500, China; ³CAS Key Laboratory of

Microbial Physiological and Metabolic Engineering, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: The total ginsenoside extract of *Panax quinquefolium* was hydrolyzed by β -glycosidase. HPLC analysis indicated that ginsenosides Rb₁, Rd, Rc and Rb₂ were completely hydrolyzed. Seven ginsenosides were isolated from the hydrolysate, and identified as ginsenoside compound K (1), ginsenoside Mc (2), ginsenoside Rg₁ (3), ginsenoside Rg₂ (4), ginsenoside Re (5), ginsenoside F₁ (6) and pseudo-ginsenoside F₁₁ (7), respectively. The protopanaxadiol-type ginsenosides in the total ginsenoside extract of *P. quinquefolium* were converted into ginsenoside compound K and ginsenoside Mc by the β -glycosidase.

Key words: *Panax quinquefolium*; protopanaxadiol-type ginsenosides; ginsenoside compound K; β -glycosidase

西洋参(*Panax quinquefolium* L.)又名花旗参、西洋人参、洋参、美国人参、广东人参等, 是我国传统的名贵中药材, 为五加科人参属植物, 原产北美洲的加拿大南部和美国北部, 现我国的许多地区都有引种栽培。其味甘、微苦, 性寒, 可滋阴降火, 益气生津, 其药用价值有镇静镇惊、安神促智、增强机体免疫、抗心律失常、防血管硬塞、保肝、降血脂等功效。对西洋参的化学成分已经有许多报道, 其主要

活性成分是人参皂苷。西洋参总皂苷中绝大多数属于达玛烷四环三萜类人参皂苷^[1,2]。达玛烷四环三萜类人参皂苷根据皂元 6 位碳上是否有羟基分为原人参二醇型皂苷如人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 和 Rd 等(图 1)和原人参三醇型皂苷如人参皂苷 Rg₁、Rg₂、Re 和 F₁ 等。

稀有人参皂苷 compound K 也称人参皂苷 CK 或人参皂苷 C-K, 其结构为 20(S)-原人参二醇-20-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(图 1), 属原人参二醇型皂苷。人参皂苷 compound K 在人参属植物中几乎不存在, 首次由土壤细菌降解人参皂苷 Rb₁、Rb₂ 和 Rc 后被发现并鉴定^[3]。研究发现人参皂苷 compound K 是

收稿日期:2014-02-14 接受日期:2014-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31160017; 21172095); 北京市自然科学基金项目(2142012); 云南省教育厅科学基金项目(2011Z120)

* 通讯作者 Tel: 86-10-68984937; E-mail: jinjm8@qq.com

人参等药材中原人参二醇型皂苷经肠道菌降解后产生的在人体内发挥药效作用的真正代谢活性物^[4]。人参皂苷 compound K 的生物活性具有多靶点、高活性和低毒性的特点,具有极高的生产价值和应用前景,医药价值很高^[5,6]。目前制备人参皂苷 compound K 的方法多采用微生物发酵法和酶解法。利用酶解法制备人参皂苷 compound K 具有反应条件温和、操作简便、成本低、产物便于纯化等优点^[5,7]。

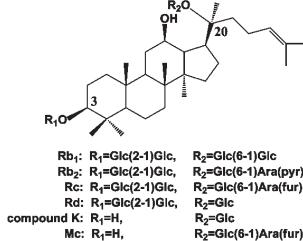


图 1 原人参二醇型皂苷结构

Fig. 1 Chemical structures of protopanaxadiol-type ginsenosides
Glc: β -D-glucopyranosyl; Ara (pyr) : α -L-arabinopyranosyl; Ara (fur) : α -L-arabinofuranosyl

项目组前期得到了高效催化人参皂苷 Rb₁ 产生人参皂苷 compound K 的 β -糖苷酶。为了研究该 β -糖苷酶是否也催化其他原人参二醇型皂苷产生人参皂苷 compound K, 实验采用原人参二醇型皂苷含量高的西洋参总皂苷, 详细分析了西洋参总皂苷经该 β -糖苷酶完全催化水解后的成分组成, 为将来进一步采用西洋参总皂苷等高效制备人参皂苷 compound K 奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bruker Avance 400 MHz 型核磁共振波谱仪; Agilent 6520 LC/MS 质谱仪; 岛津 Lc-20A 高效液相色谱仪。柱层析硅胶(60~100 目)和薄层层析硅胶板 H(青岛海洋化工有限公司); RP-C18 反相层析材料和 RP-C18 高效薄层板(Merck 公司); 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯; 西洋参总皂苷购自南京泽朗医药生物科技有限公司。标准品人参皂苷 Rb₁(批号 20110526)、Rb₂(批号 20120311)、Rc(批号 20120617) 和 Rd(批号 20120621) 购自宝鸡辰光生物科技有限公司。

1.2 酶液制备

将 β -糖苷酶 LacS 突变株接种到 LB 培养基中(含 100 mmol/L 卡那霉素), 接种量 1%, 37 °C、280

rpm 摆床培养 12 h 后将种子液转接到 600 mL 诱导培养基中(含 100 mmol/L 卡那霉素), 接种量 1%, 30 °C、280 rpm 摆床培养 21 h。培养液 10000 rpm 离心 10 min, 沉淀加入 60 mL Mc 缓冲液重悬(0.2 mol/L 磷酸氢二钠和 0.1 mol/L 柠檬酸, pH = 5.5), 超声破细胞后 12000 rpm 离心 10 min, 取上清液于 60 °C 水浴中静置 10 min 后再次 12000 rpm 离心 10 min, 上清液即 β -糖苷酶液^[8]。

1.3 酶水解反应

约 60 mL 酶液加入到 75 mL 含 7.5 g 西洋参总皂苷的 Mc 缓冲液中, 水浴恒温 70 °C 反应过夜使酶催化水解反应完全(19 h)^[8]。

1.4 分离提取

135 mL 水解反应液用等体积正丁醇萃取三次, 合并萃取液, 减压浓缩干燥后进行硅胶柱层析, 用二氯甲烷甲醇进行梯度洗脱, 分为五个部分(Fr I~Fr V)。各部分再经 RP-C18 柱层析, 采用甲醇水进行梯度洗脱纯化各化合物。Fr I 部分 1.3 g 经 50%~80% 甲醇水梯度洗脱纯化得到化合物 1(0.807 g); Fr II 部分 0.2 g 用 50%~60% 甲醇水梯度洗脱得到化合物 6(0.049 g); Fr III 部分 0.6 g 经 60%~75% 甲醇水梯度洗脱得到化合物 2(0.311 g); Fr IV 部分 0.58 g 用 20%~75% 甲醇水梯度洗脱得到化合物 3(0.152 g)、7(0.070 g) 和 4(0.046 g)。Fr V 部分 1.036 g 用 10%~50% 甲醇水梯度洗脱得到化合物 5(0.481 g)。

1.5 HPLC 检测

西洋参总皂苷及其水解产物的 HPLC 方法在参考文献的基础上略有修改^[9]。西洋参总皂苷及其水解产物配制成 3 mg/mL。HPLC 条件如下: 色谱柱: Waters symmetry C₁₈ 色谱柱(4.6 × 250 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈(A)和水(B); 二元高压梯度洗脱: 0~2.5 min, 20% A; 2.5~5 min, 20%~25% A; 5~10 min, 25% A; 10~30 min, 25%~40% A; 30~45 min, 40%~70% A; 45~60 min, 70% A; 流速: 0.7 mL/min; 检测波长: 203 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 10 μ L。

2 结果与分析

2.1 西洋参水解产物的组分分析

为了研究 β -糖苷酶催化总皂苷后水解产物的成分组成及原人参二醇型皂苷生成人参皂苷 compound K 的效率, 将西洋参总皂苷经 β -糖苷酶催化

水解过夜(19 h),水解产物经 TLC 检测初步证明原人参二醇型皂苷 Rb₁ 已经完全被水解。HPLC 检测分析再次确定西洋参总皂苷中的原人参二醇型皂苷人参皂苷 Rb₁(**8**)、Rc(**9**)、Rb₂(**10**)和 Rd(**11**)已经完全水解(图 2B)。进一步延长水解反应时间后的水解产物经 HPLC 检测分析皂苷的成分和含量没有变化,表明 19 h 水解反应已经完全。水解产物中主

要有二个原人参二醇型皂苷:人参皂苷 compound K (**1**)和人参皂苷 Mc(**2**);四个原人参三醇型皂苷:人参皂苷 Rg₁(**3**)、人参皂苷 Rg₂(**4**)、人参皂苷 Re(**5**)和人参皂苷 F₁(**6**);以及拟人参皂苷 F₁₁(**7**)。其中人参皂苷 compound K 是西洋参总皂苷水解产物中含量最高的成分。

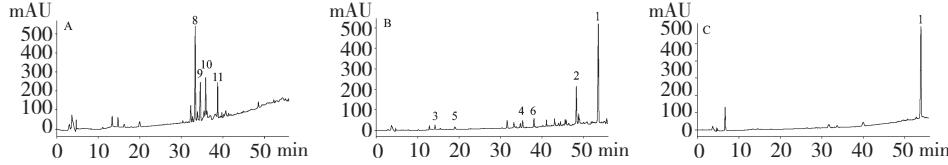


图 2 西洋参总皂苷水解前(A)和水解后(B)以及人参皂苷 compound K(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of total ginsenoside extract of *P. quinquefolium* before (A) and after (B) hydrolysis as well as ginsenoside compound K standard (C)

1:人参皂苷 compound K(ginsenoside compound K);2:人参皂苷 Mc(ginsenoside Mc);3:人参皂苷 Rg₁(ginsenoside Rg₁);4:人参皂苷 Rg₂(ginsenoside Rg₂);5:人参皂苷 Re(ginsenoside Re);6:人参皂苷 F₁(ginsenoside F₁);8:人参皂苷 Rb₁(ginsenoside Rb₁);9:人参皂苷 Rc(ginsenoside Rc);10:人参皂苷 Rb₂(ginsenoside Rb₂);11:人参皂苷 Rd(ginsenoside Rd)

2.2 水解产物结构鉴定

化合物 1 白色粉末,易溶于甲醇。HR-ESI-MS *m/z* 645.4342 [M + Na]⁺ (calcd for C₃₆H₆₂NaO₈, 645.4337);¹H NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ_H: 5.19 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, Glc-H-1), 1.63 (3H, s, H-21), 1.60 (6H, s, H-26, 27), 1.23 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-29), 1.00 (3H, s, H-30), 0.95 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19);¹³C NMR δ_C: 39.4 (C-1), 28.3 (C-2), 78.1 (C-3), 39.6 (C-4), 56.4 (C-5), 18.8 (C-6), 35.2 (C-7), 40.1 (C-8), 50.3 (C-9), 37.4 (C-10), 30.8 (C-11), 70.2 (C-12), 49.7 (C-13), 51.5 (C-14), 31.0 (C-15), 26.7 (C-16), 51.7 (C-17), 16.4 (C-18), 16.1 (C-19), 83.3 (C-20), 22.4 (C-21), 36.2 (C-22), 23.3 (C-23), 126.0 (C-24), 131.0 (C-25), 25.8 (C-26), 17.8 (C-27), 28.7 (C-28), 16.4 (C-29), 17.4 (C-30), 98.3 (C-20-Glc-1), 75.2 (C-20-Glc-2), 79.3 (C-20-Glc-3), 71.6 (C-20-Glc-4), 78.3 (C-20-Glc-5), 62.9 (C-20-Glc-6)。以上数据和文献报道的基本一致^[10],故化合物**1** 鉴定为人参皂苷 compound K,即 20(S)-原人参二醇-20-O- α -L-呋喃阿拉伯糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖苷(图 1)。

化合物 2 白色粉末,易溶于甲醇。¹H NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ_H: 5.67 (1H, s, Araf-H-1), 5.14 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, Glc-H-1), 1.67 (3H, s, H-27), 1.63 (6H, s, H-21, 26), 1.23 (3H, s, H-28),

1.04 (3H, s, H-29), 1.00 (3H, s, H-30), 0.94 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19);¹³C NMR δ_C: 39.6 (C-1), 28.3 (C-2), 78.1 (C-3), 39.6 (C-4), 56.4 (C-5), 18.8 (C-6), 35.2 (C-7), 40.1 (C-8), 50.3 (C-9), 37.4 (C-10), 30.8 (C-11), 70.3 (C-12), 49.5 (C-13), 51.2 (C-14), 30.9 (C-15), 26.7 (C-16), 51.7 (C-17), 16.4 (C-18), 16.1 (C-19), 83.4 (C-20), 22.4 (C-21), 36.2 (C-22), 23.2 (C-23), 126.1 (C-24), 131.1 (C-25), 25.8 (C-26), 17.9 (C-27), 28.7 (C-28), 16.4 (C-29), 17.4 (C-30), 98.1 (C-20-Glc-1), 75.1 (C-20-Glc-2), 79.3 (C-20-Glc-3), 72.2 (C-20-Glc-4), 76.6 (C-20-Glc-5), 68.5 (C-20-Glc-6), 110.2 (C-Ara-1), 83.4 (C-Ara-2), 78.9 (C-Ara-3), 86.1 (C-Ara-4), 62.7 (C-Ara-5)。以上数据和文献报道的基本一致^[11],故化合物**2** 鉴定为人参皂苷 Mc,即 20(S)-原人参二醇-20-O- α -L-呋喃阿拉伯糖基-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖苷(图 1)。

化合物 3 白色粉末,易溶于甲醇。¹H NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ_H: 5.17 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, 20-Glc-H-1), 5.02 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, 6-Glc-H-1), 2.07 (3H, s, H-21), 1.61 (3H, s, H-26), 1.60 (6H, s, H-27, 29), 1.52 (3H, s, H-28), 1.16 (3H, s, H-18), 1.04 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, s, H-30);¹³C NMR δ_C: 39.7 (C-1), 27.9 (C-2), 78.8 (C-3), 40.4

(C-4), 61.4 (C-5), 75.5 (C-6), 45.1 (C-7), 41.1 (C-8), 50.0 (C-9), 39.4 (C-10), 30.7 (C-11), 70.2 (C-12), 49.2 (C-13), 51.6 (C-14), 31.0 (C-15), 26.6 (C-16), 51.4 (C-17), 17.6 (C-18), 17.8 (C-19), 83.3 (C-20), 22.2 (C-21), 36.1 (C-22), 23.2 (C-23), 126.0 (C-24), 131.0 (C-25), 25.8 (C-26), 17.6 (C-27), 31.8 (C-28), 16.4 (C-29), 17.2 (C-30), 98.3 (C-20-Glc-1), 75.6 (C-20-Glc-2), 79.3 (C-20-Glc-3), 71.6 (C-20-Glc-4), 78.1 (C-20-Glc-5), 62.9 (C-20-Glc-6), 106.0 (C-6-Glc-1), 75.5 (C-6-Glc-2), 80.2 (C-6-Glc-3), 71.9 (C-6-Glc-4), 79.7 (C-6-Glc-5), 63.1 (C-6-Glc-6)。以上数据和文献报道的基本一致^[12],故化合物3鉴定为人参皂苷Rg₁,即6-O-β-D-吡喃葡萄糖基-20(S)-原人参三醇-20-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物4 白色粉末,易溶于甲醇。¹H NMR (400 MHz, pyridine-d₅) δ_H: 6.49 (1H, s, Rha-H-1), 5.26 (1H, d, J = 6.4 Hz, Glc-H-1), 2.12 (3H, s, H-28), 1.79 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha-H-6), 1.68 (3H, s, H-26), 1.63 (3H, s, H-27), 1.39 (3H, s, H-30), 1.35 (3H, s, H-21), 1.19 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-29); ¹³C NMR δ_C: 39.6 (C-1), 27.7 (C-2), 78.3 (C-3), 40.0 (C-4), 60.8 (C-5), 74.3 (C-6), 46.0 (C-7), 41.2 (C-8), 49.6 (C-9), 41.1 (C-10), 32.0 (C-11), 71.0 (C-12), 48.1 (C-13), 51.6 (C-14), 31.2 (C-15), 26.8 (C-16), 54.6 (C-17), 17.6 (C-18), 17.6 (C-19), 72.9 (C-20), 27.0 (C-21), 35.7 (C-22), 22.9 (C-23), 126.3 (C-24), 130.7 (C-25), 25.8 (C-26), 16.9 (C-27), 32.1 (C-28), 17.1 (C-29), 17.1 (C-30), 101.8 (C-6-Glc-1), 79.4 (C-6-Glc-2), 78.5 (C-6-Glc-3), 72.5 (C-6-Glc-4), 78.3 (C-6-Glc-5), 63.0 (C-6-Glc-6), 101.9 (C-Rha-1), 72.2 (C-Rha-2), 72.4 (C-Rha-3), 74.1 (C-Rha-4), 69.4 (C-Rha-5), 18.7 (C-Rha-6)。以上数据和文献报道的基本一致^[13],故化合物4鉴定为人参皂苷Rg₂,即20(S)-原人参三醇-6-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物5 白色粉末,易溶于甲醇。¹H NMR (400 MHz, pyridine-d₅) δ_H: 6.47 (1H, s, Rha-H-1), 5.24 (1H, d, J = 6.4 Hz, 6-Glc-H-1), 5.15 (1H, d, J = 8.0 Hz, 20-Glc-H-1), 2.09 (3H, s, H-21), 1.76 (3H, d, J = 6.0 Hz, Rha-H-6), 1.60 (6H, s, H-26, 27), 1.58 (3H, s, H-29), 1.35 (3H, s, H-28), 1.16

(3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, s, H-30); ¹³C NMR δ_C: 39.6 (C-1), 27.7 (C-2), 78.6 (C-3), 39.4 (C-4), 60.8 (C-5), 74.6 (C-6), 46.0 (C-7), 41.2 (C-8), 49.7 (C-9), 40.0 (C-10), 30.7 (C-11), 70.2 (C-12), 49.0 (C-13), 51.4 (C-14), 30.9 (C-15), 26.6 (C-16), 51.7 (C-17), 17.3 (C-18), 17.2 (C-19), 83.3 (C-20), 22.3 (C-21), 36.0 (C-22), 23.3 (C-23), 126.0 (C-24), 130.9 (C-25), 25.8 (C-26), 17.6 (C-27), 32.2 (C-28), 17.5 (C-29), 17.8 (C-30), 98.2 (C-20-Glc-1), 75.1 (C-20-Glc-2), 79.1 (C-20-Glc-3), 71.5 (C-20-Glc-4), 78.2 (C-20-Glc-5), 62.9 (C-20-Glc-6), 101.9 (C-6-Glc-1), 79.4 (C-6-Glc-2), 78.4 (C-6-Glc-3), 72.5 (C-6-Glc-4), 78.3 (C-6-Glc-5), 63.1 (C-6-Glc-6), 101.8 (C-Rha-1), 72.3 (C-Rha-2), 72.4 (C-Rha-3), 74.1 (C-Rha-4), 69.4 (C-Rha-5), 18.7 (C-Rha-6)。以上数据和文献报道的基本一致^[14],故化合物5鉴定为人参皂苷Re,即20-O-β-D-吡喃葡萄糖基-20(S)-原人参三醇-6-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物6 白色粉末,易溶于甲醇。¹H NMR (400 MHz, pyridine-d₅) δ_H: 5.21 (1H, d, J = 6.8 Hz, Glc-H-1), 2.00 (3H, s, H-21), 1.60 (9H, s, H-26, 27, 29), 1.47 (3H, s, H-28), 1.10 (3H, s, H-18), 1.02 (3H, s, H-19), 0.98 (3H, s, H-30); ¹³C NMR δ_C: 39.6 (C-1), 28.1 (C-2), 78.3 (C-3), 40.3 (C-4), 61.7 (C-5), 67.7 (C-6), 47.5 (C-7), 41.2 (C-8), 49.9 (C-9), 39.4 (C-10), 30.9 (C-11), 70.2 (C-12), 49.1 (C-13), 51.4 (C-14), 30.8 (C-15), 26.6 (C-16), 51.6 (C-17), 17.6 (C-18), 17.5 (C-19), 83.3 (C-20), 22.3 (C-21), 36.1 (C-22), 23.2 (C-23), 126.0 (C-24), 131.0 (C-25), 25.8 (C-26), 17.8 (C-27), 32.0 (C-28), 16.5 (C-29), 17.4 (C-30), 98.3 (C-20-Glc-1), 75.1 (C-20-Glc-2), 78.5 (C-20-Glc-3), 71.5 (C-20-Glc-4), 79.3 (C-20-Glc-5), 62.9 (C-20-Glc-6)。以上数据和文献报道的基本一致^[15],故化合物6鉴定为人参皂苷F₁,即20(S)-原人参三醇-20-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物7 白色粉末,易溶于甲醇。¹H NMR (400 MHz, pyridine-d₅) δ_H: 6.48 (1H, s, Rha-H-1), 5.25 (1H, d, J = 6.8 Hz, Glc-H-1), 2.10 (3H, s, H-28), 1.78 (3H, d, J = 6.4 Hz, Rha-H-6), 1.46 (3H, s, H-27), 1.33 (3H, s, H-29), 1.26 (3H, s, H-21),

1.25 (3H, s, H-26), 1.21 (3H, s, H-18), 0.95 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR δ_{C} : 39.5 (C-1), 27.7 (C-2), 78.3 (C-3), 40.0 (C-4), 60.8 (C-5), 74.3 (C-6), 46.0 (C-7), 41.2 (C-8), 49.6 (C-9), 41.1 (C-10), 32.0 (C-11), 71.0 (C-12), 48.1 (C-13), 51.6 (C-14), 31.2 (C-15), 26.8 (C-16), 54.6 (C-17), 17.6 (C-18), 17.6 (C-19), 86.7 (C-20), 27.0 (C-21), 32.8 (C-22), 28.8 (C-23), 85.6 (C-24), 70.3 (C-25), 27.2 (C-26), 27.6 (C-27), 32.4 (C-28), 18.2 (C-29), 16.9 (C-30), 101.8 (C-6-Glc-1), 79.4 (C-6-Glc-2), 78.6 (C-6-Glc-3), 72.6 (C-6-Glc-4), 78.4 (C-6-Glc-5), 63.1 (C-6-Glc-6), 101.9 (C-Rha-1), 72.3 (C-Rha-2), 72.4 (C-Rha-3), 74.2 (C-Rha-4), 69.4 (C-Rha-5), 18.7 (C-Rha-6)。以上数据和文献报道的基本一致^[16], 故化合物7鉴定为拟人参皂苷F₁₁, 即达玛-3 β , 6 α , 12 β , 25-四羟基-(20S, 24R)-环氧-6-O- α -L-吡喃鼠李糖基-(1→2)- β -D-吡喃葡萄糖苷。

3 讨论

HPLC 检测分析结果表明实验用的西洋参总皂苷中人参皂苷 Rb₁ 是含量最高的原人参二醇型皂苷成分, 其次是人参皂苷 Rd、Rc 和 Rb₂ (图 2A)。文献也报道在西洋参总皂苷中, 人参皂苷 Rb₁、Rd、Rc 和 Rb₂ 是其主要原人参二醇型皂苷成分, 且人参皂苷 Rb₁ 是其中含量最高的原人参二醇型皂苷^[1, 2, 9, 17]。研究已表明人参皂苷 compound K 可由原人参二醇型皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 和 Rd 等通过酶水解而产生^[5, 7]。从西洋参总皂苷的水解产物中分离得到的原人参二醇型皂苷除人参皂苷 compound K 外, 另外得到人参皂苷 Mc, 但没有分离到原人参二醇型皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 或 Rd。HPLC 检测分析也证明水解产物中只存在原人参二醇型皂苷 compound K 和 Mc, 而不存在主要原人参二醇型皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 和 Rd(图 2B)。HPLC 检测分析证明西洋参总皂苷中并不存在人参皂苷 compound K 和 Mc(图 2A), 这表明人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 和 Rd 已经完全被该 β -糖苷酶催化水解, 而人参皂苷 Mc 不能进一步被催化水解产生人参皂苷 compound K 或这种催化活性很低。

原人参二醇型皂苷的糖基连接在 C-3 或 C-20 的羟基上。原人参二醇型皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc 和 Rd 在 C-3 的羟基上连接有糖基, 而水解产物人参皂苷 compound K 和 Mc 在 C-3 的羟基上都没有糖基, 因

此推断该 β -糖苷酶能将西洋参中原人参二醇型皂苷的 C-3 的羟基的糖基全部水解。

人参皂苷 Rc 和 Rb₂ 的分子量相同而且结构也很相似, 区别在于连接在昔元 C-20 的糖基不同: 人参皂苷 Rc 是一个呋喃阿拉伯糖基连接在 C-20 的葡萄糖基的 6 位羟基上, 而人参皂苷 Rb₂ 是一个吡喃阿拉伯糖基连接在 C-20 的葡萄糖基的 6 位羟基上(图 1)。人参皂苷 Rc 经该 β -糖苷酶水解可产生人参皂苷 Mc, 如进一步水解可产生人参皂苷 compound K; 人参皂苷 Rb₂ 经该 β -糖苷酶水解可产生人参皂苷 compound K, 但不可能产生人参皂苷 Mc。由于从水解产物中只分离到人参皂苷 compound K 和 Mc, 表明该 β -糖苷酶能水解 C-20 的葡萄糖基上的吡喃阿拉伯糖基, 但不能水解 C-20 的葡萄糖基上的呋喃阿拉伯糖基或水解呋喃阿拉伯糖基的活性很低。

参考文献

- 1 Su J(苏健), Li YH(李海舟), Yang CR(杨崇仁). Studies on saponin constituents in roots of *Panax quinquefolium*. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2003, 28: 830-833.
- 2 Wang L(王蕾), Wang YP(王英平), Xu SQ(许世泉), et al. A review on studies of the components and pharmacological activity of *Panax quinquefolium* L. *Spec Wild Econ Anim Plant Res*(特产研究), 2007, 3: 73-77.
- 3 Yoshika I, Sugawara T, Imai K, et al. Soil bacterial hydrolysis: leading to genuine aglycone. V. on ginsenosides-Rb₁, Rb₂ and Re of the ginseng root saponins. *Chem Pharm Bull*, 1972, 20: 2418-2421.
- 4 Hasegawa H. Proof of the mysterious efficacy of ginseng basic and clinical trials metabolic activation of ginsenoside deglycosylation by in intestinal bacteria and esterification with fatty acid. *J Pharmacol Sci*, 2004, 95: 153-157.
- 5 Zhou W(周伟), Zhou P(周珮). Advances in the study of ginsenoside compound K. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2007, 42: 917-923.
- 6 Li XP(李相鹏), Wang P(王鹏), Li YX(李英霞). Progress in pharmacological actions of ginsenoside compound K, an activemetabolite of protopanaxadiol type saponins. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2011, 25: 97-101.
- 7 Li X(李学), Zang P(臧埔), Zhang LX(张连学), et al. Research progress on ginsenoside CK production by microbial transformation. *Food Sci*(食品科学), 2012, 33: 323-327.

(下转第 1567 页)