

[68] 王建华, 刘建平, 樊 蓉, 等. 传统药物戒毒相关专利文献计量分析[J]. 中国药物依赖性杂志, 2023, 32(5): 457-46.

[69] 王小雪, 卢 杉, 郑思悦, 等. 归经中药化学成分、药理作用及临床应用的实证分析[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(11): 5193-5197.

[70] 张铁军, 许 浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物 (Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.

[71] 曹 瑶, 李 凯, 原军宁, 等. 延胡索不同生长时期和不同部位中 8 种生物碱含量动态比较[J]. 中药材, 2021, 44(1): 41-46.

[72] 李 凯, 原军宁, 彭晶晶, 等. 不同规格延胡索中 8 种生物碱比较[J]. 中成药, 2020, 42(5): 1244-1249.

[73] Wang H N, Wang Z C, Jiang M R, *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of five bioactive components in the *Corydalis yanhusuo* total alkaloids transdermal patch following Shenque acupoint application in rats assessed by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Biomed Chromatogr*, 2023, 37(1): e5508.

[74] Li Y R, Zhang T, Huai J X, *et al.* Metabolite profiling of l-isocorypalmine in rat urine, plasma, and feces after oral administration using high performance liquid chromatography coupled to Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(2): 619-627.

[75] 张 纯, 范晓良, 陈叶青, 等. 基于 Q-marker 等多维度评价延胡索配方颗粒的质量[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2464-2469.

达玛烷型人参皂苷羧酸衍生物结构与抗肿瘤机制研究进展

赵升铭, 周 旋, 袁松竹, 王 斌, 雷 军*, 陈 屏*
(吉林农业大学生命科学学院, 吉林省人参基因资源开发与利用工程研究中心, 吉林 长春 130118)

摘要: 达玛烷型人参皂苷口服后在胃肠道经去糖基化, 在肝或肠系膜再经脂肪酸酯化后的代谢产物具有更好的抗肿瘤活性, 因此一些学者利用化学方法对人参皂苷 M₁、M₄、Rh₂、Rg₃、PPD、PPT 等进行结构修饰, 获得一系列人参皂苷羧酸衍生物, 并对其抗肿瘤作用机制开展了研究。与前体比较, 体外细胞实验中一些人参皂苷羧酸衍生物表现出更强的肿瘤细胞杀伤活性, 以及对正常体细胞更低的毒性; 体内实验中, 某些人参皂苷羧酸衍生物如人参皂苷 M₁ 油酸酯、人参皂苷 Rh₂ 辛酸酯在肿瘤血管增殖, 肿瘤细胞迁移、侵袭, 免疫调节等方面显示出更强的作用。探究原因, 可能是达玛烷型人参皂苷经去糖基和酯化后分子结构极性降低, 分子亲脂性增强, 其被肿瘤细胞的吸收方式改变, 从而提高了被肿瘤细胞跨膜吸收的效率和在肿瘤细胞内的积蓄时间。本文简要介绍了达玛烷型人参皂苷羧酸衍生物的酯化修饰方法, 并对已开展的修饰产物抗肿瘤作用机制研究工作进行总结。人参皂苷羧酸衍生物在抗肿瘤药物或相关产品开发上具有极大的潜力, 未来可在酯化修饰方法、结构优化、抗肿瘤机制、用药剂型等许多方面开展细致和深入的研究工作。

关键词: 达玛烷型人参皂苷; 羧酸衍生物; 结构; 抗肿瘤机制

中图分类号: R284.1; R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2025)03-0883-09
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.03.027

人参皂苷是人参、西洋参、三七等植物重要有效成分之一, 其抗肿瘤作用一直是研究热点, 人参皂苷 Rg₃^[1]、Rh₂^[2]、M₁^[3] (亦称 Compound K、CK 或 IH901)、原人参三醇组皂苷 (PPT)^[4]、原人参二醇组皂苷 (PPD)^[5] 等达玛烷型人参皂苷可抑制肿瘤细胞生长、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成、增强宿主免疫调节、改善宿主肿瘤微

收稿日期: 2023-06-01
基金项目: 吉林省教育厅科学技术项目 (JJKH20200362KJ); 吉林省科技发展规划项目 (20190201171JC)
作者简介: 赵升铭 (1999—), 男 (满族), 硕士生, 从事天然活性成分生物转化研究。Tel: 15754431730, E-mail: 335038784@qq.com
* 通信作者: 雷 军 (1974—), 男, 博士, 副教授, 从事天然药物发现、修饰与活性评价, 天然药物生物转化与生物合成研究。Tel: 18143099868, E-mail: 108013230@qq.com
陈 屏 (1977—), 女, 博士, 副教授, 从事天然活性成分研究及生物转化研究。Tel: 18143099869, E-mail: chenping201407@126.com
网络出版日期: 2024-02-27
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20240227.0948.004.html>.

环境^[6-8]，以人参皂苷 Rg₃ 为主成分的人参胶囊已在国内上市。达玛烷型人参皂苷抗肿瘤活性由强到弱依次为齐墩果酸型、二醇型、三醇型；同类型中糖基数越少活性越强，苷元最强^[9]。人或大鼠口服达玛烷型人参皂苷后，大量随粪便排出，少量于胃肠道被去糖基，其主要代谢产物二醇型人参皂苷（M₁）和三醇型人参皂苷（M₄）被吸收入血^[10-11]，M₁ 在肝被酯化并积蓄，M₄ 在肠系膜被酯化并在肝、肺积蓄^[12-13]。单独喂服 M₁ 或 M₄ 分离得到相似代谢物，质谱分析表明其为两者的脂肪酸单酯混合物^[12-13]。这些混合物比 M₁、M₄ 持续时间更长、抗肿瘤活性更好、细胞毒性更低^[12-14]。此后发现许多人参皂苷羧酸衍生物对肿

瘤细胞有抑制作用，部分衍生物同样活性高、毒性低。本文从制备方法、产物肿瘤抑制活性及作用机制等方面对已发表成果进行梳理，以期对达玛烷型人参皂苷深入研究提供依据。

1 达玛烷型人参皂苷羧酸衍生方法及衍生物结构

达玛烷型人参皂苷羧酸修饰多数选择分子结构中含有 2 个及以下糖基的人参皂苷、苷元及侧链发生环合或羟基化的衍生物，见图 1。酰化试剂一般为常见的有机酸、有机酸酐、酰氯，催化剂包括 DMAP、DCC、DIC 等。修饰产物根据酯基数量可分为单酯、二酯和多酯。

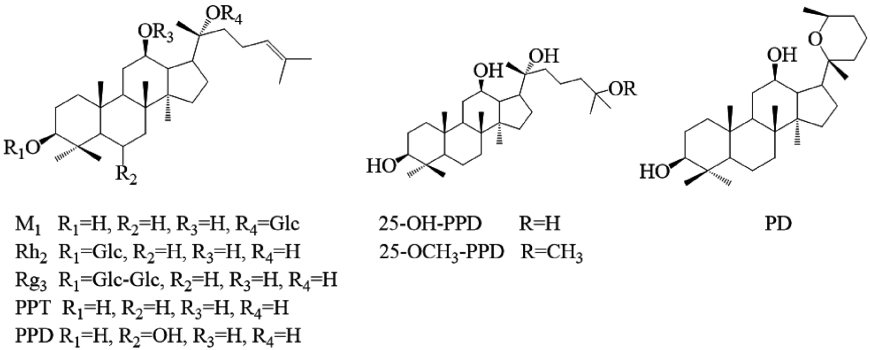


图 1 人参皂苷 M₁、Rh₂、Rg₃、PPT、PPD、PD 结构式

1.1 单酯 Schotten-Baumann 法及其改良法常被用于人参皂苷单酯的结构修饰，即将人参皂苷溶于有机溶剂（氯仿、乙酸乙酯、二氯甲烷等）中，加入酰卤，与水混合在 0℃ 或室温下搅拌 12~48 h，可从有机相中分离得到 6'-O-十二烷酰基人参皂苷 M₁（DM₁）、6'-O-棕榈酰基人参皂苷 M₁（PM₁）、6'-O-硬脂酰基人参皂苷 M₁（SM₁）^[15]、6'-O-丁酰

基人参皂苷 M₁（CK-B）^[16]、6'-O-辛酰基人参皂苷 M₁（CK-O）^[17]、6'-O-辛酰基人参皂苷 Rh₁（ORh₁）^[18]、12-O-油酰基人参皂苷 M₄（OM₄-12）^[13]，见图 2。该方法通过降低反应温度降低脂肪酰氯活性，从而将酰化位置控制在糖基 C-6'位，但转化率和收率不理想。

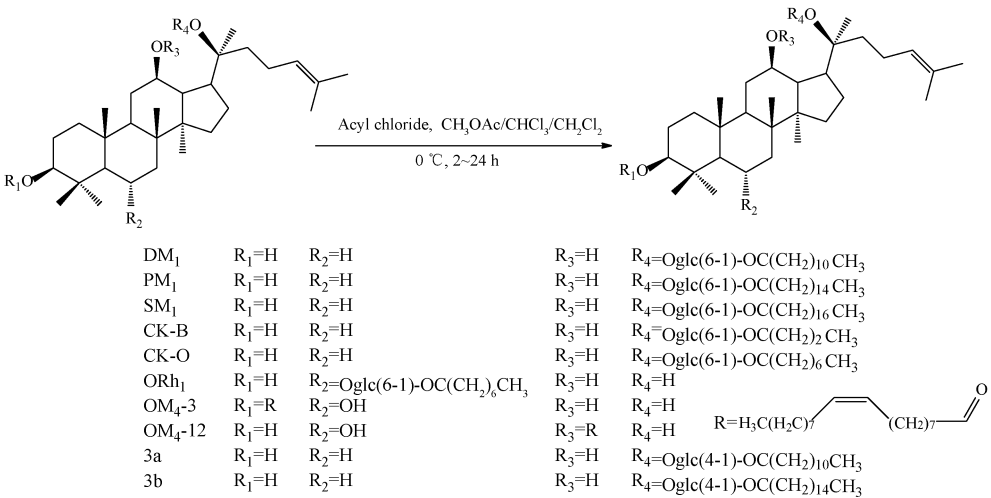


图 2 Schotten-Baumann 法修饰人参皂苷 M₁、M₄、Rh₁ 及修饰产物结构式

室温下二氯甲烷中人参皂苷 Rh₂ 与辛酰氯反应的得到人参皂苷 Rh₂ 辛酸酯（Rh2-O）^[19]；吡啶中人参二醇（PD）与乙酸酐、棕榈酰氯或硬脂酰氯 40~80℃ 回流 0.5~2 h 得到 3β-乙酰氧基人参二醇（EOPD）、3β-棕榈酰基人参二醇

（POPD）、3β-十八烷酰基人参二醇（SOPD），产率分别为 75.14%、79.08%、72.57%^[20]，见图 3。

室温下二氯甲烷中将人参皂苷 M₁、十二烷酸、DIC、DAMP 混合反应 6 h，得到酰化位置分别在葡萄糖基 C-3'、

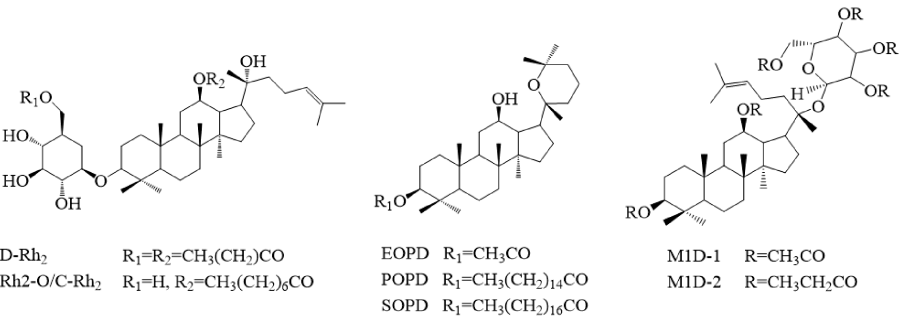


图 3 人参皂苷 Rh₂、PD、M₁ 等羧酸衍生物结构式

C-4'、C-6'的人参皂苷 M₁ 十二烷酸单酯 3a、3b、3c（即 DM₁）^[21]，见图 2；利用叔丁基二甲氯硅烷（TBDMSCl）对人参皂苷 M₁ 的 C-6'羟基保护，则可得到 C-3'的羧酸衍生物^[22]，见图 4。二氯甲烷中将一定比例 PD 或 25-羟基人参二醇（25-OH-PPD）、催化剂 DCC 和 DMAP 以及有机酸混合并振荡 24 h，可得到一系列 C-3 位或 C-12 位的 PD 或 25-

OH-PPD 有机酸衍生物^[23-25]，见图 5。在将氨基酸的 2 位氨基或吡咯环上的“-NH-”用 N-1，1-二甲基乙氧基酰基（N-BOC）保护后，以 PD 和 25-OH-PPD 为底物合成了多种人参皂苷 N-BOC 氨基酸酯，再经解保护得到一系列人参皂苷氨基酸衍生物^[23,26]，见图 6。此外以酶催化得到 3-O-油酰基人参皂苷 M₄（OM₄-3）^[13]，见图 2。

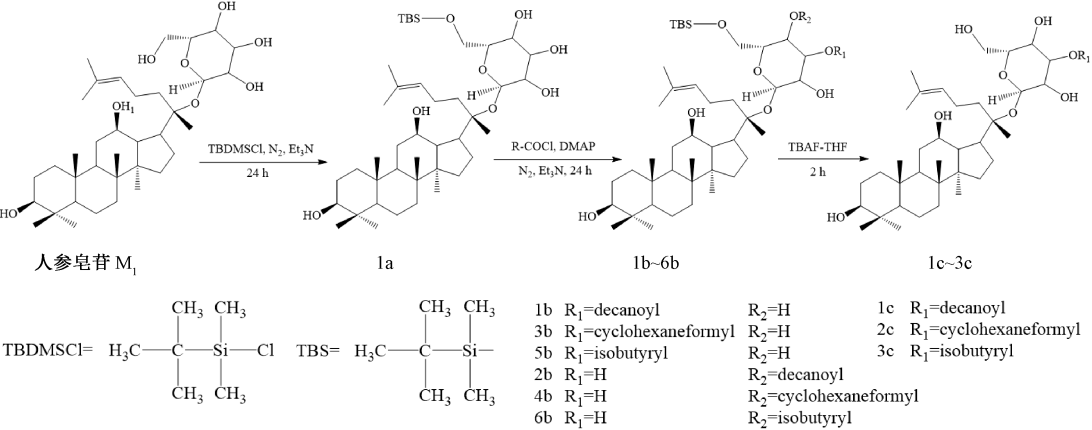


图 4 C-3'人参皂苷 M₁ 羧酸修饰及产物结构式

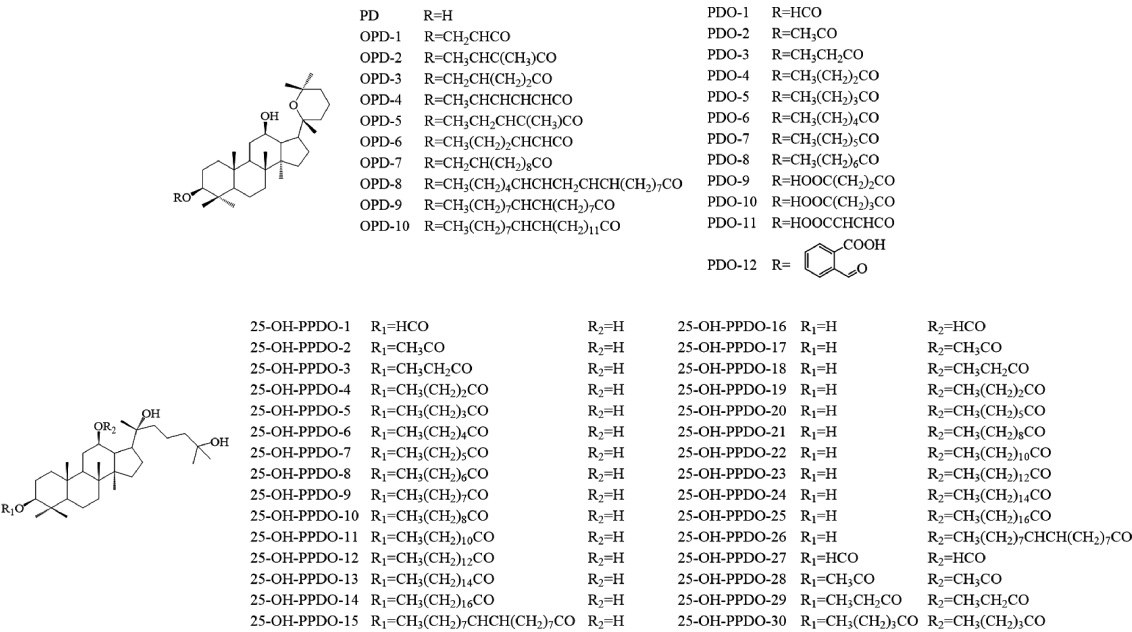


图 5 PD、25-OH-PPD 羧酸修饰产物结构式

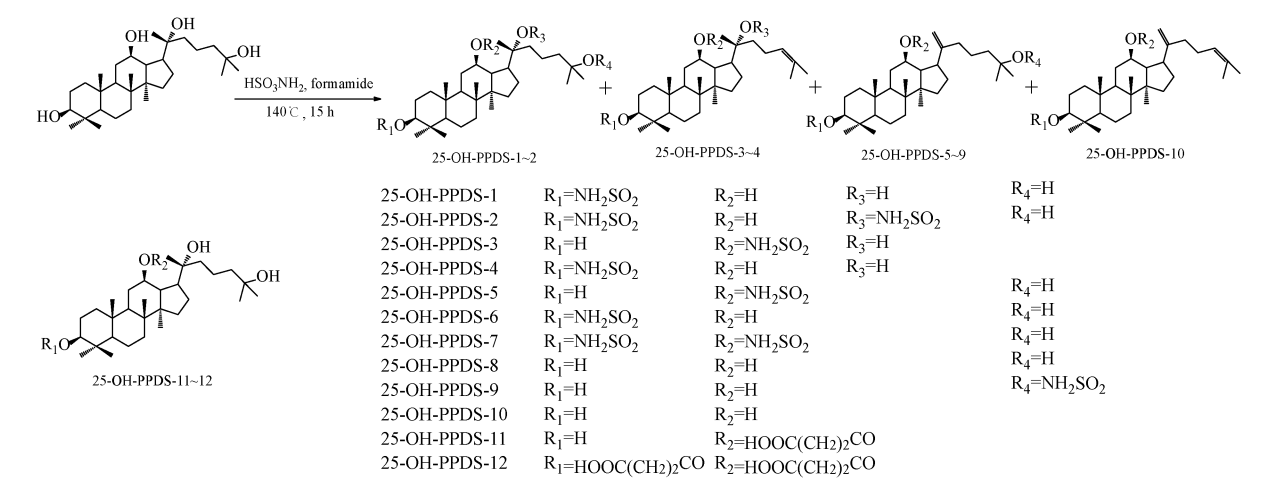


图 6 PD 和 25-OH-PPD 氨基酸衍生及产物结构式

1.2 二酯、多酯 与人参皂苷单酯相比，二酯、多酯的合成具有转化率高的优势，但酰化位点控制较难，合成产物种类多。吡啶中 M₁ 与乙酸酐或丙酸酐混合，60 °C 恒温 24 h 全部羟基被酰化；80~90 °C 下经 DMAP 催化 24 h 可得到全部羟基被酰化的丁酰基、戊酰基、2-甲基丙酰基、3-甲基丁酰基衍生物^[27]。以此方法也可得到 Rh₂ 二酯（D-Rh₂）^[28]和单酯 C-Rh₂（即 Rh₂-O）^[29]，见图 3。用 2-氯乙酰氯、氨基磺酸、丁二酸酐分别修饰人参皂苷 25-OH-PPD、25-甲氧基 20S 原人参三醇（25-OCH₃-PPD）过程中得到一系列脱水的酯化产物^[30-32]，见图 7~9。

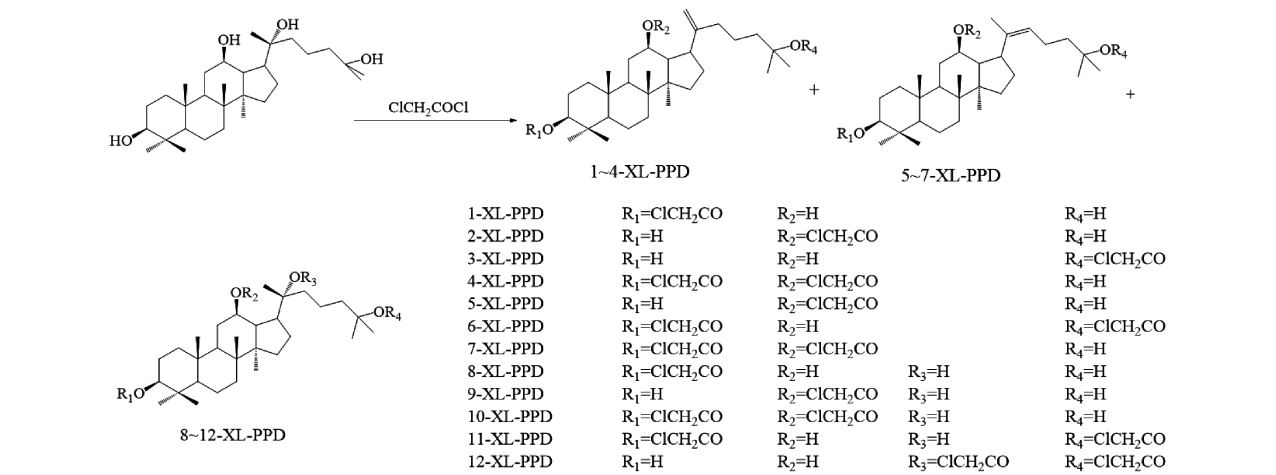


图 7 25-OH-PPD 经 2-氯乙酰氯修饰的产物结构式

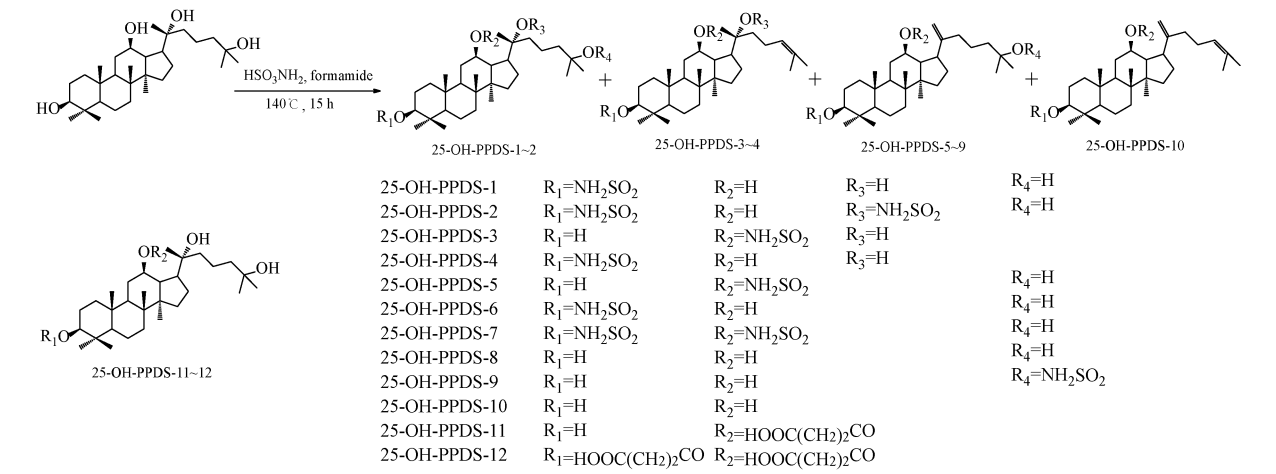


图 8 25-OH-PPD 经氨基磺酸或丁二酸酐修饰的产物结构式

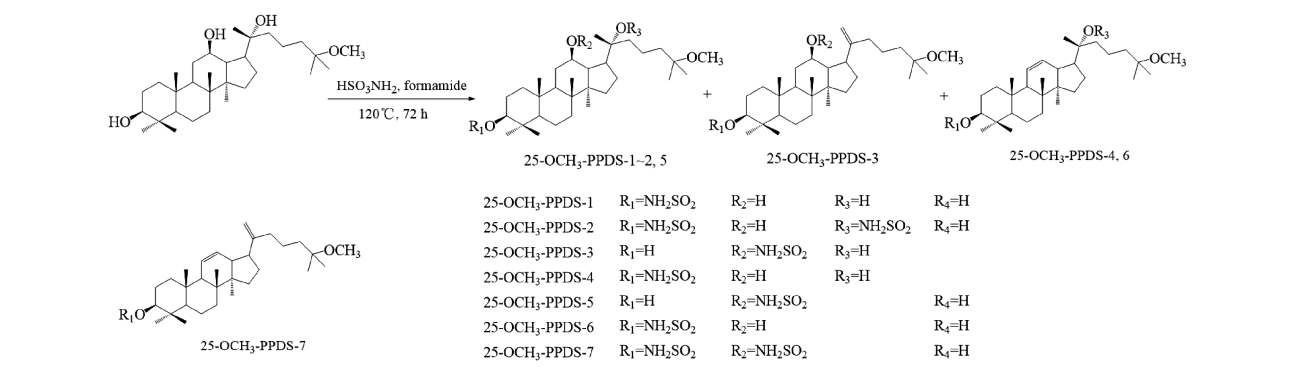


图 9 25-OCH₃-PPD 经氨基磺酸修饰的产物结构式

O-(苯并三氮唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲四氟硼酸盐 (TBTU) 催化偶联制备酯的可控选择性制备方法^[33]被用于人参皂苷 R_{g3} 羧酸酯合成,即室温下将棕榈酸 (2.87 g)、*N,N*-二异丙基乙胺 (DIEA, 1.95 mL) 和 TBTU (3.59 g) 溶解在 100 mL 吡啶中,加入 20 (*R*)-人

参皂苷 R_{g3} (4 g),室温下搅拌 24 h,生成了 20 (*R*)-人参皂苷 R_{g3}-6',6''-棕榈酸二酯 (R_{g3}-PA)、20 (*R*)-人参皂苷 R_{g3}-6'-棕榈酸酯 (R_{g3}-PB)、20 (*R*)-人参皂苷 R_{g3}-6''-棕榈酸酯 (R_{g3}-PC)^[34],见图 10。

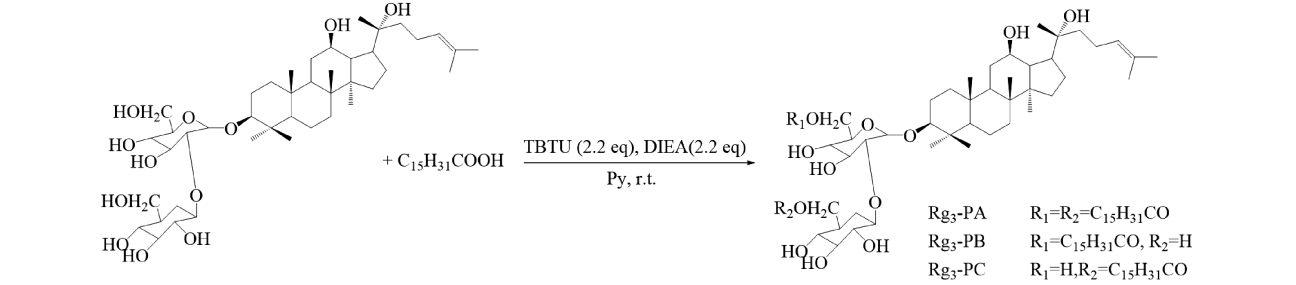


图 10 人参皂苷 R_{g3} 经 TBTU 催化的棕榈酸衍及产物结构式

为解决人参皂苷羧酸酯靶向输送困难及生物利用度、吸收和溶解度较差的问题,聚乙二醇也被尝试引入到人参

皂苷分子结构中,得到 PEG-CK (C-3、C-6' 二酯)^[35]、PEG-PPD (C-3 单酯)^[36],见图 11。

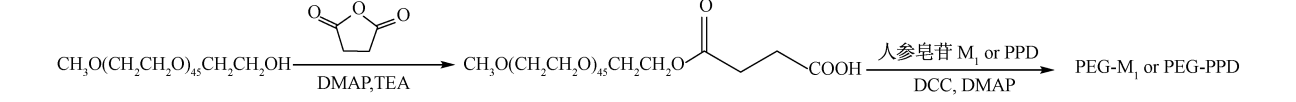


图 11 人参皂苷聚乙二醇偶联

2 人参皂苷羧酸衍生物体外、体内抗肿瘤活性

在研究人参对肿瘤细胞 SK-MEL-2^[15]、COR-L23^[15]、B16^[15]、Caco-2^[16]、H22^[18]、HL-02^[19]、MDA-MB-231^[22]、MCF-7^[15,22]、ES-2^[23]、U2-OS^[23]、A549^[23]、HepG2^[15,19]、RAW264.7^[27]、HUVEC^[20,27]、PANC-1^[34] 的体外毒性试验中发现,达玛烷型人参皂苷羧酸修饰产物相比于前体活性更强,在浓度为 20~30 μmol/L 时即具有抗肿瘤作用,并呈剂量与时间依赖性,某些修饰产物对肿瘤细胞的杀伤力甚至与 5-氟尿嘧啶 (5-FU)、丝裂霉素 C 相当,详见表 1。

在 H22^[17,29,37,39]、HepA、MFC^[40] 细胞的鼠模型实验中,人参皂苷酯均表现出比前体更好的肿瘤抑制活性,在剂量为 10 mg/kg 时即可显示比较理想的效果;达到 20 mg/kg 时效果甚至可与阳性对照药物相当。比如 20 mg/kg SM₁ 对 HepA 细胞抑制率为 51.66%,而阳性对照 30 mg/kg 环磷酰胺 (CTX) 为 71.15%,其对 MFC 细胞的抑制率为

52.00%,而 30 mg/kg CTX 为 70.11%^[40]。10 mg/kg Rh2-O 对 H22 细胞的抑制率为 (50.58±10.59)%,而 CTX 为 (52.26±7.31)%^[38];5~10 mg/kg D-Rh₂ 对 H22 细胞的抑制率为 53%~75%,而 20 mg/kg CTX 为 72%^[28]。其中 CTX 组部分小鼠死亡,而人参皂苷羧酸衍生物治疗组中未出现^[29],验证其毒性更低^[17,24,38,41]。

3 抗肿瘤机制

在深入探讨人参皂苷羧酸衍生物抗肿瘤的作用机制时,研究对象更多选择人参皂苷 M₁ 和同为二醇型单糖苷的人参皂苷 Rh₂,早期对三醇型人参皂苷 M₄ 的羧酸衍生物亦有涉及,见图 12。

3.1 酯化可以提高吸收效率 在关于 Caco-2 细胞对人参皂苷 Rh₂、Rh2-O^[41]、M₁、6'-*O*-丁酰基人参皂苷 M₁ (CK-B)、CK-O^[16] 摄取情况的研究中发现,Rh₂、CK 的 BL-AP 向渗透率是 AP-BL 向的 2 倍以上,但 Rh2-O、CK-B、CK-O 的双

表 1 人参皂苷及其脂肪酸酯体外抗肿瘤活性

细胞系	化合物	化合物 IC ₅₀ 值/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	阳性对照药	阳性对照药 IC ₅₀ 值/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	文献
THP-1	PDO-5~6, 9~12	3.47±0.32~8.88±0.58	5-FU	4.41±0.36	[24]
HL-60	PDO-6	6.68±0.65	5-FU	2.38±0.26	[24]
PC-3	PDO-9~12	6.73±0.43~10.52±0.56	5-FU	22.59±2.65	[24]
Vero	EOPD	—	5-FU	38.3±4.0%	[20]
BGC-823	4-XL-PPD	15.25±0.98	丝裂霉素 C	50.10±1.74	[30, 37]
SGC-7901	4-XL-PPD	14.01±0.49	丝裂霉素 C	54.67±1.54	[30, 37]
MKN-28	4-XL-PPD	13.41±0.89	丝裂霉素 C	46.78±1.78	[30, 37]
MGC-803	4-XL-PPD	39.34±1.33	丝裂霉素 C	62.32±2.63	[30, 37]
GES-1	4-XL-PPD	118.20±4.51	丝裂霉素 C	77.89±2.56	[30, 37]
MCF-7	25-OH-PPDO-27	1.1	5-FU	16.2	[25]
	25-OH-PPDO-1~3, 16~18, 20	10.4~16.3	—	—	[25]
A549	25-OH-PPDO-17	10.4	5-FU	12.8	[25]
Lovo	25-OH-PPDO-16~20, 27~29	37.5~49.6	5-FU	3.3	[25]
IOSE144	25-OH-PPDO-1~30	>100	5-FU	25.6	[25]

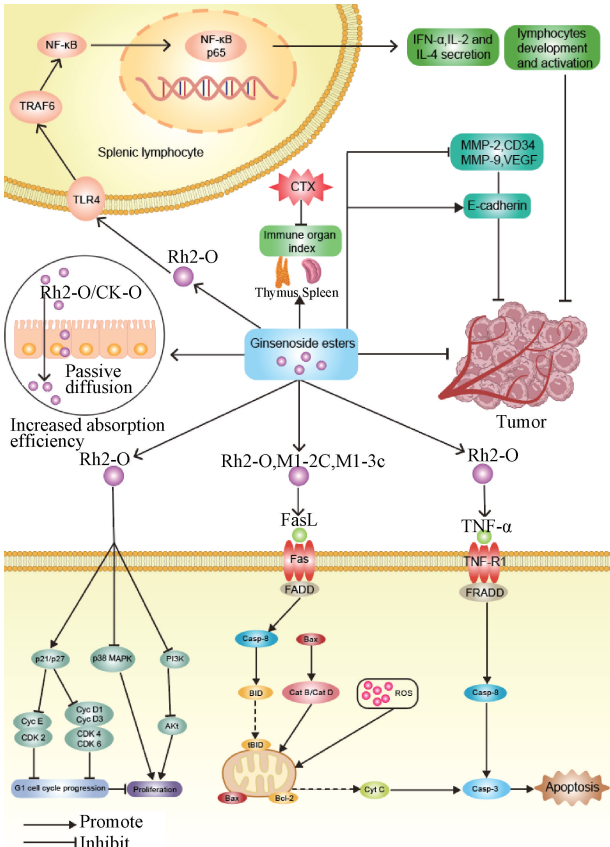


图 12 人参皂苷羧酸衍生物肿瘤活性机制示意图

向渗透率基本一致，分析各化合物不同给药浓度、不同给药时间的渗透系数认为 Rh₂、CK 的渗透机制可能是细胞旁被动扩散和 BL-AP 方向的主动外排，而 Rh2-O、CK-B、CK-O 的渗透可能只有跨细胞的被动扩散。乙二醇双 α-氨基乙基醚四乙酸（EGTA）和 LTD4 受体拮抗剂 MK-571 对 Rh₂、Rh2-O、CK、CK-B、CK-O 的渗透系数没有显著影响，而维拉帕米可以促进 Rh₂ 和 CK 的 AP-BL 方向外排并抑制 BL-AP 方向外排，但对 CK-B 和 CK-O 没有显著影响，提示 P-gp 可能是 CK 主动外排的关键蛋白。Rh₂ 和 CK 的渗透系数小于 1.0×10⁻⁶，吸收较差，而 Rh2-O、CK-B、CK-O 的渗

透系数在 1.0×10⁻⁶ ~ 1.0×10⁻⁵ 之间具有中等吸收度。体外 HepG2 细胞中进一步验证了 Rh2-O 的吸收率高于 Rh₂ [19]。
3.2 对肿瘤血管增殖、迁移和侵袭的影响 小鼠静脉注射 B16-BL6 黑色素瘤肺转移增强模型中，人参皂苷 M₄ 相比于自然杀伤细胞（NK 细胞）抑制剂 anti-asialo GM1 能更有效地抑制 2-氯腺苷预处理的肿瘤细胞转移增强，提示其通过 NK 细胞激活达到抑制肿瘤转移；在体外实验中 OM₄-3 表现出比人参皂苷 M₄ 更强的脾 NK 细胞活性增强作用 [13]。

血管内皮细胞生长因子（VEGF）是刺激血管内皮细胞增殖、迁移和形成血管的主要因子，在肿瘤生长、转移过程中发挥关键作用。人参皂苷 Rh₂、Rg₃ 等均可通过降低 VEGF 抑制肿瘤生成和转移 [42-43]。在 H22 细胞小鼠模型实验中，人参皂苷 Rh₂、Rh2-O 均能降低 VEGF 表达，并呈剂量依赖性，质量浓度为 10 mg/kg 时 Rh2-O 对 VEGF 的抑制作用明显优于 Rh₂ [38, 44]。在 MGC-803 细胞的 Transwell 平板迁移实验中，4-XL-PPD 通过降低 MMP-2、MMP-9、CD34 蛋白表达，升高 E-cadherin 蛋白表达，从而抑制肿瘤细胞的迁移 [37]。

3.3 诱导肿瘤细胞凋亡

3.3.1 内源性凋亡途径 细胞凋亡是一种基因诱导的程序性细胞死亡，在抗肿瘤治疗过程中由某些药物诱导，人参皂苷羧酸衍生物通过激活内在凋亡途径表现出优异抗肿瘤活性。人参皂苷 Rh₂ 和 Rh2-O 均可诱导 HepG2 细胞凋亡发生溶酶体膜透化，使溶酶体组织蛋白酶 CatB 和 CatD 释放到细胞质中，降低 Bcl-2 表达，升高 Bax、tBid 表达，质量浓度为 10 mg/kg 时 Rh2-O 对 Bax、tBid 升高作用明显高于 Rh₂，进而导致线粒体膜透化，之后释放细胞色素 C（Cyt C），激活 caspase 家族蛋白，使 PARP 裂解，HepG2 细胞发生内源性凋亡途径 [17, 19, 38, 45]。Bax 是溶酶体膜透化的上游，2c、3c（图 4）可改变 MCF-7 细胞线粒体膜电位，引起乳腺癌细胞的自噬 [22]。Rh2-O 处理 HepG2 细胞后可使细胞内 ROS 水平失衡导致线粒体功能障碍，从而激活内在的凋亡途径 [19]，提示 ROS 可能是 Rh2-O 诱导的 HepG2 细胞生长抑制的关键介质。人参皂苷 Rh₂ 和 Rh2-O 均对 H₂O₂ 刺激的

HUVEC 氧化损伤表现出保护作用,可有效抑制半胱天冬酶-3 和 HUVEC 凋亡的活化^[41]。

3.3.2 外源性凋亡途径 外源性细胞凋亡途径开始于特异性死亡受体与配体结合,使死亡受体的结构域寡聚化,后募集 caspase-8 和衔接打靶 FADD 形成死亡诱导信号复合体 DISC。激活的 caspase-8 引发后续 caspase 级联反应促进细胞死亡。在 H22 荷瘤小鼠模型中,经人参皂苷 Rh₂ 和 Rh2-O 处理后,检测细胞受体表明,与对照组比较,随着 Rh2-O 浓度的增加,Fas、TNFR1、TNF-α、FasL 蛋白表达升高 ($P<0.05$),且 Rh2-O 的作用优于 Rh₂^[38,46]。人参皂苷羧酸衍生物可通过激活死亡受体和 Fas/FasL 途径,最终激活 caspase 级联反应,使细胞激活外源性凋亡途径。

3.4 对细胞周期的影响 控制肿瘤细胞增殖和生长是对抗肿瘤常用的方法,研究表明,人参皂苷可通过降低影响细胞周期蛋白及其激酶等使细胞周期阻滞,从而影响细胞进程达到抗肿瘤的目的^[47-48],人参皂苷羧酸衍生物亦可起到相同作用。以人肝癌细胞系 HepG2 为材料,经人参皂苷 Rh₂ (17.5 μmol/L) 和 Rh2-O (10、15、17.5 μmol/L) 处理 12 h 后,检测细胞周期相关蛋白表达,结果表明,经 10、15、17.5 μmol/L Rh2-O 处理后,HepG2 细胞的 G₁ 期细胞数由对照组的 45.86% 分别增加至 50.73%、56.48%、70.07%; G₂ 期细胞数由对照组的 16.10% 分别降至 12.61%、8.10%、3.02%。17.5 μmol/L Rh₂ 处理后的 G₁ 期细胞数低于 Rh2-O ($P<0.05$)。Rh2-O 能升高 p21^{WAF1/CIP1}、p27^{CIP} 表达并呈剂量依赖性,从而抑制周期蛋白依赖性激酶 (CDK2、CDK4) 与周期蛋白 (cyclin D3、cyclin E) 的结合,导致 HepG2 细胞 G₁ 期阻滞。活化的 Akt 和 p38 MAPK 可调节细胞生长,Rh2-O 亦可抑制 PI3K/Akt 信号途径中 Akt 的活化、提高 p38 MAPK 的磷酸化水平,而总 Akt、p38 MAPK 水平不受影响,从而诱发 HepG2 细胞 G₁ 期阻滞^[46]。以上结果表明,Rh2-O 通过改变细胞周期蛋白、细胞周期蛋白激酶、细胞周期蛋白激酶抑制因子水平调控细胞周期,并且具有比前体更强的作用。

3.5 对免疫系统的影响

3.5.1 增强免疫器官指数 CTX 具有较高的抗肿瘤活性,但同时亦有很强不良反应,比如对免疫系统的破坏。人参皂苷羧酸衍生物可以缓解 CTX 对免疫系统的抑制,并且改善因 CTX 导致的胸腺和脾脏等免疫器官的萎缩。如 CK-O、Rh2-O、D-Rh2 (10 mg/kg) 均可提高因 CTX 治疗后导致胸腺和脾脏指数的抑制 ($P<0.05$)^[17,28,38]。

3.5.2 对淋巴细胞亚群的影响 人参皂苷可通过增强机体免疫反应而抑制肿瘤的生长^[49-50],流式细胞术检测结果表明,与阴性对照组比较,Rh₂、Rh2-O 治疗组中 CD3⁺ 淋巴细胞和 NK 细胞的百分比、CD4⁺/CD8⁺ 比率均增加 ($P<0.05$),CTX 组比例降低,10 mg/kg Rh2-O 效果明显优于 Rh₂ ($P<0.05$)^[38]。在淋巴细胞的活性方面,Rh2-O 可促进淋巴细胞的增殖和细胞毒性^[39]。

3.5.3 对淋巴细胞因子的影响 TLR4 被激活时巨噬细胞

可以分泌 TNF-α、IL-1β、IL-6 等细胞因子调节先天免疫,激活 B 淋巴细胞调节特异性免疫。Rh2-O 可升高 TLR4 表达,促进 H22 荷瘤小鼠血清 IL-2、TNF-α 的生成 ($P<0.05$) 且高于 LPS 组和 CTX 组 ($P<0.05$)。结果表明,与对照组和 CTX 组比较,10 mg/kg 人参皂苷 Rh₂ 和 Rh2-O 处理后可促进荷瘤小鼠血清 IL-2、TNF-α 的生成 ($P<0.05$),分别为 73、130 pg/mL 和 75、153 pg/mL,CTX 组 IL-2、TNF-a 水平降低,这可能源于 CTX 的免疫抑制 ($P<0.05$)^[38]。与对照组比较,Rh2-O 组 IFN-γ、IL-2、IL-4 的分泌水平分别增加 2.82、2.49、1.39 倍。当 TLR4 被敲除时,Rh2-O 组 IFN-γ、IL-2、IL-4 的分泌水平降低,分别由 (294.42±23.30)、(197.07±11.76)、(390.06±21.43) pg/mL 降低至 (201.55±6.50)、(156.49±12.52)、(325.37±13.54) pg/mL,显示出与 LPS 组相同的趋势。与对照组和 CTX 组比较,Rh2-O 能升高 TRAF6 和核内 NF-κB p65 mRNA 表达 ($P<0.05$)。而在 Tlr4^{-/-} 小鼠中,Rh2-O 组脾淋巴细胞 TRAF6、p65 mRNA 表达部分降低,同时 TRAF6 蛋白表达和 p65 向细胞核内的转位均被部分抑制。综上所述,Rh2-O 可能通过 TLR4 调节 TRAF6/NF-κB 通路来介导免疫调节作用^[39]。

4 展望

目前研究成果显示达玛烷型人参皂苷羧酸衍生物体外对多种肿瘤细胞生长有抑制作用,体内抗肝癌、胃癌活性,而且抑瘤效果比前体更好。但国内外本领域的研究还不是很热门,究其原因是稀有人参皂苷,如 Rg₃、M₁、Rh₂ 等,天然含量低;以物理、化学、酶或生物方法制备这些人参皂苷成本较高。原材料制备不易让许多学者对达玛烷型人参皂苷羧酸衍生物的研究望而却步。达玛烷型人参皂苷羧酸衍生物中单酯衍生物收率不理想,二酯、多酯衍生物脂溶性强、给药困难,给其体内体外活性研究带来许多挑战。基于此,可一方面尝试对分子中糖基数量≥2 的人参皂苷如 Rb₁、Rc 等进行羧酸衍生,并对衍生产物进行活性研究;另一方面可以在剂型方面开展一些探索性工作,如口服给药方面可以尝试肠溶片/颗粒、纳米材料包埋等;注射给药方面,可尝试在结构中引入小分子亲水基团或制成盐。近年来,国际新药市场上“生物导弹”越来越多,ADCs 药物设计目前在人参皂苷羧酸衍生物上应用距离尚远,但未来也是一个重要研究方向^[51]。

此前曾报道人参皂苷 Rh₂ 的糖基 C-2' 脱氧后通过调节线粒体凋亡途径,显示出抑制糖酵解和抑制线粒体呼吸作用的双靶向作用,具有显著的抗肿瘤活性^[52],PD 的 C-3 位氧化成酮再经 C-2 位次甲基化具有对 PC-3 细胞系更高的细胞毒性^[53]。因此达玛烷型人参皂苷羧酸衍生物的结构关系也需要进一步深入研究,包括母核的简化。

人参皂苷羧酸衍生物抗肿瘤机制研究方面,可尝试向靶向肿瘤微环境、机体和肿瘤细胞脂代谢、药动学和药效学等方面深入;同时还需积极寻找肿瘤细胞作用的其它靶点、探索药物在肿瘤细胞中的代谢过程。

人参皂苷羧酸衍生物可通过溶酶体-线粒体途径诱导细胞凋亡，升高免疫系统、凋亡相关蛋白表达，减少 VEGF 的产生，在抑制肿瘤细胞生长发育，肿瘤血管形成、迁移、增殖，增强机体免疫等方面具有明显的效果；在针对肿瘤细胞基因^[54]和 mRNA^[55]的对抗策略方面可以进行尝试，预期亦能有良好的表现。

人参皂苷羧酸衍生物具有低毒、高效、多靶点的特点，符合抗肿瘤药物发展的趋势，具有开展更加深入研究的的社会价值和经济价值。

参考文献:

[1] Yang X L, Zou J, Cai H Y, *et al.* Ginsenoside Rg3 inhibits colorectal tumor growth *via* down-regulation of C/EBPβ/NF-κB signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 1240-1245.

[2] Park J E, Kim H W, Yun S H, *et al.* Ginsenoside Rh2 upregulates long noncoding RNA STXBP5-AS1 to sponge microRNA-4425 in suppressing breast cancer cell proliferation[J]. *J Ginseng Res*, 2021, 45(6): 754-762.

[3] Kim H, Roh H S, Kim J E, *et al.* Compound K attenuates stromal cell-derived growth factor 1 (SDF-1) -induced migration of C6 glioma cells[J]. *Nutr Res Pract*, 2016, 10(3): 259.

[4] Li Y, Wang P P, Zou Z L, *et al.* Ginsenoside (20S) - protopanaxatriol induces non-protective autophagy and apoptosis by inhibiting Akt/mTOR signaling pathway in triple-negative breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 583: 184-191.

[5] Jin H R, Du C H, Wang C, *et al.* Ginseng metabolite protopanaxadiol interferes with lipid metabolism and induces endoplasmic reticulum stress and p53 activation to promote cancer cell death[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(3): 610-617.

[6] Dong M, Qu L L, Duan Z G, *et al.* Ginsenoside Rh4 inhibits breast cancer growth through targeting histone deacetylase 2 to regulate immune microenvironment and apoptosis[J]. *Bioorg Chem*, 2023, 135: 106537.

[7] Yang C M, Qian C, Zheng W W, *et al.* Ginsenoside Rh2 enhances immune surveillance of natural killer (NK) cells *via* inhibition of ERp5 in breast cancer[J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155180.

[8] Chen Y, Liu B Y, Wei Y, *et al.* Influence of gut and intratumoral microbiota on the immune microenvironment and anti-cancer therapy[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 174: 105966.

[9] 窦德强, 靳 玲, 陈英杰. 人参的化学成分及药理活性的研究进展与展望[J]. 沈阳药科大学学报, 1999(2): 76-81.

[10] 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.

[11] Hasegawa H, Sung J H, Benno Y. Role of human intestinal *Prevotella oris* in hydrolyzing ginseng saponins[J]. *Planta Med*, 1997, 63(5): 436-440.

[12] Hasegawa H, Lee K S, Nagaoka T, *et al.* Pharmacokinetics of ginsenoside deglycosylated by intestinal bacteria and its

transformation to biologically active fatty acid esters[J]. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23(3): 298-304.

[13] Hasegawa H, Suzuki R, Nagaoka T, *et al.* Prevention of growth and metastasis of murine melanoma through enhanced natural-killer cytotoxicity by fatty acid-conjugate of protopanaxatriol[J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(7): 861-866.

[14] Hasegawa H. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: metabolic activation of ginsenoside: deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid[J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 95(2): 153-157.

[15] Lei J, Li X, Gong X J, *et al.* Isolation, synthesis and structures of cytotoxic ginsenoside derivatives[J]. *Molecules*, 2007, 12(9): 2140-2150.

[16] Zhang B, Zhu X M, Hu J N, *et al.* Absorption mechanism of ginsenoside compound K and its butyl and octyl ester prodrugs in Caco-2 cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(41): 10278-10284.

[17] Hou J G, Xue J J, Zhao X H, *et al.* Octyl ester of ginsenoside compound K as novel anti-hepatoma compound: Synthesis and evaluation on murine H22 cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2018, 91(4): 951-956.

[18] Han M, Hou J G, Dong C M, *et al.* Isolation, synthesis and structures of ginsenoside derivatives and their anti-tumor bioactivity[J]. *Molecules*, 2010, 15(1): 399-406.

[19] Chen F, Deng Z Y, Zhang B, *et al.* Esterification of ginsenoside Rh2 enhanced its cellular uptake and antitumor activity in human HepG2 cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(1): 253-261.

[20] Zhang C H, Li X G, Gao Y G, *et al.* Synthesis and primary research on antitumor activity of three new panaxadiol fatty acid esters[J]. *Chem Res Chin Univ*, 2007, 23(2): 176-182.

[21] Li W F. Synthesis and structural analysis of mono-dodecanoic acid esters of ginsenoside M1[J]. *Chin J Nat Med*, 2011, 9(3): 199-203.

[22] Li K K, Yan X M, Li Z N, *et al.* Synthesis and antitumor activity of three novel ginsenoside M1 derivatives with 3'-ester modifications[J]. *Bioorg Chem*, 2019, 90: 103061.

[23] Liu X K, Ye B J, Wu Y, *et al.* Synthesis and anti-tumor evaluation of panaxadiol derivatives[J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46(6): 1997-2002.

[24] Wang Z Y, 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.

[25] Wang P, Bi X L, Guo Y M, *et al.* Semi-synthesis and anti-tumor evaluation of novel 25-hydroxyprotopanaxadiol derivatives[J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 55: 137-145.

[26] Wang P, Bi X L, Xu J, *et al.* Synthesis and anti-tumor evaluation of novel 25-hydroxyprotopanaxadiol analogs incorporating natural amino acids[J]. *Steroids*, 2013, 78(2): 203-209.

[27] Huang Y, Liu H M, Zhang Y X, *et al.* Synthesis and biological evaluation of ginsenoside compound K derivatives as a novel class of LXRα activator[J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1232.

[28] Wei G Q, Zheng Y N, Li W, *et al.* Structural modification of ginsenoside Rh2 by fatty acid esterification and its detoxification property in antitumor[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22 (2): 1082-1085.

[29] 张伟云, 刘发贵, 郑毅男. 人参皂苷 Rh2 辛酸单酯的合成及其抗肿瘤活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(17): 3758-3762.

[30] Qu F Z, Liu Y F, Cao J Q, *et al.* Novel 25-hydroxyprotopanaxadiol derivatives incorporating chloroacetyl chloride and their anti-tumor evaluation[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(23): 5390-5394.

[31] Zhou W X, Cao J Q, Wang X D, *et al.* Sulfamic and succinic acid derivatives of 25-OH-PPD and their activities to MCF-7, A-549, HCT-116, and BGC-823 cell lines[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(4): 1076-1080.

[32] Zhou W X, Sun Y Y, Yuan W H, *et al.* Water-soluble derivatives of 25-OCH₃-PPD and their anti-proliferative activities[J]. *Steroids*, 2017, 121: 32-39.

[33] Twibanire J A K, Grindley T B. Efficient and controllably selective preparation of esters using uronium-based coupling Agents[J]. *Org Lett*, 2011, 13(12): 2988-2991.

[34] Fan H Y. Regioselective synthesis and structures of anti-cancer 20 (R) -ginsenoside Rg₃ derivatives[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(14): 1962-1970.

[35] Mathiyalagan R, Subramaniam S, Kim Y J, *et al.* Synthesis and pharmacokinetic characterization of a pH-sensitive polyethylene glycol ginsenoside CK (PEG-CK) conjugate[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2014, 78(3): 466-468.

[36] Mathiyalagan R, Kim Y J, Wang C, *et al.* Protopanaxadiol aglycone ginsenoside-polyethylene glycol conjugates: Synthesis, physicochemical characterizations, and *in vitro* studies[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2016, 44(8): 1803-1809.

[37] Wang X D, Sun Y Y, Qu F Z, *et al.* 4-XL-PPD, a novel ginsenoside derivative, as potential therapeutic agents for gastric cancer shows anti-cancer activity *via* inducing cell apoptosis mediated generation of reactive oxygen species and inhibiting migratory and invasive[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 108589.

[38] Chen F, Sun Y, Zheng S L, *et al.* Antitumor and immunomodulatory effects of ginsenoside Rh2 and its octyl ester derivative in H22 tumor-bearing mice[J]. *J Funct Foods*, 2017, 32: 382-390.

[39] Wu H C, Hu Q R, Luo T, *et al.* The immunomodulatory effects of ginsenoside derivative Rh2-O on splenic lymphocytes in H22 tumor-bearing mice is partially mediated by TLR4[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101: 108316.

[40] 弓晓杰, 陈丽荣. 人参皂苷 M1 硬脂酸酯抗肿瘤活性的研究[J]. *人参研究*, 2010, 22(2): 9-11.

[41] Zhang B, Ye H, Zhu X M, *et al.* Esterification enhanced intestinal absorption of ginsenoside Rh2 in Caco-2 cells without impacts on its protective effects against H₂O₂-induced cell injury in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(9): 2096-2103.

[42] Zeng Z Z, Nian Q, Chen N Z, *et al.* Ginsenoside Rg3 inhibits angiogenesis in gastric precancerous lesions through downregulation of Glut1 and Glut4[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 145: 112086.

[43] Li H L, Huang N, Zhu W K, *et al.* Modulation the crosstalk between tumor-associated macrophages and non-small cell lung cancer to inhibit tumor migration and invasion by ginsenoside Rh2[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 579.

[44] Qi Z, Chen L X, Li Z, *et al.* Immunomodulatory effects of (24R) -pseudo-ginsenoside HQ and (24S) -pseudo-ginsenoside HQ on cyclophosphamide-induced immunosuppression and their anti-tumor effects study[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4): 836.

[45] Chen F, Zhang B, Sun Y, *et al.* The octyl ester of ginsenoside Rh2 induces lysosomal membrane permeabilization *via* Bax translocation[J]. *Nutrients*, 2016, 8(5): 244.

[46] Chen F, Zheng S L, Hu J N, *et al.* Octyl ester of ginsenoside Rh2 induces apoptosis and G1 cell cycle arrest in human HepG2 cells by activating the extrinsic apoptotic pathway and modulating the Akt/p38 MAPK signaling pathway[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(40): 7520-7529.

[47] Hyesu J, Diem T N, Nachwan B, Thuy L L, *et al.* Ginsenoside-Rg2 affects cell growth *via* regulating ROS-mediated AMPK activation and cell cycle in MCF-7 cells [J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153549.

[48] Hong Y N, Fan D L. Ginsenoside Rk1 induces cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 triple negative breast cancer cells [J]. *Toxicology*, 2019, 418: 22-31.

[49] Lee E J, Ko E, Lee J, *et al.* Ginsenoside Rg1 enhances CD4⁺ T-cell activities and modulates Th1/Th2 differentiation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(2): 235-244.

[50] Sun X D, Cheng Y. Role of ginsenoside Rh2 in tumor therapy and tumor microenvironment immunomodulation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156: 113912.

[51] Tarantino P, Pestana R C, Corti C, *et al.* Antibody-drug conjugates: smart chemotherapy delivery across tumor histologies[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(2): 165-182.

[52] Gao H, Liang D, Li C C, *et al.* 2-Deoxy-Rh2: A novel ginsenoside derivative, as dual-targeting anti-cancer agent *via* regulating apoptosis and glycolysis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 124: 109891.

[53] Wu Y, Chen W Q, Zhao Y Q, *et al.* Efficient synthesis of panaxadiol derivatives using continuous-flow microreactor and evaluation of anti-tumor activity[J]. *Chin Chem Lett*, 2015, 26 (3): 334-338.

[54] Behan F M, Iorio F, Picco G, *et al.* Prioritization of cancer therapeutic targets using CRISPR-Cas9 screens[J]. *Nature*, 2019, 568(7753): 511-516.

[55] Bhat M, Robichaud N, Hulea L, *et al.* Targeting the translation machinery in cancer[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(4): 261-278.