

# 人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 的合成与转化研究进展

陈晓敏<sup>1</sup>, 周俊杰<sup>1</sup>, 李家炜<sup>2</sup>, 陈皓欣<sup>1</sup>, 刘文利<sup>1</sup>, 谢果<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>电子科技大学中山学院 材料与食品学院, 中山 528402; <sup>2</sup>完美(中国)有限公司, 中山 528451

**摘要:** 人参 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 最为常见的中药材之一。人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 等稀有人参皂苷, 是人参属植物重要的生理活性物质之一, 在抗肿瘤、抗疲劳等方面具有显著的药理作用。人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 的合成与转化的方法从传统的煎煮法, 逐步发展到如今多样化的转化手段, 其中研究主要集中在热裂解法、酸碱水解法、酶解法、微生物转化等方法。本文对人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 研究现状及进展进行了综述, 为合成转化稀有人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 的进一步研究提供相关依据。

**关键词:** 人参皂苷 Rg<sub>3</sub>; 合成转化; 热裂解法; 酸碱解法; 微生物转化法

中图分类号: R931.6

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021) Suppl-0155-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.S.021

## Research progress on synthesis and transformation of ginsenoside Rg<sub>3</sub>

CHEN Xiao-min<sup>1</sup>, ZHOU Jun-jie<sup>1</sup>, LI Jia-wei<sup>2</sup>, CHEN Hao-xin<sup>1</sup>, LIU Wen-li<sup>1</sup>, XIE Guo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan Institute,  
Faculty of Materials and Food, Zhongshan 528402, China;

<sup>2</sup>Perfect (China) Co., Ltd., Zhongshan 528451, China

**Abstract:** Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) is one of the most common Chinese medicinal materials. Rare ginsenosides, such as Rg<sub>3</sub>, etc, which are the important physiologically active substances from the ginseng plant with significant effects of the anti-tumor and anti-fatigue. The synthesis and transformation methods of ginsenoside Rg<sub>3</sub> have gradually evolved from the traditional decoction method to today's diversified transformation methods, the main researches focus on thermal cracking, acid and alkali hydrolysis, enzymatic hydrolysis and microbial transformation methods. In order to provide some bases for further research on the synthesis and transformation of rare ginsenoside Rg<sub>3</sub>, this article reviewed the research status and progresses of ginsenoside Rg<sub>3</sub>.

**Key words:** ginsenoside Rg<sub>3</sub>; synthesis and transformation; thermal cracking; chemical methods; microbial transformation

人参皂苷是人参的主要有效活性成分, 也是人参最为重要的一类生理活性物质, 其含量约占人参干质量的 4%<sup>[1]</sup>。人参皂苷一般分为人参皂苷可分为达玛烷型 (dammarane)、齐墩果烷型 (oleanolic Acid) 和烟酰胺型 (nicotinamide) 人参皂苷 3 种。其中, 根据四环三萜骨架上羟基位置的不同, 可将达玛烷型人参皂苷分成原人参二醇 (protopanaxadiol, PPD) 型皂苷和原人参三醇 (protopanaxatriol, PPT) 型皂苷, 包括部分虽然母核的侧链部分略有不同, 但实

质上属于 PPD 和 PPT 的其他亚型人参皂苷 (miscellaneous subtypes)<sup>[2,3]</sup>。如表 1 所示。

人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 是存在于人参中的一种达玛烷型人参皂苷中间代谢物, 属于稀有人参皂苷, 但其人参根部中含量极低<sup>[4]</sup>。近年来, 随着人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 的深入研究, 发现人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 在抗肿瘤<sup>[5]</sup>、抗疲劳<sup>[6]</sup>、增强免疫功能<sup>[7]</sup>、心脑血管的保护<sup>[8]</sup>等领域均具有显著的药理活性作用, 成为近年来热点研究的活性成分。

目前, 对于 Rg<sub>3</sub> 的转化研究主要集中于物理法、化学法、微生物转化法和酶解法等方面。

### 1 热裂解法

中药材在经过烘、炒、蒸、煨等热加工处理后, 既降低药材结合水与自由水的比例, 延长药物的保存

收稿日期: 2020-10-14

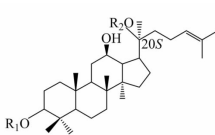
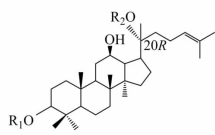
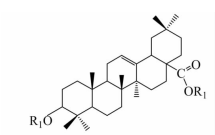
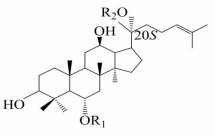
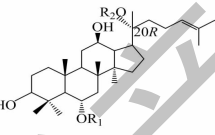
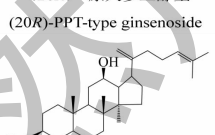
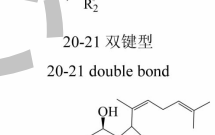
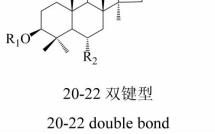
接受日期: 2020-11-09

基金项目: 广东省普通高校重点平台和科研项目 (2018KTSCX2 89); 广东大学生科技创新培育专项 (Pdjh2019b0590); 广东省质量工程项目 (项目编号: SKF201801); 电子科技大学中山学院质量工程项目 (项目编号: SPGK201 701)

\* 通信作者 Tel: 86-013420402689; E-mail: voiceofheart2000@126.com

表 1 主要类型人参皂苷官能团

Table 1 The functional groups of main types of ginsenosides

类型 Type	母核结构图 Core structure	人参皂苷 Ginsenosides	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	双键 Double bond	参考文献 Ref.
原人参二醇型皂苷 PPD-type ginsenoside	 <p>(20S)-原人参皂苷二醇型 Ginsenoside (20S)-PPD-type</p>	人参皂苷-Ra <sub>1</sub> Ginsenoside-Ra <sub>1</sub>	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Ara (4-1) Xyl	-	2
		人参皂苷-Ra <sub>2</sub> Ginsenoside-Ra <sub>2</sub>	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Ara (3-1) Xyl	-	2
		人参皂苷-Ra <sub>3</sub> Ginsenoside-Ra <sub>3</sub>	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Ara (2-1) Xyl	-	2
		人参皂苷-Rb <sub>1</sub> Ginsenoside-Rb <sub>1</sub>	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Glc	-	2
		人参皂苷-Rb <sub>2</sub> Ginsenoside-Rb <sub>2</sub>	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Ara (P)	-	2
	 <p>(20R)-原人参皂苷二醇型 Ginsenoside (20R)-PPD-type</p>	人参皂苷-Rb <sub>3</sub> Ginsenoside-Rb <sub>3</sub>	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Xyl	-	2
		人参皂苷-Rc Ginsenoside-Rc	-Glc (2-1) Glc	-Glc (6-1) Ara (F)	-	2
		人参皂苷-Rd Ginsenoside-Rd	-Glc (2-1) Glc	-Glc	-	2
		人参皂苷-Rg <sub>3</sub> Ginsenoside-Rg <sub>3</sub>	-Glc (2-1) Glc	-H	-	2
		人参皂苷-Rh <sub>2</sub> Ginsenoside-Rh <sub>2</sub>	-Glc	-H	-	2
齐墩果烷型皂苷 Oleanolic Acid-type ginsenosides		人参皂苷-Ro Ginsenoside-Ro	-Glc UA (2-1) Rha	-Glc	-	2,3
		人参皂苷-R <sub>3</sub> Ginsenoside-R <sub>3</sub>	-Glc (4-1) Gala	-Glc	-	2,3
		人参皂苷-R <sub>4</sub> Ginsenoside-R <sub>4</sub>	-Glc Ac (2-1) Gala	-Glc	-	2,3
		人参皂苷-Re Ginsenoside-Re	-Glc (2-1) Glc	-Glc	-	2
原人参三醇型皂苷 PPT-type ginsenoside	 <p>(20S)-原人参三醇型 (20S)-PPT-type ginsenoside</p>	人参皂苷-Rf Ginsenoside-Rf	-Glc (2-1) Glc	-H	-	2
		人参皂苷-Rg <sub>1</sub> Ginsenoside-Rg <sub>1</sub>	-Glc	-Glc	-	2
		人参皂苷-Rg <sub>2</sub> Ginsenoside-Rg <sub>2</sub>	-Glc (2-1) Rha	-H	-	2
	 <p>(20R)-原人参三醇型 (20R)-PPT-type ginsenoside</p>	人参皂苷-Rh <sub>1</sub> Ginsenoside-Rh <sub>1</sub>	-Glc	-H	-	2
		人参皂苷-F <sub>1</sub> Ginsenoside-F <sub>1</sub>	-H	-Glc	-	2
		人参皂苷-F <sub>3</sub> Ginsenoside-F <sub>3</sub>	-H	-Glc (6-1) Ara (P)	-	2
		人参皂苷-F <sub>5</sub> Ginsenoside-F <sub>5</sub>	-H	-Glc (6-1) Ara (F)	-	2
其他亚型皂苷 Miscellaneous Subtypes- type ginsenosides	 <p>20-21 双键型 20-21 double bond</p>	人参皂苷-Rk <sub>1</sub> Ginsenoside-Rk <sub>1</sub>	-Glc-Glc	-H	20-21	2
		人参皂苷-Rk <sub>2</sub> Ginsenoside-Rk <sub>2</sub>	-Glc	-H	20-21	2
		人参皂苷-Rs <sub>5</sub> Ginsenoside-Rs <sub>5</sub>	-Glc-Glc-Ac	-H	20-21	2
	 <p>20-22 双键型 20-22 double bond</p>	人参皂苷-Rz <sub>1</sub> Ginsenoside-Rz <sub>1</sub>	-Glc-Glc	-	20-21	2
		人参皂苷-Rg <sub>5</sub> Ginsenoside-Rg <sub>5</sub>	-Glc-Glc	-H	20-22	2
		人参皂苷-Rh <sub>3</sub> Ginsenoside-Rh <sub>3</sub>	-Glc	-H	20-22	2
		人参皂苷-Rs <sub>4</sub> Ginsenoside-Rs <sub>4</sub>	-Glc-Glc-Ac	-H	20-22	2
烟酰胺型皂苷 Nicotinamide-type ginsenoside		人参皂苷-R <sub>2</sub> Ginsenoside-R <sub>2</sub>	-Glc-Xyl	-	-	3
		人参皂苷-F <sub>11</sub> Ginsenoside-F <sub>11</sub>	-Glc-Rha	-	-	3

期限,又促进药材化学成分含量及性质变化,到达减毒、增效、长效的目的<sup>[9]</sup>。原人参二醇型皂苷(如

Rb<sub>1</sub>、Rb<sub>2</sub>、Rb<sub>3</sub>、Rc、Rd等)在高温环境下易水解脱去部分糖基和 C-20 位上叔醇糖苷键,产生 Rg<sub>3</sub>、Rh<sub>2</sub>等

次级人参皂苷,又称为“稀有人参皂苷”或“人参热裂解皂苷”。人参热裂解皂苷具有更小的分子结构,在某些药理作用要优于原人参皂苷<sup>[10]</sup>。人参皂

苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub> 进一步水解掉一分子葡萄糖,或将常见二醇组人参皂苷水解掉 C-20 位上的糖基以及 C-3 位一分子葡萄糖即可获得人参皂苷 Rh<sub>2</sub>,转化途径见图 1<sup>[11]</sup>。

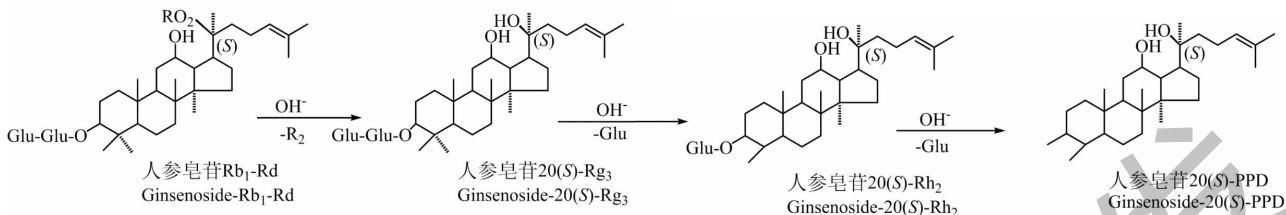


图 1 人参二醇皂苷高温热解的主要方法<sup>[11]</sup>

Fig. 1 The main ways of producing high-temperature pyrolysis of ginseng diol saponins

Hwang 等<sup>[12]</sup>以人参根提取物作为反应原料,分别在 90、110、130、150 °C 下进行 2 h 的加热处理,并通过 HPLC 分析发现,人参提取物中含量最高的 R<sub>g<sub>1</sub></sub> 随温度的增加而减少;R<sub>g<sub>2</sub></sub> 的水平随着加热至

110 °C 而增加,然后在较高温度下降低;而原始植物组织中未能测出的人参皂苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub>,当加热到 90 °C 左右时 R<sub>g<sub>3</sub></sub> 开始出现,随温度增加到一定峰值后减少,其实验数据节选如图 2 所示。

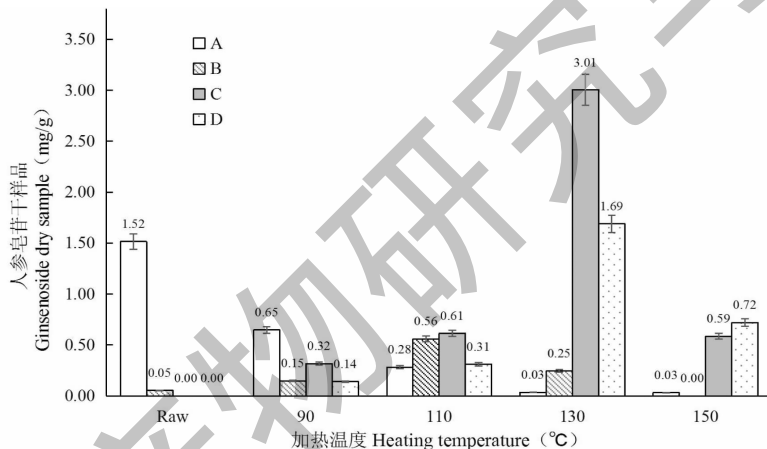


图 2 不同类型人参皂苷在不同温度处理下的含量变化

Fig. 2 The content changes of different types of ginsenosides under different temperature treatments

注:A:人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>;B:人参皂苷 R<sub>g<sub>2</sub></sub>;C:人参皂苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub>(S);D:人参皂苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub>(R)。Note:A:Ginsenoside-R<sub>g<sub>1</sub></sub>;B:Ginsenoside-R<sub>g<sub>2</sub></sub>;C:Ginsenoside-(20S)-R<sub>g<sub>3</sub></sub>;D:Ginsenoside-(20R)-R<sub>g<sub>3</sub></sub>。

热裂解法对不同方法炮制的人参作用效果并非一样,如生晒参,其随着温度的升高,次级人参皂苷的提取率反而下降。Du 等<sup>[13]</sup>探讨了不同炮制方法对人参皂苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub> 含量的影响,并对制人参、红参和黑参提取液进行测定。研究表明,在人参经过加热炮制处理后,人参总皂苷含量为炮制前含量的 23.21%,稀有皂苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub> 含量增加近一倍,作者认为在加热炮制的过程中人参总皂苷转化为稀有皂苷 R<sub>g<sub>3</sub></sub>。

根据该实验结果进行分析总结,绘制出人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub> 通过高温热裂解途径产生 R<sub>g<sub>3</sub></sub> 及其代谢产物的路径图,其结果如图 3 所示<sup>[10,14]</sup>。

## 2 酸碱水解法

弱酸作为化学催化剂时,可提供一个相对温和的水解环境,使人参皂苷依次水解产出多级的稀有人参皂苷。与酸解法相比,碱催化人参皂苷侧链不易发生脱水环合的现象,有效保护 C-20 位的构型。与此同时,若酸性过强,反应过于剧烈,则会使苷元 C20-OH 脱水与侧链环合、双键位移等,并引起苷元结构发生变化、水解程度不易控制从而导致产物复杂多变,影响终产物的纯度。

### 2.1 酸解法

#### 2.1.1 柠檬酸法

Sun<sup>[15]</sup>利用不同浓度的未成熟的尤力克柠檬汁

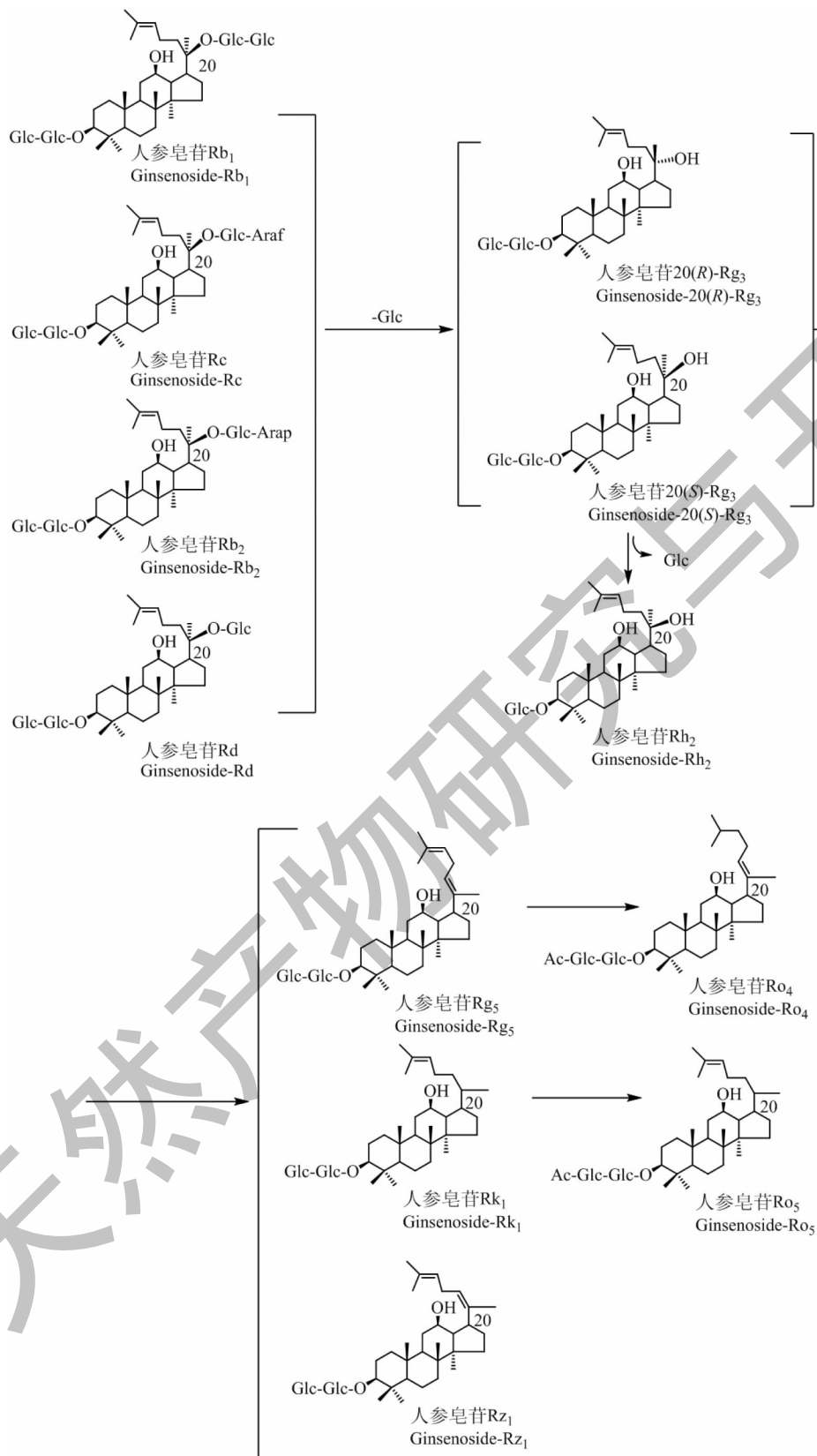


图3 人参二醇皂苷高温热解的主要方法<sup>[10,14]</sup>

Fig. 3 The main ways of high-temperature pyrolysis of ginseng diol saponins

液催化水解 20 mg/mL 的 PPD 型皂苷, 并发现 Rg<sub>3</sub> 总产率均随着柠檬汁浓度的增大而增加的规律特征。得出柠檬汁催化 PPD 型皂苷转化成人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 的最佳工艺条件是在 85.7 °C 环境中混合 23.64 mg/mL 的人参 PPD 型皂苷与 97.6% 浓度的柠檬汁

并进行 130 min 反应。通过 MS、<sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C NMR 进行结构表征, 确定反应产物分别为 20(S)-Rg<sub>3</sub>、20(R)-Rg<sub>3</sub>、人参皂苷 Rk<sub>1</sub> 和人参皂苷 Rg<sub>5</sub>。其中, 人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 总产率为 75.57%。该催化反应具体转化路径如图 4 所示。

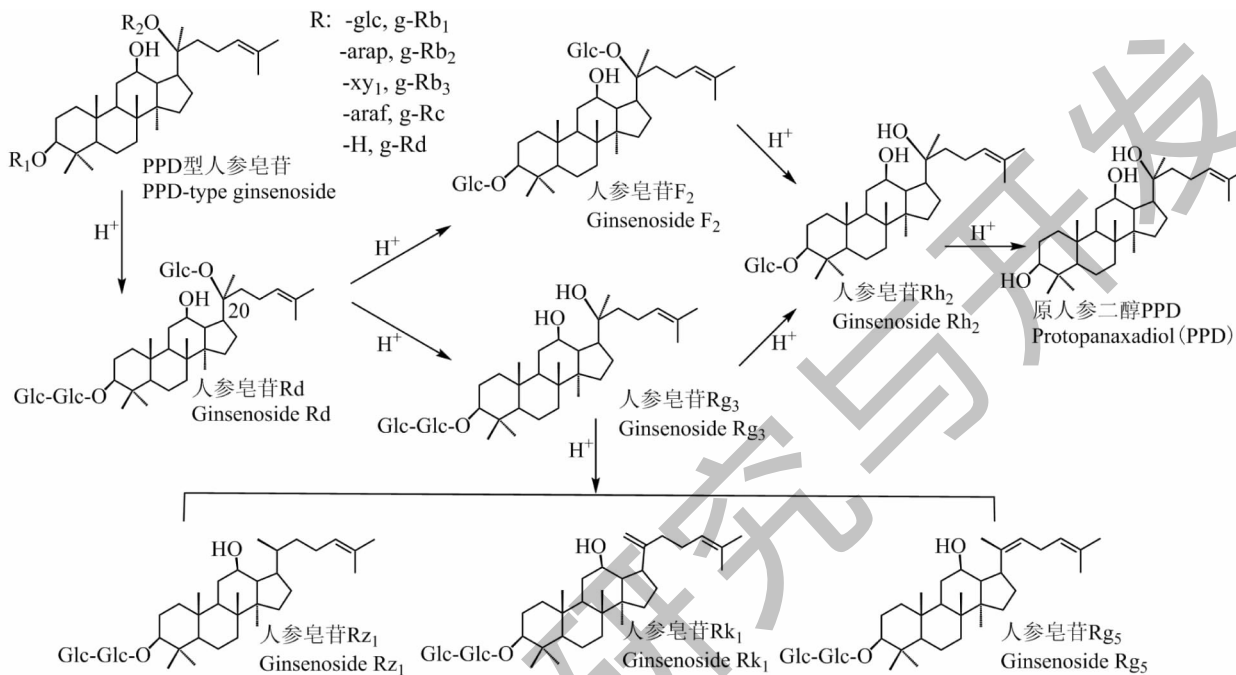


图 4 从 PPD 型人参皂苷到 PPD 的水解途径<sup>[15]</sup>

Fig. 4 The hydrolysis pathway from PPD-type ginsenoside to PPD

### 2.1.2 酒石酸法

Huang 等<sup>[16]</sup> 根据 DL-酒石酸等弱酸可以将 PPD 型皂苷同时转化为 Rg<sub>3</sub> 和 Rg<sub>5</sub> 的特性, 对 DL-酒石酸, 柠檬酸和醋酸作为 PPD 型皂苷催化剂的催化性能进行测试。研究发现, 将 1 mg PPD 型皂苷分别加入 10 mL 1.0 mol/L DL-酒石酸, 柠檬酸和乙酸中。在 65 °C 实验环境中, DL-酒石酸的转化率最高为 89.3%。

Liang 等<sup>[17]</sup> 考察无机盐酸 (HCl, pK<sub>a</sub> < 1) 对 PPD 型皂苷转化为 Rg<sub>3</sub> 的影响, 发现反应温度在 90 °C 时 PPD 型皂苷转化为 Rg<sub>3</sub> 的转化率最高为 66.0%。因此, 盐酸相对于 DL-酒石酸等弱酸, PPD 型皂苷转化为 Rg<sub>3</sub> 和 Rg<sub>5</sub> 的转化率有所降低。由于盐酸相较于 DL-酒石酸等弱酸具有更强的酸性, 能够更快地水解 PPD 型皂苷的糖苷键, 直接水解生成 Rg<sub>3</sub> 和 Rg<sub>5</sub> 的下游代谢产物, 从而导致转化率降低。

上述研究对比可知, 转化率与候选酸的酸值 pK<sub>a</sub> (pK<sub>a1</sub>) 呈负相关。当发生转化时, PPD 型皂苷分子被酸催化剂水解糖苷键, 酸的 pK<sub>a</sub> 值越低, 被转

化的 PPD 型皂苷越多。因此, 实验得三种弱酸中, DL-酒石酸最适用于 PPD 型皂苷的转化, 其结果如表 2 所示。

### 2.2 碱解法

在碱性条件下降解常见人参皂苷, 其 C-20 位 S 构型保持不变, 20 位碳上的糖基首先发生降解, 3 位碳上的糖基再发生降解, 直至剩下皂苷元。20 位碳上脱离出来的糖基中所带有的羟基会进一步发生脱水反应, 生成一对双键异构体。具体反应过程如图 5 所示<sup>[18]</sup>。

碱水解法制备人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 可以获得单一构型的次级皂苷, 产物易于纯化分离。但需要在较为严格的条件中进行, 如较高的反应温度、较高的碱浓度或压力。按照所用溶剂不同可以分为水溶剂降解法<sup>[18]</sup> 和有机溶剂降解法<sup>[19]</sup>, 按照所使用的催化剂不同可以分为常温碱降解和高温碱降解法<sup>[20]</sup>。

Li<sup>[19]</sup> 采用高沸点有机溶剂碱降解的方法, 解决了水溶液碱降解无法在常压中达到高温的困难, 在

表 2 四种酸 pK 值与 PPD 型人参皂苷转化率之间的关系<sup>[16,17]</sup>

Table 2 Conversion relationship between pK value of four acids and PPD-type ginsenoside

酸的种类 Types of acid	温度 Temperature(°C)	pK 值 pK value	转化率 Conversion(%)
DL-酒石酸 DL-Tartaric acid	65	3.03 (pK <sub>a1</sub> )	89.3
		4.37 (pK <sub>a2</sub> )	
柠檬酸 Citric acid	65	3.17 (pK <sub>a1</sub> )	66.6
		4.91 (pK <sub>a2</sub> )	
醋酸 Ethylic acid	65	4.76 (pK <sub>a1</sub> )	54.9
盐酸 Hydrochloric acid	70	pK <sub>a</sub> < 1	60.1
	90	pK <sub>a</sub> < 1	66.0

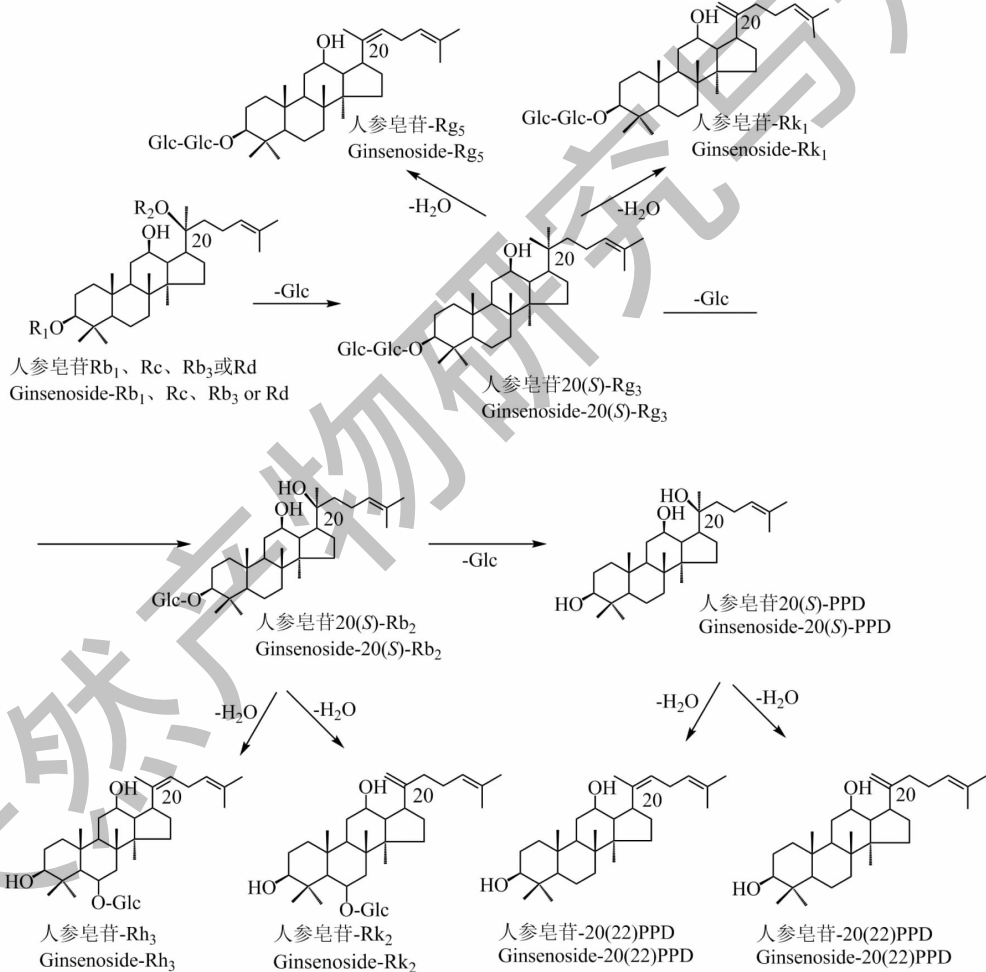
图 5 高温高压下原人参二醇型人参皂苷的碱降解反应机理<sup>[18]</sup>

Fig. 5 PPD-type ginsenoside alkaline degradation reaction mechanism under high temperature and high pressure

常压中加热便可达到所需的温度,极大的提高了碱降解的效率。将人参皂苷(单体或混合物)溶于碱性氢氧化物与高沸点有机溶剂混合体系中,并于常压加热进行水解反应。水解掉 20 位上的糖或者进

一步水解掉全部碳 3 或碳 6 位上的糖,可获得 Rg<sub>3</sub>、Rh<sub>2</sub>、Rh<sub>3</sub>、Rh<sub>1</sub>、Rg<sub>2</sub>、PPD、PPT 等单体。

Zhao<sup>[18]</sup>以温度、时间、碱性、料液比为考察因素,通过单因素考察和正交试验确定了高温高压碱

性条件下制备 20(S)-Rg<sub>3</sub> 的最佳条件为:温度 180 °C, 氢氧化钠浓度 80 mg/mL, 料液比 1:100, 反应时间 6 h, 在该条件下, 20(S)-Rg<sub>3</sub> 的转化率为 24.66%。

### 3 酶法制备人参皂苷 Rg<sub>3</sub>

应用酶法转化可得到一些可被人体吸收的稀有人参皂苷, 其转化酶专一性强、生产周期短、反应条件温和。较化学法有毒试剂的产生量更少、更符合环保理念; 相较微生物法更易得到高纯度的目标稀有人参皂苷。一些糖苷水解酶能够使二醇型人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Rb<sub>2</sub> 等分子中 C-20 位的糖链完全水解生成含糖基少、活性高的人参皂苷 Rg<sub>3</sub>。

Zhang 等<sup>[21]</sup> 将来源于 *Thermotoga petrophila* DSM 13995 的  $\beta$ -木糖苷酶( $\beta$ -xylosidase,  $\beta$ -XYL) 与耐热性的  $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -glycosidase,  $\beta$ -GLY) 结合。在最适条件下, 20 g/L 的人参皂苷提取物在 90 min 内转化为 6.28 g/L 的 Rg<sub>3</sub>, 这一转化率可达 95%, 且转化后的 Rg<sub>3</sub>, 产率为 1793.49 mg/(L·h)。

Du 等<sup>[22]</sup> 研究表明从 *Pseudonocardia* sp. Gsoil 1536 中克隆得到的重组人参糖苷水解酶(BglPC28) 通过直接水解 C-20 位的外部葡萄糖、水解附着在 C-20 位的 D-木糖苷得到 20(S)-Rg<sub>3</sub>。所得稀有人

参皂苷 Rg<sub>3</sub> 可以通过  $\beta$ -半乳糖苷酶( $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -GAL)<sup>[23,24]</sup>、 $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -glycosidase,  $\beta$ -GLY)<sup>[25,26]</sup> 水解 C-3 位外侧葡萄糖而不水解内侧葡萄糖, 从而使 Rg<sub>3</sub> 进一步生成 Rh<sub>2</sub>。

### 4 微生物转化法

#### 4.1 细菌发酵转化

Li 等<sup>[27]</sup> 研究表明从大酱分离得到具有产  $\beta$ -GLY 的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), 可培养出酶活力最高的 58 号菌株。58 号菌株对双螺杆挤压后的人参进行固态发酵四天, 采用 HPLC 测得双螺杆挤压后的人参含有人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 的含量为 0.844 2 mg/g, 相比发酵前的含量提高了 70.99%。

Wu 等<sup>[28]</sup> 将从刺五加表层土壤分离得到的产  $\beta$ -GLY 的巨型芽孢杆菌属菌株 MB6 与三七总皂苷一起置于 pH 为 6.0、温度为 25 °C 的特定环境下进行两天的发酵, 发现菌株 MB6 可以有效的将三七总皂苷中的人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 转化成次级人参皂苷 Rg<sub>3</sub>, 即菌株 MB6 可以将三七总皂苷(绞股蓝 Gyp-XVII) 中含量高的主皂苷的糖基侧链选择性的切除, 使其转化为人参稀有皂苷 Rg<sub>3</sub> 菌株 MB6 对人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的转化途径如图 6 所示。

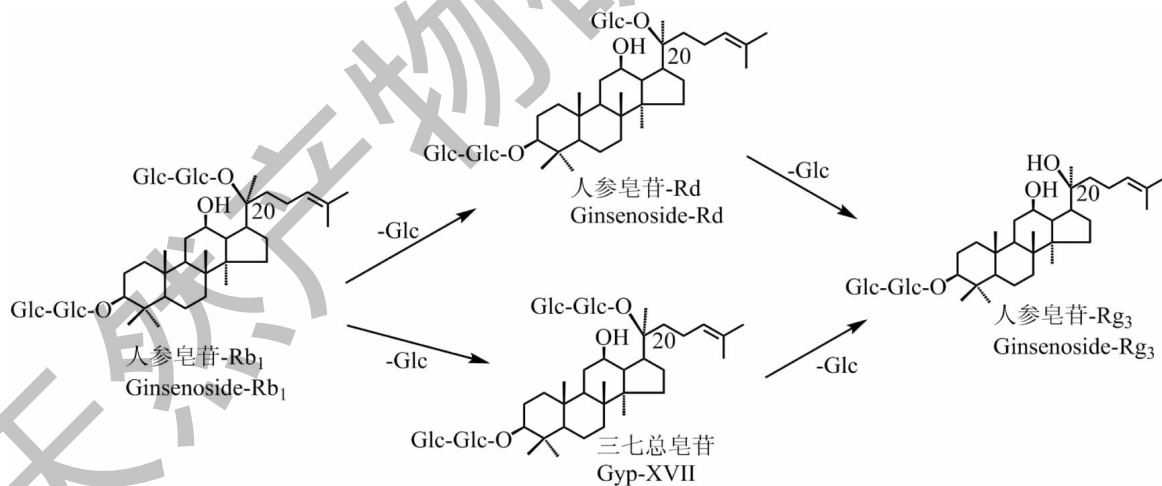


图 6 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 转化为 Rg<sub>3</sub> 的 MB6 菌株路线<sup>[28]</sup>

Fig. 6 Strain MB6 transforms ginsenoside Rb<sub>1</sub> to Rg<sub>3</sub>

#### 4.2 真菌转化

Li 等<sup>[29]</sup> 从 2017 年生野山参中分离、筛选得到一株产  $\beta$ -GLY 的内生真菌 *Burkholderia* sp. GE 17-7。该真菌对人参二醇型皂苷 C-20 位上 O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖能进行特异性水

解, 但是对人参二醇型皂苷内部糖基不能进行水解。C-20 糖基水解依次转化生成人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Rd, 最终形成终产物人参皂苷 Rg<sub>3</sub>。

Liu<sup>[30]</sup> 用鲜参制备人参浸出物并进行分装、高压蒸汽灭菌、冷却、接种于含有链格孢菌 YS2-2 的种

子营养液中,发酵离心取上清液。分析检测证明,人参经过4天发酵后的HPLC检测中发现有 $Rg_3$ 的峰产生。由此可知,从土壤中分离得到的微生物YS2-2可以将人参皂苷进行转化,产生活性高的稀有人参 $Rg_3$ 。

## 5 其他方法

将原人参二醇来皂苷进行结构修饰制备稀有人参皂苷 $Rg_3$ ,化学水解法、酶解法、微生物转化法已经广泛应用于转换人参皂苷 $Rg_3$ 。然而,化学法通常会形成许多副产物和污染环境、酶解法制备成本高、而且容易失活等缺点。近几年来,考虑到环境问题以及成本问题,出现了一些新的转化方法来制备

稀有人参皂苷 $Rg_3$ ,如 $FeCl_3$ 催化法。

Yu等<sup>[31]</sup>采用 $FeCl_3$ 催化剂在反应条件与酶促反应条件相似的情况下,通过硅胶柱将34g仅有的20-O-糖基的低生物利用度人参皂苷 $Rb_1$ 分解得到:3.3g具有新生成的C-20乙烯带的次级人参皂苷 $Rk_1$ 和 $Rg_5$ ;8.7g高生物活性的20(S)- $Rg_3$ 和20(R)- $Rg_3$ ,3.5g由 $Rg_3$ 两种异构体的C-24(25)乙烯水合而成的20(S)-OH- $Rg_3$ 和20(R)-25-OH- $Rg_3$ 。 $FeCl_3$ 的毒性低,且成本远低于酶,应用 $FeCl_3$ 催化剂的方法适用于人参类药物的研发,其转化途径如图7所示。

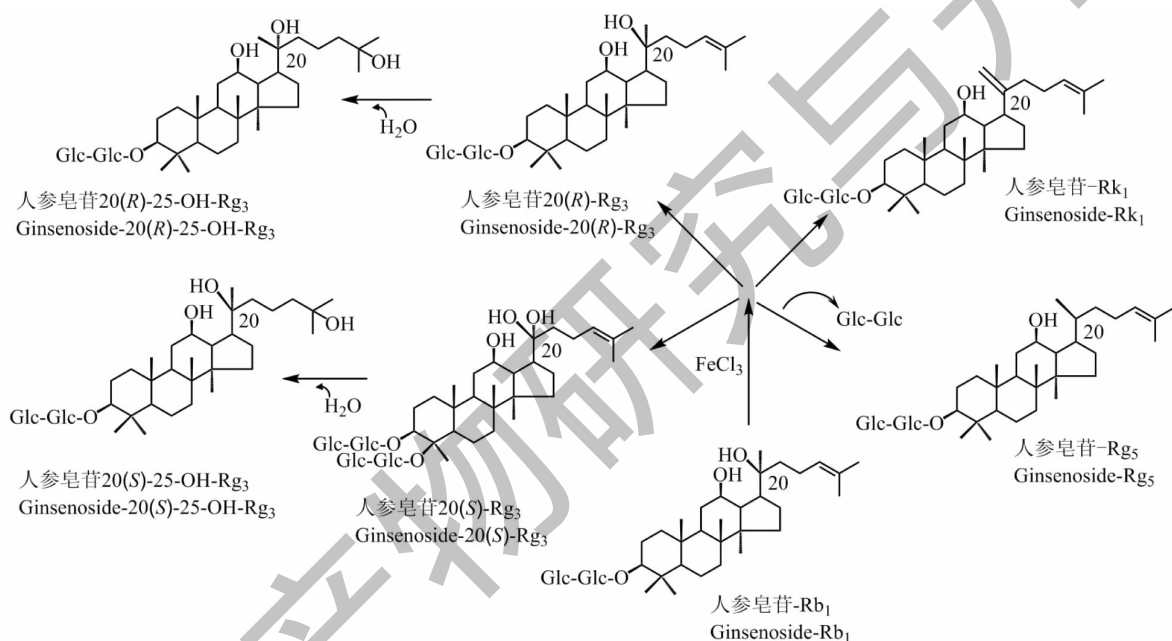


图7 基于 $FeCl_3$ 的人参皂苷 $Rb_1$ 转化途径<sup>[31]</sup>

Fig. 7 Pathways for transforming ginsenoside  $Rb_1$  with  $FeCl_3$

## 6 总结与展望

综合比较目前常用的四种转化方法,酶催化法和微生物转化法因其环境友好、专一性强、转化效率高等优点受到研究人员广泛关注。将原人参二醇型皂苷转化成稀有人参皂苷 $Rg_3$ 的四种转化方法、路径及其特点如表3所示。在本文所有已知途径中最常见且共有的转化途径是 $Rb_1 \rightarrow Rd \rightarrow Rg_3 \rightarrow Rh_2$ 。

鉴于人们对人参稀有皂苷需求的日益高涨,从传统的人参中提取皂苷 $Rg_3$ 不能满足市场的需求。可通过理法或化学法与微生物发酵联合对人参原材料共同处理,解决前期转化效率缓慢,成本高的问题。另外,通过研究人参皂苷 $Rg_3$ 在人参体内生物

合成与转化的规律,在栽培过程中创造特殊环境,并通过遗传学、分子生物学、基因工程等方法,增强合成 $Rg_3$ 酶的相关基因表达或抑制其分解代谢酶的活性,从而达到 $Rg_3$ 在人参体内大量富集的效果,形成高 $Rg_3$ 含量或高 $Rg_3$ 转化途径中间体的优势品种,从源头上提高 $Rg_3$ 的产量,为后续应用提供更多的物质基础。

鉴于人参皂苷 $Rg_3$ 在抗肿瘤、抗疲劳、增强人体免疫等方面的显著效果,为此根据不同合成与转化方法的特点,寻找操作简单、环境友好、成本低廉并适合量产 $Rg_3$ 的研究方法或技术路径不但具有较高学术意义,也可为人参产业的进一步发展带来



显著的社会经济价值。

表 3 四种人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 转化方法的比较

Table 3 Comparison of four kinds of ginsenoside Rg<sub>3</sub> conversion methods

方法 Method	主要转化路径 Main conversion path	优势 Advantage	不足 Shortcoming	共同点 Common
热裂解法 Thermal cracking	(Rb <sub>1</sub> 、Rc、Rb <sub>2</sub> 、Rd) → Rg <sub>3</sub> → Rh <sub>2</sub>	保持产物为单一构型, 有较成熟的转化工艺	反应过程繁琐、操作复杂、转化率低	人参二醇型皂苷 C-20 位上葡萄糖基的特异性水解
酸碱水解法 Acid and alkali hydrolysis	(Rb <sub>1</sub> 、Rc、Rb <sub>2</sub> 、Rb <sub>3</sub> 、Rd) → Rg <sub>3</sub> → Rh <sub>2</sub> → (Rk <sub>2</sub> 、Rk <sub>3</sub> )	碱水解可获得单一构型的次级皂苷、产物易纯化分离	反应条件要求高、易产生成分复杂副产物、造成环境污染	
酶催化法 Enzyme Catalysis	Rb <sub>1</sub> → Rd → Rg <sub>3</sub> → Rh <sub>2</sub>	底物高选择性、高效性、高专一性、条件温和、反应周期短	成本高	
微生物转化法 Microorganism transformation	Rb <sub>1</sub> → Rd → Rg <sub>3</sub> → Rh <sub>2</sub>	操作简单、条件温和, 转化效率高、环保	选择性差	

## 参考文献

- Oh JY, et al. Investigation of ginsenosides in different tissues after elicitor treatment in *Panax ginseng* [J]. *J Ginseng Res*, 2014, 38: 270-277.
- Kim YJ, et al. Biosynthesis and biotechnological production of ginsenosides [J]. *Biotechnol Adv*, 2015, 33: 717-735.
- Gao W. Studies on the rare targets of acid transform of ginsenoside-Re [D]. Changchun: Jilin University (吉林大学), 2016.
- Liu WS, et al. Application of glycosidases for the ginsenosides biotransformation [J]. *Lett Biotechnol* (生物技术通讯), 2019, 30: 579-588.
- Wang AH, et al. Inhibitory effect and mechanisms of ginsenoside Rg<sub>3</sub> combined with cisplatin on the metastasis and microangiogenesis of hepatocellular carcinoma in mice [J]. *Chin J Comp Med* (中国比较医学杂志), 2019, 29: 82-87.
- Yang JD, et al. Effects of ginsenoside Rg<sub>3</sub> on fatigue resistance and skeletal muscle mitochondrial function in rats exposed to a simulated altitude of 5 000 m [J]. *J Third Mil Med Univ* (第三军医大学学报), 2019, 41: 110-115.
- He B. Immune enhancing effects of different ginsenosides monomer on peripheral lymphocytes *in vitro* in nasopharyngeal carcinoma patients treated with radiotherapy [D]. Hefei: Anhui Medical University (安徽医科大学), 2015.
- Chen DY, et al. Advances in the research of pharmacological effects and its mechanisms of 20(R)-ginsenoside Rg<sub>3</sub> [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31: 1285-1290.
- Ma L. Modern research progress on the processing mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Guangming Chin Med* (光明中医), 2019, 34: 2102-2104.
- Wang Z. Study on analysis, preparation artwork and anti-tumor activity of heat-processed ginsenosides [D]. Changchun: Jilin Agricultural University (吉林农业大学), 2015.
- Chen YX. Study on the preparation method of protopanaxadiol type minor ginsenosides [D]. Changchun: Jilin University (吉林大学), 2016.
- Hwang CR, et al. Changes in ginsenoside compositions and antioxidant activities of hydroponic-cultured ginseng roots and leaves with heating temperature [J]. *J Ginseng Res*, 2014, 38: 180-186.
- Du RX, et al. The effect of processing methods on content of ginsenoside and apoptosis of hepatoma cells [J]. *Chin J Veter Med* (中国兽医杂志), 2018, 54: 94-96.
- Li X. Structure identification and analysis on the chemical transformation products of ginsenosides [D]. Changchun: Changchun University of Traditional Chinese Medicine (长春中医药大学), 2019.
- Sun CP. Conversion of protopanaxadiol type saponins into minor ginsenoside Rg<sub>3</sub> catalyzed by lemon [D]. Changchun: Northeast Normal University (东北师范大学), 2013.
- Huang D, et al. Tartaric acid induced conversion of protopanaxadiol to ginsenosides Rg<sub>3</sub> and Rg<sub>5</sub> and their *in situ* recoveries by integrated expanded bed adsorption chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39: 2995-3001.
- Liang ZQ, et al. Preparation of 20(R)-ginsenoside Rg<sub>3</sub> by hydrolysis of total ginsenosides with hydrochloric acid [J]. *Ginseng Res* (人参研究), 2018, 30: 6-8.
- Zhao PY. Study on the alkaline-degradation method under high temperature and high pressure for *Panax quinquefolium* saponin and the antioxidant activity of degradation products [D]. Changchun: Jilin University (吉林大学), 2018.
- Ma LY, et al. 20(R)-Ginsenoside-Rh<sub>10</sub>, a novel ginsenoside

- from alkaline hydrolysates of total saponins instems-leaves of *Panax ginseng* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中成 药), 2016, 47(1):6-14.
- 20 Liu Y. Study on preparation method and anti-allergic activities of rare ginsenosides [D]. Changchun: Jilin University (吉林大学), 2018.
- 21 Zhang SS, et al. Cloning, overexpression and characterization of a thermostable  $\beta$ -xylosidase from *Thermotoga petrophila* and cooperated transformation of ginsenoside extract to ginsenoside 20(S)-R<sub>g3</sub> with a  $\beta$ -glucosidase [J]. Bioorg Chem, 2019, 85:159-167.
- 22 Du J, et al. Identification and characterization of a ginsenoside-transforming  $\beta$ -glucosidase from *Pseudonocardia* sp. Gsoil 1536 and its application for enhanced production of minor ginsenoside Rg<sub>2</sub>(S) [J]. PLoS One, 2014, 9: e96914.
- 23 Wan HD, et al. Highly efficient biotransformation of ginsenoside Rb<sub>1</sub> and Rg<sub>3</sub> using  $\beta$ -galactosidase from *Aspergillus* sp. [J]. RSC Adv, 2015, 5:78874-78879.
- 24 Kim YS, et al. Hydrolysis of the outer  $\beta$ -(1,2)-d-glucose linkage at the C-3 position of ginsenosides by a commercial  $\beta$ -galactosidase and its use in the production of minor ginsenosides [J]. Biocatal Biotransfor, 2019, 37:53-58.
- 25 Siddiqi MH, et al. Complete genome sequencing of *Arachidicoccus ginsenosidimutans* sp. nov, and its application for production of minor ginsenosides by finding a novel ginsenoside-transforming  $\beta$ -glucosidase [J]. RSC Adv, 2017, 7:46745-46759.
- 26 Li L, et al. Production of ginsenoside F<sub>2</sub> by using *Lactococcus lactis* with enhanced expression of  $\beta$ -glucosidase gene from *Paenibacillus mucilaginosus* [J]. J Agr Food Chem, 2016, 64:2506-2512.
- 27 Li XJ, et al. Research of *Bacillus subtilis* in soybean paste on Rg<sub>3</sub> ginseng content [J]. Jilin Agr (吉林农业), 2018, 18:50-53.
- 28 Wu LP, et al. Microbial transformation and the mechanism of *Panax notoginsenosides* by strain MB6 [J]. Ginseng Res (人参研究), 2018, 30:20-23.
- 29 Li JY, et al. Production of ginsenoside Rg<sub>3</sub> by *Burkholderia* sp. GE 17-7 from ginseng endophytes [J]. J Biol (生物学报), 2019, 36:41-45.
- 30 Liu D. Study of biotransformation of total ginsenosides by microorganisms and the pharmacological activity of fermentation [D]. Yanbian: Yanbian University (延边大学), 2010.
- 31 Yu HS, et al. Conversion of ginsenoside Rb<sub>1</sub> into six types of highly bioactive ginsenoside Rg<sub>3</sub> and its derivatives by FeCl<sub>3</sub> catalysis [J]. Chem Pharm Bull, 2018, 66:901-906.