

酒石酸催化转化原人参二醇组皂苷制备 20(R)-人参皂苷 Rg₃

孙成鹏¹, 高维平², 赵宝中¹, 成乐琴^{2*}

1. 东北师范大学化学学院, 吉林 长春 130024

2. 吉林化工学院化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022

摘 要: 目的 选择性制备 20(R)-人参皂苷 Rg₃, 为其制备提供理论依据。方法 以酒石酸为催化剂, 原人参二醇 (PPD) 组皂苷为原料, 通过单因素试验和正交试验对 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的制备工艺进行优化, 反应产物用 HPLC 进行定量分析。结果 正交试验优化结果表明, PPD (10 mg/mL) 和酒石酸 (1.5 mol/L) 于 110 °C 反应 2.5 h, 人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃ 和 Rd 基本全部转化, 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的产率为 50.15%, 其非对映体过量百分比为 93.12%。结论 该方法操作简单, 成本低廉, 适宜工业化生产, 对于推动 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的药理活性研究具有重要意义。

关键词: 20(R)-人参皂苷 Rg₃; 选择性; 酒石酸; 原人参二醇组皂苷; 酸水解

中图分类号: R284.3

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)14-1893-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.14.006

Catalytic conversion of protopanaxadiol saponins to 20(R)-ginsenoside Rg₃ by tartaric acid

SUN Cheng-peng¹, GAO Wei-ping², ZHAO Bao-zhong¹, CHENG Le-qin²

1. Department of Chemistry, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

2. Department of Pharmacy and Applied Chemistry, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin 132022, China

Abstract: Objective To prepare 20(R)-ginsenoside Rg₃ selectively and to provide the theory basis for the preparation. **Methods** 20(R)-Ginsenoside Rg₃ was prepared by hydrolyzing protopanaxadiol (PPD)-type saponins using tartaric acid as the catalyst. The preparation condition was optimized by one-factor experiment and orthogonal test, and the reaction products were analyzed by HPLC. **Results** The optimization result of orthogonal test showed that when PPD-type saponins (10 mg/mL) were hydrolyzed by tartaric acid (1.5 mol/L) at 110 °C for 2.5 h, all the ginsenosides Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃, and Rd were converted, the yields of 20(R)-ginsenoside Rg₃ was 50.15%, and the diastereomer excess percentage (de%) was 93.12%. **Conclusion** This method is simple, low-cost, and suitable for the mass production, which is very important to promote the study on the pharmacological activities of 20(R)-ginsenoside Rg₃.

Key words: 20(R)-ginsenoside Rg₃; selectivity; tartaric acid; protopanaxadiol-type saponins; acid hydrolysis

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 属五加科草本植物, 主要成分包括人参皂苷、人参多糖、挥发油及多种微量元素等, 而人参皂苷被视为其标志性成分^[1]。现代药理研究表明, 人参皂苷具有改善记忆力^[2]、抗疲劳^[3]、保护神经^[4]和抗细胞凋亡^[5]等作用。人参皂苷 Rg₃ 最初从红参中分离得到^[6], 根据 C-20 的羟基所处化学环境的不同, 可分为 20(S)-人参皂苷 Rg₃ 和 20(R)-人参皂苷 Rg₃, 两者在红参中的量分别为 0.015% 和 0.014%。现代药理研究表明, 在抗氧化^[7]、抗肿瘤^[8]和抑制黑色素瘤细胞 B16FE7 及人

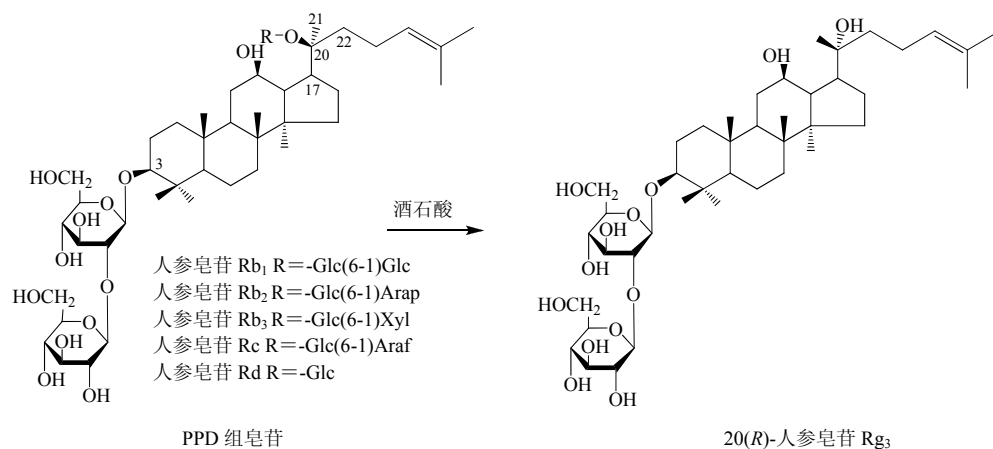
胰腺癌细胞 SN-1 体外侵袭^[9]方面, 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 明显强于 20(S)-人参皂苷 Rg₃; 然而, 在抑制由 5-HT₃ 诱导的冠状动脉萎缩^[10]方面, 20(S)-人参皂苷 Rg₃ 强于 20(R)-人参皂苷 Rg₃。目前, 20(S)-人参皂苷 Rg₃ 的制备可以通过碱水解^[11-12]和酶降解^[13-15]来实现, 但有关 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 制备的文献却鲜有报道, 本实验以市售的酒石酸 (即 D, L-酒石酸) 为催化剂, 原人参二醇 (PPD) 组皂苷为原料, 选择性地制备 20(R)-人参皂苷 Rg₃ (图 1), 并通过 HPLC 进行定量分析。

收稿日期: 2012-12-12

基金项目: 吉林市科技局项目 (201222316)

作者简介: 孙成鹏 (1987—), 男, 硕士研究生。Tel: 13591602167 E-mail: 332378090@qq.com

*通信作者 成乐琴 (1969—), 女, 教授, 博士, 吉林化工学院, 主要从事天然产物研究。Tel: 13843227135 E-mail: chengleqin@hotmail.com

图1 酒石酸催化转化 PPD 组皂苷制备 20(R)-人參皂苷 Rg₃Fig. 1 Catalytic conversion of PPD-type saponins to 20(R)-ginsenoside Rg₃ by tartaric acid

1 仪器与材料

PPD 组皂苷 (自制, 质量分数 98.52%); 对照品人參皂苷 Rb₁ (批号 MUST-12102301)、Rb₂ (批号 MUST-12110602)、Rb₃ (批号 MUST-11032201)、Rc (批号 MUST-11052705)、Rd (批号 MUST-12041212)、20(S)-Rg₃ (批号 MUST-12041211) 和 20(R)-Rg₃ (批号 MUST-12080811) 购自成都曼斯特公司, 质量分数 ≥ 98%; 人參根总皂苷 (人參皂苷质量分数 > 80%, 吉林抚松第一参场); D, L-酒石酸为分析纯 (阿拉丁试剂有限公司); 蒸馏水自制, 乙腈和甲醇为色谱纯。

P230P 型高效液相色谱仪 (大连依利特分析仪器有限公司); DK—98—II 型恒温水浴锅 (天津市泰斯特仪器有限公司), D101C 大孔吸附树脂 (西安蓝晓科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 PPD 组皂苷的分离

向 D101C 大孔吸附树脂中加入 15 mg/mL 的人參根总皂苷溶液 15 mL, 于 55 °C 静态吸附 12 h。再将已吸附有人參皂苷的 D101C 大孔吸附树脂用蒸馏水反复洗涤, 依次使用 35%、80% 乙醇水溶液于室温下静态解吸 12 h, 蒸干后所得残留物用适量的 70% 乙醇溶解, 缓慢加入丙酮, 经滤过、干燥得 PPD 组皂苷。HPLC 定量分析表明, PPD 皂苷质量分数为 98.51%, 其中人參皂苷 Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃ 和 Rd 的质量分数分别为 48.60%、19.11%、16.95%、4.72% 和 9.13%。

2.2 HPLC 分析

色谱条件: 色谱柱为 YMC J' sphere ODS-H80

(250 mm × 4.6 mm, 4 μm), UV 检测器, 检测波长为 203 nm, 进样量 20 μL, 柱温 30 °C, 体积流量 1 mL/min。流动相为乙腈 (A) - 水 (B)。梯度洗脱: 0~30 min, 30%~40% A; 30~37 min, 40%~50% A; 37~45 min, 50%~51% A; 45~60 min, 51%~55% A; 60~60.10 min, 55%~90% A; 60.10~75 min, 90% A; 75~75.10 min, 90%~30% A。

2.3 单因素考察

在前期研究中, 分别使用酒石酸、柠檬酸、乳酸、醋酸等温和的有机酸进行了制备 20(R)-人參皂苷 Rg₃ 的探索试验, 计算 20(R)-人參皂苷 Rg₃ 的产率和非对映体过量百分比 (de%)。

$$Y = X / \sum_{i=Rb_1}^{Rd} W_i \times C \times V / M_i / M_{Rg_3}$$

Y 为产率, X 为实际产量, W_i 为人參皂苷的量, C 为 PPD 皂苷浓度, V 为 PPD 皂苷体积, M_i 为人參皂苷相对分子质量, M_{Rg₃} 为人參皂苷 Rg₃ 相对分子质量

$$de\% = (R\% - S\%) / (R\% + S\%)$$

R% 为 20(R)-人參皂苷 Rg₃ 的产率, S% 为 20(S)-人參皂苷 Rg₃ 的产率

结果表明, 4 种有机酸中酒石酸显示出最高非对映体过量百分比 (数据未公开), 故选择酒石酸作为酸催化剂, 分别探讨了酒石酸浓度、反应温度、反应时间对 20(R)-人參皂苷 Rg₃ 的选择性影响, 并通过正交试验进行了进一步优化。

2.3.1 酒石酸浓度对 20(R)-人參皂苷 Rg₃ 的选择性影响 向 PPD 组皂苷溶液 (10 mg/mL) 中分别加入浓度为 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25 mol/L 的酒石酸, 于 80 °C 直接加热反应 2 h。反应产物经饱和

Na_2CO_3 中和至 pH 值为 6, 用水饱和正丁醇 (1:1) 萃取 5 次, 合并有机层, 于 45 °C 浓缩蒸干。残留物用甲醇溶解, 0.45 μm 滤膜滤过, 进行 HPLC 定量分析 (外标法), 结果见表 1。可以看出, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的 $\text{de}\%$ 随着酒石酸浓度的增大而显著提高。当酒石酸浓度为 0.25 mol/L 时, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的 $\text{de}\%$ 仅为 2.05%, 酒石酸浓度达到 1.25 mol/L 时, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的 $\text{de}\%$ 为 21.55%, 是前者的 10.51 倍。上述结果表明, 高浓度的酒石酸有利于提高 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性, 故酒石酸浓度以 1.25 mol/L 为宜。

表 1 酒石酸浓度对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性影响
Table 1 Selective effect of tartaric acid concentration on 20(R)-ginsenoside Rg_3

酒石酸浓度 / (mol·L ⁻¹)	产率 / %		de% / %
	20(S)-人参皂苷 Rg_3	20(R)-人参皂苷 Rg_3	
0.25	27.75	28.91	2.05
0.50	31.87	33.44	2.40
0.75	20.91	30.97	19.38
1.00	28.39	36.09	11.95
1.25	21.81	33.78	21.55

2.3.2 反应温度对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性影响
向 PPD 组皂苷溶液 (10 mg/mL) 中加入浓度为 1.25 mol/L 的酒石酸, 分别于 80、90、100、110、120 °C 直接加热反应 2 h。反应产物经饱和 Na_2CO_3 水溶液中和后, 用水饱和正丁醇萃取 5 次, 合并有机层, 于 45 °C 浓缩蒸干。残留物用甲醇溶解, 0.45 μm 滤

膜滤过, 进行 HPLC 定量分析, 结果见表 2。可以看出, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的产率和 $\text{de}\%$ 均随着反应温度的升高而显著增加, 而 20(S)-人参皂苷 Rg_3 的产率却呈现相反趋势, 说明高温有利于提高 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性。

表 2 反应温度对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性影响
Table 2 Selective effect of reaction temperature on 20(R)-ginsenoside Rg_3

温度 / °C	产率 / %		de% / %
	20(S)-人参皂苷 Rg_3	20(R)-人参皂苷 Rg_3	
80	21.81	33.78	21.55
90	12.17	49.53	60.54
100	3.46	56.39	88.43
110	2.19	50.57	91.69
120	0.39	28.00	97.24

理论上 PPD 组皂苷水解生成 20(R)-人参皂苷 Rg_3 和 20(S)-人参皂苷 Rg_3 时存在 $\text{S}_{\text{N}}1$ 反应和 $\text{S}_{\text{N}}2$ 反应 2 种机制, 如果反应按照 $\text{S}_{\text{N}}1$ 反应机制进行水解, 主要得到 20(R)-人参皂苷 Rg_3 和 20(S)-人参皂苷 Rg_3 的混合物, 而且 2 种产物收率持平或构型翻转的 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的收率高于构型保持的 20(S)-人参皂苷 Rg_3 ; 如果反应是按照 $\text{S}_{\text{N}}2$ 反应机制进行, 由于反应主要受空间因素的影响, 主要得到保持构型的 20(S)-人参皂苷 Rg_3 。无论是酒石酸浓度 (表 1) 还是反应温度 (表 2) 对反应的影响, 均可发现 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的产率高于 20(S)-人参皂苷 Rg_3 , 说明酒石酸催化水解 PPD 组皂苷制备人参皂苷 Rg_3 的反应主要按照 $\text{S}_{\text{N}}1$ 反应机制进行 (图 2)。

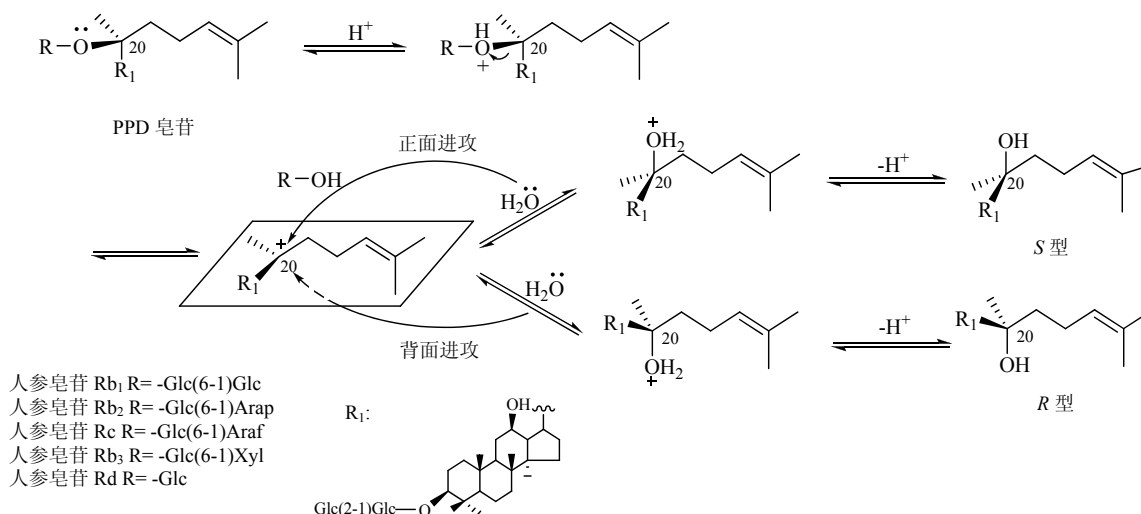


图 2 PPD 组皂苷转化为 20(S)- Rg_3 和 20(R)- Rg_3 的反应机制

Fig. 2 Reaction mechanism of 20(S)- Rg_3 and 20(R)- Rg_3 by converting PPD-type saponins

之所以随着反应温度的升高, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的收率明显增加, 而 20(S)-人参皂苷 Rg_3 的收率明显减少, 可能是因为温度升高, 亲核试剂的亲核性增强, 当亲核试剂 H_2O 进攻中心碳原子时, 离去基 ROH 尚未远离中心碳原子, 导致从离去基背面进攻(构型翻转)的几率远高于正面进攻(构型保持)的几率, 使得 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性可以得到有效提高。综合考虑 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的产率和 $de\%$, 反应温度以 100 $^{\circ}C$ 为宜。

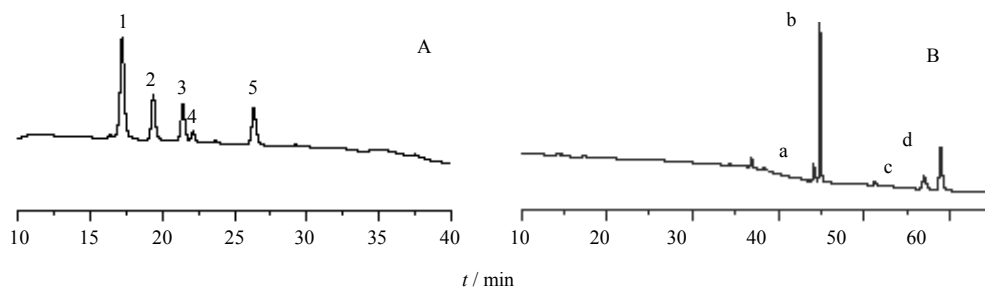
2.3.3 反应时间对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性影响
向 PPD 组皂苷溶液(10 mg/mL)中加入浓度为 1.25 mol/L 的酒石酸, 于 100 $^{\circ}C$ 分别反应 1、1.5、2、2.5、3 h。反应产物经饱和 Na_2CO_3 水溶液中和后, 用水饱和正丁醇萃取 5 次, 合并有机层, 于 45 $^{\circ}C$ 浓缩蒸干。残留物用甲醇溶解, 0.45 μm 滤膜滤过, 进行 HPLC 定量分析, 结果见表 3。可以看出, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的产率随反应时间的延长而增加, 而 20(S)-人参皂苷 Rg_3 的产率随反应时间的延长先增后降, 说明随着反应时间的推移, 可能部分 20(S)-

表 3 反应时间对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性影响Table 3 Selective effect of reaction time on 20(R)-ginsenoside Rg_3

时间 / h	产率 / %		$de\% / \%$
	20(S)-人参皂苷 Rg_3	20(R)-人参皂苷 Rg_3	
1	6.28	47.88	76.80
1.5	6.58	48.49	76.12
2	3.46	56.39	88.43
2.5	3.47	56.26	88.38
3	5.41	43.22	77.76

人参皂苷 Rg_3 转化为 20(R)-人参皂苷 Rg_3 。由于水解反应是可逆反应, 20(S)-人参皂苷 Rg_3 同样可以像 PPD 组皂苷一样受到 H^+ 的进攻而转变为 20(R)-人参皂苷 Rg_3 (图 2)。但当反应时间超过 2.5 h 时, 20(S)-人参皂苷 Rg_3 的产率出现小幅提升, 具体原因有待进一步研究。反应时间对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的选择性影响中可以看出, 最佳反应时间为 2 h。

图 3 为 PPD 组皂苷原料和反应时间为 2 h 的水解产物的 HPLC 分析谱图。图 3-A 的原料 HPLC 图中, 保留时间在 16.3、18.2、20.2、21.1、25.2 min



1-人参皂苷 Rb_1 2-人参皂苷 Rc 3-人参皂苷 Rb_2 4-人参皂苷 Rb_3 5-人参皂苷 Rd a-20(S)-人参皂苷 Rg_3 b-20(R)-人参皂苷 Rg_3
c-人参皂苷 Rk_1 与 Rz_1 的混合物 d-人参皂苷 Rg_5
1-ginsenoside Rb_1 2-ginsenoside Rc 3-ginsenoside Rb_2 4-ginsenoside Rb_3 5-ginsenoside Rd a-20(S)-ginsenoside Rg_3
b-20(R)-ginsenoside Rg_3 c-mixture of ginsenoside Rk_1 and Rz_1 d-ginsenoside Rg_5

图 3 PPD 组皂苷 (A) 和反应产物 (B) 的 HPLC 谱图

Fig. 3 HPLC sectional analysis on PPD-type saponins (A) and reaction product (B)

的信号峰, 分别归属于原料中人参皂苷 Rb_1 、 Rc 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rd 。图 3-B 为反应产物的 HPLC 图, 20(S)-人参皂苷 Rg_3 和 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的信号峰分别出现在保留时间 43.5、44.4 min, 保留时间为 56.4、58.3 min 的信号峰归属于人参皂苷 Rk_1 与 Rz_1 的混合物^[16]和 Rg_5 (均为人参皂苷 Rg_3 的脱水产物), 而保留时间在 15~30 min 没有出现任何信号峰, 说明原料基本全部转化。HPLC 定量分析结果表明, 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的产率为 56.39%, 其 $de\%$ 为 88.43%。

2.4 正交试验优化

为进一步优化 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的制备工艺, 以酒石酸浓度 (A)、反应温度 (B) 和反应时间 (C) 为主要因素, 依据 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验, 对 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的制备工艺条件进行优化, 并对最优方案进行验证。因素水平见表 4, 正交试验设计与结果见表 5, 方差分析见表 6。

由表 5 可以看出, 影响 20(R)-人参皂苷 Rg_3 产率的因素次序为 $A > B > C$, 优化方案为 $A_3B_3C_2$; 影响 20(R)-人参皂苷 Rg_3 的 $de\%$ 的因素次序为 $B > C >$

表4 因素水平表

Table 4 Levels and factors

因素水平	A / (mol·L ⁻¹)	B / °C	C / h
1	1.00	100	2.0
2	1.25	90	1.5
3	1.50	110	2.5

A, 优化方案为 A₃B₃C₃。对 A、B 2 种指标来说, 都是以 A₃ 和 B₃ 为最佳水平, 而 C 因素在 2 种指标中的影响次序略有不同, C 因素对 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的 *de*% 影响相对于 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 产率影响显著 ($P < 0.01$), 依据 1 个因素对 2 种指标起到主要

表5 L₉(3⁴) 正交试验设计与结果Table 5 Design and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A / (mol·L ⁻¹)	B / °C	C / h	D (空白)	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ 产率 / %	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ <i>de</i> % / %
1	1.00 (1)	100 (1)	2.0 (1)	1	46.28	74.18
2	1.00 (1)	90 (2)	1.5 (2)	2	47.72	48.93
3	1.00 (1)	110 (3)	2.5 (3)	3	48.56	91.25
4	1.25 (2)	90 (2)	2.5 (3)	1	48.01	64.32
5	1.25 (2)	110 (3)	2.0 (1)	2	50.48	91.53
6	1.25 (2)	100 (1)	1.5 (2)	3	48.51	75.17
7	1.50 (3)	110 (3)	1.5 (2)	1	60.12	88.56
8	1.50 (3)	100 (1)	2.5 (3)	2	53.54	87.67
9	1.50 (3)	90 (2)	2.0 (1)	3	48.12	61.34
20(R)-人参皂苷 Rg ₃ 产率						
K ₁	142.56	148.33	144.88	154.41		
K ₂	147.00	143.85	156.35	151.74		
K ₃	161.78	159.16	150.11	145.19		
R	19.22	15.31	11.47	9.22		
20(R)-人参皂苷 Rg ₃ <i>de</i> %						
K ₁	214.36	237.02	227.05	227.05		
K ₂	231.02	174.59	212.66	228.13		
K ₃	237.57	271.34	243.24	227.76		
R	23.21	96.75	30.58	1.08		

表6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

方差来源	自由度	均方		F 值		P 值	
		20(R)-人参皂苷 Rg ₃ 产率	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ <i>de</i> %	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ 产率	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ <i>de</i> %	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ 产率	20(R)-人参皂苷 Rg ₃ <i>de</i> %
A	2	101.26	143.19	15 214.6	28 324	不显著	<0.01
B	2	61.96	2 405.99	9 309.4	475 910	不显著	<0.01
C	2	32.98	234.05	4 954.5	46 296.4	不显著	<0.01
空白	2	22.51	0.3	3 381.6	58.4		

因素和次要因素时, 应选取作为主要因素时的优化水平的原则^[17], 选取 C₃ 为最佳水平, 故反应的最优方案选定为 A₃B₃C₃, 即酒石酸浓度为 1.5 mol/mL, 温度为 110°C, 反应时间为 2.5 h。最优方案 A₃B₃C₃ 在正交试验表中没有出现, 因此, 对其进行了验证试验。结果表明, 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 产率为 50.29%、50.03%、50.13%, *de*% 为 93.15%、93.08%、

93.14%, 与正交试验表中反应效果最好的 A₃B₃C₂ 结果相比, 虽然产率略有降低, 但 *de*% 得到明显提高, 可以证明该方案为选择性制备 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的最优方案。

3 讨论

20(R)-人参皂苷 Rg₃ 为 20(S)-人参皂苷 Rg₃ 的差向异构体, 在抗肿瘤、改善记忆力和抗氧化等方面

药理活性显著。通常手性化合物的制备需要以昂贵的手性试剂为催化剂,在本实验中以市售的酒石酸为催化剂,PPD 组皂苷为原料,高选择性地制备了20(R)-人参皂苷 Rg₃。实验结果表明,当 PPD 组皂苷质量浓度为 10 mg/mL,酒石酸浓度为 1.5 mol/L,于 110 °C 反应 2.5 h,原料中人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd 基本全部转化,20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的产率为 50.15%,其 *de*% 为 93.12%。该方法操作简单,成本低,适宜工业化生产,这对于研究 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 的制备及其药理活性具有重要参考价值。

参考文献

- [1] Karikura M, Miyase T, Tanizawa H, *et al.* Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. VII. Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb₁ and Rb₂ in the digestive tract of rats [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(9): 2357-2361.
- [2] 张 晶, 王世荣, 陈全成, 等. 人参皂苷 Rg₃(R), Rg₃(S), Rg₅/Rk₁ 对乙醇致小鼠记忆阻碍改善作用的影响 [J]. *吉林农业大学学报*, 2006, 28(3): 283-284.
- [3] Leung K W, Yung K K, Mak N K, *et al.* Angiomodulatory and neurological effects of ginsenosides [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14(12): 1371-1380.
- [4] Tang W Y, Zhang Y, Gao J, *et al.* The anti-fatigue effect of 20(R)-ginsenoside Rg₃ in mice by intranasally administration [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 31(11): 2024-2027.
- [5] Ko H, Kim Y J, Park J S, *et al.* Autophagy inhibition enhances apoptosis induced by ginsenoside Rk₁ in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73(10): 2183-2189.
- [6] Bae E A, Han M J, Kim E J, *et al.* Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh₂ by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27: 61-67.
- [7] Wei X J, Su F, Su X Y, *et al.* Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg₃ on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(4): 636-642.
- [8] 耿 良, 花宝金. 人参皂苷 Rg₃ 抗肿瘤实验研究进展 [J]. *北京中医药*, 2011, 30(7): 544-548.
- [9] Mochizuki M, Yoo Y C, Matsuzawa K, *et al.* Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb₂, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg₃, of red ginseng [J]. *Biol Pharm Bull*, 1995, 18(9): 1197-1202.
- [10] Jeong S M, Lee J H, Kim J H, *et al.* Stereospecificity of ginsenoside Rg₃ action on ion channels [J]. *Mol Cells*, 2004, 18: 383-389.
- [11] 姜永涛, 陈继永, 马双刚, 等. 西洋参总皂苷碱降解产物的分离及结构鉴定 [J]. *烟台大学学报*, 2006, 19(2): 142-147.
- [12] 丛登立, 鞠会艳, 张崇禧. 20(S)-人参皂苷-Rh₂ 和 20(S)-人参皂苷-Rg₃ 的制备与鉴定 [A] // 吉林省科学技术协会. 吉林省第五届科学技术学术年会论文集 [C]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2008.
- [13] Cheng L Q, Na J R, Bang M H, *et al.* Conversion of major ginsenoside Rb₁ to 20(S)-ginsenoside Rg₃ by *Microbacterium* sp. GS514 [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69: 218-224.
- [14] Yan Q, Zhou W, Li X E, *et al.* Purification method improvement and characterization of a novel ginsenoside-hydrolyzing β -glucosidase from *Paecilomyces Bainier* sp. 229 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(2): 352-359.
- [15] 白龙律, 臧蕴霞, 尹成日. 微生物转化人参皂苷 Rb₁ 为 Rg₃ 的研究 [J]. *延边大学学报*, 2009, 35(2): 141-144.
- [16] Kwon S W, Han S B, Park I H, *et al.* Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng [J]. *J Chromatogr*, 2001, 921: 335-339.
- [17] 霍冀川. 化学综合设计实验 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.