稀有原人参三醇型皂苷的生物转化研究进展

毕云枫，姜 珊，郑明珠，刘景圣*

吉林农业大学食品科学与工程学院，吉林 长春 130118

摘 要：人参是传统的名贵中药，其主要活性成分为人参皂苷，对心血管、肿瘤、中枢神经系统等疾病有显著的疗效。特别是原人参三醇（PPT）型皂苷 Rh_1 具有良好的抗炎、抗过敏、提高记忆力等活性。人参皂苷 Rh_1 仅微量地存在于人参、三七、西洋参中。生物转化方法制备稀有人参皂苷已成为一种有效的途径。综述利用生物转化方法对 PPT 型人参皂苷进行转化，生成稀有人参皂苷的研究进展，以期为稀有人参皂苷的进一步开发利用提供参考。

关键词：原三醇型皂苷；生物转化；人参皂苷 Rh_1；抗炎活性；抗过敏活性

中图分类号：R284 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2017)19 - 4120 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.19.033

Advances in biotransformation of protopanaxatriol rare ginsenoside

BI Yun-feng, JIANG Shan, ZHENG Ming-zhu, LIU Jing-sheng

School of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Ginseng is a traditional medicine in Asian countries. Ginsenoside has the main active ingredient, exhibit cardiovascular, tumor, and central nervous system activities. In particular, protopanaxatriol-type ginsenosides Rh_1, exhibits anti-inflammatory, anti-allergic, and memory improvement activities. Ginsenoside Rh_1 is only found in trace amounts in *Panax ginseng*, *Panax pseudoginseng* var. *notoginseng*, and *Panax quinquefolius*. Biotransformation of rare ginsenosides has become an effective way. In this paper, the research progress of transformation of ginsenoside saponins by biotransformation to produce rare ginsenoside Rh_1 is reviewed, which provides a useful reference for the further development and preparation of ginsenoside Rh_1.

Key words: protopanaxatriol ginsenoside; biotransformation; ginsenoside Rh_1; anti-inflammatory activity; anti-allergic activity

人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 在东亚国家被用作草药已有 2 000 余年的历史，在过去的几十年里，人参在西方国家也逐渐受到广泛的关注[1-2]。人参具有独特的药理活性，主要是因为其含有生物活性物质人参皂苷[3-7]，人参皂苷具有抗肿瘤、抗炎、抗过敏和抗氧化等多种活性。人参皂苷的种类已超过了 180 种，现已分离并能确定结构的人参皂苷有 50 多种。分析已确定结构的人参皂苷可知，它们都含有由 30 个碳原子排列成 4 或 5 个环的三萜母核，依照母核骨架的不同而被分为达玛烷型和齐墩果酸型。达玛烷型包括原人参二醇（protopanaxdiol，PPD）型，如人参皂苷 Rb_1、Rb_2、Rc、Rd、F_2、Rh_2 等和原人参三醇（protopanaxtriol，PPT）型，如人参皂苷 Re、Rg_1、Rf、Rg_2、Rh_1 等。齐墩果酸型包括人参皂苷 Ro、Q-R_3 和 Q-R_4 等。还可以根据人参皂苷在人参中的量被分为主要或次要人参皂苷[8]。人参皂苷 Rb_1、Rd、Rg_1、Re 等的量较高，而人参皂苷 Rg_2、Rh_1、Rh_2 等的量极少，为稀有人参皂苷。部分 PPT 型皂苷化学结构见图 1。

研究表明，去掉部分糖基的稀有原人参三醇型次级人参皂苷和皂苷元的生物活性远高于未经降解的人参皂苷。如人参皂苷 Rg_2、Rh_1 和皂苷元 PPT 的生物活性比其对应的未去掉糖基的人参皂苷 Re、Rg_1 等具有更好的生物活性。人参皂苷 Rh_1 具有抗过敏、抗炎和抗癌转移活性，能够增加记忆和海马兴奋性，可充当植物雌激素并激活雌激素受体信号传导途径，并有被开发成抗恶性肿瘤的新型化疗剂的潜力[9-12]。人参皂苷 Rg_2 可以保护人类红细胞免

收稿日期：2017-03-31

基金项目：长白山学者特聘教授专项资金（00566）

作者简介：毕云枫（1976—），男，副教授，研究方向为食品酶学研究。Tel: (0431)84533239 E-mail: 781310113@qq.com

*通信作者 刘景圣（1964—），男，博士生导师，教授，研究方向为粮食深加工与功能性食品研究。E-mail: Liujs1007@vip.sina.com.cn

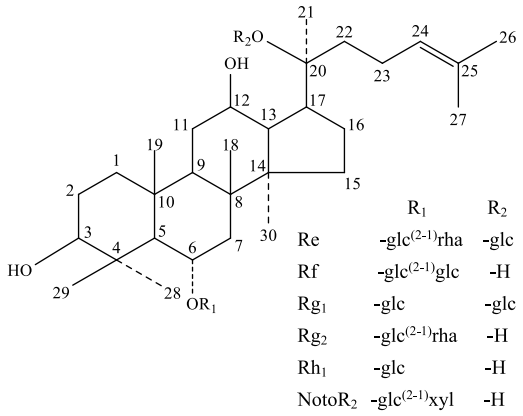

图 1 部分 PPT 型皂苷的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of partial protopanaxatriol ginsenosides

受血红素诱导的溶血、充当抗氧化剂、延长溶血的滞后时间、影响小鼠卵白蛋白（OVA）的免疫应答、作为促氧化剂并防止记忆障碍[13]。人参皂苷 Rh_1 和 Rg_2 还具有保护红细胞流变的功能，主要是抑制了带状-3 蛋白中 SH 基团的氧化。这些药理活性使人参皂苷 Rh_1 和 Rg_2 具有治疗严重疾病如恶性肿瘤、神经炎症性疾病和 2 型糖尿病的极大潜力。

目前，稀有人参皂苷因安全可靠和药理作用明确等优点，具有潜在的市场应用前景。然而，在自然界中要想获得大量的人参皂苷 Rh_1 和 Rg_2 极其困难。因其量极少，在干人参中量小于 0.034%[14-15]，从人参中提取大量纯的 Rh_1 和 Rg_2 是非常困难和昂贵的，造成了对这些人参皂苷药理活性研究的瓶颈。所以，制备人参皂苷的方法不断在改进，包括化学水解法（酸水解法、碱水解法）、酶水解法、微生物发酵法、加热加工法及化学合成法。过去多采用酸或碱水解的化学方法[16-18]。

生物转化是生物技术的重要组成部分，已被应用在各个领域，被认为是工业可持续发展的最有希望的技术[19]。而利用生物转化技术制备稀有人参皂苷因具有催化效率高、专一性强和反应条件温和等优点已成为新的研究方向。

制备稀有人参皂苷的生物转化技术主要有 2 种：一是从微生物中直接筛选出具有某种性状的菌株，提取 β-葡萄糖苷酶、淀粉酶、蜗牛酶等酶类间接催化皂苷去糖基，或利用基因工程技术构建产酶工程菌来异源表达相应的酶来水解常见的人参皂苷，使部分糖基被水解，生成稀有人参皂苷；二是利用已知菌株直接发酵人参皂苷进行生物转化。

1 酶水解法

酶水解法具有高度的底物特异性，不同种类的酶作用于不同构型和不同种类糖的糖苷键，从而使结构发生转变，达到水解目的，得到相应的产物。与传统的化学水解法相比，酶水解法具有反应温和、催化高效、反应条件及过程可控、对环境无污染等优点，是当前研究的热点。

PPT 型人参皂苷的 C-6 与 C-20 位上连接不同的糖基，这 2 个位置的糖基在某种特异性酶的作用下糖苷键会发生断裂，失去 1 种或几种糖，得到新的人参皂苷单体。如人参皂苷 Re 的 C-6 位末端的鼠李糖基在 NS37040 酶的作用下，使其糖苷键断裂，失去 1 分子鼠李糖，形成 Rg_1，接着 Rg_1 的 C-20 位上的糖苷键被 NS37040 酶水解，失去 β-*D*-吡喃葡萄糖形成人参皂苷 Rh_1，然后再经酶解，使人参皂苷 Rh_1 的 C-6 位上的葡萄糖糖苷键断裂，脱去最后的 1 分子葡萄糖，最终转化成 20(*S*)-PPT[20]。

Ko 等[21]用从米曲霉 *Aspergillus oryzae* 中提取的 β-半乳糖苷酶（G）、从青霉菌 *Penicillium* sp. 中提取的乳糖酶（L）、从斜卧青霉 *Penicillium decumbens* 中提取的柚皮苷酶（N）和从 *Penicilium* sp. 中提取的橙皮苷酶（H）对几种 PPT 型人参皂苷进行酶水解反应。人参皂苷 Re 经 G 水解后转化成 Rg_2；Rg_2 经 H、L、N 水解后转化成 Rh_1；Rh_1 经 N 水解生成苷元 PPT；人参皂苷 Rf 经 G、H、L、N 水解后转化成 Rh_1；Rh_1 经 N 酶水解后生成苷元 PPT。

Cui 等[22]从能够转化人参皂苷的 12 种菌株中分离出 1 种菌株 *Mucilaginibacter* sp. QM49，从该菌株中克隆表达得到重组的 β-葡萄糖苷酶（BglQM）。利用 BglQM 水解人参皂苷 Rg_1 C-20 位的 β-*D*-吡喃葡萄糖苷键，得到 20(*S*)-人参皂苷 Rh_1。

Ruan 等[23]从人参土壤中分离出 1 株黑曲霉 *Aspergillus niger*，从该菌株中克隆表达得到 1 个 β-葡萄糖苷酶（Bgl1），在最适条件 pH 7.5，37 ℃下 BGL1 与人参皂苷 Rf 发生酶促反应，水解掉 Rf 的 C-6 上的-β-*D*-葡萄糖基，从而得到人参皂苷 Rh_1。

Shin 等[24]从热解糖酵母杆菌 *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* 中获得 β-木糖苷酶，利用 β-木糖苷酶水解三七皂苷 R_2，得到人参皂苷 Rh_1。转化路径见图 2。

Wei 等[25]从人参中分离出 4 种具有二磷酸糖基

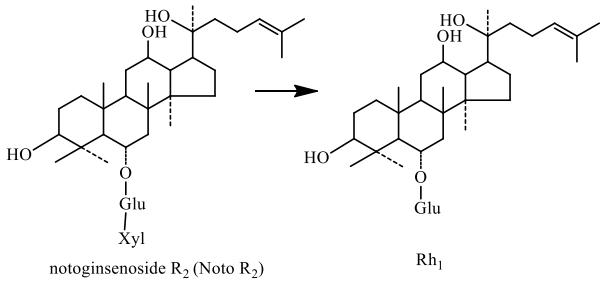

图 2　由三七皂苷 R_2 制备人参皂苷 Rh_1

Fig. 2　Production of ginsenoside Rh_1 from notoginsenoside R_2

转移酶（UGT）特征的基因，包括 UGTPg100、UGTpg101 、UGTPg102 和 UGTPg103 。利用 UGTPg100 将 Rh_1 的 C-6-OH 去糖基生成 PPT。

Lee 等[26]从刺孢青霉 *Penicillium aculeatum* 中得到 β-葡萄糖苷酶。在 SDS-PAGE 上纯化为相对分子质量为 110 500 的单条带，通过盐沉淀、Hi-Trap Q HP 和 Resource Q 离子交换色谱，测得酶活力为 75.4 U/mg。结果表明，此 β-葡萄糖苷酶具有能水解 PPT 型人参皂苷 3-*O*- 和 6-*O*-β-葡萄糖糖苷键，而不能水解 20-*O*-β-葡萄糖糖苷键和其他位置的糖苷键的特异性，转化途径为 Rg_1→F_1，Rf→Rh_1→PPT。

Oh 等[27]从火球菌 *Pyrococcus furiosus* 中获得具有特异性的重组 β-葡萄糖苷酶，此酶对 PPT 型皂苷水解活性的顺序是 Rf＞R_1＞Re＞R_2＞Rg_2，这些人参皂苷被水解后依次转化成人参皂苷 Rh_1、Rg_1、Rg_1、Rh_1 和 Rh_1。分析水解后的产物可知，此 β-葡萄糖苷酶可以水解 PPT 型人参皂苷的 C-6 位上外葡萄糖苷键，但不能水解 C-6 和 C-20 位上的内葡萄糖苷键，利用此特性，将其与人参皂苷 Rf 在 pH 5.5、95 ℃条件下反应 1.2 h，可将 Rf 完全转化为人参皂苷 Rh_1。

Shin 等[28]从土地戈登氏菌 *Gordonia terrae* 中克隆出 β-葡萄糖苷酶基因，并在大肠杆菌中表达。实验表明，此 β-葡萄糖苷酶既能水解 PPD 型人参皂苷 C-20 位的吡喃葡萄糖苷键，又能水解 PPT 型人参皂苷中 C-6 或 C-20 位的吡喃葡萄糖苷键。针对此特性将 β-葡糖苷酶与人参皂苷 Rg_1 在 pH 6.5，30 ℃条件下反应 1 h，Rg_1 转化为 Rh_1 的产率为 82%。

王宇[29]对人参皂苷 Rh_1 的制备进行研究。首先利用生物反应器 Fungamyl 800 L 将人参皂苷 Re 在 pH 5.0、50 ℃条件下反应 48 h，结果表明人参皂苷 Re 最终转化成了 Rg_1。再将重组 β-葡萄糖苷酶（BglBX10）与人参皂苷 Rg_1 在最适条件 pH 7.0、37 ℃下发生酶解反应，经过产物分析可知，人参皂苷 Rg_1 的 C-20 位上的葡萄糖苷键断裂，失去 β-*D*-吡喃葡萄糖苷，转化生成了 20(*S*)-人参皂苷 Rh_1。

侯金刚等[30]先将人参茎叶总皂苷吸附在 AB-8 大孔树脂上，利用不同浓度的乙醇进行分离，得到主要成分为 Rg_1 和 Re 的 PPT 总皂苷。再利用 1.1 g 蜗牛酶在最适条件 pH 4.5、40 ℃，与分离出的 10 g PPT 总皂苷反应 24 h。所得到的最终产物经过一系列处理后得到化合物粗品，经过 HPLC 和质谱鉴定，此化合物为 20(*S*)-人参皂苷 Rh_1。

金凤燮等[31]利用酶水解法制备稀有人参皂苷，从人参总皂苷中分离出的 PPD 型人参皂苷（含少量 Re 和 Rg_1），与 β-葡萄糖苷酶发生酶水解反应和其他反应，反应结束后采用 TLC 和 HPLC 法测定复合反应产物，再利用硅胶柱分离产物，结果显示有少量的副产物 Rh_1、Rg_3、PPT 等的生成。

2　微生物转化法

微生物转化是利用微生物细胞所分泌的 1 种或多种酶把 1 种化合物转化成更有经济价值的产物的过程，其本质是酶与外源底物的酶促反应。微生物便于培养和观察，并且会分泌丰富的酶系。利用微生物本身所分泌的酶与人参皂苷进行酶促反应，最终使人参皂苷的某一糖基部位发生改变，从而获得更有价值的特定结构产物[32]。

Dong 等[33]利用 49 种微生物菌株生物转化人参皂苷 Rg_1，发现其中只有小型丝状真菌黑曲霉 *Aspergillus niger* 3.1858 与蓝色犁头霉 *Absidiacoerulea* 3.3538 分别与人参皂苷 Rg_1 反应 6 d 后，会完全水解掉人参皂苷 Rg_1 的 C-20 位上的糖基，产生同一种代谢物 Rh_1。

Yu 等[34]利用从犁头霉菌 *Absidia* sp. 39（FFCDL-39）菌株中得到的 α-鼠李糖苷酶水解 20(*S*)- 和 20(*R*)-人参皂苷 Rg_2，得到相应的 20(*S*)- 和 20(*R*)-人参皂苷 Rh_1。

Lee 等[35]从嗜热古菌网团菌 *Dictyoglomus turgidum* 获得重组的 β-糖苷酶，该酶具有选择性水解 C-6 位上木糖苷键和 PPT 型人参皂苷上葡萄糖基的特异性，水解顺序为 Rf＞Rg_1＞Re＞Noto R_1＞Rh_1＞Noto R_2。10.6 U/mL 的 *D*. *turgidum* β-糖苷酶在最适条件 pH 6.0，80 ℃，与 1 mg/mL 人参皂苷 Rf 和 Rg_1 发生酶解反应，反应 6.6 h 时转化途径为 Rf→Rh_1→PPT 和 Rg_1→Rh_1→PPT；与 1 mg/mL Noto R_1 反应 24 h 后，转化率为 75.6%，转化途径为 Noto R_1→Noto R_2→Rh_1→PPT。

Wang 等[36]从曲霉属菌种中分离出 1 种新型人参皂苷酶，经纯化和表征后被称为人参皂苷 IV 型酶，该酶能水解人参皂苷 Re、R_1、Rf 和 Rg_2 的 C-6 位糖基。还能够将 Re 的 6-*O*-α-*L*-(1→2)-鼠李糖苷水解，将其转化为人参皂苷 Rg_1。随后，它可以将 Rg_1 的 6-*O*-β-*D*-葡萄糖苷水解，使其转化成 F_1。该酶还能够将 Rg_2 的 6-*O*-α-*L*-(1→2)-鼠李糖苷和 Rf 的 6-*O*-β-*D*-(1→2)-葡萄糖苷水解，使其转化成 Rh_1，然后 Rh_1 进一步水解成 PPT。

2009 年昆明诺为金生物工程有限公司发现了 1 株名为弗氏链霉菌 *Sterptomyles fradiae* 的菌株，该菌株可以将三七总皂苷转化成 20(*S*)-人参皂苷 Rh_1。研究表明此菌株具有生长状态好、营养要求低及性状稳定等特点，利用此菌株制备人参皂苷 Rh_1 可使生产成本降低，杂质减少，最终产物的得率较高[37]。

成乐琴等[38]利用微杆菌 *Microbacterium esteraromatium* GS514 产的粗酶液选择性地水解人参皂苷 Re 的 C-20 位的 β-*D*-吡喃葡萄糖糖苷键，使其定向转化为人参皂苷 Rg_2；此酶还可以将人参皂苷 Rg_1 的 C-20 位上的葡萄糖水解，转化为人参皂苷 Rh_1 及 PPT。

宋艳[39]从可用于食品的 21 种微生物中，筛选出 9 种能不同程度地降解人参皂苷生成稀有人参皂苷和皂苷元的菌株。将这 9 种菌株进行优化培养得到 4 种益生菌菌株，即长双歧杆菌、干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌、鼠李糖乳杆菌。将 4 种菌株随机组合与人参皂苷 Rb_1、Rb_2、Rb_3、Rc 及 Rd 等发酵，经 TLC 分析产物可知，均转化成了苷元 PPD 和 PPT，当组合益生菌菌株为鼠李糖乳杆菌、干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌（比例为 1∶1∶1）时，可以使转化更完全、有效成分更高及副产物更少。将这 3 种组合益生菌菌株（比例为 1∶1∶1）与人参进行发酵，因发酵液呈酸性，当发酵液的 pH 值为 3.3 时，就达到了发酵终点。将发酵液烘干，皂苷元 PPD、PPT 的生成量共占总皂苷成分的 22.15%，人参皂苷 Rh_1、compound K（CK）共占总皂苷的 33.42%。

王毅等[40]将离体和整体的肠道菌与 PPT 型人参皂苷 Rg_1 进行水解反应，反应后的代谢物经 TLC 和电喷雾质谱法（ESI-MS）检测。研究表明人参皂苷 Rg_1 在人体内的代谢途径为 Rg_1→Rh_1→PPT，在大鼠体内的代谢途径为 Rg_1→Rh_1/F_1→PPT。

利用生物转化技术制备稀有人参皂苷是现在非常流行的一种有效技术，其水解 PPT 型人参皂苷制备稀有人参皂苷的基本转化途径如图 3 所示。

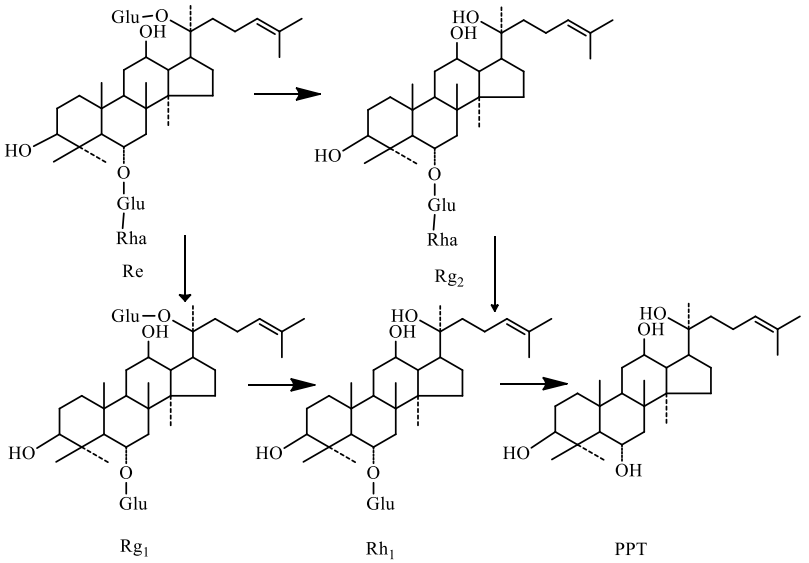

图 3 PPT 型皂苷生物转化为稀有人参皂苷的基本途径

Fig. 3 Basic biotransformation pathways of protopanaxatriol-type ginsenosides to rare ginsenoside

3 结语与展望

人参皂苷在 20 世纪 60 年代首次被分离出来，使得人参和人参皂苷开始受到广泛的关注。稀有人参皂苷在自然界中量非常低，由于缺乏一种大量生产纯人参皂苷的技术，所能得到的化合物量仅限于基本的生理活性功能的研究，导致其在临床和工业应用方面有一定的局限性。随着生物技术的发展，将微生物的转化和基因工程等技术联合应用，使稀有人参皂苷量得到有效提高，促进其全面发展[41]。越来越多的学者通过设计单一酶或组合酶生物转化单体人

参皂苷来水解葡萄糖部分，制备稀有人参皂苷。为了降低生产稀有人参皂苷的成本，更多的热稳定性极好的耐热重组酶被发现。耐热重组酶具有反应初始速度快、污染小、溶解度高和酶活性稳定等优点。

目前有些人参皂苷用于食品方面存在安全问题，可以利用生物转化技术重组人参皂苷水解酶的基因来解决一些相关的问题。对人参皂苷结构的修饰会使得人参这一传统的名贵中药得到更好地开发和利用。

参考文献

[1] Anglee M K, Moss J, Yuan C S. Herbal medicines and perioperative care [J]. *Jama J Am Med Associ*, 2006, 10(6): 441-442.

[2] Hu C, Wei H, Kong H, *et al*. Linking biological activity with herbal constituents by systems biology-based approaches: Effects of *Panax ginseng* in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats [J]. *Mol Biosyst*, 2011, 7(11): 3094-3103.

[3] Attele A S, Wu J A, Yuan C S. Ginseng pharmacology: Multiple constituents and multiple actions [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(11): 1685-1693.

[4] Christensen L P. Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects [J]. *Adv Food Nutr Res*, 2009, doi: 10.1016/S1043-4526(08)00401-4.

[5] Jia L, Zhao Y, Liang X J. Current evaluation of the millennium phytomedicine-ginseng (II): Collected chemical entities, modern pharmacology, and clinical applications emanated from traditional chinese medicine [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(22): 2924-2942.

[6] Kim S K, Park J H. Trends in ginseng research in 2010 [J]. *J Gins Res*, 2011, 35(4): 389-398.

[7] Sun L Q. Information on research and application of ginseng, the king of traditional and herbal medicines [J]. *Drug Metab Pharmacok*, 2004, 4(4): 261-284.

[8] Lee J H. Hyun Y J, Kim J H. Cloning and characterization of α-*L*-arabinofuranosidase and bifunctional α-*L*-arabinopyranosidase/β-*D*-galactopyranosidase from *Bifidobacterium longum* H-1 [J]. *J Appl Microbiol*, 2011, 111(5): 1097-1107.

[9] Lee Y, Jin Y, Lim W, *et al*. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2003, 84(4): 463-468.

[10] Park E K, Choo M K, Han M J, *et al*. Ginsenoside Rh_1 possesses antiallergic and anti-inflammatory activities [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2004, 133(2): 113-120.

[11] Wang Y Z, Chen J, Chu S F, *et al*. Improvement of memory in mice and increase of hippocampal excitability in rats by ginsenoside Rg_1's metabolites ginsenoside Rh_1 and protopanaxatriol [J]. *J Pharmacol Sci*, 2009, 109(4): 504-510.

[12] Yoon J H, Choi Y J, Lee S G. Ginsenoside Rh_1 suppresses matrix metalloproteinase-1 expression through inhibition of activator protein-1 and mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Eur Pharmacol*, 2012, 679(1/3): 24-33.

[13] Sun J, Hu S, Song X. Adjuvant effects of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponins from ginseng roots on the immune responses to ovalbumin in mice [J]. *Vaccine*, 2007, 25(6): 1114-1120.

[14] Choi K T. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(9): 1109-1118.

[15] Wang C Z, Aung H H, Ni M, *et al*. Red American ginseng: Ginsenoside constituents and antiproliferative activities of heat-processed *Panax quinquefolius* roots [J]. *Planta Med*, 2007, 73(7): 669-674.

[16] Wang Q, Trimbur D, Graham R, *et al*. Identification of the acid/base catalyst in *Agrobacterium faecalis* beta-glucosidase by kinetianalysis of mutants [J]. *Biochemistry*, 1995, 34(44): 14554-14562.

[17] Harvey A J, Hrmova M, De Gori R, *et al*. Comparative modeling of the three-dimensional structures of family 3 glycoside hydrolases [J]. *Proteins*, 2000, 41(2): 257-269.

[18] 臧慧明. 原人参三醇型次级人参皂苷及皂苷元的制备方法研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.

[19] OECD. *Biotechnology for Clean Industrial Products and Processes: Towards Industrial Sustainability* [M]. Paris: OECD, 1998.

[20] 于荣敏, 宋永波, 张 辉, 等. 西洋参冠瘿组织培养及其人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg_1 的产生 [J]. 生物工程学报, 2003, 19(3): 372-375.

[21] Ko S R, Suzuki Y, Choi K J, *et al*. Enzymatic preparation of genuine prosapogenin, 20(*S*)-ginsenoside Rh_1, from ginsenosides Re and Rg_1 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2000, 64(12): 2739-2743.

[22] Cui C H, Liu Q M, Kim J K, *et al*. Identification and characterization of a *Mucilaginibacter sp.* strain QM49 β-glucosidase and its use in the production of the pharmaceutically active minor ginsenosides (*S*)-Rh_1 and (*S*)-Rg_2 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(19): 5788-5798.

[23] Ruan C C, Zhang H, Zhang L X, *et al*. Biotransformation of ginsenoside Rf to Rh_1 by recombinant beta-glucosidase

[J]. *Molecules*, 2009, 14(6): 2043-2048.

[24] Shin K C, Seo M J, Oh D K. Characterization of β-xylosidase from *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* and its application to the production of ginsenosides Rg_1 and Rh_1 from notoginsenosides R_1 and R_2 [J]. *Biotechnol Lett*, 2014, 36(11): 2275-2281.

[25] Wei W, Wang P, Wei Y, *et al*. Characterization of Panax ginseng UDP-glycosyltransferases catalyzing protopanaxatriol and biosyntheses of bioactive ginsenosides F_1 and Rh_1 in metabolically engineered yeasts [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(9): 1412-1424.

[26] Lee G W, Yoo M H, Shin K C, *et al*. β-glucosidase from *Penicillium aculeatum* hydrolyzes exo-, 3-*O*-, and 6-*O*-β-glucosides but not 20-*O*-β-glucoside and other glycosides of ginsenosides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(14): 6315-6324.

[27] Oh H J, Shin K C, Oh D K. Production of ginsenosides Rg_1 and Rh_1 by hydrolyzing the outer glycoside at the C-6 position in protopanaxatriol-type ginsenosides using β-glucosidase from *Pyrococcus furiosus* [J]. *Biotechnol Lett*, 2014, 36(1): 113-119.

[28] Shin K C, Lee H J, Oh D K. Substrate specificity of β-glucosidase from *Gordonia terrae*, for ginsenosides and its application in the production of ginsenosides Rg_3, Rg_2, and Rh_1, from ginseng root extract [J]. *J Biosci Bioeng*, 2015, 119(5): 497-504.

[29] 王 宇. 生物转化法制备人参皂苷 F_1 及 Rh_1 的研究 [D]. 沈阳: 大连工业大学, 2015.

[30] 侯金刚, 李 伟, 郑毅男. 酶解法转化人参皂苷 Rh_1 及其含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 3030-3033.

[31] 金凤燮, 鱼红闪, 赵丽亚. 酶法生产稀有人参皂苷及其产物成分的分析 [J]. 大连工业大学学报, 2002, 21(2): 112-115.

[32] 张怡轩, 陈晓莹, 赵文倩. 人参皂苷生物转化的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(5): 419-422.

[33] Dong A L, Cui Y J, Guo H Z, *et al*. Microbiological trandformation of ginsenoside Rg_1 [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2001, 10(3): 114-118.

[34] Yu H, Gong J, Zhang C, *et al*. Purification and characterization of ginsenoside-alpha-*L*-rhamnosidase [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(2): 175-178.

[35] Lee H J, Shin K C, Lee G W, *et al*. Production of aglycone protopanaxatriol from ginseng root extract using *Dictyoglomus turgidum* β-glycosidase that specifically hydrolyzes the xylose at the C-6 position and the glucose in protopanaxatriol-type ginsenosides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98(8): 3659-3667.

[36] Wang D M, Yu H S, Song J G, *et al*. A novel ginsenosidase from an *Aspergillus strain* hydrolyzing 6-*O*-multi-glycosides of protopanaxatriol-type ginsenosides, named ginsenosidase type IV [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2011, 21(10): 1057-1063.

[37] 昆明诺唯金参生物工程有限责任公司. 一种链霉菌发酵三七皂苷制备 20(*S*)-人参皂苷 Rh1 的工艺: 中国, CN 101508965 [P]. 2009-08-19.

[38] 成乐琴, 金瑜真, 梁德春. 微生物酶催化制备人参皂苷 20(*S*)-Rg_2, 20(*S*)-Rh_1 和 20(*S*)-PPT [J]. 高等学校化学学报, 2011, 32(1): 67-73.

[39] 宋 艳. 人参 (根) 生物转化研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2014.

[40] 王 毅, 刘铁汉, 王 巍, 等. 肠内菌群对人参皂苷 Rg_1 的代谢转化作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 188-190.

[41] 邹 昆, 何正有, 王欣荣, 等. 人参皂苷的微生物转化研究进展 [J]. 国外医药: 抗生素分册, 2012, 33(3): 104-108.