

人参皂苷CK的生物制备及抗肿瘤作用机制研究进展*

陈胤臣^{1,2}, 任晗归^{1,2}, 席志超^{1,2**}, 徐宏喜^{1,2**}

(1. 上海中医药大学中药学院 上海 201203; 2. 中药创新药物研发上海高校工程研究中心 上海 201203)

摘要:人参皂苷化合物K(Compound K, CK)是一种原二萜型人参皂苷,对于肺癌、肝癌、乳腺癌等多种肿瘤均表现出良好的抗肿瘤疗效。CK可以通过调控多条信号通路如AMPK/mTOR、PI3K/Akt等诱导肿瘤细胞发生凋亡和细胞周期阻滞,以及调控细胞自噬通量和抑制肿瘤的转移等。然而,CK作为一种人参皂苷经肠道代谢后生成的产物,不能直接从人参植物中获得,需要通过人参皂苷Rb1等天然人参皂苷进行生物转化或生物合成法获取。其中,生物转化法利用酶或微生物将不同人参皂苷或结构类似物转化为CK;生物合成法则通过构建细胞工厂与生物合成酶,将葡萄糖等结构相对简单的化合物合成为CK。本文系统地总结了近年来CK在生物制备及抗肿瘤作用机制方面的研究进展,为开发CK成为临床抗肿瘤药物或辅助用药提供参考。

关键词:人参皂苷CK 抗肿瘤机制 生物转化 生物合成

doi: 10.11842/wst.20220512012 中图分类号: R285 文献标识码: A

根据GLOBOCAN 2020年发布的最新统计数据显示,中国的癌症发病数和死亡人数占全球的23.7%和30.2%,且发病率和死亡率均呈现不断上升的趋势^[1]。研发安全有效的抗肿瘤药物一直以来都是癌症研究的重点和难点。天然药物是发现活性先导化合物的宝库,为药物创新提供宝贵资源^[2],其中不乏结构新颖,低毒高效的天然药效物质,值得更深入地研究。

人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)为五加科人参属植物人参的根和根茎,被誉为“中药百草之王”。中医认为其具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津养血和安神益智等功效^[3]。20世纪60年代,Fujita等^[4]日本天然药物化学家首次分离出了多种人参皂苷,并鉴别出化学结构。随后越来越多的学者开始着眼于人参皂苷的药理活性研究,如Rb1被证明对心血管疾病和代谢类疾病等均具有一定的治疗作用^[5]。其中,CK

被发现具有抗炎、抗动脉粥样硬化、抗糖尿病和神经保护作用,具有良好的临床应用前景^[6]。1997年,Wakabayashi等^[7]首次发现CK可以抑制黑色素瘤细胞的肺转移,从此开启了研究CK抗肿瘤活性及作用机制研究的热潮。迄今,CK已经被证实对肝癌、肺癌和胃癌等多种癌症具有显著的抑制作用^[8],并且与顺铂(Cisplatin, DDP)^[9]、环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)^[10]等常用化疗药物联合使用时,可以有效地提高治疗效果。进一步深入的机制研究发现,CK具有多重抗肿瘤作用机制,如促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭转移和诱导肿瘤细胞周期阻滞等。

作为一种肠道代谢产物,CK不能从人参中直接提取获得,需要由Rb1等天然人参皂苷经肠道转化而成^[11]。尽管Akao等^[12]的实验证明,CK比Rb1具有更高的生物利用度,但是代谢动力学研究表明,CK在体内

收稿日期:2022-05-12

修回日期:2022-11-23

* 广东省科学技术厅重点领域研发计划项目(2020B1111110003):岭南中草药活性化合物库的构建及重大疾病候选药物发现,负责人:徐宏喜。

** 通讯作者:席志超,博士,副研究员,硕士研究生导师,主要研究方向:中药活性成分抗肿瘤作用机理研究;徐宏喜,本刊副主编,博士,教授,上海中医药大学中药学院名誉院长,博士研究生导师,主要研究方向:中药活性成分及药理作用机制研究。

的生物转化速率有限,并且一些肠道细菌会影响CK的生物转化效率^[13]。因此,实现CK的体外人工制备,提升CK的产量,将对降低CK价格和促进CK开发成有潜力的临床药物具有重要意义。目前,通过生物转化或生物合成是获得CK的主要途径。多种酶和微生物已被用于提高CK的生物转化效率,实现了多种天然人参皂苷向CK的转化的过程。此外,研究者还发现了生物合成CK的多种途径及关键酶和基因,可将结构相对简单化合物合成为CK,这大大加快了制备CK的研究进展。

近年来,徐宏喜教授团队一直致力于人参的化学、作用机制和临床应用的研究。在化学研究方面,课题组利用包括UPLC-QTOF-MS/MS在内的多种方法,成功发现用于区分生晒参与红参的9种人参皂苷标志物和特征性组分,进一步完善了生晒参与红参的质量评价标准^[14-15]。为了促进林下山参年份鉴定检测方法的发展,课题组基于UPLC-Q-TOF/MS的非靶向代谢组学技术,鉴定出可用于区分4-10年、11-15年、16-20年林下参的指标成分群,为山参的年份鉴定提

供了新方法。基于以上研究基础,课题组进一步改进了人参皂苷的提取方法以及检测条件,优化了野山参提取液的制备工艺并实现了野山参口服液的成果转化。此外,还开展了一系列人参临床应用的研究,发现红参复方提取物具有降血脂的功效,对于“虚证”的患者具有抗疲劳的功效,且没有明显“上火”副作用和其他不良事件^[16]。这些研究为规范人参质量,促进人参从传统中草药向现代临床应用提供了科学依据。基于上述CK的重要药理活性,课题组着重开展了CK的药理药效研究,发现CK可以有效缓解缺血性脑卒中导致的神经损伤,缓解脑损伤后导致的身体机能障碍;CK还可以特异性杀伤休眠期癌细胞,从而抑制肿瘤的增殖和复发。以上研究成果将进一步阐明“百草之王”人参药理作用的物质基础,揭示CK的药效作用机制,促进以CK为主要成分的新型药物研发及应用。

本篇综述系统梳理并总结了CK的生物制备及抗肿瘤作用机制研究进展。按照不同生物制备方法,对近10年来CK生物制备的最新研究成果进行了归类,整理了各方法的反应条件和效率产量,同时对不同方

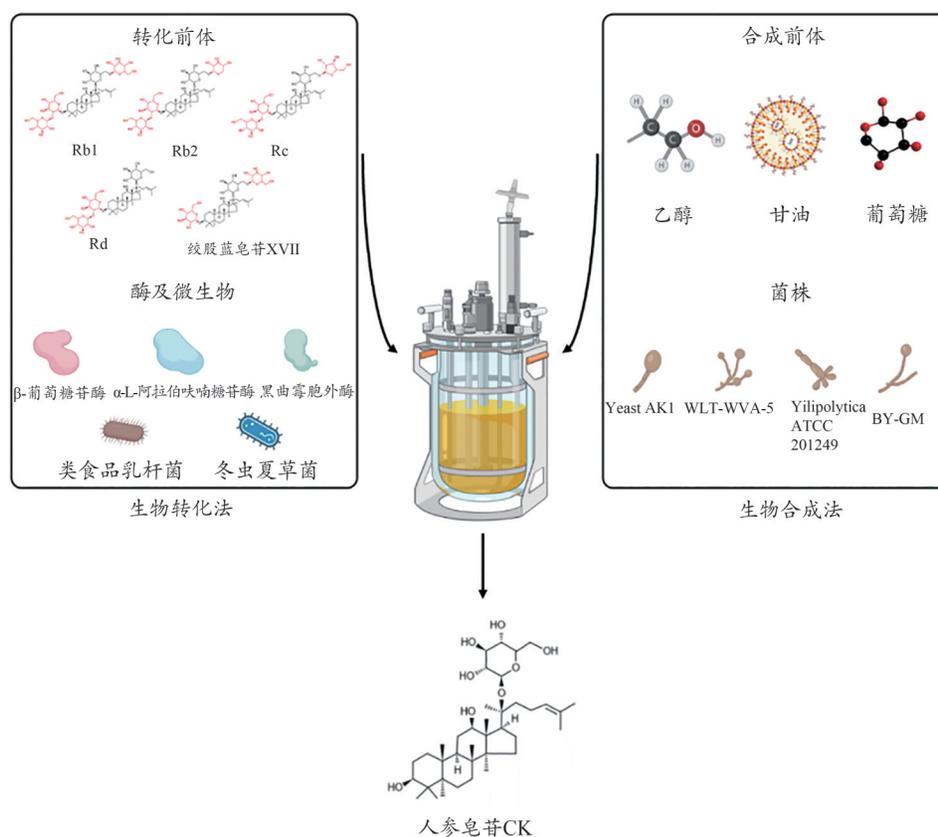


图1 CK的生物制备示意图

注:生物转化法和生物合成法为制备CK的主要途径,图中转化前体结构式中的红色部分为合成CK时经生物转化酶解的基团。

法的优势和不足进行了探讨。在CK抗肿瘤研究方面,本文根据CK的作用机制进行归纳分类,分别从CK诱导肿瘤细胞周期阻滞、诱导肿瘤细胞凋亡和调控肿瘤细胞自噬等方面进行阐述,并对其成药潜力进行了分析与评价。

1 CK生物制备的研究进展

CK的生产制备方法主要为化学合成法、生物转化法以及生物合成法(图1)^[17]。通过化学合成法合成CK具有反应速度快和成本低廉的特点,但该方法步骤繁琐、产率较低且副产物多,因此相关的研究及报道较少^[18]。相较而言,采用生物转化法和生物合成法制备CK是更常用的方法。生物转化法主要通过酶解其他二醇型人参皂苷C-3和C-20位上的多余糖基得到CK,所用的生物催化剂多为酶和微生物。生物转化法具有专属性高、制备流程简便和产率高的特点,但通过生物转化法制备CK的成本较高且对转化前体的纯度有一定要求。生物合成法则是通过将结构相对简单且价格低廉的化合物合成为CK,目前已经实现了从葡萄糖到CK的从头生物合成。这大大缩减了

生产成本,使CK可以由价格低廉的原料合成获得,但是生产周期仍然较长^[19]。

1.1 CK的生物转化法

根据使用的生物催化剂种类,CK的生物转化法可以分为酶转化法和微生物转化法。酶转化法是利用不同种类和来源的酶,酶解其他人参皂苷或人参皂苷结构类似物,从而获得CK的方法。主要使用的酶包括单一糖苷酶(如 β -葡萄糖苷酶、 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶等)和混合酶(黑曲霉胞外酶、蜗牛酶等)(表1)。

β -葡萄糖苷酶是一类最常用的单一糖苷酶,它能够将多种人参皂苷或人参皂苷类似物转化为CK。Zhong等^[20]通过在大肠杆菌BL21中克隆表达 β -葡萄糖苷酶基因(*bgyl*)来获得 β -葡萄糖苷酶,发现其能将绞股蓝苷XVII转化成为CK。Zhang等^[21]从短双歧杆菌ATCC 15700(*BbBg1*)中获得的新型 β -葡萄糖苷酶,可以将人参皂苷Rd转化为CK,其12小时内的摩尔转化率达96%。此外,Shin等^[22]从嗜热厌氧菌中获得了一种能够水解人参皂苷多位点上糖基团的 β -葡萄糖苷酶,该酶可以将Rb1、Rb2和Rc转化为CK,转化率达100%。Choi等^[23]通过改造 β -葡萄糖苷酶得到L213A

表1 CK的生物转化

酶/微生物	来源	转化途径	最佳反应条件	摩尔转化率	参考文献
β -葡萄糖苷酶	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Escherichia coli</i> BL21	绞股蓝皂苷 XVII \rightarrow 绞股蓝皂苷 LXXV \rightarrow CK	30 $^{\circ}$ C、pH=6.0、6 h 0.1 mg \cdot mL $^{-1}$ β -葡萄糖苷酶	89%	[20]
β -葡萄糖苷酶	<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK	35 $^{\circ}$ C、pH=5.0、12 h 2/6 U \cdot mL $^{-1}$ β -葡萄糖苷酶	96%	[21]
β -葡萄糖苷酶	<i>C. bescii</i>	Rb1、Rb2、Rc \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK	80 $^{\circ}$ C、pH=5.5、10 h	100%	[22]
L213A 变异型 β -葡萄糖苷酶	<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Rc \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK; Rc \rightarrow c-Me $_1$ \rightarrow c-Mc \rightarrow CK	85 $^{\circ}$ C、pH=5.5、10 h 0.4 mg \cdot mL $^{-1}$ Rc+12 mg \cdot mL $^{-1}$ L213A 变异型 β -糖苷酶	97%	[23]
柚皮苷酶	/	二醇型绞股蓝皂苷 \rightarrow CK	50 $^{\circ}$ C、pH=5.0、71 h	65.4 \pm 4.52%	[24]
蜗牛酶	/	Rb1、Rb2、Rc \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK	41 $^{\circ}$ C、pH=4.5、18 h	/	[25]
黑曲霉胞外酶	<i>Aspergillus niger</i> XD101	Rb1 \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK	50-60 $^{\circ}$ C、pH=4-5、72 h	94%	[26]
黑曲霉胞外酶	<i>Aspergillus niger</i> KACC 46495	Rb1 \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK; Rb2 \rightarrow Rd、CompoundO \rightarrow F2、CompoundY \rightarrow CK; Rc \rightarrow Rd、CompoundMc1 \rightarrow F2、cMc \rightarrow CK	55 $^{\circ}$ C、pH=5.0、9 h 6.0 mg \cdot mL $^{-1}$ 二醇型人参皂苷 +8.0 mg \cdot mL $^{-1}$ 胞外酶	80%	[27]
α -L-阿拉伯呋喃 糖苷酶/ β -葡萄糖 苷酶	<i>Caldicellulosiruptor</i> <i>saccharolyticus</i> / <i>Sulfolobus solfataricus</i>	Rb1、Rb2、Rc \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK; Rc \rightarrow c-Mc \rightarrow CK	80 $^{\circ}$ C、pH=6.0、12 h 2 U \cdot mL $^{-1}$ 硫矿硫化叶菌+ 3 U \cdot mL $^{-1}$ 糖醇菌+7.5 g \cdot L $^{-1}$ 二醇型人参皂苷	100%	[28]
类食品乳杆菌 LH4	/	Rb1 \rightarrow 绞股蓝皂苷 XVII、Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK	30 $^{\circ}$ C、pH=6.0、72 h	88%	[29]
冬虫夏草菌	/	Rb1 \rightarrow Rd \rightarrow F2 \rightarrow CK; Rb1 \rightarrow 绞股蓝皂苷 XVII \rightarrow 绞股蓝皂苷 LXXV \rightarrow CK	30 $^{\circ}$ C、25-50 $^{\circ}$ C	82%	[31]

变异型酶,该酶能更高效地将 Rc 转化为 CK,转化效率是自然酶的 1.5 倍。

除使用单一生物酶进行生物转化外,一些复合酶也被用于制备 CK。如 Zheng 等^[24]发现柚皮苷酶(鼠李糖苷酶和葡萄糖苷酶的混合物)可以酶解二醇型绞股蓝苷,将其转化成 CK。Li 等^[25]通过蜗牛酶(纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和 β -葡萄糖醛酸酶的复合物)将二醇型人参皂苷水解为 CK。Jiang 等^[26]和 Jeong 等^[27]发现黑曲霉胞外酶对于人参皂苷有很强的生物催化活性,能将含量较大的人参皂苷如 Rb1 等转化为 CK。Shin 等^[28]将 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶同 β -葡萄糖苷酶联合使用,大大增强了红参提取物中 Rb1、Rb2 和 Rc 转化为 CK 的效率,摩尔转化率达到 100%,产率为 $348 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

微生物转化法是利用微生物代谢过程中产生的一系列生物酶,对含量较高的人参皂苷进行有目的的结构改造与修饰,从而得到稀有人参皂苷的方法(表 1)。如 LH4 是从韩国泡菜中分离得到的类食品乳杆菌,其可以在 30°C 、pH 6.0 的条件下将 Rb1 水解成 CK,摩尔转化率为 88%^[29]。类似地,Yoo 等^[30]用从泡菜中分离得到的短乳杆菌发酵人参细根,能高效地制备 CK。Wang 等^[31]利用冬虫夏草菌将 Rb1 转化为 CK,摩尔转化率可达 82%。

1.2 CK 的生物合成法

CK 的生物合成法是利用合成生物学在微生物中构建异源途径生产 CK^[32],以达到降低生产成本和提升产量的目的的方法(表 2)^[33]。CK 的生物合成首先通过对 CK 的生物合成酶基因等进行表征与鉴定,精确控制 CK 的生物合成途径。其次需选取适合实现生物合成途径的细胞工厂,多项 CK 的生物合成研究已证实,通过基因工程技术获得的人参酵母,其安全性高和遗传背景较为明确,已被公认为是常用来生产 CK 的细胞工厂^[34]。

CK 生物合成的主要难点在于对专一生产 CK 的 UDP-糖基转移酶类(Uridine diphosphate glucosyltransferase,

UGTs)的筛选,因各二醇型人参皂苷结构相近,基本母核均为四环三萜,CK 的特异性主要体现在 C-20 位的糖苷键。而各类 UGTs 能够通过催化不同种原人参二醇,将不同糖苷键连在特定位点,最终生产出各类人参皂苷^[35]。因而,从各类 UGTs 中筛选出能将葡萄糖特异地修饰在原人参二醇的 C-3 及 C-20 位点的 UGTs 对 CK 的生物合成至关重要。

2014 年,Yan 等^[36]成功鉴定出 UDP 糖基转移酶——UGTPg1,这是首个用于植物四环三萜类底物糖基化的 UGT,成功实现了从葡萄糖到 CK 的生物从头合成。在此基础上,Li 等^[37]利用解脂耶氏酵母构建了一条制备 CK 的生物合成途径,通过增加天然甲羟戊酸途径关键基因的表达,促进细胞色素 P450 氧化还原酶生成,进而提升了 CK 的合成产量。Wang 等^[38]通过增强酵母中 UDP-葡萄糖合成基因的表达,构建了能特异性生产 CK 的菌株—YS01-CK,使 CK 的产量达到了 $1.17 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Nan 等^[39]在酿酒酵母菌株 WLT-MVA5 中诱导 PGM2、UGP1 和 UGT1 基因表达,获得了能高效合成 CK 的菌株 WLN1。通过进一步对酵母培养基的优化,发现当培养基中甘油提供的碳含量达到 20% 时,CK 的产量最高($1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),摩尔转化率为 77.37%。

CK 的生物制备(包括生物转化和生物合成)在近年来取得了长足的发展,使 CK 的制备更为简便和高效,为其大规模生产提供了可能。在 CK 的生物转化方面,其发展主要体现在:拓宽转化途径、提升摩尔转化率与产量和简化反应步骤等^[40]。例如,引入黑曲霉胞外酶拓宽了转化底物谱,不但可以转化 Rb1,还可以转化 Rc、Compound Y 和 Compound O^[26-27]。在生物合成 CK 方面,其进步主要体现在 CK 细胞工厂及生物合成酶方面的优化,尤其是对 UGTs 研究的深入,使葡萄糖修饰能特异性地定位在原人参二醇的 C-20 位点,提升了 CK 合成的特异性。此外,多种生物合成新技术的应用如基因组工程和代谢工程等,也使 CK 的合成更加高效。例如,采用基因干扰手段提高菌株中特定基因的表达,使改造过的菌株成为特异性生产 CK 的

表 2 CK 的生物合成

合成前体	菌株	过表达基因	产量	参考文献
葡萄糖	<i>Yeast AK1</i>	<i>UTGTPg1</i>	/	[36]
葡萄糖	<i>Yilipolytica ATCC 201249</i>	<i>HMG1、ERG12</i>	$161.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	[37]
葡萄糖	<i>Eschenchia coli T1</i>	<i>SynPgDDs、SynPgPPDs、SynPgPPTs、AtcPRI</i>	$1.17 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	[38]
葡萄糖、乙醇、甘油	<i>WLT-WVA-5</i>	<i>PGM2、UGP1、UGT1</i>	$1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	[39]

菌株,可显著提升CK合成的专属性和产量^[39]。

2 CK抗肿瘤机制研究进展

研究证实,CK对于多种肿瘤都具有显著地抑制作用,并通过不同的作用机制发挥疗效(图2),在癌症治疗中有一定的临床应用前景。本文从肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移、自噬及耐药等方面,对CK的抗肿瘤药理活性进行了系统地总结与阐述。

2.1 诱导肿瘤细胞周期阻滞

细胞周期异常引起的细胞增殖失控是肿瘤细胞的重要特征之一^[41],因此阻滞肿瘤细胞的周期进程是抑制肿瘤细胞增殖的重要手段。研究发现,CK对于多种肿瘤细胞的周期均具有调控作用。例如,CK可通过下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的转录因子 1 (Bcl2-associated transcription factor 1, Bclaf1) 和抑制低氧诱导因子 1 α (Hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α) 介导的

糖酵解代谢途径,诱导肝癌 Bel-7404 细胞和 Huh7 细胞发生 G₀/G₁ 期周期阻滞,从而抑制肝癌细胞的增殖。动物实验证明 CK 可呈剂量依赖地抑制肿瘤生长,并显著降低了肿瘤组织中 Bclaf1 及糖酵解相关蛋白的表达^[42]。Wang 等^[43]发现 CK 能显著抑制结肠癌 HCT-116 细胞和肿瘤抑制因子 p53 突变型 SW480 细胞的增殖,将肿瘤细胞阻滞在 G₁ 期。此外,肾癌 RCC 细胞中的睾丸相关的高度保守的致癌性长链非编码 RNA (Testis-associated highly-conserved oncogenic long non-coding RNA, THOR) 与非癌细胞相比表达异常升高。Chen 等^[44]发现 CK 能显著抑制 THOR 的表达,并呈剂量依赖地阻滞 RCC 细胞从 G₂ 向 M 期的转化。

2.2 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主而有序的程序性死亡,细胞增殖与凋亡的失衡是导致肿瘤发生的重要原因之一^[45]。研究表明,CK 可通过调控多种蛋白

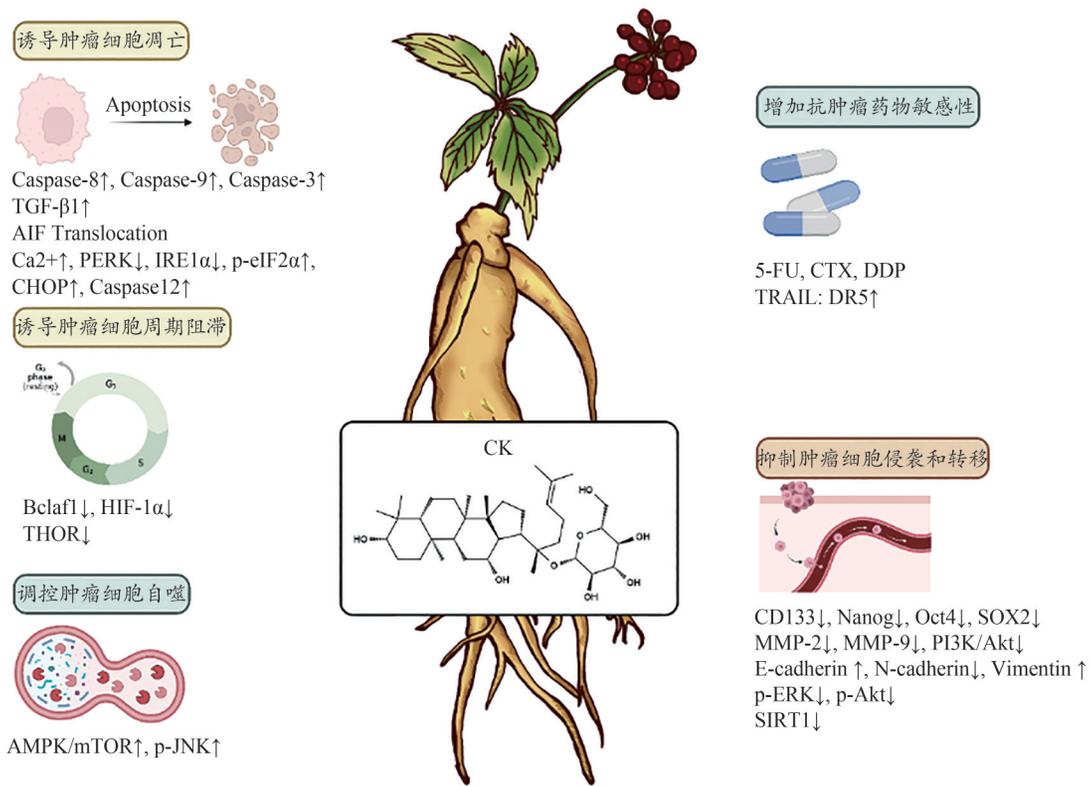


图2 抗肿瘤活性及作用机制

注:“↑”代表经CK治疗后表达水平上升;“↓”代表经CK治疗后表达水平下降。CK可激活Caspase-8、Caspase-9与TGF- β 1细胞凋亡通路,导致AIF易位及Ca²⁺含量上升,降低PERK、IRE1 α 蛋白表达,增加p-eIF2 α 、CHOP和Caspase-12蛋白的表达,诱导肿瘤细胞凋亡;通过下调Bclaf1、HIF-1 α 蛋白及THOR基因的表达,诱导肿瘤细胞周期阻滞;激活AMPK/mTOR信号通路,促进p-JNK蛋白表达,调控肿瘤细胞自噬;与抗肿瘤药物5-FU、CTX、DDP、TRAIL联用,增加药物的敏感性,诱导TRAIL DR5表达,提升药物耐受性;通过抑制PI3K/Akt信号通路,下调肿瘤细胞表面标志物CD133,转录因子Nanog、Oct4、SOX2、MMP-2、MMP-8、N-cadherin、SIRT1,提升E-cadherin、Vimentin等,抑制肿瘤细胞侵袭和转移。

及分子通路诱导肿瘤细胞凋亡。如CK可呈剂量依赖地诱导卵巢癌CAOV3细胞发生含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(CysteinyI aspartate specific proteinase, Caspase)Caspase-8介导的外源性途径以及Caspase-9调控的内源性凋亡,进一步激活Caspase-3蛋白,诱导多聚(ADP-核糖)聚合酶[Poly(ADP-ribose)polymerase, PARP]的剪切,导致细胞凋亡^[46]。CK通过激活肝癌SMMC-7721细胞中的转化生长因子- β (Transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路,引起Caspase-3蛋白剪切,诱导肿瘤细胞的凋亡^[47]。此外,在鼻咽癌HK-1细胞中,CK可同时激活Caspase蛋白级联反应、诱导细胞凋亡诱导因子(Apoptosis inducing factor, AIF)易位和线粒体功能损伤,并在体内证实了CK对HK-1细胞裸鼠皮下移植瘤的抑制作用^[48]。另有研究发现,CK还可通过诱发持续且高强度的内质网应激,诱导肿瘤细胞凋亡。如Yin等^[49]证实CK可以增加宫颈癌Hela细胞中的钙离子浓度,引起内质网钙离子紊乱,降低蛋白激酶样内质网激酶(Protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、肌醇必需酶1 α (Inositol-requiring enzyme 1 α , IRE1 α)蛋白,增加磷酸化 α 亚基的真核起始因子2(Phosphorylated α subunit of eukaryotic initiation factor 2, p-eIF2 α)、CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(Enhancer-binding protein homologous protein, CHOP)和Caspase-12蛋白的表达水平,引起内质网应激介导的细胞凋亡。

2.3 抑制肿瘤细胞侵袭和转移

肿瘤细胞的侵袭和转移是恶性肿瘤的特征^[50],其主要标志物有基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)MMP-2与MMP-9、N-钙粘蛋白(N-cadherin)和E-钙粘蛋白(E-cadherin)等。研究发现,CK可以通过减少肿瘤细胞的侵袭和转移来抑制多种肿瘤的发生发展,如Lee等^[51]发现CK减少了胶质瘤U87MG细胞和U373MG细胞中肿瘤干细胞标记物CD133、同源盒转录因子Nanog、八聚体结合转录因子4(Octamer binding protein 4, OCT4)和性别决定区Y框蛋白2(Sex determining region Y-box 2, SOX2)的表达,同时降低MMP-2和MMP-9的表达,从而抑制肿瘤细胞的侵袭和转移能力。

上皮间质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞表型获得间质细胞特征的过程,其中当上皮细胞标志物(E-cadherin)表达减少,间质细

胞标志物(N-cadherin)表达增加,肿瘤细胞的侵袭和迁移能力增强^[52]。研究发现,CK可抑制乳腺癌MCF-7细胞中的EMT转化,显著上调E-cadherin的mRNA表达水平,减少N-cadherin和波形蛋白(Vimentin)的mRNA表达。其作用机制可能与CK抑制磷脂酰肌醇三激酶(Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(Protein kinase B, PKB, 又称Akt)信号通路有关^[53]。类似地,彭等发现CK显著下调人肝癌HepG2细胞中磷酸化细胞外调节蛋白激酶(Extracellular regulated protein kinases, ERK)、磷酸化Akt蛋白以及N-cadherin蛋白的表达水平,上调E-cadherin蛋白表达水平,通过抑制EMT过程降低HepG2细胞的侵袭和转移能力^[54]。此外,在裸鼠尾静脉肺转移模型中,CK通过降低信息沉默调节因子2同源物蛋白1(Silent information regulator 2 homologue 1, SIRT1)的表达抑制了非小细胞肺癌A549细胞的转移^[55]。

2.4 调控肿瘤细胞自噬

自噬是一种细胞内降解系统,能将受损的蛋白质或细胞器等在溶酶体中降解以供细胞进行循环利用^[56]。大量研究表明,自噬对于肿瘤的发生发展具有双重调控作用^[57]。有趣的是,CK对于肿瘤细胞的自噬也具有双重调控作用。一方面,CK可通过诱导自噬抑制肿瘤细胞增殖,例如CK通过激活A549细胞和肺癌H1975细胞中的腺苷酸活化蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路,增强c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)蛋白的磷酸化水平,促进细胞自噬发生,抑制肺癌细胞的增殖^[58]。另一方面,Oh等^[59]研究发现,CK可以通过阻断神经母细胞瘤SK-N-BE和SH-SY5Y细胞中自噬过程晚期的自噬体和溶酶体融合,抑制肿瘤细胞增殖,发挥抗肿瘤作用。

2.5 增加抗肿瘤药物敏感性

鉴于CK在多种肿瘤中被证实具有潜在的治疗作用,越来越多的研究着眼于将CK与临床抗肿瘤药物进行联合使用。研究发现,CK与化疗药物联用不仅可以增强化疗药物的敏感性还可以逆转肿瘤细胞耐药。例如,CK与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)联用可显著增强对胰腺癌PANC-1细胞的增殖抑制作用,减少EMT转化,抑制肿瘤转移^[60]。将CK与治疗乳

腺癌的常用药物顺铂联用,可增强顺铂对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖抑制作用^[9]。此外,CK 还可增加对肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(Recombinant tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL)药物耐受的结肠癌 HT-29 细胞的敏感性,联用导致促进细胞存活的蛋白表达下降,促凋亡蛋白的表达上升,进而诱导死亡受体 5(Death receptor 5, DR5)在细胞表面的表达增加^[61]。值得注意的是,在使用 CK 作为联用药物时需考虑常规抗肿瘤药物的使用剂量,避免产生拮抗作用。例如在 CK 同顺铂联合治疗 A549 细胞时发现,较大剂量顺铂与 CK 联用($50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ CK+ $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 顺铂)可协同诱导 A549 细胞凋亡,而当使用较小剂量顺铂同 CK 联用($1.5625 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ CK+ $0.625 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 顺铂)时会产生拮抗^[62]。

以上研究表明,CK 在癌症治疗中通过不同的作用机制发挥疗效,包括诱导肿瘤细胞周期阻滞、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭和转移、调控肿瘤细胞自噬和增加抗肿瘤药物敏感性等,具有显著的抗肿瘤作用。尽管现有研究已证实 CK 对于多个蛋白和信号通路具有调控作用,但其直接作用的靶蛋白仍不明确,需对其抗癌作用机制进行更加深入的研究。例如 CK 可通过调控细胞自噬抑制肿瘤细胞增殖,但具体影响了自噬过程中的哪一环节尚未阐明;CK 导致的细胞凋亡是否和自噬存在信号通路间的调控;线粒体是否为 CK 作用的关键细胞器等问题仍有待研究。此外,研究发现 CK 在免疫性疾病中能够抑制 T 细胞及免疫趋化因子的表达^[63],减轻自身免疫性关节炎。随着近年来肿瘤免疫治疗的发展,其在免疫应答中的作用值得更详细的研究。综上所述,通过对 CK 抗肿瘤作用机理的系统阐述进一步提升了 CK 的药用价值,为其日后的临床开发应用具有积极意义。

3 讨论与展望

CK 是二醇型人参皂苷在肠道内的主要代谢物,具有较好的抗肿瘤活性,对治疗结肠癌、肝癌和乳腺癌等具有潜在的应用价值^[11]。随着近年来对 CK 抗肿瘤机制的深入研究,发现 CK 不仅能够诱导肿瘤细胞周期阻滞^[42-44]和细胞凋亡^[46-49],还具有调控细胞自噬^[58-59]和抑制肿瘤转移^[51,53-55]等作用。此外,CK 作为辅助用药在与临床常规抗肿瘤药物如顺铂^[9]和环磷酰胺^[10]等联用时展现出了良好的协同抗肿瘤作用,具有

增强常规抗肿瘤药物疗效和逆转肿瘤细胞耐药性等作用。有研究表明,在多种肿瘤细胞中,CK 的有效治疗剂量往往小于其他人参皂苷^[64],且 CK 表现出更好的生物利用度。尽管目前尚无证据表明 CK 发挥抗肿瘤作用的效应基团是什么,但相对于其他二醇型人参皂苷,CK 含有的糖基较少,仅在 C-20 上连有一个葡萄糖基。这使得 CK 比其他人参皂苷的分子量更小和极性较小^[65],更易透过细胞膜^[65],这可能是 CK 对于具有较高抗肿瘤生物活性的潜在原因。

由于 CK 不能从人参中直接提取获得,研发高效制备 CK 的方法十分必要。目前通过化学合成法制备 CK 的产率较低、步骤繁琐,因此优化 CK 的化学合成路线、工艺条件和提高合成产率非常重要。相比之下,生物转化法和生物合成法发展迅速,且各有优势。其中,生物转化法转化流程简便、中间产物少、选择性好。除了使用 β -葡萄糖苷酶等单一酶外,一些复合酶以及微生物也可以将不同类型人参皂苷转化为 CK,不仅提高了 CK 的产量还增加了转化途径,未来如何进一步开发能够同时转化多种二醇型皂苷的酶和微生物,或许是 CK 生物制备法实现突破的关键点。另外,生物合成法所用原料(葡萄糖、甘油等)廉价易得,大大降低了 CK 的生产成本,为 CK 的大规模生产奠定了基础,后续仍可进一步降低生产周期与生产步骤的工艺条件进行优化。

尽管目前对 CK 的生物制备到抗肿瘤活性已有了较为全面的认知,但尚存在一系列科学问题需要更加深入和系统的研究,如提高 CK 抗肿瘤活性评价的精确性、进一步明确 CK 抗肿瘤的作用靶点、进行系统的毒理评价及临床疗效研究等。在今后的 CK 抗肿瘤活性研究中可采用更精准的细胞和动物肿瘤模型对其抗肿瘤活性进行更准确地评价,如建立临床来源的肿瘤细胞株、构建转基因小鼠肿瘤自发模型和原位转移及复发模型等。关于 CK 的抗肿瘤作用靶点研究,现有研究往往限定于经典通路如 PI3K/Akt^[53]、AMPK/mTOR^[54]等,没有对其特异性靶点深度挖掘,后续研究应着重探究其关键作用靶点,为临床药物开发提供支持。此外,还可通过 CK 的构效关系研究,明确其抗肿瘤的活性基团,进一步优化 CK 的结构。目前 CK 抗肿瘤研究大多停留于药效研究,应加强系统的动物毒理学研究及临床研究,为后续 CK 开发成抗肿瘤药物提供科学权威的药效学和毒理学数据。并且,还可探究

人体CK转化过程中起重要作用的肠道菌群,研究这些肠道菌群是否会影响CK的生物活性进而影响其抗肿瘤的效果。在药剂学方面,或可通过纳米载药及抗体偶联药物等靶向剂型的开发,可帮助CK实现增效减毒的作用,促进其药物的研发与转化。

综上所述,在癌症高发病率及抗肿瘤药物研发成本居高不下的大背景下^[66],需要积极开发新的抗肿瘤活性先导化合物。CK在抗肿瘤活性方面已经积累了较好的前期研究基础,未来值得进行更深入和系统的研究,最终服务于不幸罹患癌症的患者。

参考文献

- Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- Li H, Wei W Y, Xu H X. Drug discovery is an eternal challenge for the biomedical sciences. *Acta Mater Med*, 2022, 1(1):1-3.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:8.
- Fujita M, Itokawa H, Shibata S. Chemical studies on ginseng. *I. Yakugaku Zasshi*, 1962, 82(12):1634-1638.
- 李赫健, 李虹, 金玉, 等. 人参皂苷Rg1、Rb1的药效及作用机制研究进展. 武汉大学学报(理学版), 2019, 65(4):323-332.
- Sharma A, Lee H J. Ginsenoside compound K: Insights into recent studies on pharmacokinetics and health-promoting activities. *Biomolecules*, 2020, 10(7):1028.
- Wakabayashi C, Hasegawa H, Murata J, et al. *In vivo* antimetastatic action of ginseng protopanaxadiol saponins is based on their intestinal bacterial metabolites after oral administration. *Oncol Res*, 1997, 9(8): 411-417.
- Zhou L, Li Z K, Li C Y, et al. Anticancer properties and pharmaceutical applications of ginsenoside compound K: A review. *Chem Biol Drug Des*, 2022, 99(2):286-300.
- Zhang K Q, Li Y W. Effects of ginsenoside compound K combined with cisplatin on the proliferation, apoptosis and epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells of human breast cancer. *Pharm Biol*, 2016, 54(4):561-568.
- 郭小瑜, 张冠华, 黄理金. 人参皂苷CK联合环磷酰胺对胶质瘤细胞的作用. 广东医学, 2017, 38(24):3788-3791.
- 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. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(9):2357-2361.
- Akao T, Kida H, Kanaoka M, et al. Intestinal bacterial hydrolysis is required for the appearance of compound K in rat plasma after oral administration of ginsenoside Rb1 from *Panax ginseng*. *J Pharm Pharmacol*, 1998, 50(10):1155-1160.
- Niu T, Smith D L, Yang Z, et al. Bioactivity and bioavailability of ginsenosides are dependent on the glycosidase activities of the A/J mouse intestinal microbiome defined by pyrosequencing. *Pharm Res*, 2013, 30(3):836-846.
- Zhang H, Jiang J M, Zheng D, et al. A multidimensional analytical approach based on time-decoupled online comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry for the analysis of ginsenosides from white and red ginsengs. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 163:24-33.
- Zhang H M, Li S L, Zhang H, et al. Holistic quality evaluation of commercial white and red ginseng using a UPLC-QTOF-MS/MS-based metabolomics approach. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 62: 258-273.
- Yang Y, Wang H, Zhang M, et al. Safety and antifatigue effect of Korean Red Ginseng capsule: A randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial. *J Ginseng Res*, 2022, 46(4):543-549.
- Biswas T, Mathur A K, Mathur A. A literature update elucidating production of *Panax* ginsenosides with a special focus on strategies enriching the anti-neoplastic minor ginsenosides in ginseng preparations. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 101(10):4009-4032.
- Atopkina L N, Denisenko V A. Synthesis of 20S-protopanaxadiol 20-O-β-D-glucopyranoside, a metabolite of *Panax ginseng* glycosides, and compounds related to it. *Chem Nat Compd*, 2006, 42(4):452-458.
- 王平平, 杨成帅, 李晓东, 等. 植物天然化合物的人工合成之路. 有机化学, 2018, 38(9):2199-2214.
- Zhong F L, Dong W W, Wu S Q, et al. Biotransformation of gypenoside XVII to compound K by a recombinant β-glucosidase. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(7):1187-1193.
- Zhang R, Huang X M, Yan H J, et al. Highly selective production of compound K from ginsenoside rd by hydrolyzing glucose at C-3 glycoside using β-glucosidase of *Bifidobacterium breve* ATCC 15700. *J Microbiol Biotechnol*, 2019, 29(3):410-418.
- Shin K C, Kim T H, Choi J H, et al. Complete biotransformation of protopanaxadiol-type ginsenosides to 20-O-β-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol using a novel and thermostable β-glucosidase. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(11):2822-2829.
- Choi J H, Shin K C, Oh D K. An L213A variant of β-glycosidase from *Sulfolobus solfataricus* with increased α-L-arabinofuranosidase activity converts ginsenoside Rc to compound K. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191018.
- Zheng Y, Zheng Z Z, Ming Y L, et al. Compound K producing from the enzymatic conversion of gypenoside by naringinase. *Food Chem Toxicol*, 2019, 130:253-261.

- 25 Li W, Zhang M, Zheng Y N, *et al.* Snailase preparation of ginsenoside M1 from protopanaxadiol-type ginsenoside and their protective effects against CCl₄-induced chronic hepatotoxicity in mice. *Molecules*, 2011, 16(12):10093–10103.
- 26 Jiang Y Y, Li W N, Fan D D. Biotransformation of ginsenoside Rb1 to ginsenoside CK by strain XD101: A safe bioconversion strategy. *Appl Biochem Biotechnol*, 2021, 193(7):2110–2127.
- 27 Jeong E B, Kim S A, Shin K C, *et al.* Biotransformation of protopanaxadiol-type ginsenosides in Korean ginseng extract into food-available compound K by an extracellular enzyme from *Aspergillus niger*. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(10):1560–1567.
- 28 Shin K C, Choi H Y, Seo M J, *et al.* Compound K production from red ginseng extract by β -glycosidase from *Sulfolobus solfataricus* supplemented with α -L-arabinofuranosidase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *PLoS One*, 2015, 10(12):e0145876.
- 29 Quan L H, Kim Y J, Li G H, *et al.* Microbial transformation of ginsenoside Rb1 to compound K by *Lactobacillus paralimentarius*. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013, 29(6):1001–1007.
- 30 Yoo J M, Lee J Y, Lee Y G, *et al.* Enhanced production of compound K in fermented ginseng extracts by *Lactobacillus brevis*. *Food Sci Biotechnol*, 2019, 28(3):823–829.
- 31 Wang W N, Yan B X, Xu W D, *et al.* Highly selective bioconversion of ginsenoside Rb1 to compound K by the *Mycelium* of *Cordyceps sinensis* under optimized conditions. *Molecules*, 2015, 20(10):19291–19309.
- 32 骆云峰, 刘可艺, 冯嘉华, 等. 中药活性成分合成生物学研究进展. *中国中药杂志*, 2021, 46(22):5727–5735.
- 33 Abdul-Hammed M, Adedotun I O, Falade V A, *et al.* Target-based drug discovery, ADMET profiling and bioactivity studies of antibiotics as potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (M^{pro}). *Virusdisease*, 2021, 32(4):642–656.
- 34 van den Hazel H B, Kiehlbrandt M C, Winther J R. Review: Biosynthesis and function of yeast vacuolar proteases. *Yeast*, 1996, 12(1):1–16.
- 35 梁会超, 王庆华, 巩婷, 等. 人参皂苷生物合成相关糖基转移酶研究基本策略及进展. *药学学报*, 2015, 50(2):148–153.
- 36 Yan X, Fan Y, Wei W, *et al.* Production of bioactive ginsenoside compound K in metabolically engineered yeast. *Cell Res*, 2014, 24(6):770–773.
- 37 Li D S, Wu Y F, Zhang C B, *et al.* Production of triterpene ginsenoside compound K in the non-conventional yeast *Yarrowia lipolytica*. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(9):2581–2588.
- 38 Wang D, Wang J, Shi Y, *et al.* Elucidation of the complete biosynthetic pathway of the main triterpene glycosylation products of *Panax notoginseng* using a synthetic biology platform. *Metab Eng*, 2020, 61:131–140.
- 39 Nan W H, Zhao F L, Zhang C B, *et al.* Promotion of compound K production in *Saccharomyces cerevisiae* by glycerol. *Microb Cell Fact*, 2020, 19(1):41.
- 40 陈思键, 吴冬雪, 刘淑莹, 等. 人参皂苷化学转化与生物转化研究进展. *中成药*, 2022, 44(5):1539–1545.
- 41 Golias C H, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K. Cell proliferation and cell cycle control: A mini review. *Int J Clin Pract*, 2004, 58(12):1134–1141.
- 42 Zhang S L, Zhang M L, Chen J X, *et al.* Ginsenoside compound K regulates HIF-1 α -mediated glycolysis through Belaf1 to inhibit the proliferation of human liver cancer cells. *Front Pharmacol*, 2020, 11:583334.
- 43 Wang C Z, Du G J, Zhang Z Y, *et al.* Ginsenoside compound K, not Rb1, possesses potential chemopreventive activities in human colorectal cancer. *Int J Oncol*, 2012, 40(6):1970–1976.
- 44 Chen S Q, Ye H H, Gong F E, *et al.* Ginsenoside compound K exerts antitumour effects in renal cell carcinoma via regulation of ROS and lncRNA THOR. *Oncol Rep*, 2021, 45(4):38.
- 45 D'Arcy M S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6):582–592.
- 46 高岩, 林英嘉, 李杨, 等. 人参皂苷代谢产物CK诱导卵巢癌细胞CAOV3的凋亡机制. *中国生物制品学杂志*, 2015, 28(2):142–146.
- 47 闫岩, 张斯琳, 陈佳欣, 等. 人参皂苷CK通过抑制TGF- β 1/Smads通路诱导人肝癌SMMC-7721细胞凋亡的作用. *药学学报*, 2019, 54(9):1606–1611.
- 48 Law C K M, Kwok H H, Poon P Y, *et al.* Ginsenoside compound K induces apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells via activation of apoptosis-inducing factor. *Chin Med*, 2014, 9(1):11.
- 49 Yin Q, Chen H, Ma R H, *et al.* Ginsenoside CK induces apoptosis of human cervical cancer HeLa cells by regulating autophagy and endoplasmic reticulum stress. *Food Funct*, 2021, 12(12):5301–5316.
- 50 Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 2011, 144(5):646–674.
- 51 Lee S H, Kwon M C, Jang J P, *et al.* The ginsenoside metabolite compound K inhibits growth, migration and stemness of glioblastoma cells. *Int J Oncol*, 2017, 51(2):414–424.
- 52 Kalluri R, Weinberg R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*, 2009, 119(6):1420–1428.
- 53 姜爽, 任艳平, 魏琳, 等. 人参皂苷CK对MCF-7细胞增殖、凋亡、上皮间质转化、PI3K/Akt信号通路的影响. *中成药*, 2018, 40(9):1925–1929.
- 54 彭文婷, 孙妮弋, 孙家昌, 等. 人参皂苷CK对人肝癌细胞HepG2迁移及侵袭的影响. *中国药理学通报*, 2018, 34(1):27–32.
- 55 Sun M Y, Zhuang X F, Lv G F, *et al.* Ginsenoside CK inhibits TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in A549 cell via SIRT1. *Biomed Res Int*, 2021, 2021:9140191.
- 56 Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: Renovation of cells and tissues. *Cell*, 2011, 147(4):728–741.
- 57 Levy J M M, Towers C G, Thorburn A. Targeting autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(9):528–542.
- 58 Li C, Dong Y C, Wang L B, *et al.* Ginsenoside metabolite compound K induces apoptosis and autophagy in non-small cell lung cancer cells via AMPK-mTOR and JNK pathways. *Biochem Cell Biol*, 2019, 97(4):406–414.

- 59 Oh J M, Kim E, Chun S. Ginsenoside compound K induces ros-mediated apoptosis and autophagic inhibition in human neuroblastoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17):4279.
- 60 崔江河, 韩光宇, 何光梅, 等. 人参皂苷CK联合5-氟尿嘧啶对人胰腺癌PANC-1细胞的增殖、凋亡及上皮间质转化的影响. *中国药房*, 2017, 28(31):4388-4392.
- 61 Chen L, Meng Y, Sun Q, *et al.* Ginsenoside compound K sensitizes human colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via autophagy-dependent and-independent DR5 upregulation. *Cell Death Dis*, 2016, 7(8):e2334.
- 62 刘珊, 蒋永新, 王红, 等. 人参皂苷CK与顺铂联用对人肺腺癌A549细胞株的抑制作用及其机制探讨. *山东医药*, 2015, 55(9):24-26.
- 63 Chen J Y, Wu H X, Wang Q T, *et al.* Ginsenoside metabolite compound K alleviates adjuvant-induced arthritis by suppressing T cell activation. *Inflammation*, 2014, 37(5):1608-1615.
- 64 Zhou W, Feng M Q, Li J Y, *et al.* Studies on the preparation, crystal structure and bioactivity of ginsenoside compound K. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(6):519-527.
- 65 Murugesan M, Mathiyalagan R, Boopathi V, *et al.* Production of minor ginsenoside CK from major ginsenosides by biotransformation and its advances in targeted delivery to tumor tissues using nanoformulations. *Nanomaterials*, 2022, 12(19):3427.
- 66 Li J W, Vederas J C. Drug discovery and natural products: End of era or an endless frontier? *Biomed Khim*, 2011, 57(2):148-160.

Study Progress on Biopreparation and Antitumor Mechanism of Ginsenoside CK

Chen Yinchen^{1,2}, Ren Hangu^{1,2}, Xi Zhichao^{1,2}, Xu Hongxi^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;
2. Engineering Research Center of Shanghai Colleges for TCM New Drug Discovery, Shanghai 201203, China)

Abstract: Ginsenoside Compound K (CK) is a kind of protopanaxadiol ginsenosides, which exerts antitumor effects on various cancers, such as lung cancer, liver cancer and breast cancer. Pharmacological studies have proved that CK induces tumor cell cycle arrest and apoptosis, as well as regulates tumor cell autophagy and inhibits tumor metastasis by regulating multiple signaling pathways (AMPK/mTOR and PI3K/Akt et cetera). However, as an intestinal metabolite of natural protopanaxadiol ginsenosides, CK cannot be directly extracted from the ginseng plant. Therefore, biotransformation from natural ginsenosides such as ginsenoside Rb1 or biosynthesis are utilized to obtain CK. Biotransformation of CK uses enzymes or microorganisms to transform different ginsenosides or their structural analogs into CK; biosynthesis of CK cultures cell factories and biosynthetic enzymes to synthesize glucose and other simple compounds into CK. In this review, we systematically summarized the research progress in biopreparation and antitumor mechanism of CK in recent years, with the aim of providing evidence for the future development of CK as a clinical anti-tumor candidate drug or an adjunctive drug.

Keywords: Ginsenoside Compound K, Antitumor mechanism, Biotransformation, Biosynthesis

(责任编辑: 李青)