

· 综述 ·

黑曲霉生物转化黄酮类成分研究进展

王智磊, 刘素娟, 张鑫, 伍清芳, 陈林, 陈鸿平, 刘友平*

(成都中医药大学 药学院, 中药材质量标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用
省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] 黄酮类化合物具有多种药理活性,包括抗炎、抗氧化、抗血栓、抗菌、抗病毒、降血脂等,而黑曲霉作为世界公认的安全食用性的低等真核生物而广泛应用于微生物转化,并在黄酮类成分生物转化中发挥着重要的作用。该文综述近15年来国内外关于黑曲霉生物转化黄酮类物质及其衍生物的研究进展,以期为黑曲霉的进一步开发应用提供参考。结果表明以黑曲霉为菌种转化黄酮类化合物的主要类型包括黄酮类、黄酮苷类、二氢黄酮类、查尔酮类、多甲氧基黄酮类、异黄酮类等,主要发生羟基化、脱羟基、甲基化、脱甲基、羰基化、脱羰基、糖基化、去糖基化等反应,转化机制可能是在黑曲霉产生丰富广泛酶系的参与下,发生酶促反应后产生相应转化产物。通过黑曲霉生物转化黄酮类成分研究进展,对黑曲霉应用到黄酮类成分转化的实际生产中提供理论指导,也为微生物高效转化具有药理活性的化学成分奠定理论基础和参考。

[关键词] 黑曲霉; 发酵; 生物转化; 黄酮; 研究进展

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)21-0220-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017210220

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1012.002.html>

[网络出版时间] 2017-08-09 10:12

Research Progress of *Aspergillus niger* Biotransformation of Bioactive Flavonoids

WANG Zhi-lei, LIU Su-juan, ZHANG Xin, WU Qing-fang, CHEN Lin, CHEN Hong-ping, LIU You-ping
(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Breeding Base of State Key Laboratory
of Resources System Research and Development Utilization of Chinese Herbal Medicines Co-constructed by
Ministry of Science and Technology and Sichuan Province, Chengdu 611137, China)

[Abstract] Flavonoids have a variety of pharmacological activities, including anti-inflammatory, anti-oxidation, anti-thrombosis, antibacterial, antiviral, and hypolipidemic, etc. As a commonly used safe edible fungi, *Aspergillus niger* is widely used in microbial transformation and plays an important role in the biotransformation of flavonoids. This paper reviews the progress of biotransformation of flavonoids and their derivatives in *A. niger* at home and abroad in recent 15 years in order to provide reference for the further development and application of *A. niger*. The results showed that the main types of flavonoids participated in biotransformation were flavone, flavonoid glycoside, flavanone, chalcone, polymethoxyflavonoids, and isoflavanone. Hydroxylation, dehydroxylation, methylation, demethylation, carbonylation, decarbonylation, glycosylation, and de-glycosylation were the main reactions. The transformation mechanism may be generated with enzyme involved, and would develop conversion products after the occurrence of the above reaction. The study on the progress of the transformation of flavonoids from *A. niger* was carried out not only to provide theoretical guidance

[收稿日期] 20170304(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072991)

[第一作者] 王智磊,在读博士,从事中药化学成分与药效物质基础研究, Tel:18380445393, E-mail:1255384254@qq.com

[通讯作者] *刘友平,研究员,博士生导师,从事中药质量标准化及药效物质基础, Tel:028-61800103, E-mail:liuyouping@163.com

for the application of *A. niger* to the actual production of flavonoids, but also lay the theoretical basis and reference for the microbial efficient transformation of chemical compositions with pharmacological activity.

[Key words] *Aspergillus niger*; fermentation; biotransformation; flavonoids; research progress

黄酮类作为一类重要的天然产物,广泛存在于植物次生代谢产物中,并被大量开发成食品、药品、保健品,对人类健康发挥着重要的作用。现代研究表明黄酮类化合物具有巨大的生物活性,例如抗炎^[1]、抗氧化^[2]、抗肿瘤^[3-6]、抗血栓^[7]、抗菌^[8]、抗病毒^[9]、降血脂^[10]、抗结核^[11]、抗动脉粥样硬化^[12]、抗阿尔茨海默症^[13]、肝保护^[14-15]等。生物转化技术由于在产生新颖活性黄酮方面具有巨大潜力而备受关注,现代运用到活性黄酮生产的生物技术主要包括发酵工程、酶工程、代谢工程等。而微生物转化活性黄酮因其具有丰富广泛的酶系、易于产生新颖且高值产物、选择性高、自然环保而受到广泛关注,有研究表明微生物转化过程多发生羟基化、脱羟基作用、甲基化、脱甲基、糖基化、脱糖基、脱氢、氢化、羰基还原等反应^[16]。

课题组前期从中药陈皮表面分离得到的黑曲霉真菌能促进陈皮中黄酮类物质的增加^[17],查阅文献可知,黑曲霉(*Aspergillus niger*)是应用于化学成分微生物转化主要的菌种之一,相比于其他已知菌种,黑曲霉是世界公认的安全食用性的低等真核生物而广泛应用于食品行业^[18]。因此本文综述近15年来国内外关于黑曲霉生物转化黄酮类物质及其衍生物的研究进展,以期在黑曲霉生物转化黄酮类成分的进一步开发应用提供参考。

1 黄酮(flavone)及黄酮醇(flavonol)类

黄酮类即以2-苯基色原酮(1)为基本母核,在C-3位无含氧基团取代的一类化合物,在灰毛豆中分离得到的含异戊二烯基黄酮光灰叶素[glabratephrin(2)],该物质经菌株(*A. niger*)30 mg发酵后由于五元酯环的环化作用导致环的开闭生成发酵产物[pseudosemiglabrin(3)]20 mg^[19]。该反应首先由于内酯环的水解形成中间产物,该中间产物先后发生氧化脱氢、脱羧形成转化产物 pseudosemiglabrin。

6-甲氧基黄酮(4)在菌株 *A. niger* KB 或 *A. niger* MB 作用下,C-6位脱甲基生成6-羟基黄酮(5),继而在C'-4位羟基化生成6,4'-二羟基黄酮(6);而在菌株 *A. niger* SBP 作用下只产生6-羟基黄酮(5),产量达84.2%^[20]。7-甲氧基黄酮与之相似,在C-7位脱甲基,C'-4位羟基化生成相应转化产物。

5-羟基黄酮(7)在菌株 *A. niger* (KB, MB) 发酵

作用下,B环C'-4位羟基化形成5,4'-二羟基黄酮(8),5-甲氧基黄酮(9)却在相同的2种菌株作用下B环C'-4位增加甲氧基形成5,4'-二甲氧基黄酮(10)^[21]。而另一种菌株 *A. niger* SBP 在5-甲氧基黄酮(9)的C-5位脱甲基产生5-羟基黄酮(7),却不能再次转化5-羟基黄酮^[21]。

黄酮醇类的结构特点是在黄酮基本母核的C-3位上连有含氧基团的一类化合物,3-甲氧基黄酮(11)在菌株 *A. niger* (KB, MB, SBP, SBJ, 13/5) 作用下,生成3'-羟基黄酮-3-氧基甲基肉豆蔻酸酯(12),其中产量较高的菌株为 *A. niger* KB, *A. niger* SBP, 分别为69.8%, 63.1%^[22]。转化机制可能分两步进行:第一步3-甲氧基黄酮(11)在酶的氧化作用下发生类似于哺乳动物体内含甲氧基衍生物的新陈代谢,在C-3位甲氧基和B环C'-3位发生氧化,羟基化生成中间转化产物,该反应与真菌产生的细胞色素P450单氧酶催化有关;第二步该中间物与 *A. niger* 产生的肉豆蔻酸发生酯化反应以此产生转化产物3'-羟基黄酮-3-氧基甲基肉豆蔻酸酯(12)。具体结构式见图1。

2 黄酮苷(flavonoid glycoside)类

天然黄酮类化合物在自然界中多以苷类形式存在,由于苷元不同,以及连接苷元的糖的种类、数目、连接位置、连接方式不同而形成数目众多、结构各异的黄酮苷类化合物。菌株 *A. niger* B2 所产β-葡萄糖苷酶可在30 min内将各种中药糖苷类底物完全转化为相应苷元^[23]。表明该酶能够高效水解不同的中药糖苷类底物,具有较好的应用潜力。

一般认为苷元是大豆异黄酮的主要活性组分,在菌株 *A. niger* 3.4628 发酵作用下,黄豆苷(13),染料木苷(14)分别转化为黄豆苷元(15),染料木黄酮(16),在最佳发酵条件下,转化率分别为81.77%, 83.61%^[24],提高了大豆异黄酮生物利用度。

柚皮苷(17)在菌株 *A. niger* TC-01 产生的柚苷酶液发酵作用下去糖基化生成柚皮素(18),1 h的转化率高达96%^[25]。柚皮苷(17)是引起柚类和葡萄果实苦味的主要来源,利用 *A. niger* TC-01 菌株产生的柚苷酶能在不影响柑橘果汁品质的前提下较好地去除苦味。

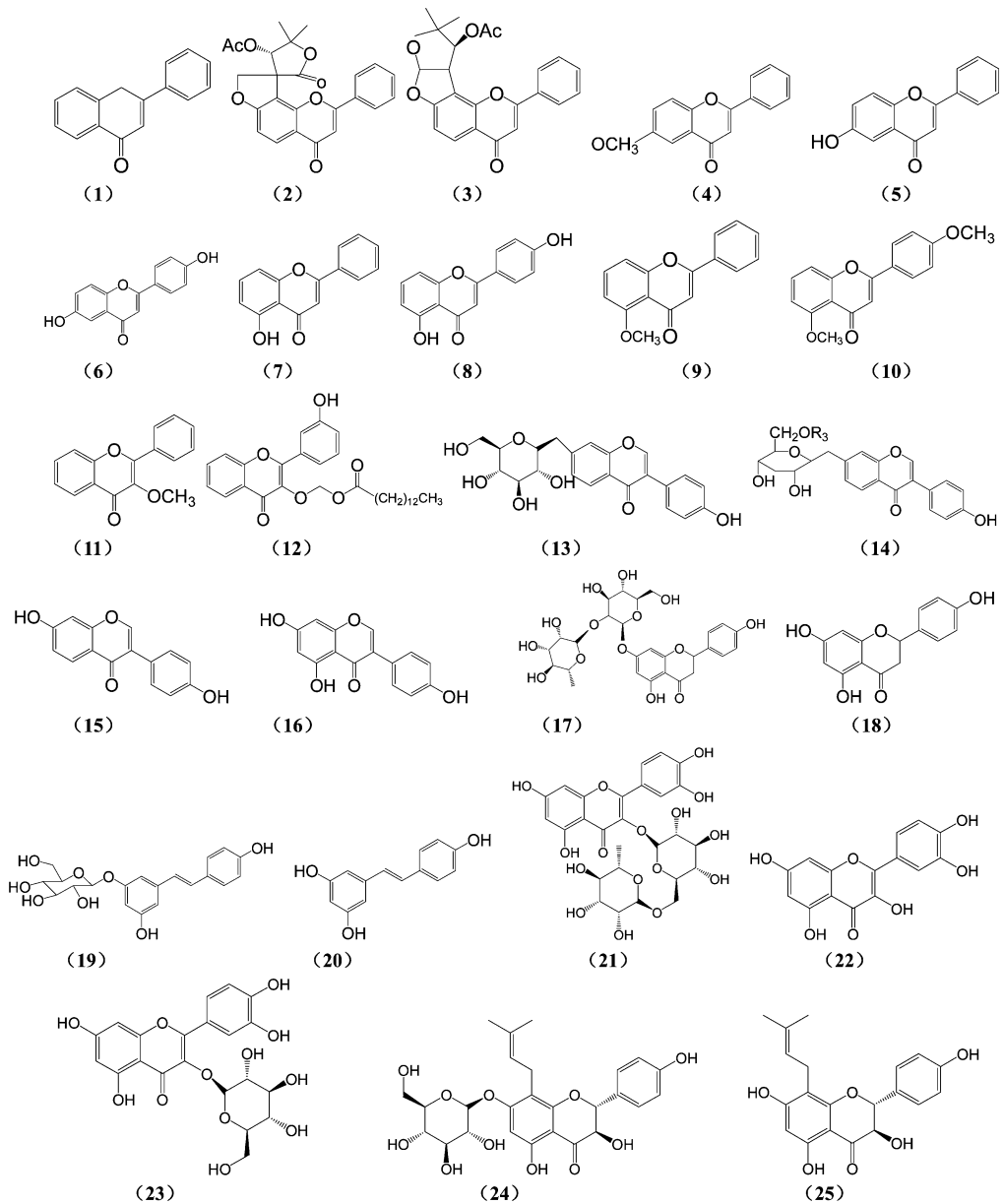


图 1 参与生物转化的黄酮类成分结构式

Fig.1 Structure of flavonoids involved in biotransformation

染料木苷(14),白藜芦醇苷(19)经菌株 *A. niger* S 发酵后去糖基化分别得到染料木黄酮(16)和白藜芦醇(20),转化率分别达 98%, 95%^[26],并对提纯后的 β -葡糖苷酶酶学性质研究表明此酶有可能为一种较新的糖苷酶类,具有高效专一的特点^[27]。

芦丁(21)由四羟基黄酮和二糖芸香糖组成的苷类,利用菌株 *A. niger* As 3.4309 发酵产酶,并对 β -葡萄糖苷酶和芦丁- α -鼠李糖苷酶酶活性进行测定,结果芦丁去糖基化,二元糖苷链断裂得到苷元槲皮素(22),转化率为 54.36%^[28]。与直接加酶法和酸水解相比,利用黑曲霉发酵转化产率高并不破坏

活性物质结构。芦丁在菌株 *A. niger* PRL 18 胞外酶系作用下发生去糖基化作用生成苷元槲皮素(22)和芸香糖^[29];在菌株 *A. niger* KCTC 6906 产生的 α -L-鼠李糖苷酶, β -D-葡萄糖苷酶作用下脱去鼠李糖生成槲皮素-3- β -D-葡萄糖苷(23),与芦丁和槲皮素相比,拥有更强的抗恶性细胞增生的作用^[30]。

黄柏苷(24)在菌株 *A. niger* IAM-25 作用下产生转化产物苷元新二氢黄柏素(25)^[31]。具体结构式见图 1。

3 二氢黄酮(flavanone)类

柚皮素(18)在菌株 *A. niger* CGMCC 3.4628 作用下,C-6 位,C-8 位羟基化分别生成 6-羟基柚皮素

[红花黄素(26)], 8-羟基柚皮素[异红花黄素(27)], 转化率分别为 38%, 43%^[32]。

7-甲氧基二氢黄酮(28)在菌株 *A. niger* KB 作用下, C-4 位脱羰基生成 7-甲氧基黄烷-4-醇(29), 产量达 76%, 与底物相比具有更强的抗氧化活性^[33]。二氢黄酮(30)在菌株 *A. niger* MB 作用下 C-6 位羟基化生成 6-羟基二氢黄酮(31), 该转化产物与底物 C 环裂解, α, β 位双键加氢生成 2'-羟基二氢查尔酮(32), 2', 5'-二羟基二氢查尔酮(33)^[34]。

6-羟基二氢黄酮(31)的 3 种外消旋酯化衍生物在菌株 *A. niger* MB 作用下发生羟基化反应生成 (-)-(S)-6,4'-二羟基二氢黄酮(34), 同样在该菌作用下, (+)-6-甲氧基二氢黄酮(35)转化成 (+)-(R)-6,4'-二羟基二氢黄酮(36)。与此同时, 中间产物 6-羟基二氢黄酮(31)在羟化酶、脱水酶作用下先后在 C-2 位羟基化、脱水生成 6-羟基黄酮(5)^[35]。

从大蒜中分离出一株菌株 *A. niger* 将二氢黄酮转化为 2 个新的代谢物, 二者具有显著的抗氧化和抗菌活性, 抗氧化活性分别为维生素 C 的 79% 和 67%, 但该代谢物的结构并未被鉴定^[36]。二氢黄酮(30)在菌株 *A. niger* 作用下产生转化产物 9 个, 其中 7 个产物具有较高的抗氧化活性, 最高的为 4,2'-二羟基二氢查尔酮(37), 其次为 2', 5'-二羟基二氢查尔酮(33)^[37], 原因可能与二氢黄酮 C 环的裂解增加了其抗氧化活性有关。

7-羟基二氢黄酮(38)在菌株 *A. niger* KB 作用下发生羰基还原反应, 在菌株 *A. niger* 13/5 作用下 C-2, C-3 位脱氢化, 分别生成多种转化产物, 其中产量最高的产物分别是 7-羟基黄烷-4-醇(39), 7-羟基黄酮(40), 产量分别为 74%, 98%^[38]。

二氢黄酮(30)在菌株 *A. niger* KB 作用下 C-4 位羰基还原生成黄烷-4-醇(41), 产量达 64%; 在菌株 *A. niger* 13/5 作用下除了生成黄烷-4-醇(41)外, C-2, C-3 位脱氢生成黄酮(1), C-7 位羟基化和 C-4 位羰基还原生成 7-羟基黄烷-4-醇(39); 在菌株 *A. niger* IBR 6/2 作用下 C-4 位羰基还原, C-2, C-3 位脱氢, C-3 位羟基化生成黄酮醇(42), 产量达 75%; 在菌株 *A. niger* SBP 作用下生成以上 4 种转化产物。6-羟基二氢黄酮(31)在菌株 *A. niger* KB 作用下 C-4 位羰基还原生成 6-羟基黄烷-4-醇(43), 产量 59%; 在菌株 *A. niger* 13/5 作用下 C-2, C-3 位脱氢生成 6-羟基黄酮(5), 产量 71%^[39]。二者在相同微生物作用下产物不同, 可能是 6-羟基二氢黄酮(31)的 C-6

羟基阻碍了菌株 *A. niger* IBR 6/2, *A. niger* SBP 产生的酶进入其活性中心。具体结构式见图 2。

4 多甲氧基黄酮类 (polymethoxyflavonoids, PMFs)

多甲氧基黄酮是苯基色原酮结构上的 3,4,5,6,7,8,2',3',4',5',6' 等位置处连有 4 个或 4 个以上甲氧基的黄酮类化合物。现代药理研究证实, PMFs 具有抗病原微生物、抗诱变、抗血小板聚集、抗癌、抗炎、保护胃黏膜等多种生物活性^[40]。

菌株 *A. niger* IFO 4414 生物转化 5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮[川陈皮素(44)], 脱甲基为 4'-羟基-5,6,7,8,3'-五甲氧基黄酮(45), 转化率达 75%^[41]。

5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮[桔红素(46)]在菌株 *A. niger* ATCC 984199 作用下 C-4' 位脱甲基生成 4'-羟基-5,6,7,8-四甲氧基黄酮(47), 转化率为 71%; 3-羟基桔红素(48)在菌株 *A. niger* ATCC 9142 作用下 C-4' 位脱甲基生成 3,4'-二羟基-5,6,7,8-四甲氧基黄酮(49), 转化率为 60%; 而川陈皮素(44)在以上 2 种菌作用下转化慢且代谢物含量少, 证实了微生物转化具有特定选择性^[42]。另一方面, 实验表明细胞色素 P450 抑制剂阻止桔红素的生物转化, 因此推断细胞色素 P450 酶系统可能参与其脱甲基过程, 而微生物与动物在对多甲氧基黄酮黄酮新陈代谢方面具有一致性。

5,6,7,3',4'-五甲氧基黄酮[Sinesetin(50)]存在于橘类水果中, 研究表明具有抗恶性细胞增生的作用, 研究该化合物在菌株 *A. niger* NBRC 4414 作用下 C-4' 位脱甲基生成 4'-甲基-5,6,7,3'-四甲氧基黄酮(51)^[43], 二者对化学诱变剂均具有显著的抗诱变活性, 且转化产物展示出比底物更高的抗诱变活性。具体结构式见图 2。

5 查尔酮类 (chalcone)

查尔酮为二氢黄酮 C 环的 C-1, C-2 位断裂生成的开环衍生物, 在黑曲霉菌株 *A. niger* LSPN001 作用下, 先经历酶的环化、脱甲基作用生成中间体黄酮, 再延长培养时间后通过羟基化作用转化为二氢黄酮类。如 2'-羟基-2,4-二甲氧基查尔酮(52)在经过 *A. niger* LSPN001 转化后生成转化物 2',4-二羟基-2-甲氧基查尔酮(53)和 2'-甲氧基-4'-甲基二氢黄酮(54), 产量分别为 25%, 27%^[44]。具体结构式见图 3。

6 异黄酮类 (isoflavanone)

异黄酮类母核为 3-苯基色原酮的结构, 即 B 环

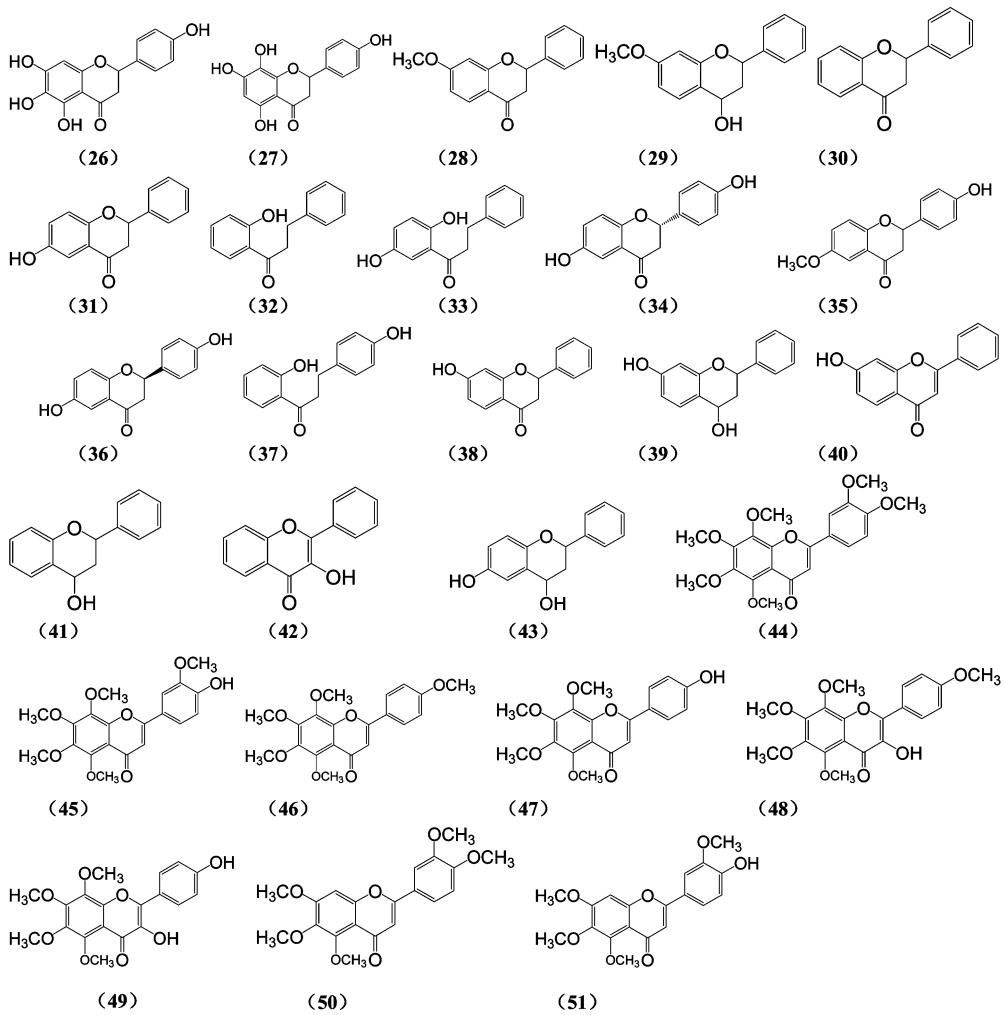


图 2 参与二氢黄酮、多甲氧基黄酮生物转化的黄酮类成分结构式

Fig. 2 Structure of flavonoids involved in biotransformation of flavanone and polymethoxyflavonoids

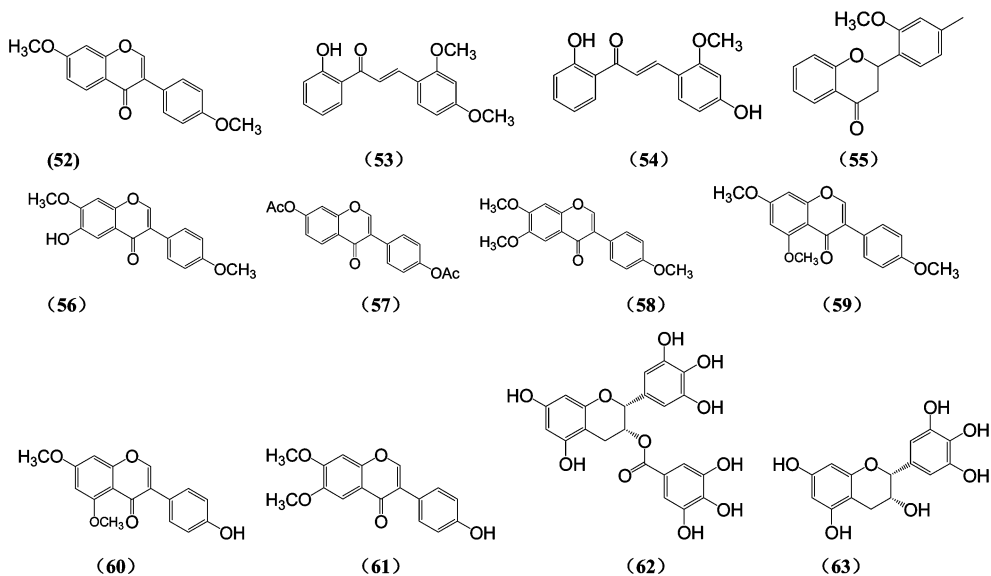


图 3 参与查尔酮、异黄酮类及其他化合物生物转化的黄酮类成分结构式

Fig. 3 Structure of flavonoids involved in biotransformation of chalcone, isoflavanone and other compositions

连接在 C 环的 C-3 位,如豆科植物葛根所含的大豆素、大豆苷。黑曲霉菌种发酵淡豆豉相比自然发酵和米曲霉发酵,具有较高的总异黄酮含量和酶活力,而转化机制并未进行研究,原因可能与黑曲霉产生丰富的酶系对其成分进行生物转化有关。另一方面,黑曲霉发酵淡豆豉不产生真菌毒素,菌丝体易形成,已成为发酵新工艺研究的热点^[45]。

7,4'-二甲氧基异黄酮(55)在菌株 *A. niger* NBRC 4414 作用下 6 位羟基化作用转化成 6-羟基-7,4'-二甲氧基异黄酮(56),C-7 位、C-4' 号位去甲基化作用转化为大豆苷元(15),转化率分别为 36%, 10%。而 7,4'-二乙酰氧基异黄酮(57)通过 C-7 位, C-4' 号位氢化作用转化为大豆苷元(15),转化率为 30%^[46]。

6,7,4'-三甲氧基异黄酮(58),5,7,4'-三甲氧基异黄酮(59)在菌株 *A. niger* NBRC 4414 转化下 C-4' 位脱甲基分别生成 4'-羟基-6,7-二甲氧基异黄酮(60),4'-羟基-5,7-二甲氧基异黄酮(61),产量分别为 25%,33%^[47]。具体结构式见图 3。

7 其他类

儿茶素类具有强大的抗氧化活性,表焙儿茶素

在茶叶中含量极其少,即使采用化学合成的方法产量也及其有限,研究以表焙儿茶素没食子酯(62)为底物,在菌株 *A. niger* ATCC 46890 产生的水解酶作用下转化为表焙儿茶素(63),转化率达 56%,而水解酶种类却并未被研究^[48]。具体结构式见图 3。

8 结论

结合国内外研究现状分析表明黑曲霉转化黄酮类成分类型主要包括黄酮、黄酮苷类、二氢黄酮类、查尔酮类、多甲氧基黄酮、异黄酮类,常发生羟基化、脱羟基、甲基化、脱甲基、羰基化、脱羰基、糖基化、去糖基化等反应,见表 1。如 O-羟基化反应几乎发生在 C 环的 C'-4 位,其次在 C-6 位,在 C'-3 位及 C-8 位也有发生;O-甲基化反应多在 C'-4 位及 C-5 位;脱羰基主要在二氢黄酮类化合物的 C-4 位发生生成黄烷-4-醇。黄酮苷类物质常在糖与苷元部分的糖苷键断裂去糖基化生成苷元和糖;而含甲氧基黄酮类化合物多在含甲氧基的位置脱甲基生成相应的羟基化合物。另外,同一种黑曲霉菌株对不同黄酮类化合物转化产物不同,说明微生物转化具有特定选择性的作用。

表 1 部分黑曲霉生物转化黄酮类成分情况

Table 1 Part of *Aspergillus niger* biotransformation flavonoids

黑曲霉菌株	底物	位置及反应	转化产物	参考文献
<i>Aspergillus niger</i>	(2)	内酯环环化作用、氧化脱氢、脱羧	(3)	[18]
<i>A. niger</i> KB	(4)	C-6 位脱甲基,C'-4 位羟基化	(5),(6)	[19]
	(7)	C'-4 位羟基化	(8)	[20]
	(9)	C'-4 位甲氧基化	(10)	[20]
	(11)	C'-3 位羟基化	(12)	[21]
	(28),(38),(30)	C-4 位羰基还原	(29),(39),(41)	[32],[36-37]
	<i>A. niger</i> MB	(4)	C-6 位脱甲基,C'-4 位羟基化	(5),(6)
(7)		C'-4 位羟基化	(8)	[20]
(9)		C'-4 位甲氧基化	(10)	[20]
(11)		C'-3 位羟基化	(12)	[21]
(30)		C-6 位羟基化,C 环裂解, α,β 位双键加氢	(31),(32),(33)	[33]
(31),(35)		C-6 位,C'-4 位羟基化	(34),(36)	[34]
(31)		C-4 位羰基还原	(43)	[37]
<i>A. niger</i> SBP	(4)	C-6 位脱甲基	(5)	[19]
	(9)	C-5 位脱甲基	(7)	[20]
	(11)	C'-3 位羟基化	(12)	[21]
<i>A. niger</i> SBJ	(11)	C'-3 位羟基化	(12)	[21]

续表 1

黑曲霉菌株	底物	位置及反应	转化产物	参考文献
<i>A. niger</i> 13/5	(11)	C'-3 位羟基化	(12)	[21]
	(38)	C-2, C-3 位脱氢化	(40)	[36]
	(30)	C-2, C-3 位脱氢化, C-7 位羟基化和 C-4 位羰基还原	(1), (39)	[37]
	(31)	C-2, C-3 位脱氢	(5)	[37]
<i>A. niger</i> 3.4628	(13), (14)	C-7 位去糖基化	(15), (16)	[23]
<i>A. niger</i> TC-01	(17)	C-7 位去糖基化	(18)	[24]
<i>A. niger</i> S	(14), (19)	去糖基化	(16), (20)	[25]
<i>A. niger</i> As 3.4309	(21)	C-3 位去糖基化	(22)	[27]
<i>A. niger</i> PRL 18	(21)	C-3 位去糖基化	(22)	[28]
<i>A. niger</i> KCTC 6906	(21)	C-3 位去糖基化	(23)	[29]
<i>A. niger</i> IAM-25	(24)	C-7 位去糖基化	(25)	[30]
<i>A. niger</i> CGMCC 3.4628	(18)	C-6 位羟基化, C-7 位羟基化	(26), (27)	[31]
<i>A. niger</i> IBR 6/2	(30)	C-4 位羰基还原, C-2, C-3 位脱氢, C-3 位羟基化	(42)	[37]
<i>A. niger</i> IFO 4414	(44)	C'-4 位脱甲基	(45)	[39]
<i>A. niger</i> ATCC 984199	(46)	C-4'位脱甲基	(47)	[40]
<i>A. niger</i> ATCC 9142	(46)	C-4'位脱甲基	(49)	[40]
<i>A. niger</i> NBRC 4414	(50)	C-4'位脱甲基	(51)	[41]
	(55)	C-6 位羟基化, C-7 位, C-4'号位去甲基化	(56), (15)	[44]
	(57)	C-7 位, C-4'号位氢化作用	(15)	[44]
	(58)	C-4'位脱甲基	(60)	[45]
	(59)	C-4'位脱甲基	(61)	[45]
<i>A. niger</i> LSPN001	(52)	环化作用	(53), (54)	[42]
<i>A. niger</i> ATCC 46890	(62)	C-3 位酯环水解	(63)	[46]

9 讨论

关于黑曲霉转化机制的研究,多认为是黑曲霉能产生丰富的酶系,转化机制可能是在其产生的酶参与下,发生羟基化、甲基化、脱氢化等过程形成转化产物^[49]。而是在何种酶的参与下完成黄酮类物质的转化,研究报道较少。课题组前期从中药陈皮表面分离得到了黑曲霉真菌,接种后发现黑曲霉促进了陈皮中黄酮类物质的增加^[17],芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、桔皮素均呈不同程度增加趋势,其中陈皮苷、川陈皮素含量增加最为明显^[50],因此提出:陈皮中黄酮类成分变化机理及其过程可能与黑曲霉相关代谢酶有关。下一步研究应在进一步明确引起黄酮类成分变化的黑曲霉菌株的同时,测定其代谢酶酶活,筛选酶种类,进而阐释黑曲霉菌株转化陈皮黄酮类成分的机制。

【参考文献】

[1] SONG L, TIAN L, MA Y, et al. Protection of flavonoids

from *Smilax china* L. rhizome on phenol mucilage-induced pelvic inflammation in rats by attenuating inflammation and fibrosis [J]. *J Funct Food*, 2017, 28: 194-204.

[2] WANG Y, GAO Y, DING H, et al. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera*, leaf and evaluation of antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2017, 218: 152-158.

[3] George V C, Dellaire G, Rupasinghe H P V. Plant flavonoids in cancer chemoprevention: Role in genome stability [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 45: 1-14.

[4] Venturelli S, Burkard M, Biendl M, et al. Prenylated chalcones and flavonoids for the prevention and treatment of cancer [J]. *Nutr*, 2016, 32 (11): 1171-1178.

[5] 张扬,唐海明,黎爱,等. 狭基线纹香茶菜水溶性总黄酮中 6 种碳苷黄酮的含量测定和抗肿瘤活性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(8): 1543-1547.

- [6] 杨楠,贾晓斌,张振海,等. 黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(3):373-381.
- [7] Arnaéz C Z, Sanz J M, Ramiro C M, et al. Antiplatelet activity of flavonoid and coumarin drugs [J]. Vasc Pharmacol,2016,87:139-149.
- [8] Alghazeer R, Elmansori A, Sidati M, et al. *In vitro* antibacterial activity of flavonoid extracts of two selected Libyan algae against multi-drug resistant bacteria isolated from food products [J]. J Bioscience Med, 2017,5:26-48.
- [9] WU C C, FANG C Y, CHENG Y J, et al. Inhibition of Epstein-Barr virus reactivation by the flavonoid apigenin [J]. J Biomed Sci,2017,24(1):2-14.
- [10] BAO L, HU L X, ZHANG Y, et al. Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from *Lomatogonium rotatum* [J]. Exp Therap Med, 2016, 11(4):1417-1424.
- [11] Jnawali H N, Jeon D, Jeong M C, et al. Antituberculosis activity of a naturally occurring flavonoid, isorhamnetin [J]. J Nat Prod,2016, 79(4):961-969.
- [12] Basu A, Das A S, Majumder M, et al. Antiatherogenic roles of dietary flavonoids chrysin, quercetin, and luteolin [J]. J Cardiovasc Pharmacol,2016,68(1):89-96.
- [13] Guzzi C, Colombo L, De L A, et al. Flavonoids and their glycosides as anti-amyloidogenic compounds: $A\beta_{1-42}$ interaction studies to gain new insights on their potential for Alzheimer's disease prevention and therapy [J]. Chem Asian J,2016,12:67-75.
- [14] Al-Sayed E, Mai F T, Karonen M. Antioxidant and hepatoprotective activities of flavonoids from *Bauhinia hookeri* [J]. Rec Nat Prod, 2016,10(6):812-817.
- [15] Van D W B, Koek G H, Bast A, et al. The potential of flavonoids in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2017, 57(4):834-855.
- [16] CAO H, CHEN X, Jassbi A R, et al. Microbial biotransformation of bioactive flavonoids [J]. Biotechnol Adv, 2015, 33(1):214-223.
- [17] 王福,张鑫,刘友平,等. 陈皮“陈久者良”之黄酮类成分增加原因探究 [J]. 中国中药杂志,2015,40(24):4890-4896.
- [18] Schuster E, Dunncoleman N, Frisvad J C, et al. On the safety of *Aspergillus niger* a review [J]. Appl Microbiol Biotechnol,2002, 59(4):426-435.
- [19] Mohamed A E, Khalafallah A K, Yousof A H. Biotransformation of glabratephrin, a rare type of isoprenylated flavonoids, by *Aspergillus niger* [J]. Z Naturforsch C,2014,63(7):561-564.
- [20] Kostrzewa-Suslow E, Dmochowska-Gladysz J, Janeczko T, et al. Microbial transformations of 6- and 7-methoxyflavones in *Aspergillus niger* and *Penicillium chermesinum* Cultures [J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2012,67(7):411-417.
- [21] Kostrzewa-Suslow E, Janeczko T. Microbial transformations of 5-hydroxy- and 5-methoxyflavone in *Aspergillus niger* and *Penicillium chermesinum* Cultures [J]. J Microbiol Biotechnol Food Sci, 2014, 3:448-452.
- [22] Kostrzewa-Suslow E, Dymarska M, Janeczko T. Microbial transformations of 3-methoxyflavone by strains of *Aspergillus niger* [J]. Pol J Microbiol,2014,63(1):111-114.
- [23] 鲁玮,岳冬冬,刘新育,等. 黑曲霉产 β -葡萄糖苷酶的纯化及对中药糖苷类成分的转化 [J]. 中国医药工业杂志,2014,45(3):220-223.
- [24] 孙洁心,孙强,张永忠. 黑曲霉发酵豆粕制备大豆异黄酮苷元的研究 [J]. 食品工业,2013(5):26-29.
- [25] 邓媛,毛勇,王燕,等. 黑曲霉 TC-01 产柚苷酶对柚皮苷酶解作用的研究 [J]. 中国食品添加剂,2012(3):108-111.
- [26] 王云. 利用微生物代谢酶转化白藜芦醇及大豆异黄酮的方法研究 [J]. 解放军医学杂志,2008,33(11):1344-1347.
- [27] 王云,曾沃坦. 黑曲霉 *Aspergillus niger* S 菌株所产 β -葡萄糖苷酶的纯化和酶学性质 [J]. 中国科学院大学学报,2009,26(2):274-279.
- [28] 陈箐筠,张迎庆,干信,等. 黑曲霉 As3. 4309 发酵转化芦丁的研究 [J]. 生物技术,2009,19(2):88-91.
- [29] Westlake D W S, Talbot G, Blakley E R, et al. Microbial decomposition of rutin [J]. Can J Microbiol, 2011,5(6):621-629.
- [30] YOU H J, Ahn H J, Ji G E. Transformation of rutin to antiproliferative quercetin-3-glucoside by *Aspergillus niger* [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(20):10886-10892.
- [31] Sakai S. Degradation of the plant flavonoid phellamurin by *Aspergillus niger* [J]. Appl Environ Microbiol,1977, 34(5):500-505.
- [32] XU J, YANG L, ZHAO S J, et al. An efficient way from naringenin to carthamidine and isocarthamidine by *Aspergillus niger* [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2012,28(4):1803-1806.
- [33] Kostrzewa-suslow E, Janeczko T. Microbial transformations of 7-methoxyflavanone [J]. Molecules, 2012,17(12):14810-14820.

- [34] Kostrzewa-Suslow E, Dmochowska-Gladysz J, Bialońska A, et al. Microbial transformations of flavanone by *Aspergillus niger* and *Penicillium chermesinum* Cultures [J]. J Mol Catal B Enzym, 2008, s 52-53(1):34-39.
- [35] Kostrzewa-Suslow E, Dymarska M, Bialonska A, et al. Enantioselective conversion of certain derivatives of 6-hydroxyflavanone [J]. J Mol Catal B Enzym, 2014, 102(14):59-65.
- [36] Mahmoud Y A G, Assawah S W, Elsharkawy S H, et al. Flavone biotransformation by *Aspergillus niger* and the characterization of two newly formed metabolites [J]. Mycobiol, 2008, 36(2):121-133.
- [37] Kostrzewa-suslow E, Dmochowska-gladysz J, Janeczko T. Microbial transformation of selected flavanones as a method of increasing the antioxidant properties. [J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2010, 65(1):55-60.
- [38] Kostrzewa-suslow E, Janeczko T. Microbial transformations of 7-hydroxyflavanone. [J]. Sci world J, 2012(4):1-8.
- [39] Kostrzewa-Suslow E, Dmochowska-Gladysz J, Biatofńska A, et al. Microbial transformations of flavanone and 6-hydroxyflavanone by *Aspergillus niger* Strains [J]. J Mol Catal B Enzym, 2006, 39(1/4):18-23.
- [40] 宋家玲, 杨永建, 李强, 等. 多甲氧基黄酮类化合物研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17):308-313.
- [41] Okuno Y, Miyazawa M. Biotransformation of nobiletin by *Aspergillus niger* and the antimutagenic activity of a metabolite, 4'-hydroxy-5, 6, 7, 8, 3'-pentamethoxyflavone [J]. J Nat Prod, 2004, 67(11):1876-1878.
- [42] Buisson D, Quintin J, Lewin G. Biotransformation of polymethoxylated flavonoids: access to their 4'-O-demethylated metabolites. [J]. J Nat Prod, 2007, 70(6):1035-1038.
- [43] Yoshiharu O, Mitsuo M. Microbial O-demethylation of sinesetin and antimutagenic activity of the metabolite [J]. J Chem Technol Biotechnol, 2006, 81(1):29-33.
- [44] Alarcón J, Alderete J, Escobar C, et al. *Aspergillus niger* catalyzes the synthesis of flavonoids from chalcones [J]. Biocatal Biotransform, 2013, 31(4):160-167.
- [45] 杨丹, 王洪礼, 马丹宁, 等. 不同发酵条件对淡豆豉中总异黄酮含量及蛋白酶活力的影响 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(7):826-830.
- [46] Miyazawa M, Ando H, Okuno Y, et al. Biotransformation of isoflavones by *Aspergillus niger* as biocatalyst [J]. J Mol Catal B Enzym, 2004, 27(s2/3):91-95.
- [47] Miyazawa M, Takahashi K, Araki H. Biotransformation of isoflavones by *Aspergillus niger* as biocatalyst [J]. J Chem Technol Biotechnol, 2006, 81:674-678.
- [48] ZHAO S Y. Enzymatic conversion of epigallocatechin gallate to epigallocatechin with an inducible hydrolase from *Aspergillus niger* [J]. Biocatal Biotransform, 2008, 26(4):306-312.
- [49] Das S, Rosazza J P. Microbial and enzymatic transformations of flavonoids [J]. J Nat Prod, 2006, 69(3):499-508.
- [50] 张鑫, 贺仪, 刘素娟, 等. 陈皮“陈久者良”原因探究 [J]. 食品科技, 2017, 42(01):90-95.

[责任编辑 顾雪竹]