

· 综述 ·

天然产物皂苷类化合物生物转化的研究进展

周中流^{1*}, 李春燕¹, 陈林浩¹, 杨雅琳¹, 尹文清³, 刘斌²

(1. 岭南师范学院 化学化工学院, 广东 湛江 524048;

2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488;

3. 广西师范大学 化学与药学学院, 广西 桂林 541004)

[摘要] 皂苷是苷元为三萜或螺旋甾烷类的一类较复杂的糖苷类化合物。天然来源皂苷为底物,采用生物转化技术获取了大量结构新颖的化合物,尤其是具有良好活性的皂苷转化产物,为新药的研究与开发提供了极为有价值的先导化合物。皂苷按母核结构可分为三萜皂苷和甾体皂苷,目前文献报道了 89 个天然来源皂苷单体的生物转化研究,其中三萜皂苷 56 个,甾体皂苷 33 个。皂苷类化合物的生物转化方法包括酶催化、微生物和肠道菌群转化,皂苷的生物酶和微生物转化工艺的研究与优化,是目前规模化制备活性次级皂苷的主要途径。皂苷类化合物的生物转化反应主要包括水解、氧化还原和重排等反应,最终生成苷元、次级糖苷或其衍生物。大多数皂苷的生物转化途径主要是经糖链水解反应,生成多个含糖基较少的次级皂苷,吸收入血并达到靶器官,发挥治疗作用。稀有次级皂苷制备、先导化合物发现和新药开发是皂苷类化合物生物转化研究的主要方向。利用微生物和肠道菌群转化技术研究皂苷的体内代谢与作用机制,也将成为该类成分生物转化研究中的热点。结合国内外近 30 年来的研究成果,对皂苷类成分的生物转化技术、转化反应类型和转化途径的研究进展进行总结,以期对皂苷类成分生物转化的深入研究和开发利用提供科学依据。

[关键词] 皂苷; 生物转化; 转化技术; 转化途径

[中图分类号] R284.1;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0173-20

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.20190815

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190103.1553.009.html>

[网络出版时间] 2019-01-07 10:18

Biotransformation of Natural Saponins

ZHOU Zhong-liu^{1*}, LI Chun-yan¹, CHEN Lin-hao¹, YANG Ya-lin¹, YIN Wen-qing³, LIU Bin²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

3. School of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

[Abstract] Saponin is a kind of complex compounds with triterpenoid or spiral aglycones. Natural saponins are used as substrates, and many novel compounds are obtained by biotransformation technology. Especially, converted products of saponins with strong activities provide valuable lead compounds for the research and development of new drugs. Saponins can be divided into triterpenoid saponin and steroidal saponin according to the structure of the mother nucleus. There are about 89 reported saponin components, including 56 triterpenoid saponins and 33 steroidal saponins. Biological enzyme catalysis, microbial transformation and intestinal microflora transformation are the main bioconversion technologies and key development directions of saponins. The research and optimization technology of biological enzyme and microbial transformation of saponins are the effective methods

[收稿日期] 20180808(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31670363); 广东省省级科技计划项目(2014A020221057); 岭南师范学院校级科研项目(QL1401)

[通信作者] *周中流, 博士, 副教授, 从事天然药物活性成分分离分析研究, Tel:0759-3182455, E-mail:zhou110zhong99@sohu.com

to prepare active secondary saponins. The biotransformation reaction of saponins mainly includes hydrolysis, redox and rearrangement, resulting in the formation of aglycones, secondary glycosides and their derivatives. The hydrolysis of saponin sugar chains was the main biological transformation pathway, and could generate a number of secondary saponins with less glycosyl groups. The secondary saponins could be absorbed into blood and become real active ingredients in body. Preparation of rare secondary saponins, discovery of lead compounds and development of new drugs are the main directions of biotransformation of saponins. The studies on the metabolism and mechanism of natural saponins by microbial and intestinal microbial biotransformation will also become hotspots. According to relevant papers at home and abroad, the researches on transformation technique, transformation approach and transformation reaction of saponins from natural products in the past thirty years were summarized, and the prospects of research and development were also analyzed to provide scientific basis for further study and comprehensive utilization of these conversion products.

[Key words] saponins; biotransformation; transformation technique; transformation approach

皂苷是苷元为三萜或甾烷类化合物的一类糖苷,主要分布于陆地高等植物中,也有少量存在于海星和海参等海洋生物中。皂苷具有抗肿瘤、抗菌、解热、镇静、抗抑郁等生物活性。皂苷类化合物作为底物,添加至处于生长状态的动物肠道菌群、微生物和酶体系中培养,从而产生结构转化,获得系列结构新颖、活性优良以及毒副作用小的皂苷转化产物,是先导化合物和新药发现的重要来源^[1-3]。大多数天然存在的含有多个糖基的皂苷类化合物主要是通过肠道菌群、微生物和酶代谢转化发生水解、氧化还原和重排等反应,最终生成苷元、次级糖苷或其衍生物。皂苷的生物酶和微生物转化工艺的研究与优化,是目前规模化制备活性次级皂苷的主要途径。近年来开展的微生物和酶对人参皂苷、三七皂苷、薯蓣皂苷、知母皂苷等进行结构转化的研究已取得可喜的进展。部分生物转化工艺还实现了工业化生产,为制药企业创造了巨大的经济效益^[4]。

皂苷类化合物的生物转化方法包括酶催化、微生物和肠道菌群转化,其中微生物法缺点是微生物的来源不容易获得,而酶解法具有选择性强,条件温和,操作简单等优点。微生物或酶对皂苷生物转化反应类型主要包括糖基水解反应、氧化还原反应、乙酰化反应、重排反应等。其中以氧化、糖基的水解反应在生物转化中应用最为广泛。目前利用微生物或酶对皂苷的生物转化研究大多集中在皂苷糖基的水解,仍然是该类成分生物转化研究的热点。例如,在三萜皂苷生物转化研究中,含低糖链的次级皂苷及其苷元的药效更为珍贵,在某些难治性疾病如肿瘤和神经衰弱治疗方面显示独特的疗效^[1-3]。次级皂苷及其衍生物可以通过含多糖基的皂苷在体外水解脱糖而获得,常见的方法有化学水解法、微生物和生

物酶解法等。将体外生物转化制备次级皂苷及其衍生物的思路引入到中药及天然药物先导化合物的发现研究,该思路与传统中药材炮制加工所采用的陈化技术、发酵技术等原理一致,最终达到药物增效的目的。系统查阅 SpringerLink, PubMed, Web of Science 等英文数据库以及 CNKI 学术文献总库,发现 1987 年至 2018 年共有 89 个天然来源皂苷单体进行了生物转化研究。其中,三萜皂苷 56 个,甾体皂苷 33 个。本文结合国内外近 30 年研究成果,从天然产物皂苷类化合物的生物转化技术、转化反应类型和转化途径等方面综述其研究进展,为皂苷类化合物的生物转化研究提供思路和参考。

1 三萜皂苷

目前为止,文献共报道了 56 个三萜皂苷单体的生物转化研究,从转化技术、转化反应类型及其转化途径等方面进行了详细研究。此外,文献还报道了 8 个三萜皂苷单体(黄芪皂苷 IV,桔梗皂苷 D,海参素 A,海参素 A₂,地榆皂苷 I,通关藤苷 H,通关藤苷 I 和灵仙新苷 AR)和 7 种单味药提取物(白参提取物、红参提取、西洋参果总皂苷、三七提取物、三七茎叶皂苷、三七皂苷和罗汉果皂苷)的初步生物转化,但转化途径和转化产物并未进行系统研究。

1.1 人参皂苷 人参(*Panax ginseng*)被誉为“百草之王”,具有抗肿瘤、免疫调节、降血糖血脂、保护心脑血管系统等药理作用^[5]。人参皂苷是人参中的主要活性成分,现已分离并能确定结构的人参皂苷有 50 多种,其化学结构类型主要包括原人参二醇型皂苷、原人参三醇型皂苷和齐墩果烷型皂苷。目前药代动力学研究发现天然存在的人参皂苷(多为 4 个糖基以上皂苷)口服给药后并没有直接的药理

活性,经过胃肠道菌群代谢后,真正进入机体起作用的是其代谢产物次级皂苷。这些体内起药效的次级皂苷一般只含有 0~2 个糖基,大多是自然界中不存在的稀有次级皂苷,属于低糖链皂苷。研究表明,它们比代谢前的原药更容易吸收,进入血液循环,达到靶器官,表现出更为显著的药理作用。近年来,人参皂苷生物转化成为研究界的热点。

规模化制备人参次级皂苷的生物转化技术主要有两种,一是采用 β -葡萄糖苷酶、淀粉酶、蜗牛酶等酶类催化皂苷发生脱糖基化反应,生成系列人参次级皂苷;二是利用菌株直接发酵人参皂苷进行生物转化。酶水解工艺具有高度的底物选择性,不同种类的酶作用于不同种类糖的糖苷键,发生去糖基化反应,生成相应的次级皂苷。与传统的酸碱水解法相比,酶解转化工艺具有反应温和、催化效率高、绿色环保等优点,更容易实现工业化生产。彭婕等^[6]以原人参二醇(PPD)型皂苷 5.0 g 作为人参皂苷酶 1 型的反应底物,与等体积的酶液混合,放入 45 °C 的摇床中反应。采用高效液相色谱法(HPLC)分析,PPD 酶解产物主要含有 10 个次级皂苷人参皂苷 F₂(F₂),人参皂苷 C-O(C-O),人参皂苷 C-Y(C-Y),人参皂苷 C-Mc₁(C-Mc₁),人参皂苷 C-Mc(C-Mc),人参皂苷 C-K(C-K),人参皂苷 20(S)-Rh₂[20(S)-Rh₂],人参皂苷 20(R)-Rh₂[20(R)-Rh₂],人参皂苷 Rk₂(Rk₂)和人参皂苷 Rh₃(Rh₃),最高质量分数分别为 32.50%~35.37%(1.5~2.0 h),2.62%(1.5 h),4.09%(30.0 h),7.86%(2.0 h),57.25%(30.0 h),1.42%(1.5 h),2.70%(36.0 h),14.10%(36.0 h)和 12.90%(36.0 h)。在此基础上,作者利用廉价的 *Aspergillus* g. 848 菌人参皂苷酶 1 型粗酶液与市售的 PPD 混合皂苷反应,低成本制备高活性人参次级皂苷 C-K, Rh₂, C-Mc 和 F₂。将 PPD 皂苷溶液 30.0 g 与 1 型等体积混合,置 45 °C 反应釜中搅拌反应 30.0 h,采用 AB-8, D-280,硅胶柱色谱分离纯化,得到 C-K 8.16 g, Rh₂ 0.19 g, C-Mc 1.01 g 和 F₂ 0.45 g,酶反应产物得率依次为 40.8%,0.95%,5.05%,2.25%。CUI 等^[7]研究 β -葡萄糖苷酶(来源于桔梗内生菌 *Luteibacter* sp.)对人参总皂苷中人参皂苷 Rb₁(Rb₁),人参皂苷 Rb₂(Rb₂),人参皂苷 Rd(Rd),人参皂苷 Rc(Rc),人参皂苷 Rg₁(Rg₁)的酶解转化,将人参总皂苷, β -葡萄糖苷酶加入到 Lysogeny Liquid 培养基(0.5 g·L⁻¹ NH₄Cl,1.0 g·L⁻¹ K₂HPO₄,0.5 g·L⁻¹ KH₂PO₄,0.25 g·L⁻¹ MgSO₄,1.0 g·L⁻¹ 酵母提取物)中,于振

摇培养箱中培养(pH 7.0,30 °C,150 r·min⁻¹)。采用薄层色谱法(TLC)和 HPLC 检测分析,Rb₁,Rb₂,Rd,Rc 均可转化为次级皂苷 F₂ 和 C-K,Rg₁ 可转化为 Rh₁。其中,人参皂苷 F₂ 最大产量达到 94.53%(9 h),C-K 的最大产量达到 66.34%(7 d)。上述研究结果表明,酶解转化技术制备人参次级皂苷,特别是稀有的人参皂苷 Rh₁ 和 Rg₂,已成为一种有效的途径。微生物转化是利用微生物细胞所分泌的酶将 1 种或多种人参皂苷转化成系列次级皂苷的过程,其本质是酶与皂苷的酶促反应。微生物便于培养和观察,并且会分泌丰富的酶系,微生物转化工艺用于规模化制备人参次级皂苷成为该领域的研究热点。WANG 等^[8]研究冬草夏草(*Cordyceps sinensis*)菌株转化人参皂苷 Rb₁,最佳生物转化条件,培养基的组成为 20 g·L⁻¹ 乳糖,10 g·L⁻¹ 大豆粉,1 mmol·L⁻¹ MgSO₄,于 30 °C,150 r·min⁻¹ 摇床中培养。采用 TLC 和高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术(HPLC-Q-TOF-MS)检测分析,Rb₁ 可转化为 Rd,F₂,绞股蓝皂苷 Gyp-XVII(Gyp-XVII),绞股蓝皂苷 LXXV(Gyp-LXXV),C-K。其中,C-K 最大产量为 82%,纯度高达 91%。ZANG 等^[9]研究采用磁性固定化菌株转化 Rb₁,将 *A. niger* 3.3883 和 *A. oryzae* 3.591 菌株的混合孢子液与 7% 海藻酸钠混匀,再加入四氧化三铁颗粒制备磁性固定化菌株和三七药材粉末 2.0 g,于振摇培养箱中培养(温度 30 °C,转速 120 r·min⁻¹),Rb₁ 可转化为 Rd 和 Rg₃。采用星点设计响应面法优化转化工艺,最佳生物转化条件为料液比 1:25,pH 6.5,32 °C 培养 48 h,可得到 41.40 mg·g⁻¹ Rd 和 6.29 mg·g⁻¹ Rg₃,较优化前分别增加了 6.81% 和 3.27%。由于磁性固定化菌株不仅可以提高生物催化剂的稳定性和重复利用性,还可以使底物充分扩散到反应体系中,提高转化率、降低成本,本研究为规模化制备 Rd 和 Rg₃ 提供实验依据。

人参皂苷生物转化的产物主要是含糖数目较少的次级皂苷,反应类型大多是去糖基化和水解反应。如 Rb₁ 糖链的去糖基化反应和苷元脱水反应在肠道菌群和微生物转化中均有发生,而其酶解转化仅发生去糖基化反应。Rb₁ 3 种转化方法具有 3 条相同的转化途径,Rb₁→Rd→F₂→C-K→PPD,Rb₁→Rd→人参皂苷 Rg₃(Rg₃)→人参皂苷 Rg₅(Rg₅)和 Rb₁→Rd→Rg₃→人参皂苷 Rk₁(Rk₁)。Rb₁ 在肠道菌群转化下,主要包含 6 条途径,Rb₁→Rd→F₂→C-K→PPD,Rb₁→Gyp-XVII→Gyp-LXXV→C-K,Rb₁→

Gyp-XVII → F₂ → C-K, Rb₁ → Rg₃ → Rh₂ → PPD, Rb₁ → Rd → Rg₃ → Rg₅ 和 Rb₁ → Rd → Rg₃ → Rk₁。Rb₁ 在人或老鼠肠道菌群中,主要发生去糖基化和脱水反应, Rb₁ 的 C₃ 和 C₂₀ 位糖链分别从链末端发生去糖基化反应,生成含 2 个糖基的次级皂苷 F₂, Rg₃ 和 Gyp-LXXV, 一个糖基的次级皂苷 C-K, Rh₂ 和苷元, Rg₃ 再经脱水可以得到 Rg₅ 或 Rk₁。Rb₁ 直接与粪便悬浮液共孵育,转化途径仅包含前 3 条。而青年志愿者服用 Rb₁,再收集粪便检测,Rb₁ 则按照上述 6 条路径进行降解^[10-11]。这 2 种方法所得转化途径的差异性,其可能原因是口服 Rb₁ 在人胃液中还发生了其他代谢转化。在 β-葡萄糖苷酶催化作用下, Rb₁ 主要发生糖链的降解,其 C₃, C₂₀ 位糖基逐渐从糖链的末端脱去,得到一系列次级皂苷,其转化途径主要有 4 条, Rb₁ → Rd → F₂ → C-K → PPD, Rb₁ → Gyp-XVII → Gyp-LXXV → C-K, Rb₁ → Gyp-XVII → F₂ → C-K 和 Rb₁ → Rg₃ → Rh₂ → PPD。AN 等^[12] 发现, Rb₁ 在

从菌株 *Terrabacter ginsenosidimitans* 中获取的 β-葡萄糖苷酶催化下,转化途径为 Rb₁ → Gyp-XVII → Gyp-LXXV → C-K。QUAN 等^[13] 利用从菌株 *Microbacterium esteraromaticum* 中提取的 β-葡萄糖苷酶转化 Rb₁,转化途径为 Rb₁ → Rd → 20(S)-Rg₃。不难看出,Rb₁ 在同一种糖苷酶催化下具有不同的转化途径,其可能原因是 β-葡萄糖苷酶来源和纯度不同,催化作用有所差异。Rb₁ 微生物转化主要发生去糖基化、氧化和脱水反应,文献报道了 7 条代谢途径, Rb₁ → Rd → F₂ → C-K → PPD, Rb₁ → Rd → Rg₃ → Rg₅, Rb₁ → Rd → Rg₃ → Rk₁, Rb₁ → Rd → Rg₃ → 12β,25-二羟基达玛-(E)-20(22)-烯-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷 → 12β,20(R),25-三羟基达玛-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷, Rb₁ → Gyp-XVII → F₂ → C-K → 3-氧代-C-K, Rb₁ → Rd → F₂ → C-K → PPD → 3-氧代-PPD 和 Rb₁ → Rd → F₂ → C-K → 3-氧代-C-K → 3-氧代-PPD。见图 1。

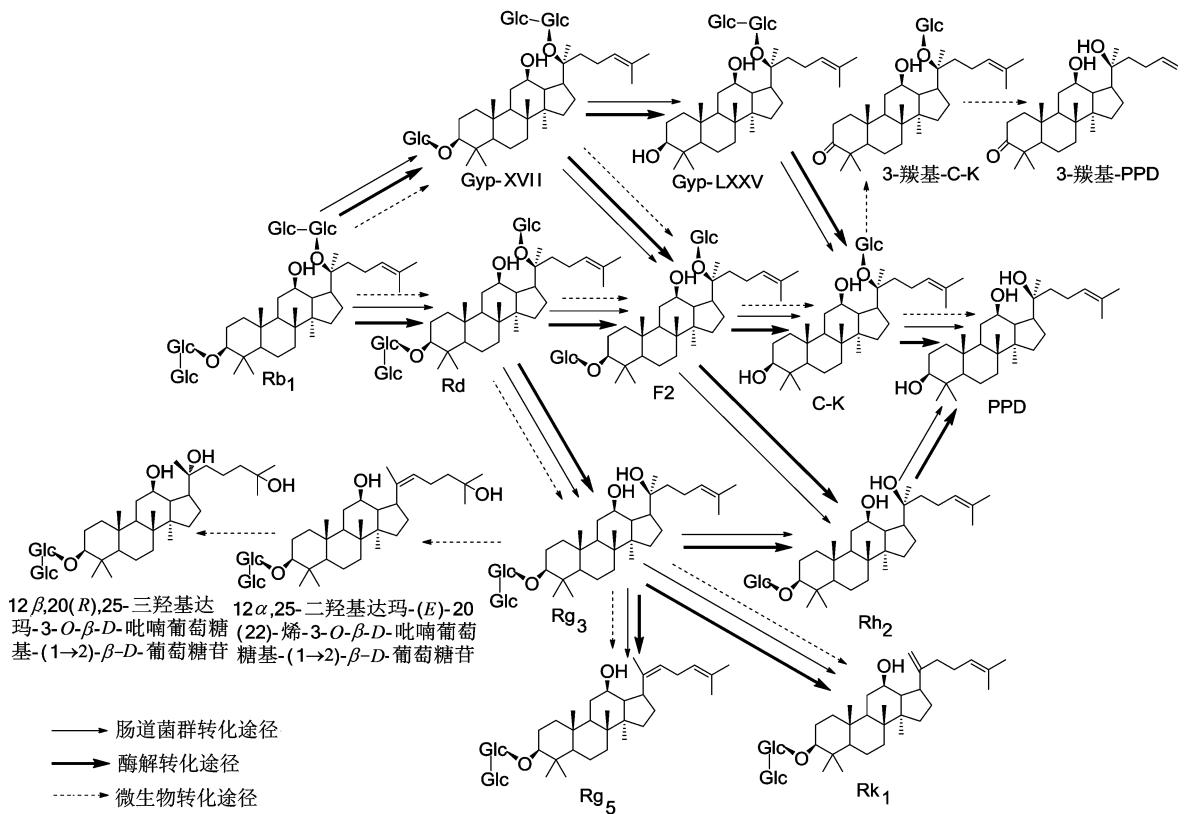


图 1 人参皂苷 Rb₁ 生物转化途径

Fig. 1 Biotransformation process of ginsenoside Rb₁

人参皂苷经生物转化,获得系列次级皂苷,往往具有更强的药理活性。如人参皂苷 C-K, Rg₂, Rh₁ 和皂苷元原人参三醇(PPT)的生物活性比其对应的

未去掉糖基的 Rb₁, Re, Rg₁ 等具有更好的生物活性。稀有皂苷(如 Rh₁, Rh₂, Rg₃, Rb₃ 等)药效更为珍贵,在某些难治性疾病如肿瘤和神经衰弱治

疗方面显示独特的疗效。人参皂苷抗肿瘤的构效关系研究表明,其抗肿瘤活性与皂苷糖链结构的关系为苷元 > 单糖苷 > 二糖苷 > 三糖苷 > 四糖苷,人参皂苷的抗癌作用可能与糖链的长短以及糖链的位置有着密切关系,苷元 C₃ 位羟基以及 C₇, C₂₆ 位羟基对抗癌药理作用具有重要的选择性。JIN 等^[14]采用 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)法检测 Rb₁ 的代谢产物对肺癌细胞 A549 的抑制作用,其产物 C-K, PPD, 3-羰基-PPD 对该细胞具有明显的抑制活性。LI 等^[15]发现 Rb₁ 的代谢产物 C-K 表现出较强地抑制人结肠癌细胞 HT-29 增殖活性,而 Rb₁ 对其无明显作用。CHEN 等^[16]研究 PPD 及其转化产物对肿瘤细胞系的毒性作用,PPD 与其生物转化产物 26-羟基-20(S)-PPD, 7β-羟基-20(S)-PPD 和 7-羰基-20(S)-PPD 均具有抑制 DU-145 和 PC-3 癌细胞增殖的活性,且 3 个转化产物的活性均强于底物 PPD。人参皂苷 Rh₁ 和 Rg₂ 仅微量地存在于人参、三七和西洋参中,均具有抗癌转移活性,并有被开发成抗恶性肿瘤的新型化疗剂的潜力。人参皂苷的结构因糖基侧链的不同,显示出的性质和功能也有较大差异,不同的人参皂苷单体具有不同的药理活性。例如 Rb₁ 具有营养神经、保护心肌、改善记忆力、抗衰老、抗氧化、保肝等作用。Rh₁ 具有抗过敏、抗炎和抗癌转移活性。Rh₂ 具有极强的抗肿瘤活性。人参稀有皂苷 Rh₁ 和 Rg₂ 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。人参稀有皂苷具有独特和良好的药理活性,为其生物转化的制备提供了依据。

1.2 走马胎三萜皂苷 走马胎 (*Ardisia gigantifolia*) 为紫金牛科植物,用于治疗风湿关节痛,筋骨疼痛,跌打肿痛等疾病。走马胎根茎中齐墩果烷型三萜皂苷类化合物具有明确的抗肿瘤活性。九节龙皂苷 I 和西克拉明皂苷元 A 3β-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→3)-[β-D-木吡喃糖基-(1→2)]-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-[β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→2)]-α-L-阿拉伯吡喃糖苷(简称为 M1)是该药材中两个代表性的皂苷单体。

走马胎三萜皂苷 M1 的生物转化研究主要是微生物转化。转化反应类型主要包括苷元上氧化还原和糖链的去糖基化反应。MU 等^[17-18]将皂苷 M1 与菌株 *A. avenaceus* 3.4454 孵育于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基中培养,其母核上发生氧化还原反应,得到产物 22α-羟基-西克拉明皂苷元 A 3β-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→3)-[β-D-木吡喃糖基-

(1→2)]-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-[β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→2)]-α-L-阿拉伯吡喃糖苷(M2), 3β-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→3)-[β-D-木吡喃糖基-(1→2)]-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-[β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→2)]-α-L-阿拉伯吡喃糖基-13β, 28-环氧基-3β, 16α, 22α-三羟基齐墩果烷(M3)。同时,该学者还研究了菌株 *Alternaria alternata* AS 3.6872 在马铃薯汁培养基中对皂苷 M1 的转化,其 C₃ 糖链脱去内侧葡萄糖,得到次级皂苷西克拉明皂苷元 A 3β-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→3)-[β-D-木吡喃糖基-(1→2)]-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-α-L-阿拉伯吡喃糖苷(M5);皂苷 M5 的 C₂₀ 位醛基还原成醇,得到产物 3β-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→3)-[β-D-木吡喃糖基-(1→2)]-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)-α-L-阿拉伯吡喃糖基-13, 28-环氧基-3β, 16α, 30-三羟基齐墩果烷(M6)。抗肿瘤活性研究表明,转化产物 M2, M3, M5 和 M6 对肝癌细胞 Bel-7402, HepG2, SMMC-7721 表现出一定的细胞毒性,且 M2 和 M3 均比底物 M1 作用强, M6 活性强于 M5。

九节龙皂苷 I 在动物肠道菌群中转化,其糖链发生去糖基反应,生成系列次级皂苷。九节龙皂苷 I 与肠道菌群于厌氧培养基中培养,其 C₃ 糖链从未端依次脱去各个糖基,共得到 5 个次级皂苷,西克拉明皂苷元 A 3β-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→3)-α-L-阿拉伯吡喃糖苷(简称为 N1),西克拉明皂苷元 A β-D-葡萄糖吡喃糖基糖基-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→3)-α-L-阿拉伯吡喃糖苷(N2),西克拉明皂苷元 A 3-O-β-阿拉伯吡喃糖基-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(N3),西克拉明皂苷元 A 3-β-D-阿拉伯吡喃糖苷(N4)和九节龙皂苷 I 苷元(N5)^[19-20]。其转化途径总结为九节龙皂苷 I → N1 → N3 → N4 → N5, 九节龙皂苷 I → N1 → N3 → N5 和九节龙皂苷 I → N2 → N5。次级皂苷 N1, N3 和 N5 是九节龙皂苷 I 在人肠道菌群与大鼠肠道菌群中共有的降解产物。文献还报道了九节龙皂苷 I 在人和大鼠肠道菌群中转化,脱去糖基种类和数量有明显的差异。在大鼠肠菌群转化下,九节龙皂苷 I 可特异性水解鼠李糖基,生成次级皂苷 N2。而在人肠道菌群中,九节龙皂苷 I 可特异性脱去 1 个鼠李糖和 2 个葡萄糖基,得到次级皂苷 N4。采用 MTT 法检测九节龙皂苷 I 及其代谢产物对肝癌和乳腺癌细胞生长的影响,结果显示九节龙皂苷 I, N1 和 N2 均有抑制肝癌 SMMC-7721 和乳腺癌 MCF-7 细胞生长活性,且 N1 对肝癌 SMMC-7721 细胞生长的抑制活性

和 N2 对乳腺癌 MCF-7 细胞生长的抑制活性分别强于底物九节龙皂苷 I, 这为九节龙皂苷 I 作为底物

经生物转化制备次级皂苷 N1, N2 提供了依据。见图 2。

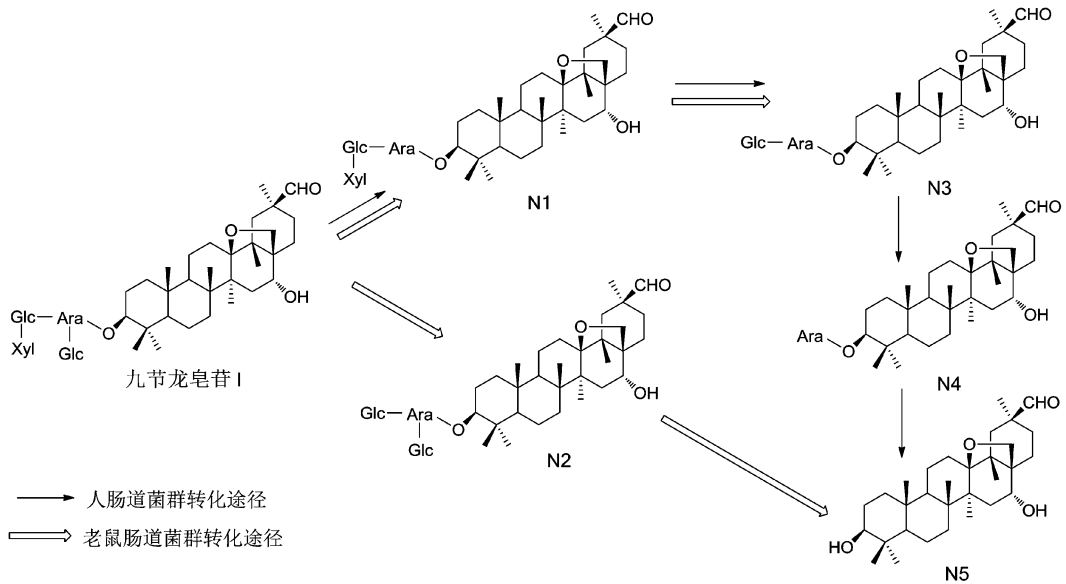


图 2 九节龙皂苷 I 转化途径

Fig. 2 Biotransformation process of ardisiposilioside I

1.3 白头翁皂苷 白头翁 (*Pulsatilla chinensis*) 为毛茛科银莲花属多年生草本植物。现代药理学研究表明,白头翁具有抗肿瘤、提高免疫力、抗炎、杀虫、抑菌等活性,具有良好的新药开发前景^[21]。其有效成分为白头翁三萜皂苷。文献报道了白头翁皂苷 H 和白头翁皂苷 B₄(Q1)的生物转化研究^[22-23]。

白头翁皂苷 H 经微生物转化,主要发生去糖基化反应,生成含糖较少的次级皂苷,其转化途径见图 3。代蕊等^[22]从菌株 *Absidia* sp. P39r 发酵液中分离得到一种白头翁皂苷水解酶(相对分子质量为 40 Da),并用其水解白头翁皂苷 H(简称 P1),C₂₈位糖链脱去外侧鼠李糖基,得到白头翁皂苷 PSI(P2)。白头翁皂苷 PSI 与从菌株 *Absidia* sp. P39r 发酵液中获取的白头翁皂苷糖基水解 II 型酶(相对分子质量为 56 Da)于 40 ℃下,培养 24 h,经 TLC 检测,C₃和 C₂₈位糖链分别脱去外侧的葡萄糖基,得到白头翁皂苷 PS II(P3);白头翁皂苷 PS II 进一步水解脱去 C₂₈位糖链内侧葡萄糖基,得到白头翁皂苷 A(P4)。

Q1 与大鼠粪便中的肠道菌群置于厌氧培养基中培养,所得样品经 UPLC-Q-TOF-MS 分析,得到 10 个代谢产物,分别鉴定为白头翁皂苷 B(Q2),3- α -L-鼠李吡喃糖(1 \rightarrow 2)- α -L-阿拉伯吡喃糖春藤皂苷元-28-O-葡萄糖吡喃糖(1 \rightarrow 6)葡萄糖酯苷(Q3),白头翁皂苷 C(Q4),3- α -L-阿拉伯吡喃糖春藤皂苷元-28-

O-葡萄糖吡喃糖(1 \rightarrow 6)葡萄糖酯苷(Q5),白头翁皂苷 PSII(P3),3- α -L-阿拉伯吡喃糖春藤皂苷元-28-O-葡萄糖酯苷(Q6),23-羟基-3- α -L-阿拉伯吡喃糖白桦酸(Q7),P4,23-羟基白桦酸(Q8)和氧化产物(Q9)^[23]。Q1 在动物肠道菌群中代谢途径主要有 6 条,Q1 \rightarrow Q2 \rightarrow Q4 \rightarrow Q8,Q1 \rightarrow Q2 \rightarrow Q5 \rightarrow Q6 \rightarrow Q7 \rightarrow Q8,Q1 \rightarrow Q3 \rightarrow Q5 \rightarrow Q6 \rightarrow Q7 \rightarrow Q8,Q1 \rightarrow Q9,Q1 \rightarrow Q3 \rightarrow P3 \rightarrow Q6 \rightarrow Q7 \rightarrow Q8,Q1 \rightarrow Q3 \rightarrow P3 \rightarrow P4 \rightarrow Q7 \rightarrow Q8,见图 3。抗肿瘤药理实验表明,白头翁皂苷 PSII 对肝癌细胞 SMMC-7721 有较强的抑制活性,其半抑制浓度(IC₅₀)为(0.019 \pm 0.0023)mmol \cdot L⁻¹,且强于阳性药 5-氟尿嘧啶。

1.4 细梗香草皂苷 细梗香草 (*Lysimachia capillipes*) 为报春花科珍珠菜属的植物,民间用于治疗感冒咳嗽、神经衰弱、风湿痹痛等。三萜皂苷和黄酮是细梗香草的主要化学成分,其中细梗香草皂苷 B,细梗香草皂苷 C 等三萜皂苷类成分是该药材中指标性成分。体外药理学实验证明,细梗香草皂苷 B 和细梗香草皂苷 C 对多种肿瘤细胞具有显著的细胞毒作用,具有很好的开发和利用价值^[24]。

CHENG 等^[25]将细梗香草皂苷 C 与大鼠肠道菌群于厌氧培养基中培养,经去糖基化和酯基水解反应,代谢产物主要含有 6 个次级皂苷,其代谢途径见图 4。细梗香草皂苷 C(R0)的 C₃位糖链分别脱去

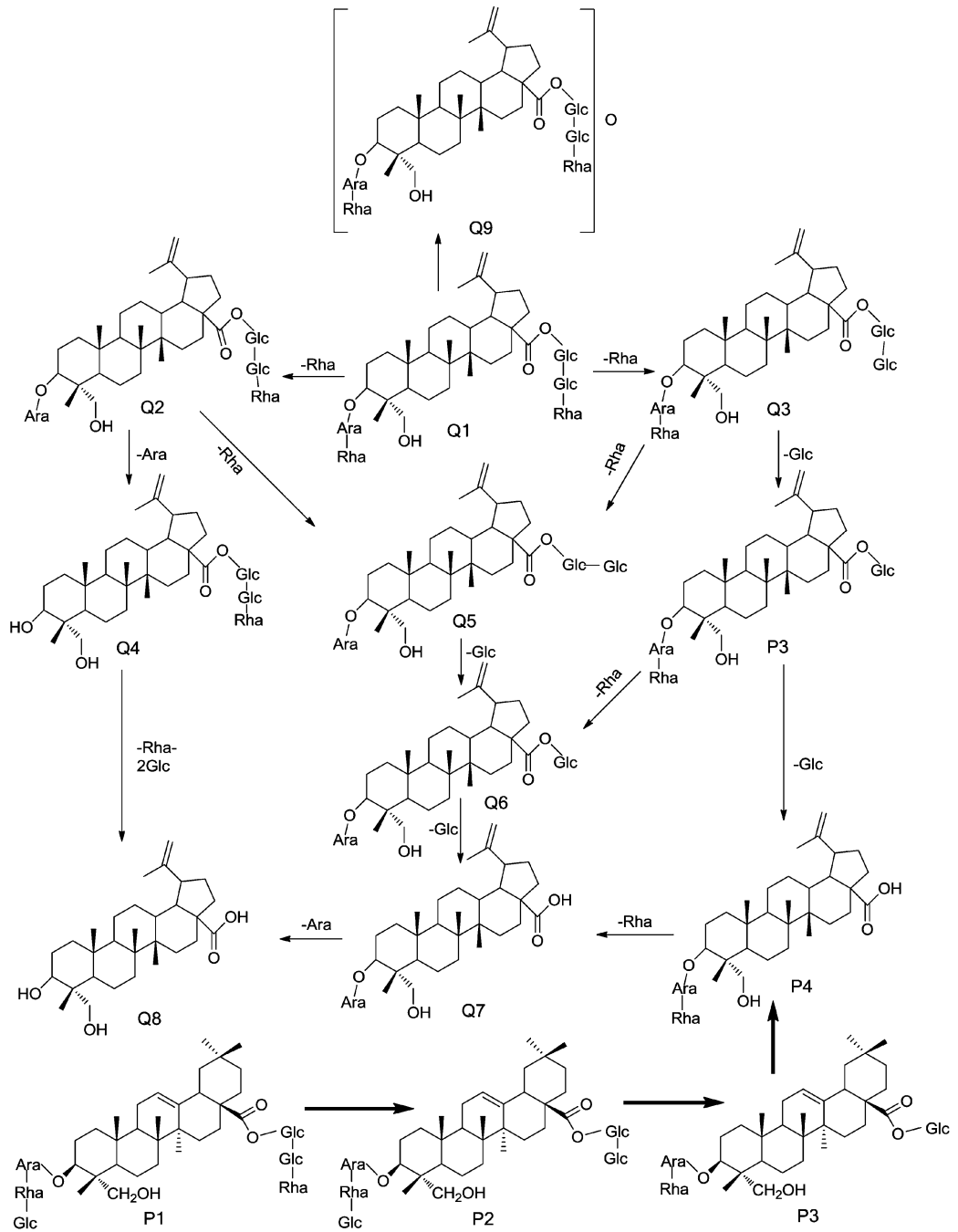


图 3 白头翁皂苷转化途径

Fig. 3 Biotransformation process of pulchinenoside

外侧的木糖基及内侧的葡萄糖基, 得到 $3\beta, 16\alpha, 28\alpha$ -三羟基- 22α -异戊酰氧基-13, 28-环氧-齐墩果烷 α -L-葡萄糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 3)-[β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 2)]- β -D-木吡喃糖苷 (R1), $3\beta, 16\alpha, 28\alpha$ -三羟基- 22α -异戊酰氧基-13, 28-环氧-齐墩果烷 α -L-鼠李吡喃糖基-(1 \rightarrow 3)-[β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 2)]- β -D-木吡喃糖苷 (R2) 和 $3\beta, 16\alpha, 28\alpha$ -三羟基- 22α -异戊酰氧基-13, 28-环氧-齐墩果烷 α -L-葡萄糖吡喃糖基-

β -D-木吡喃糖苷 (R3)。细梗香草皂苷 C 的 C_{22} 位酯键水解脱去异戊酰基, 生成细梗香草皂苷 A (R4)。细梗香草皂苷 A 的 3 位糖链脱去内侧的葡萄糖基及外侧的木糖基, 依次得到 $3\beta, 16\alpha, 28\alpha$ -三羟基- 22α -羟基-13, 28-环氧-齐墩果烷 α -L-葡萄糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 3)-[β -D-葡萄糖吡喃糖基-(1 \rightarrow 2)]- β -D-木吡喃糖苷 (R5) 和 $3\beta, 16\alpha, 28\alpha$ -三羟基- 22α -异戊酰氧基-13, 28-环氧-齐墩果烷 α -L-葡萄糖吡喃糖基-

喃糖苷(R6)。综合以上分析,细梗香草皂苷 C 在动物肠菌群的代谢途径为, R0→R1→R3, R0→R2→R3, R0→R3, R0→R4→R5→R6, R0→R5→R6 和 R0→R6, 见图 4。采用 MTT 法检测细梗香草皂苷 C 的代谢产物对肿瘤细胞 HepG2, PC-3 和 A549 生长影响, 结果显示其代谢产物均具有良好的抗肿瘤

活性, 且作用强于底物细梗香草皂苷 C。同时, 研究还发现细梗香草皂苷 A 抑制肿瘤细胞生长的 IC₅₀ 为 (0.016 ± 0.001 4) mmol·L⁻¹, 其活性优于阳性对照药 5-氟尿嘧啶。

其他三萜皂苷的生物转化方法、途径和产物, 见表 1~3^[6, 16, 9-10, 12-14, 21-22, 26-80]。

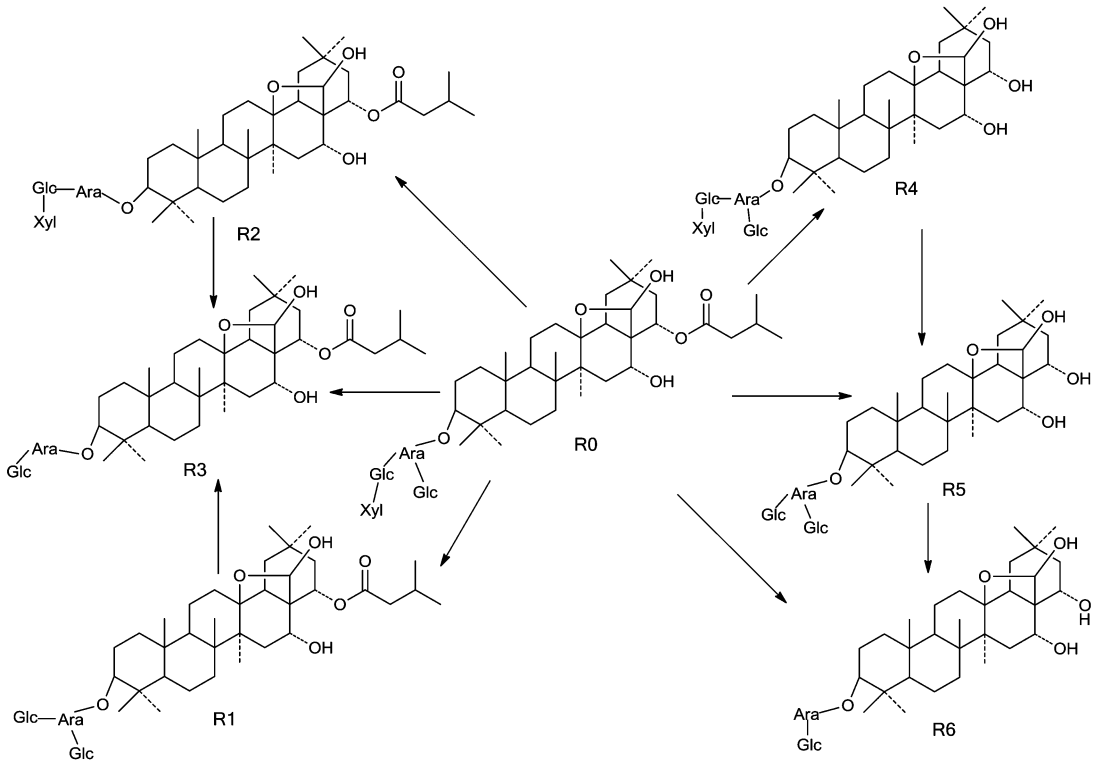


图 4 细梗香草皂苷 C 的转化途径

Fig. 4 Biotransformation process of capilliposide C

2 甾体皂苷

甾体皂苷广泛存在于薯蓣科、百合科、蔷薇科等植物中, 目前为止文献共报道了 33 个甾体皂苷单体的生物转化。主要研究对象为薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、盾叶新苷、三角叶薯蓣皂苷、延龄草苷、知母皂苷等。此外, 17 个甾体皂苷 (例如 glycoside F, parvifloside, dichotomin, tribuluside A, terrestrinin D 和 polianthoside D 等) 仅停留在研究其生物转化产物, 并未对其转化途径进行深入分析。葫芦巴、穿龙薯蓣、剑麻等药材提取物的生物转化仍然需要系统研究。

2.1 薯蓣皂苷 盾叶薯蓣 (*Dioscorea zingiberensis*) 为薯蓣科薯蓣属植物, 具有抗肿瘤、抗血小板聚集、降血脂、抗心肌缺血、抗炎等生物活性。薯蓣中有效成分主要为甾体皂苷类化合物, 包括盾叶

新苷、三角叶薯蓣皂苷、纤细薯蓣皂苷和薯蓣皂苷等^[81]。

将皂苷类化合物生物转化结果与其体内代谢产物进行比对, 模拟天然产物活性成分在动物体内的代谢, 是阐明药物代谢产物和代谢途径的有效方法。薯蓣皂苷 (简称 T0) 在大鼠肠道菌群的转化下^[82], 主要发生去糖基化和氧化反应。薯蓣皂苷的 C₃ 位糖链依次脱去两个鼠李糖基和一个葡萄糖基, 分别得到薯蓣皂苷 A (T1), 延龄草苷 (T2) 和薯蓣皂苷元 (T3)。薯蓣皂苷元经结合反应, 生成葡萄糖醛酸配糖体 (T4)。薯蓣皂苷 (T0) 和薯蓣皂苷 A (T1) 分别发生氧化反应, 依次得到两个氧化产物 T5 和 T6。薯蓣皂苷 (T0) 转化途径, T0→T1→T6, T0→T1→T2→T3→T4, T0→T2→T3→T4, T0→T3→T4 和 T0→T5→T6。见图 5。

表 1 三萜皂苷的酶解转化

Table 1 Transform of triterpene saponins by enzymatic hydrolysis

转化底物	酶种类及其来源	转化途径或转化产物	参考文献
Rb ₁	β -葡萄糖苷酶 (<i>Weissella hellenica</i>)	Rb ₁ →Rd→F ₂ →C-K	[26]
Rb ₁	β -葡萄糖苷酶 (<i>Terrabacter ginsenosidimutans</i>)	Rb ₁ →Gyp-XVII→Gyp-LXXV→C-K	[12]
Rb ₁	糖苷酶 (<i>Leuconostoc mesenteroides</i>)	Rb ₁ →Rd 或 Gyp-XVII→F ₂ →C-K	[27]
Rb ₁	β -葡萄糖苷酶 (<i>Intrasporangium</i> sp. GS603)	Gyp-XVII, F ₂	[28]
Rb ₁	水解糖苷酶 (<i>Lactobacillus paralimentarius</i>)	Rb ₁ →Gyp-XVII, Rd→F ₂ →C-K	[29]
Rb ₁ , Rb ₂	β -葡萄糖苷酶 (<i>Microbacterium esteraromaticum</i>)	Rb ₁ →Rd→C-K, Rb ₁ →Rd→20(S)-Rg ₃ , Rb ₂ →C-Y→C-K	[13]
Rb ₂	人参皂苷酶 I 型	Rb ₂ →C-O→C-Y→C-K	[30]
Rb ₃	人参皂苷酶 I 型	Rb ₃ →C-Mx ₁ →C-Mx→C-K, Rb ₃ →Rd→F ₂ →C-K	[30]
Rc	人参皂苷酶 I 型	Rc→C-Mc ₁ →C-Mc→C-K	[30]
Rc	人参皂苷酶 III 型	Rc→C-Mc ₁ →C-Mc	[31]
Rc	α -L-阿拉伯糖苷酶	Rd	[32]
Rd	人参皂苷酶 I 型	Rd→F ₂ →C-K	[30]
Rd	β -糖苷酶 BX10	Rd→20(S)-Rg ₃	[32]
F ₂	人参皂苷酶 I 型	F ₂ →C-K	[30]
20(S)-Rg ₃	人参皂苷酶 I 型	20(S)-Rg ₃ →20(S)-Rh ₂ →PPD	[30]
Rg ₃	β -葡萄糖苷酶	Rg ₃ →Rh ₂ →PPD	[33]
越南人参皂苷 R7	糖苷水解酶 (<i>Herpetosiphon aurantiacus</i>)	三七皂苷 ST4	[34]
Rb ₁ , Rc	人参皂苷糖苷酶	Rb ₁ →Rd, Rc→Rg ₃	[35]
Rb ₂ , Rc	α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶, α -L-阿拉伯吡喃糖苷酶 (<i>Bifidobacterium longum</i> RD47)	Rd	[36]
Rb ₁ , Rb ₂ , Rc	重组嗜热 β -葡萄糖苷酶	Rb ₁ 或 Rb ₂ 或 Rc→Rd→C-K, Rc→C-Mc→C-K	[37]
原人参二醇类皂苷 (Rb ₁ , Rg ₃ , Rb ₂ , Rk ₁ , Rg ₅)	人参皂苷酶 I 型粗酶 (<i>Aspergillus</i> g. 848)	Rb ₁ →Rd→F ₂ →C-K, Rg ₃ →Rh ₂ →PPD, Rd→F ₂ →C-K, Rb ₂ →C-O→C-Y→C-K, Rc→C-Mc ₁ →C-Mc→C-K, Rk ₁ →Rk ₂ →20(21)-氧代-PPD, Rg ₅ →Rh ₃ →20(22)-氧代-PPD	[6]
Gyp-XVII	β -葡萄糖苷酶 (<i>L. brevis</i>)	Gyp-XVII→Gyp-LXXV→C-K	[38]
Gyp-XLIX	糖苷酶 Fpendo5A	长梗 Gyp-I	[39]
Re, Rg ₁	β -葡萄糖苷酶 (<i>Thermotoga thermarum</i> DSM 5069T)	Re→Rg ₂ , Rg ₁ →Rh ₁	[40]
Rf ₁	β -葡萄糖苷酶 (<i>A. niger</i>)	Rh ₁	[41]
白头翁皂苷 H	白头翁皂苷水解酶	白头翁皂苷 PSI, 白头翁皂苷 PSII, 白头翁皂苷 A	[22]
商陆皂苷 A	蜗牛酶	商陆皂苷 B	[42]
去芹菜糖桔梗皂苷 E	蜗牛酶	去芹菜糖桔梗皂苷 E→去芹菜糖桔梗皂苷 D ₃ →去芹菜糖桔梗皂苷 D	[21]
桔梗皂苷 E	蜗牛酶	桔梗皂苷 E→桔梗皂苷 D ₃ →桔梗皂苷 D	[43]
甘草皂苷	甘草皂苷水解酶 (米曲霉 39)	甘草皂苷元	[44]
甘草皂苷	甘草皂苷水解酶 (黑曲霉 UV-48)	甘草皂苷→单葡萄糖醛基甘草皂苷元→甘草皂苷元	[45]
大豆皂苷	酶 (<i>A. terreus</i>)	大豆甾醇 B	[32]

表 2 三萜皂苷的肠道菌群转化

Table 2 Transform of triterpene saponins by intestinal microflora hydrolysis

转化底物	菌群类别	转化途径或转化产物	参考文献
Rb ₁	人肠道菌群	Rb ₁ →Gyp-XVII→Gyp-LXXV→C-K, Rb ₁ →Gyp-XVII→F ₂ →C-K	[10]
Rb ₁	大鼠肠道菌群	Rd→F ₂ 或 Rg ₃ →Rh ₂ →PPD	[46]
Rb ₁	大鼠肠道菌群	Rb ₁ →Rd→C-K	[47]
Rb ₂	大鼠肠道菌群	Rb ₂ →C-M6→C-Y, Rb ₂ →C-M6→C-Y 或 F ₂ →C-K	[48]
Re, Rb ₃ , Rc, Rb ₂ , Rb ₁	人肠道菌群	Rb ₁ →Rd→F ₂ →C-K, Rb ₁ →Gyp-XVII→C-K, Rc 或 Rb ₂ →C-O→C-Y→C-K, Re→Rg ₂ →Rh ₁ 或 Rg ₆ 或 F ₄ , Rb ₃ →Rd→Rg ₃ →Rh ₂ 或 Rk ₁ 或 Rg ₅ , Re→Rg ₁ , Re→Rg ₂ →20(R)- Rg ₂ →20(R)-Rh ₁	[49]
三七皂苷 Fc	大鼠肠道菌群	Fc→Rb ₃ →Gyp-IX→Gyp-X III→CK, Fc→Rb ₃ →Rd, Fc→R ₇ →Rd, Fc→R ₇ →ST4→Rg ₃ →Rh ₂	[50]
Gyp-LVI	大鼠口服, 注射	20(S)-Gyp-LVI, Gyp-XLVI, Gyp-L, damulin B, damulin A, 2α-OH-20(S) Rh ₂ 或 2α-OH- 20(S) C-K, Gyp-LI, 2α-OH-20(R) Rh ₂ 或 2α-OH-20(R) C-K	[51]
Re	大鼠肠道菌群	Re→F ₁ /Rg ₂ →PPT→脱氢 PPT	[46]
Re	大鼠肠道菌群	Re→Rg ₂ →PPT, Re→Rg ₁ →Rh ₁ →PPT, Re→Rh ₁	[52]
Ro	大鼠肠道菌群	姜状三七皂 R ₁ , 竹节人参皂苷 Iva, 葡萄糖齐墩果酸, 罗盘草皂 F, asteryunnanoside F, vitalboside A, 齐墩果酸, 齐墩果酸-28-O-葡萄糖吡喃糖酯, acutoside A, 齐墩果酮酸, morolic acid, 3, 28-二羟基-12-齐墩果酸-11-酮, 15-羟基-3-酮-12-齐墩果烯-28-甲酸, 15-羟基-12- 齐墩果烯-28-甲酸	[53]
三七皂苷 R ₁	大鼠肠道菌群	三七皂苷 R ₁ →Rg ₁ →Rh ₁ 或 F ₁ →PPT→脱氢 PPT	[46]
PPT	小鼠肠道菌群	12-羰基-17-脱-2-甲基-2-庚烯-6-醇-PPT 酸, 12-羰基-15-羟基-17-脱-2-甲基-2-庚烯-6- 醇-PPT 酸, 12-羰基-17-脱-2-甲基-2-庚烯-6-醇-PPT 氨基乙磺酸	[54]
柴胡皂苷 A	人工胃液	柴胡皂苷 b ₁ , 柴胡皂苷 g	[55]
柴胡皂苷 A	大鼠肠道菌群	柴胡次皂苷 F, 柴胡皂苷元 F	[55]
七叶树皂 苷-Ia	人肠道菌	七叶树皂苷-Ia, 异七叶树皂苷-Ia, 去酰基七叶树皂苷-Ia, 21β-O-巴豆酰基原七叶树皂 苷元, 原七叶树皂苷元	[56]
银莲花素 A	大鼠肝匀浆	3-O-[β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→2)-α-L-阿拉伯吡喃糖] 齐墩果酸、齐墩果酸	[57]
毛冬青皂 苷 A ₁	大鼠肠内菌	毛冬青皂苷 A	[58]

CHEN 等^[83]采用干酪乳酸菌 (*Lactobacillus* 83) 转化薯蓣皂苷制备薯蓣皂苷元。采用响应面法优化转化工艺, 最佳生物转化条件为, 接入 3% 活化菌株, 42 °C 培养 27 h, 薯蓣皂苷元转化率为 (32.8 ± 0.9)%。本研究为规模化制备薯蓣皂苷元提供了清洁的生产方式。DONG 等^[84]研究薯蓣皂苷元在菌株 *Cunninghamella echinulata* CGMCC 3. 2716 中转化, 得到 5 个氧化代谢产物, 结构鉴定为 (25R)-螺甾-5-烯-3β, 7β, 11β-三醇 (T7), (25R)-螺甾-5-烯-3β, 7β-二醇-11-酮 (T8), (25R)-螺甾-5-烯-3β, 7β-二醇 (T9), (25R)-螺甾-5-烯-3β, 7β, 12β-三醇 (T10) 和 (25R)-螺甾-5-烯-3β, 7β, 11α-三醇 (T11), 其转化途径概括为 T3→T7→T8, T3→T9→T10 和 T3→T9→T11。采用 XTT {反-4-[(2-氨基-3, 5-二溴苄基) 氨基]-环己醇盐酸盐} 比色法检测薯蓣皂苷元及其氧

化产物对人胶质瘤细胞株 U87 生长影响, 结果发现薯蓣皂苷元对肿瘤细胞具有较好地抑制活性, 而其氧化产物对肿瘤细胞无明显作用。见图 5。

2.2 伪原薯蓣皂苷 黄山药 (*D. panthaica*) 或穿龙薯蓣 (*D. nipponica*) 根茎提取物富含甾体总皂苷, 具有预防和治疗冠心病和心绞痛等心血管疾病^[85]。伪原薯蓣皂苷 (简称 W0) 为其中代表性成分。

DONG 等^[86]研究伪原薯蓣皂苷在菌株 *Chaetomium olivaceum* CGMCC 3. 3604 中生物转化, 主要发生的转化反应有, (1) 水解反应, C₃ 位糖链脱去外侧鼠李糖基, C₁₆ 位酯键水解和 20, 22-位环氧醚键水解; (2) 氧化反应, 苷元 C₁₆ 位亚甲基氧化和 Δ²⁰ 与 Δ²² 碳碳双键氧化; (3) 脱水反应, 苷元 C₁₆ 与 C₁₇, C₂₂ 与 C₂₃ 脱水形成双键; (4) 甲基化反应, 苷元 C₂₁ 和 C₂₂ 位羟基发生甲基化成醚。从上述转化产物中

表 3 三萜皂苷的微生物转化

Table 3 Transform of triterpene saponins by microorganism hydrolysis

转化底物	菌株类别	转化途径或转化产物	参考文献
Rb ₁	<i>Cladosporium cladosporioide</i>	Rb ₁ → Rd → F ₂ → C-K → PPD → 3-氧代-PPD, Rb ₁ → Rd → F ₂ → 3-氧代-C-K → 3-氧代-PPD	[14]
Rb ₁	<i>Penicillium oxalicum</i> sp. 68	Rb ₁ → Rd → F ₂ → C-K	[59]
Rb ₁	<i>Fusarium sacchari</i>	Rb ₁ → Rd → C-K, Rb ₁ → F ₂ → C-K	[60]
Rb ₁	<i>Microbacterium</i> sp. GS514	Rb ₁ → Rd → Rg ₃ , Rb ₁ → Rg ₃	[28]
Rb ₁	<i>Coniochaeta</i> sp.	Rb ₁ → Rd → C-K	[61]
Rb ₁	鼠李糖乳杆菌 C-19	C-K	[62]
Rb ₁	<i>Lysobacter panaciterrae</i>	Rd	[63]
Rb ₁	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i>	Rd, Rg ₃	[9]
Rb ₁	<i>Acremonium strictum</i> AS 3. 2058	Rb ₁ → Gyp-XV II → F ₂ → C-K → 12β-羟基-达玛-3-酮-20 (S)-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷, Rb ₁ → Rd → F ₂ , Rb ₁ → Rd → Rg ₃ → 12β, 25-二羟基达玛-(E)-20(22)-烯-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷 → 12β, 20 (R), 25-三羟基达玛-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷	[64]
Rb ₁	0. 12 g/kg 林古霉素	Rb ₁ → Rd → F ₂	[41]
Rb ₁	4. 8 g/kg 林古霉素	Rb ₁ → Rd	[41]
Rb ₁	<i>Paecilomyces bainier</i> 229-7	Rd	[65]
Re	<i>Sphingopyxis</i> sp. BG97	C-Mc	[63]
Re	<i>Leuconostoc</i> sp. BG78	20(S) Rg ₃	[63]
Rd	<i>Flavobacterium</i> sp. BGS36	20(S) Rg ₃	[63]
Rg ₃	<i>F. sacchari</i>	Rg ₃ → Gyp-IX → C-Mx, Rg ₃ → C-Mx	[60]
C-K	<i>Rhizobium</i> sp. GIN611	PPD	[66]
Gyp-XLVI	保加利亚乳杆菌	Gyp-L, Gyp-LI, damulin B, damulin A	[67]
Rb ₁ , Rb ₂	<i>Veratrum nigrum</i>	Rb ₁ 或 Rb ₂ → Rd → F ₂ → C-K → PPD	[68]
Rb ₂ , Rc	<i>P. oxalicum</i> sp. 68	Rb ₂ → CO → CY → C-K, Rc → Mb → Mc → C-K	[59]
Rb ₁ , Re, R ₁	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Rb ₁ → Rd → F ₂ → C-K, Rb ₁ → Rd → Rg ₃ → Rg ₅ 或 Rk ₁ , Re → Rg ₁ → Rh ₁ → Rh ₄ 或 Rk ₃ , R ₁ → Rg ₁ → Rh ₁ → Rh ₄ 或 Rk ₃	[69]
Rb ₁ , Rc, Rb ₂ , Rf	<i>Candida allociferrii</i> JN0301	Rb ₁ → Rd → F ₂ , Rc → C-Mc ₁ , Rb ₂ → C-O, Rf → Rh ₁	[70]
20(R)-人参二醇 20(R)-PD	<i>Absidia corymbifera</i> AS 3. 3387	3-羰基-20(R)-PD, 3-羰基-7β, 24α-二羟基-20(R)-PD, 3-羰基-7β, 24β-二羟基-20(R)-PD, 3-羰基-15α, 24α-二羟基-20(R)-PD, 3-羰基-15α, 24β-二羟基-20(R)-PD, 20(R), 25-环氧-7β, 12β, 24β-三羟基-达玛-15-烯-3-酮, 20(R), 25-环氧-7β, 12β, 24β-三羟基-15, 30-环达玛烷-3-酮	[71]
20(R)-PD	<i>R. chinensis</i>	24-酮-15α-羟基-20(R)-PD, 24-羰基-7β, 16β-二羟基-20(R)-PD, 24-羰基-7β-羟基-20(R)-PD, 24β, 29-二羟基-20(R)-PD, 15α, 24β-二羟基-20(R)-PD, 15β, 24β-二羟基-20(R)-PD, 15α, 24α-二羟基-20(R)-PD	[72]
20(S)-PPD	<i>Mucor spinosus</i> AS 3. 3450	12-羰基-15α, 27-二羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-7β, 11α, 28-三羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-7β, 28-二羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-15α, 29-二羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-7β, 15α-二羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-7β, 11β-二羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-15α-羟基-20(S)-PPD, 12-羰基-7β-羟基-20(S)-PPD	[73]
20(S)-PPD	<i>A. corymbifera</i> AS 3. 3387	26-羟基-20(S)-PPD, 23, 24-烯-25-羟基-20(S)-PPD, 25-羟基-(S)-PPD, 7β-羟基-(S)-PPD, 7-羰基-(S)-PPD	[16]
Re	乳酸菌	Rg ₁ , Rh ₁ , Rg ₂ , F ₁	[62]
Re	<i>Nodulisporium</i> sp. (YMF 1. 02671)	6-O-[α-L-鼠李吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖]-20-O-β-D-葡萄糖吡喃糖 达玛烷-3, 6, 12, 20, 24, 25-六醇, 越南参皂苷 R13	[74]
Rg ₁	<i>Bacillus</i> sp. (YMF3. 00063)	越南参皂苷 R ₂₂	[74]

续表 3

转化底物	菌株类别	转化途径或转化产物	参考文献
Rh ₁	YMF1.02671	拟人参皂苷 RT ₄	[74]
Rh ₁	YMF1.02670	20(S)-PPD	[74]
Rh ₁	YMF3.00063	(20S)-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-6-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-PPD	[74]
Rh ₁	<i>Brevundimonas</i> sp.	Rg ₁ , 越南参皂苷 R ₁₅	[74]
20(S)-PPT	<i>A. niger</i> AS 3.1858	24-亚甲基-20(S)-PPT, 23,24-烯-25-甲氧基-20(S)-PPT	[75]
20(S)-PPT	<i>A. niger</i>	12-酮-20(S)-PPT, 29-羟基-20(S)-PPT, 24-亚甲基-20(S)-PPT, (20S, 24R)-环氧-达玛烷-3β, 6α, 12β, 25-四醇, 12-酮-23β-羟基-20(S)-PPT, 12-酮-26-羟基-20(S)-PPT, 12-酮-15α-羟基-20(S)-PPT, 12-酮-11β-羟基-20(S)-PPT, 12-酮-11α-羟基-20(S)-PPT, (20S, 24R)-环氧-3β, 6α, 25-三羟基-达玛烷-12-酮, (20S, 24S)-环氧-3β, 6α, 25-三羟基-达玛烷-12-酮, 24-亚甲基-20(S)-PPT, 12-酮-11α-羟基-20(S)-PPT, (20S, 24S)-环氧-3β, 6α, 25-三羟基-达玛烷-12-酮	[75]
20(R)-人参三醇 [20(R)-PT]	<i>A. niger</i> AS 3.739	3,6-二羰基-PT, 15α-羟基-3,6-二羰基-PT, 15β-羟基-3,6-二羰基-PT, 3,6,15-三羰基-PT, 16β-羟基-3,6-二羰基-PT, 1α, 15α-二羟基-3,6-二羰基-PT	[76]
黄芪皂苷 IV	<i>Bacillus</i> sp. LG-502	黄芪皂苷 IV → cyclogaleginoside B → 环黄芪醇 → 环阿尔廷烷-3-酮	[77]
百两金皂苷	长柄链格孢	西克拉明皂苷元 A 3β-O-β-D-木吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→4)-α-L-阿拉伯吡喃糖苷、西克拉明皂苷元 A-3β-O-α-L-鼠李吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→4)-α-L-阿拉伯吡喃糖苷	[78]
甘草皂苷	黑曲霉 UV-48	单葡萄糖醛酸基甘草皂苷元	[44]
甘草酸	绿色木霉	单葡萄糖醛酸甘草酸	[44]
积雪草	黑曲霉	积雪草苷	[79]
商陆皂苷 A	<i>Streptomyces griseus</i> ATCC 13273	商陆皂苷 B, 商陆皂苷元, 2β, 3β, 23, 29-四羟基-齐墩果-12-烯-28, 30-二酸 30-甲酯	[80]
商陆皂苷 A	<i>A. ochraceus</i>	商陆皂苷 B, 商陆皂苷元, 28-O-β-D-葡萄糖基-商陆皂苷元	[80]

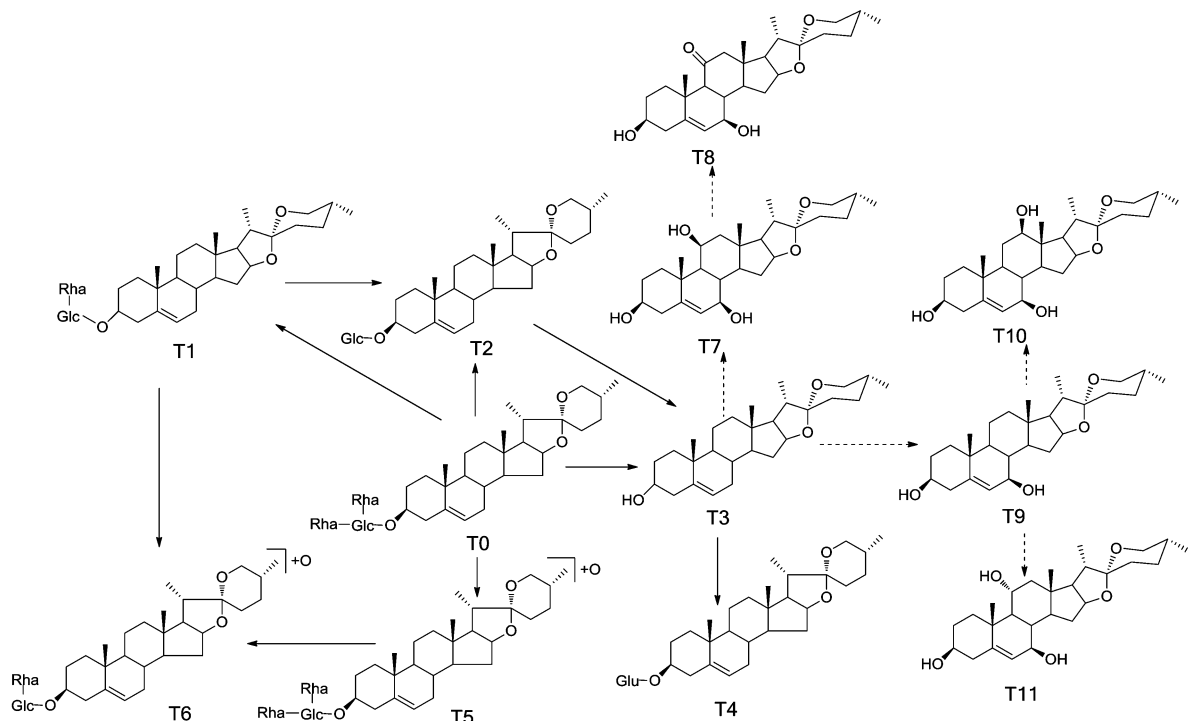


图 5 薯蓣皂苷的转化途径

Fig. 5 Biotransformation process of diosgenin

鉴定了 8 个甾体皂苷,分别是 26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(25R)-呋甾-5, 20(22)-二烯-3β, 26-二醇-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W1), 26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-20β-羟基-(25R)-呋甾-5, 22-二烯-3β, 26-二醇-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W2), 5-烯-3β, 20β-二醇-22, 16-内酯-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W3), (25R)-螺甾-5-烯-3β, 20β-二醇-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W4), 26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-23(S)-甲氧基-(25R)-呋甾-5, 20(22)-二烯-3β, 26-二醇-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W5), 18

酮-(25R)-孕甾烷-5, 16-二烯-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W6), 26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-22β-甲氧基-(25R)-呋甾-5-烯-3β, 20β, 26-三醇-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W7)和 26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-20α-甲氧基-(25R)-呋甾-5, 22-二烯-3β, 26-二醇-3-O-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(W8), 以及 5 个中间转化产物 I, II, III, IV 和 V。其转化途径概括为, W0→W1→I→II→W2→W3, W0→W1→I→II→W4, W0→W5, W0→W1→I→W7, W0→W1→I→II→W8, W0→W1→IV→V→W6。见图 6。

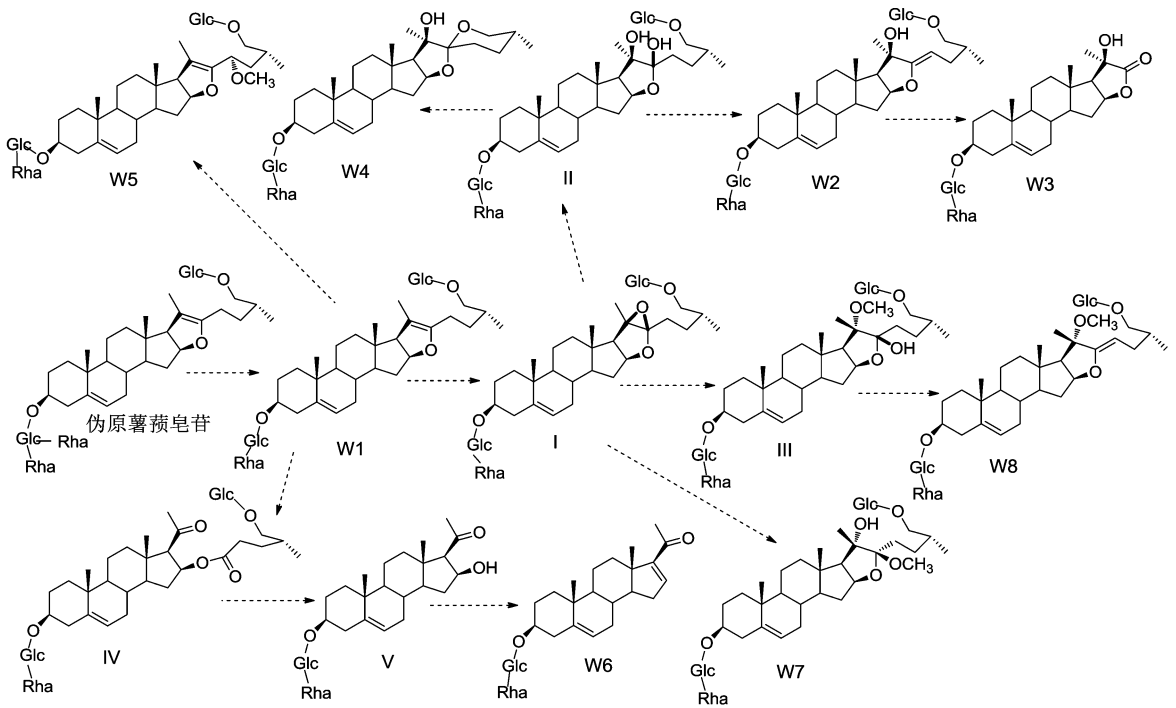


图 6 伪原薯蓣皂苷的转化途径

Fig. 6 Biotransformation process of pseudoprodioscin

2.3 知母皂苷 知母 (*Anemarrhena asphodeloides*) 为百合科植物,主要化学成分为甾体皂苷、木脂素、双苯吡酮类、多糖、多酚等。现代药理学研究表明,知母具有抗动脉硬化、降血脂、抑制血小板聚集、抗衰老、预防老年痴呆、抗抑郁、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、降血糖、预防和改善骨质疏松症等药理活性^[87]。知母皂苷 B-II (TB-II), 知母皂苷 B-III (TB-III) 和知母皂苷 A-III (TA-III) 是生物转化研究的热点。

TB-II 在生物酶催化下主要发生去糖基化,生成系列次级皂苷。在动物胃肠道中, TB-II 发生去糖基

化、羟基化、脱水和 E 环断裂重排等反应,代谢产物较多。TB-II 与微生物直接发酵转化,反应类型有水解、脱水和异构化反应。在大鼠肠道菌群中^[88-89], 知母皂苷 TB-II 可转化为 TB-III 和 TA-III。ZHOU 等^[90]将 TB-II 与来源于菌株 *A. niger* AS 3.0739 的粗酶液于磷酸盐缓冲液中 [pH 8.0, (50 ± 1) °C, 100 ~ 120 r·min⁻¹] 孵育 2 d, 水解脱去 C₃ 和 C₂₆ 位糖链上的糖基, 得到次级皂苷 TB-II-a, TB-II-b 和 TB-II-c。JIA 等^[91]研究发现,大鼠服用 TB-II 24 h 后, TB-II 在大鼠体内发生的代谢反应主要有 (1) 去糖基化反应, C₃ 位糖链依次脱去葡萄糖及半乳糖

基,得到 TB-Ⅱ-b,而 C₂₆ 位糖链脱去葡萄糖基,生成 TB-Ⅱ-c;(2)羟基化反应,TB-Ⅱ的 C₂,C₁₅ 位分别发生羟基化反应,得到产物 2-羟基-TB-Ⅱ 和 15-羟基-TB-Ⅱ;(3)脱水反应,TB-Ⅱ的 C₂₀ 与 C₂₂ 发生脱水反应,生成 TB-Ⅲ;(4)苷元的 E 环发生断裂,可生成 TB-Ⅲ-a,TB-Ⅲ-c 和孕甾烷醇酮 3-β-D-葡萄糖基

(1→2)-β-D-半乳糖苷。ZHAO 等^[92] 研究 TB-Ⅱ 在菌株 *Colletotrichum gloeosporioides* 中主要发生水解,脱水和异构化反应,生成 TA-Ⅲ,TA-Ⅰ,TA-Ⅲ β 异构体和 TA-Ⅰ β 异构体。在菌株 *Aspergillus niger* 转化下,TB-Ⅱ 主要发生水解,脱水反应,生成 TA-Ⅲ 和 TA-Ⅰ。见图 7。

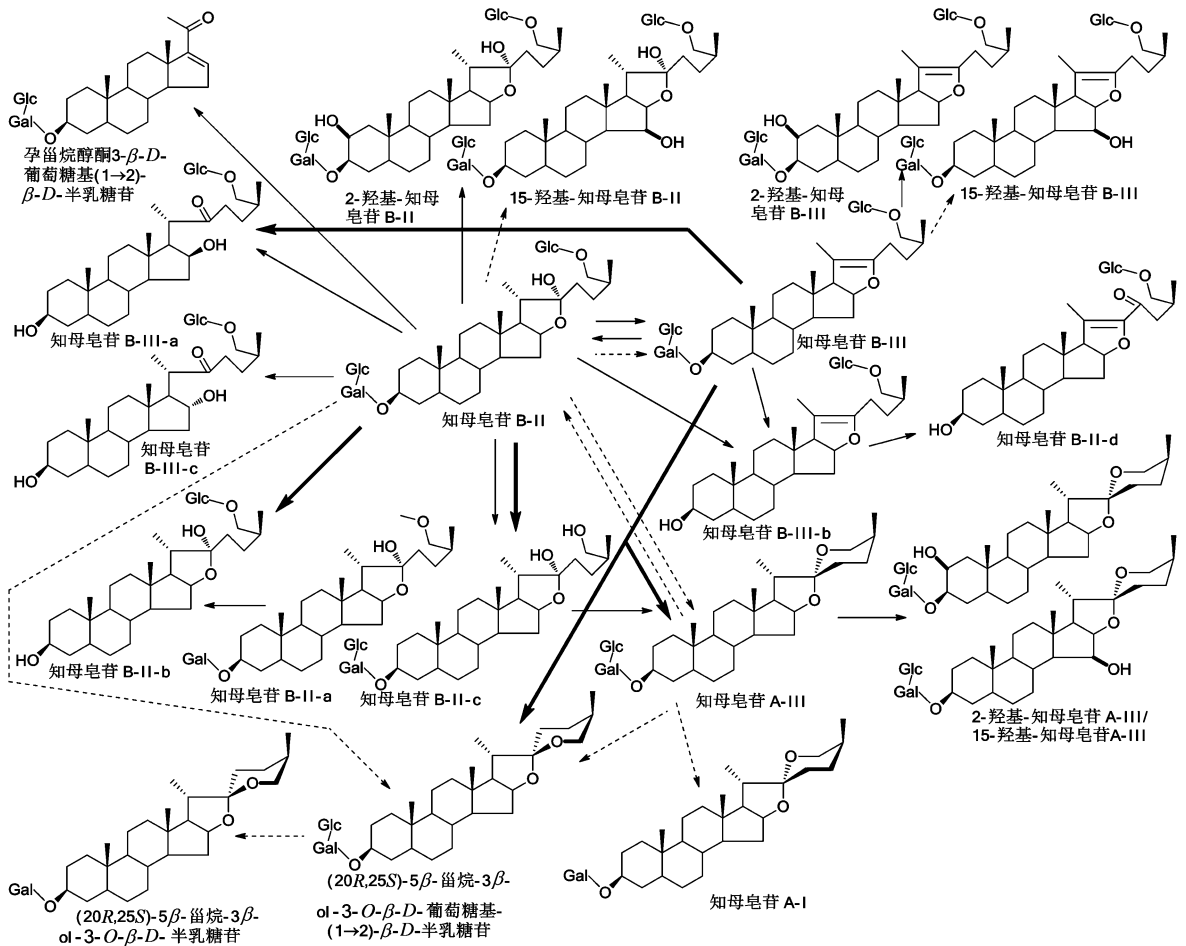


图 7 知母皂苷转化途径
Fig. 7 Biotransformation process of timosaponin

HU 等^[93] 将 TA-Ⅲ 与菌株 *Saccharomyces cerevisiae* 于振荡筛培养 (240 r·min⁻¹, 35 ℃) 24 h, 主要发生异构化、糖基化、脱水和 E 环断裂等反应, 得到 5 个代谢产物。TA-Ⅲ的 C₁₉ 位经异构化, 得到 (20R,25S)-5β-甾烷-3β-醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→2)-β-D-半乳糖苷; C₁₉ 环氧基断裂, C₂₆ 再经糖基化, 生成 TB-Ⅱ; C₂₀ 与 C₂₂ 经脱水反应, 生成 TB-Ⅲ; TB-Ⅱ 和 TB-Ⅲ 的 C₁₅ 发生羟基化, 得到 15-羟基-TB-Ⅱ 和 15-羟基-TB-Ⅲ。

在大鼠肠道菌群中^[88-89], TB-Ⅲ 可转化为 TB-Ⅱ 和 TA-Ⅲ。JIANG 等^[94] 研究, 将 TB-Ⅲ 和葡萄糖苷

酶于营养液中培养, 得到 3 个代谢产物。TB-Ⅲ 主要发生去糖基化, 脱水, E 环断裂等反应, 生成 TB-Ⅲ-a; 水解其 C₂₆ 位的葡萄糖, C₂₀ 与 C₂₂ 再经脱水反应, 生成 (20R, 25S)-5β-甾烷-3β-醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→2)-β-D-半乳糖苷和 TA-Ⅲ。

采用旷场实验 (OFT), 悬尾实验 (TST) 和强迫游泳实验 (FST) 等经典的抗抑郁模型, 研究 TB-Ⅲ 及其转化产物的抗抑郁活性。在 TST 和 FST 实验中, 底物 TB-Ⅲ 与阳性药氟西汀均能明显缩短小鼠不动时间, 转化产物 TB-Ⅲ-a, TA-Ⅲ 也能缩短小鼠不动时间, 结果证明 TB-Ⅲ 和其转化产物 TB-Ⅲ-a, TA-Ⅲ

均具有抗抑郁活性^[94]。采用磺酰罗丹明 B (SRB) 比色法检测 TA-III 与其代谢产物对肿瘤细胞 HepG2, HCT1-16, HT-29 和 H1-299 的增殖影响, 结果显示 TA-III 和 (20R, 25S)-5 β -甾烷-3 β -醇-3-O- β -D-

葡萄吡喃糖基-(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳糖苷对 4 种肿瘤细胞均有明显的抑制活性^[93]。

其他甾体皂苷的生物转化方法、途径和产物, 见表 4~6^[88, 90, 92-102]。

表 4 甾体皂苷的酶解转化

Table 4 Transform of steroid saponins by enzymatic hydrolysis

转化底物	酶种类	转化途径或转化产物	参考文献
原纤细薯蓣皂苷	皂苷水解酶 (<i>Trichoderma reesei</i>)	原纤细薯蓣皂苷 \rightarrow 纤细薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷-3-O- β -D-葡萄吡喃糖基- β -D-葡萄吡喃糖或薯蓣皂苷-3-O- β -D-葡萄吡喃糖基- α -L-吡喃鼠李糖 \rightarrow 延龄草苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元	[95]
纤细薯蓣皂苷	糖苷水解酶 (<i>T. reesei</i>)	纤细薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷次皂苷元 \rightarrow 延龄草苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元	[95]
薯蓣皂苷元-3-O- $\{[\beta$ -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 4)]- $[\alpha$ -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 4)]- $[\alpha$ -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)] $\}$ - β -D-吡喃葡萄糖	β -D-葡萄糖苷酶, α -L-鼠李糖苷酶 (<i>T. reesei</i>)	薯蓣皂苷元-3-O- $\{[\beta$ -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 4)]- $[\alpha$ -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 4)]- $[\alpha$ -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)] $\}$ - β -D-吡喃葡萄糖 \rightarrow 薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷次皂苷元 \rightarrow 延龄草苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元	[95]
原薯蓣皂苷	薯蓣皂苷糖苷酶-1 (<i>Aspergillus oryzae</i>)	原薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣次皂苷 A	[96]
盾叶新苷、三角叶薯蓣皂苷	α -L-鼠李糖苷酶 (<i>A. oryzae</i>)	盾叶新苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元-葡萄糖三糖苷; 三角叶薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元-葡萄糖二糖苷	[97]
盾叶新苷	β -葡萄糖苷酶, α -鼠李糖苷酶	盾叶新苷 \rightarrow 三角叶薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷次皂苷元 \rightarrow 延龄草苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元	[98]
盾叶新苷、三角叶薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元-葡萄糖三糖苷、薯蓣皂苷元-葡萄糖二糖苷、延龄草苷	水解酶 (<i>A. oryzae</i>)	盾叶新苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元-葡萄糖三糖苷; 三角叶薯蓣皂苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元-葡萄糖二糖苷; 薯蓣皂苷元-葡萄糖三糖苷/薯蓣皂苷元-葡萄糖二糖苷/延龄草苷 \rightarrow 薯蓣皂苷元	[99]
TB-II	粗酶 (<i>A. niger</i> AS 3.0739)	TB-II \rightarrow TB-II -a \rightarrow TB-II -b, TB-II \rightarrow TB-II -c	[90]
TB-III	β -糖苷酶	TB-III -a, (20R, 25S)-5 β -螺甾烷-3 β -醇-3-O- β -D-葡萄吡喃糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳糖苷, TA-III	[94]

表 5 甾体皂苷的肠道菌群转化

Table 5 Transform of steroid saponins by intestinal microflora hydrolysis

转化底物	转化途径或转化产物	参考文献
TA-III	TA-II, 2-羟基-TA-III, 15-羟基-TA-III, TB-II	[93]
TB-II	TB-III, TB-II -a, TB-II -b, TB-II -c, TB-III -b, TA-III, 2-羟基-TB-II, 15-羟基-TB-II, 2-羟基-TB-III, 15-羟基-TB-III, 2-羟基-TA-III, 15-羟基-TA-III, TB-II -d, TB-II 氧化产物, 孕甾烷醇酮 3- β -D-葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-葡萄糖苷	[88]

注: 菌群类别均为大鼠肠道菌群。

3 展望

皂苷类化合物经生物转化易于产生结构新颖的衍生物, 而很多转化产物往往是从自然界或人工合成方法难以获得的, 这为新药开发提供了宝贵的先导化合物。同时, 皂苷类天然产物的生物转化研究往往会得到系列化学结构类似的转化产物, 不需要

通过复杂的有机合成手段, 对该类化合物的构效关系研究提供了条件。另外, 将生物转化引入天然药物及其活性成分的体内代谢研究也是目前研究的一个热点^[103]。将皂苷类化合物生物转化结果与其体内代谢产物进行比对, 从而模拟天然产物活性成分在动物体内的代谢。这为研究皂苷体内代谢, 阐明

表 6 甾体皂苷的微生物转

Table 6 Transform of steroid saponins by microorganism hydrolysis

转化底物	菌株类别	转化途径或转化产物	参考文献
纤细薯蓣皂苷	淡紫青霉	5R-螺甾-5-烯-3-醇-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷-(1→3)-β-D-葡萄糖吡喃糖基、延龄草苷、薯蓣皂苷元	[100]
(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-基-O-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)-β-D-葡萄糖苷	<i>Botrytis cinerea</i>	(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-O-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)-β-D-葡萄糖苷→(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-基-O-R-L-鼠李吡喃糖基-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷→(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-基-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷→(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-醇	[101]
(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-基-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-[6-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)]-β-D-葡萄糖苷	<i>B. cinerea</i>	(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-基-O-α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)-[6-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)]-β-D-葡萄糖苷→(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-基-O-R-L-鼠李吡喃糖基-(1→2)-O-[6-O-乙酰基-β-D-葡萄糖吡喃糖基-(1→4)]-β-D-葡萄糖吡喃糖苷→(22R,25R)-螺甾醇-5-烯-3β-醇	[101]
TA-III	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(20R,25S)-5β-螺甾烷-3β-醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖-(1→2)-β-D-葡萄糖吡喃糖苷, TB-II, TB-III, 15-羟基-TB-II, 15-羟基-TB-III	[93]
TB-II	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	TA-III, TA-I, TA-III β 异构体, TA-I β 异构体	[92]
TB-II	<i>Acremonium alternatum</i>	TA-III, TA-I, TA-I β 异构体	[92]
TB-II	<i>Aspergillus niger</i>	TA-III, TA-I	[92]
重楼皂苷 V II	<i>Delftia acidovorans</i>	重楼皂苷 VI, 偏诺皂苷元-3-O-α-L-鼠李吡喃糖(1→4)-[α-L-鼠李吡喃糖(1→2)]-β-D-葡萄糖吡喃糖苷	[102]

该类化合物体内发挥作用的物质基础与作用机制, 提供了有效的方法。

[参考文献]

[1] 马骁驰, 果德安. 中药活性成分生物转化的研究思路与方法[J]. 中国天然药物, 2007, 5(3): 162-168.
 [2] 戴承恩, 李海龙, 何小平, 等. 益生菌代谢中药有效成分的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(1): 31-38.
 [3] 门薇, 陈颖, 李玉洁, 等. 肠道菌群对中药有效成分的生物转化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(2): 229-234.
 [4] 王智磊, 刘素娟, 张鑫, 等. 黑曲霉生物转化黄酮类成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21): 220-228.
 [5] 宋齐. 人参化学成分和药理作用研究进展[J]. 人参研究, 2017, 29(2): 47-54.
 [6] 彭婕, 刘春莹, 陈双, 等. 原人参二醇类皂苷(PPD)在酶反应中转化动态及其产物稀有皂苷的制备[J]. 中草药, 2017, 48(1): 85-94.
 [7] CUI L, WU S Q, ZHAO C A, et al. Microbial conversion of major ginsenosides in ginseng total saponins by *Platycodon grandiflorum* endophytes[J]. J Gins Res,

2016, 40(4): 366-374.
 [8] 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[J]. Molecules, 2015, 20(10): 19291-19309.
 [9] ZANG Y P, GUO N, JIAO J, et al. Application of magnetically immobilized edible fungus for the biotransformation of panax notoginseng saponin Rb₁ to Rd and Rg₃ [J]. J Chromatogr B, 2017, 1061-1062: 306-313.
 [10] SHEN H, Leung W I, RUAN J Q, et al. Biotransformation of ginsenoside Rb₁ via the gypenoside pathway by human gut bacteria[J]. Chin Med-UK, 2013, 8(1): 22-32.
 [11] WAN J Y, WANG C Z, LIU Z, et al. Determination of American ginseng saponins and their metabolites in human plasma, urine and feces samples by liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2016, 1015-1016: 62-73.
 [12] AN D S, CUI C H, Lee H G, et al. Identification and characterization of a novel *Terrabacter ginsenosidimitans* sp. nov. β-glucosidase that transforms ginsenoside Rb₁ into the rare gypenosides XVII and LXXV [J]. Appl

- Environ Microbiol, 2010, 76(17):5827-5836.
- [13] QUAN L H, MIN J W, YANG D U, et al. Enzymatic biotransformation of ginsenoside Rb₁ to 20(S)-Rg₃ by recombinant β -glucosidase from *Microbacterium esteraromaticum* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 94(2):377-384.
- [14] JIN Y, SUN Y J, Kim Y J, et al. Microbial deglycosylation and ketonization of ginsenoside by *Cladosporium cladosporioide* and their anticancer activity [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2016, 109(2):179-185.
- [15] LI Z P, JI G E. Ginseng fermented by mycotoxin non-producing *Aspergillus niger*: ginsenoside analysis and anti-proliferative effects [J]. Food Sci Biotechnol, 2017, 26(4):987-991.
- [16] CHEN G T, YANG M, NONG S J, et al. Microbial transformation of 20(S)-protopanaxadiol by *Absidia corymbifera* cytotoxic activity of the metabolites against human prostate cancer cells [J]. Fitoterapia, 2013, 84(1):6-10.
- [17] MU L H, GU Y J, MA B P, et al. Two new triterpenoid saponins obtained by microbial hydrolysis with *Alternaria alternata* AS 3.6872 [J]. Nat Prod Res, 2015, 29(7):638-643.
- [18] MU L H, GU Y J, WANG L H, et al. Biotransformation on the triterpenoid saponin of *Ardisia gigantifolia* by *Aspergillus avenaceus* AS 3.4454 [J]. J Asian Nat Prod Res, 2015, 17(1):40-46.
- [19] CAO W Y, WANG Y N, WANG P Y, et al. Ardipusilloside-I metabolites from human intestinal bacteria and their antitumor activity [J]. Molecules, 2015, 20(11):20569-20581.
- [20] 曹伟宇, 王鹏远, 冯斌, 等. 离体培养人肠道菌群对九节龙皂苷 I 生物转化的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(8):1357-1361.
- [21] 关树光, 於文博, 徐东铭, 等. 白头翁药理作用的研究近况 [J]. 吉林中医药, 2006, 26(3):60-61.
- [22] 代蕊, 刘春莹, 徐龙权, 等. 白头翁皂苷糖基水解 II 型酶的分离纯化及酶性质 [J]. 大连工业大学学报, 2017, 36(4):245-249.
- [23] WAN J Y, ZHANG Y Z, YUAN J B, et al. Biotransformation and metabolic profile of anemoside B₄ with rat small and large intestine microflora by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2017, 31(5):1-10.
- [24] 洪挺, 钱媛, 杨毅生. 细梗香草中化学成分及其抗肿瘤活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(6):1092-1097.
- [25] CHENG Z Z, HUANG M L, CHEN G Y, et al. Cell-based assays in combination with ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight tandem mass spectrometry for screening bioactive capilliposide C metabolites generated by rat intestinal microflora [J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 119:130-138.
- [26] Huq M A, Kim Y J, MIN J W, et al. Enzymatic transformation of the major ginsenoside Rb₁ to compound K by *Weissella hellenica* DC06 [J]. Indian J Biotechnol, 2015, 14(2):270-275.
- [27] QUAN L H, PIAO J Y, MIN J W, et al. Biotransformation of ginsenoside Rb₁ to prosapogenins, gypenoside XVII, ginsenoside Rd, ginsenoside F₂, and compound K by *Leuconostoc mesenteroides* DC102 [J]. J Ginseng Res, 2011, 35(3):344-351.
- [28] CHENG L Q, NA J R, Kim M K, et al. Microbial conversion of ginsenoside Rb₁ to minor ginsenoside F₂ and gypenoside XVII by *Intrasporangium* sp. GS603 isolated from soil [J]. J Microbiol Biotechnol, 2008, 17(12):1937-1943.
- [29] YI E J, Lee J M, YI T H, et al. Biotransformation of ginsenoside by *Lactobacillus brevis* THK-D57 isolated from kimchi [J]. Korean J Food Sci An, 2012, 25(3):629-636.
- [30] LIU C Y, JIN Y H, YU H S, et al. Biotransformation pathway and kinetics of the hydrolysis of the 3-O- and 20-O-multi-glucosides of PPD-type ginsenosides by ginsenosidase type I [J]. Process Biochem, 2014, 49(5):813-820.
- [31] 李冠亨, 刘春莹, 徐龙权, 等. 人参皂苷酶 III 型转化人参皂苷 R_c 制备稀有皂苷 C-Mc [J]. 大连工业大学学报, 2017, 36(4):250-254.
- [32] Kim J K, CUI C H, LIU Q M, et al. Mass production of the ginsenoside Rg₃(S) through the combinative use of two glycoside hydrolases [J]. Food Chem, 2013, 141(2):1369-1377.
- [33] LIU L, ZHU X M, WANG Q J, et al. Enzymatic preparation of 20(S, R)-protopanaxadiol by transformation of 20(S, R)-Rg₃ from black ginseng [J]. Phytochemistry, 2010, 71(13):1514-1520.
- [34] WANG R F, ZHENG M M, CAO Y D, et al. Enzymatic transformation of vana-ginsenoside R₇ to rare notoginsenoside ST-4 using a new recombinant glycoside hydrolase from *Herposiphon aurantiacus* [J]. Appl Microbiol Biotech, 2015, 99(8):3433-3442.
- [35] 李东霄, 邓小莉, 王改霞, 等. 酵母菌对高含量人参皂苷的转化及其分子鉴定 [J]. 江苏农业学报, 2013, 29(1):33-38.

- [36] KU S, YOU H J, Park M S, et al. Effects of ascorbic acid on α -L-arabinofuranosidase and α -L-arabinopyranosidase activities from *Bifidobacterium longum* RD47 and its application to whole cell bioconversion of ginsenoside [J]. J Korean Soc Appl Biol Chem, 2015, 58 (6): 857-865.
- [37] 许春春, 于渤海, 王红蕾, 等. 重组嗜热 β -葡萄糖苷酶转化稀有人参皂苷 Rd 和 CK [J]. 高等学校化学学报, 2016, 37(2): 281-289.
- [38] ZHONG F L, DONG W W, WU S Q, et al. Biotransformation of gypenoside XVII to compound K by a recombinant β -glucosidase [J]. Biotechnol Lett, 2016, 38(7): 1187-1193.
- [39] 于渤海, 李男, 赵幻希, 等. 嗜热糖苷酶 Fpendo5A 转化绞股蓝皂苷 XLIX 的产物鉴定及分离纯化 [J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30(3): 307-311.
- [40] PEI J J, WU T, YAO T, et al. Biotransformation of ginsenosides Re and Rg₁ into ginsenosides Rg₂ and Rh₁ by thermostable β -glucosidase from *Thermotoga thermarum* [J]. Chem Nat Compd, 2017, 53 (3): 472-477.
- [41] RUAN C C, ZHANG H, ZHANG L X, et al. Biotransformation of ginsenoside Rf to Rh₁ by recombinant β -glucosidase [J]. Molecules, 2009, 14(6): 2043-2048.
- [42] CUI P, DOU T Y, SUN Y P, et al. Efficient enzymatic preparation of esculentoside B following condition optimization by response surface methodology [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2016, 130: 25-31.
- [43] LI W, ZHAO L C, WANG Z, et al. Response surface methodology to optimize enzymatic preparation of deapioplatycodin D and platycodin D from Radix Platycodi [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(12): 4089-4100.
- [44] 吴少杰, 杨志娟, 朱丽华, 等. 甘草皂苷生物转化的研究 [J]. 中草药, 2003, 34(6): 516-518.
- [45] Amin H A S, Mohamed S S. Immobilization of *Aspergillus terreus* on loofa sponge for soyasapogenol B production from soybean saponin [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2012, 78: 85-90.
- [46] 高霞, 耿婷, 马阳, 等. 离体大鼠肠道菌对 6 种皂苷类成分代谢研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2329-2338.
- [47] XU R J, PENG Y, WANG M Y, et al. Effects of broad-spectrum antibiotics on the metabolism and pharmacokinetics of ginsenoside Rb₁: A study on rats' gut microflora influenced by lincomycin [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 158: 338-344.
- [48] 张喆, 滕亚然, 吕子燕, 等. 人参皂苷 Rb₂ 在大鼠体内的药代动力学行为及代谢产物研究 [J]. 分析化学, 2017, 45(2): 191-198.
- [49] KONG H W, WANG M, Venema K, et al. Bioconversion of red ginseng saponins in the gastro-intestinal tract *in vitro* model studied by high-performance liquid chromatography-high resolution fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(11): 2195-2203.
- [50] HE C Y, LI J, XU N S, et al. Pharmacokinetics, bioavailability, and metabolism of notoginsenoside Fc in rats by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2015, 109: 150-157.
- [51] CHEN D J, HU H G, XING S F, et al. Metabolite profiling of gypenoside LVI in rat after oral and intravenous administration [J]. Arch Pharm Res, 2015, 38(6): 1157-1167.
- [52] Kim U, Park M H, Kim D H, et al. Metabolite profiling of ginsenoside Re in rat urine and faeces after oral administration [J]. Food Chem, 2013, 136 (3/4): 1364-1369.
- [53] WANG J, ZHENG P H, ZHENG S W, et al. Profiling and identification of the metabolites of ginsenoside Ro in rat faeces and urine after oral administration [J]. Eur Food Res Technol, 2016, 242(2): 199-210.
- [54] WANG Y Z, WANG Y S, CHU S F, et al. Protopanaxatriol metabolites identified by LC-MS/MS after oral administration in mice [J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2010, 48(4): 282-290.
- [55] 于蓓蓓, 王亮, 尹利顺, 等. 基于 HPLC-DAD-MSⁿ 的柴胡皂苷 A 的体外生物转化研究 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 333-338.
- [56] 杨秀伟, 赵静, 崔景荣, 等. 七叶树皂苷-Ia 的人肠内细菌生物转化产物及其抗肿瘤活性研究 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2004, 36(1): 31-35.
- [57] 曲方圆, 喻凯, 李甫, 等. 银莲花素 A 在大鼠肝匀浆中的代谢产物 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(3): 298-299.
- [58] 赵钟祥, 李美芬, 林朝展, 等. 大鼠肠内菌对毛冬青皂苷 ilexaponin A₁ 的代谢转化 [J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(4): 329-332.
- [59] GAO J, XU W J, FANG Q, et al. Efficient biotransformation for preparation of pharmaceutically active ginsenoside compound K by *Penicillium oxalicum* sp. 68 [J]. Ann Microbiol, 2013, 63(1): 139-149.
- [60] HAN Y, SUN B, JIANG B, et al. Microbial transformation of ginsenosides Rb₁, Rb₃ and Rc by *Fusarium sacchari* [J]. J Appl Microbiol, 2010, 109

- (3):792-798.
- [61] 郭从亮,杨晓艳,陈子明,等.一株植物内生菌 *Coniochaeta* sp. 对三七总皂苷中人参皂苷 Rb₁ 的特异性转化含量测定[J]. 中药材, 2016, 39(5): 1075-1078.
- [62] 李粟琳,张翔宇,王洋,等.可发酵三七等中药材的食用菌种筛选和皂苷生物转化产物的分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(12): 164-168.
- [63] Ten L N, Chae S M, Yoo S A. Biotransformation of ginsenoside Rb₁ into Rd by the Bacterium *Lysobacter panaciterrae* [J]. Chem Nat Compd, 2013, 49(4): 773-774.
- [64] CHEN G T, YANG M, SONG Y, et al. Microbial transformation of ginsenoside Rb₁ by *Acremonium strictum* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2008, 77(6): 1345-1350.
- [65] YE L, ZHANG C Y, LI J Y, et al. Effects of external calcium on the biotransformation of ginsenoside Rb₁ to ginsenoside Rd by *Paecilomyces bainier* 229-7 [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2012, 28(3): 857-863.
- [66] Kim E M, Kim J, Seo J H, et al. Identification and characterization of the *Rhizobium* sp. Strain GIN611 glycoside oxidoreductase resulting in the deglycosylation of ginsenosides [J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(1): 242-249.
- [67] 刘慧敏,高雅军,曾鸣,等.保加利亚乳杆菌对绞股蓝皂苷 gypenoside XLVI 的微生物转化[J]. 食品科学, 2014, 35(17): 133-136.
- [68] YANG X D, LI X, XU Y, et al. Mechanism of incompatible herb pairs, panax ginseng and *Veratrum nigrum* L.: Material basis and metabolic profiles of ginsenosides in rat intestinal bacteria [J]. Chin J Chem, 2015, 33(9): 1069-1076.
- [69] GE F, HUANG Z J, YU H, et al. Transformation of *Panax notoginseng* saponins by steaming and *Trichoderma longibrachiatum* [J]. Biotechnol Biotech Eq, 2016, 30(1): 165-172.
- [70] Lee S, Lee Y H, Park J M, et al. Bioconversion of ginsenosides from red ginseng extract using candida allociferrii JNO301 isolated from meju [J]. Mycobiology, 2014, 42(4): 368-375.
- [71] CHEN G T, GE H J, LI J, et al. Microbial transformation of 20(R)-panaxadiol by *Absidia corymbifera* AS 3.3387 [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2016, 123: 154-159.
- [72] LIN X H, CAO M N, HE W N, et al. Biotransformation of 20(R)-panaxadiol by the fungus *Rhizopus chinensis* [J]. Phytochemistry, 2014, 105(3): 129-134.
- [73] LI H F, YE M, GUO H Z, et al. Biotransformation of 20(S)-protopanaxadiol by *Mucor spinosus* [J]. Phytochemistry, 2009, 70(11/12): 1416-1420.
- [74] LUO S L, DANG L Z, LI J F, et al. Biotransformation of saponins by endophytes isolated from *Panax notoginseng* [J]. Chem Biodivers, 2013, 10(11): 2021-2031.
- [75] CHEN G T, SONG Y, GE H J, et al. Biotransformation of 20(S)-protopanaxatriol by *Aspergillus niger* and the cytotoxicity of the resulting metabolites [J]. Phytochem Lett, 2014, 11: 111-115.
- [76] SONG Y, LI J, YAN S S, et al. Biotransformation of 20(R)-panaxatriol by *Aspergillus niger* AS 3.739 [J]. Phytochem Lett, 2017, 19: 89-93.
- [77] WANG L M, CHEN Y. Efficient biotransformation of astragaloside IV to cycloastragenol by *Bacillus* sp. LG-502 [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2017, 18(4): 1488-1502.
- [78] 隋玉辉,刘岱琳,邱峰,等.长柄链格孢对百两金皂苷的生物转化[J]. 中草药, 2008, 39(7): 990-993.
- [79] 梅建凤,金航,李靓,等.生物转化法提高积雪草中积雪草酸的质量分数[J]. 浙江工业大学学报, 2015, 43(5): 573-577.
- [80] ZHU Y Y, QIAN L W, ZHANG J, et al. New approaches to the structural modification of olean-type pentacyclic triterpenes via microbial oxidation and glycosylation [J]. Tetrahedron, 2011, 67(23): 4206-4211.
- [81] 张新新. 盾叶薯蓣的化学成分及其药理作用研究 [D]. 西安: 西北大学, 2015.
- [82] ZHU H, XU J D, MAO Q, et al. Metabolic profiles of dioscin in rats revealed by ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2015, 29(9): 1415-1421.
- [83] CHEN H, WANG Z, SHU G W. A cleaner production of diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* Wright biotransformed by *Lactobacillus casei* [J]. Emir J Food Agr, 2017, 29(10): 760-769.
- [84] DONG T, WU G W, WANG X N, et al. Microbiological transformation of diosgenin by resting cells of filamentous fungus, *Cunninghamella echinulata* CGMCC 3.2716 [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2010, 67(3/4): 251-256.
- [85] 刘忠荣,邹文俊,王若竹,等.地奥心血康十年临床应用概述及疗效分析[J]. 中国医药学报, 2004, 19(10): 620-622.
- [86] DONG X R, GAO Z H, HU H X, et al. Microbial transformation of pseudoprotodioscin by *Chaetomium olivaceum* [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2016, 130: 88-95.
- [87] 冯菲. 知母的药理作用研究进展 [J]. 中医临床研究, 2017, 9(12): 133, 137.

- [88] LIU Z R, ZHU D L, LV L, et al. Metabolism profile of timosaponin B-II in urine after oral administration to rats by ultrahigh-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2012, 26(17): 1955-1964.
- [89] LI D D, XUE X R, LI Z X, et al. *In vivo* metabolism study of timosaponin B-III in rat using HPLC-QTOF-MS/MS [J]. Chromatographia, 2014, 77(11/12): 853-858.
- [90] ZHOU W B, FENG B, HUANG H Z, et al. Hydrolysis of timosaponin B-II by the crude enzyme from *Aspergillus niger* AS 3. 0739 [J]. J Asian Nat Prod Res, 2010, 12(11): 955-961.
- [91] JIA Y, FU Z W, LI Z X, et al. *In vivo* and *in vitro* metabolism study of timosaponin B-II Using HPLC-ESI-MSⁿ [J]. Chromatographia, 2015, 78(17/18): 1175-1184.
- [92] ZHAO Y, JIANG T C, HAN B Q, et al. Preparation of some metabolites of timosaponin B-II by biotransformation *in vitro* [J]. Process Biochem, 2015, 50(12): 2182-2187.
- [93] HU Y M, YU Z L, FONG W F. Stereoselective biotransformation of timosaponin A-III by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J Microbiol Biotechnol, 2011, 21(6): 582-589.
- [94] JIANG W X, GUO J, XUE R, et al. Anti-depressive activities and biotransformation of timosaponin B-III and its derivatives [J]. Nat Prod Res, 2014, 28(18): 1446-1453.
- [95] ZHU Y L, HUANG W, NI J R, et al. Production of diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* tubers through enzymatic saccharification and microbial transformation [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 85(5): 1409-1416.
- [96] LIU T Q, YU H S, LIU C Y, et al. Protodioscin-glycosidase-I hydrolyzing 26-O-β-D-glucoside and 3-O-(1 → 4)-α-L-rhamnoside of steroidal saponins from *Aspergillus oryzae* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2013, 97(23): 10035-10043.
- [97] DONG Y S, TENG H, QI S S, et al. Pathways and kinetics analysis of biotransformation of *Dioscorea zingiberensis* by *Aspergillus oryzae* [J]. Biochem Eng J, 2010, 52(2/3): 123-130.
- [98] HUANG H Z, ZHAO M, LU L, et al. Pathways of biotransformation of zingiberen newsaponin from *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright to diosgenin [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2013, 98: 1-7.
- [99] QI S S, DONG Y S, ZHAO Y K, et al. Qualitative and quantitative analysis of microbial transformation of steroidal saponins in *Dioscorea zingiberensis* [J]. Chromatographia, 2009, 69(9/10): 865-870.
- [100] 高冉冉, 郜昭慧, 董欣然, 等. 淡紫青霉 ACCC31890 对纤细薯蓣皂苷的生物转化 [J]. 中国药师, 2017, 20(6): 988-993.
- [101] Jr M J, Gianfagna T J. Antifungal activity and fungal metabolism of steroidal glycosides of Easter lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) by the plant pathogenic fungus, *Botrytis cinerea* [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(11): 5945-5954.
- [102] HE D X, LI G H, GU X T, et al. A new agent developed by biotransformation of polyphyllin V-II inhibits chemoresistance in breast cancer [J]. Oncotarget, 2015, 7(22): 31814-31824.
- [103] 牛红军, 王芑, 杨官娥. 微生物转化技术在中药研究中的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 346-349.

[责任编辑 顾雪竹]