

皂苷的生物转化研究进展

韩斌青^{1,2}, 冯冰¹, 马百平^{1*}

(1. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

摘要:皂苷是存在于中药中的一类较复杂的糖苷类化合物。生物转化是利用各种酶体系对天然活性化合物进行合成与结构修饰。利用生物转化技术能对皂苷完成一些有机合成难以进行的反应, 得到更具新药开发价值的目标化合物。综述近几年微生物和游离酶转化技术对皂苷结构修饰的研究进展, 并探讨其生物转化研究的发展方向。

关键词:生物转化; 皂苷; 微生物; 酶

中图分类号:R282.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)10-1664-05

Advances in studies on biotransformation of saponins

HAN Bin-qing^{1,2}, FENG Bing¹, MA Bai-ping¹

(1. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Key words: biotransformation; saponins; microorganism; enzyme

皂苷(saponins)是一类重要的中药活性成分,也是创新药物研究开发的重要先导化合物,主要包括甾体皂苷(steroidal saponins)和三萜皂苷(triterpenoid saponins)两大类。从分子结构上看,皂苷通常是由糖链与三萜、甾体或甾体生物碱通过碳氧共价键相连而成的。甾体皂苷又包括螺甾皂苷(spirostanol saponins)和呋甾皂苷(furostanol saponins),其活性研究也已从溶血、抗生育等方面转向更有应用前景的抗痴呆、抗癌、心血管活性、调节免疫以及降血糖等方面。从20世纪50年代开始,研究人员就用微生物对甾体化合物进行结构改造,将其边链选择性的切除以生产甾体激素的关键中间体。到了20世纪90年代以后,随着微生物、酶在大量天然产物生物转化中的广泛应用,天然产物的生物转化研究在我国进入了高潮。近年来开展的微生物和游离酶对薯蓣皂苷、人参皂苷、甘草皂苷、三七皂苷、大豆皂苷等进行结构修饰的研究已取得可喜的进展。有些生物转化反应还达到了工业化生产规模,创造了比较可观的经济效益。

微生物转化是利用某种微生物将一种物质(底物)转化为另一种物质(产物)的过程,这一过程是由某种微生物产生的一种或几种特殊的酶作为生物催化剂进行的一种或几种化学反应。利用微生物对天然产物的结构修饰,实质上就是酶的催化作用。微生物或游离酶对皂苷生物转化反应类型主要包括:羟基化反应、糖基水解反应、乙酰化反应、异构化反应、糖基化反应等。其中以羟基化、糖基的水解反应在生物转化中应用最为广泛。

本文通过论述近几年微生物和游离酶转化技术对皂苷结构修饰的研究进展,探讨其生物转化研究的发展方向。

1 羟化反应

碳氢化合物中非活泼C-H键的羟化是一种非常重要的生物转化反应,传统有机化学合成几乎不能进行这样的直接羟化反应,然而羟基化是微生物转化中最常见也是最重要的一种反应。如某些微生物能在甾体的任何位置羟化,而化学合成方法除了能在C-17位引入羟基外,在其他位置都很难引入。皂苷的羟基化反应大多发生在其苷元上,且能在多个位置引入羟基。多种化合物通过羟基化修饰后,其药理活性均有较大改变。

1.1 甾体皂苷:田茵^[1]通过32个真菌对薯蓣皂苷元进行羟基化筛选,发现刺状毛霉菌 *Mucor* (*M. spinosus* AS 3.2450、*M. subtilissimus* AS 3.2450)的羟化能力最强,其次链格孢霉 *Alternaria* (*A. alternata* AS 3.577、*A. alternata* AS 3.4578)、总状共头霉 *Syncephalastrum racemosum* AS 3.264、雅致小克银汉霉 *Cunninghamella elegans* AS 3.120、荨麻青霉 *Penicillium urticae* CICC 4015、闪白曲霉 *Aspergillus candidus* CICC 2360等菌株也有较好的羟化能力。利用刺状毛霉菌 *Mucor spinosus* AS 3.2450对薯蓣皂苷元进行转化,得到 $7\alpha,25$ -二羟基薯蓣皂苷元、 $7\alpha,25$ -二羟基-25(S)薯蓣皂苷元、 7α -羟基薯蓣皂苷元3个羟基化产物,但是转化率偏低,转化时间较长。

1.2 三萜皂苷:已有报道,人参皂苷在肠内的细菌代谢产物起主要药理活性,20(S)-原人参三醇是人参皂苷肠内细菌主要的代谢产物,因此,20(S)-原人参三醇的研究成为热点。Zhang等^[2]利用刺状毛霉菌 *Mucor spinosus* AS 3.3450转化20(S)-原人参三醇,得到9个转化产物。研究表明,底物

* 收稿日期:2009-03-21

作者简介:韩斌青(1979—),男,山西省太原市人,硕士学位,研究方向为天然药物的生物转化研究。

Tel: (010) 66932247 E-mail: hmq0411@sina.com

* 通讯作者 马百平 Tel: (010) 66930265 E-mail: ma_bp@sohu.com

C-12 位的氧化是主要反应,易于发生,产率较高,可能是一种高效特异酶的催化反应,这对于今后深入研究特异性氧化酶具有指导意义。20(S)-原人参三醇及其衍生物细胞毒活性的构效关系研究显示,C-12 位羰基化、C-28 和 C-29 位羟基化能增加细胞毒活性;C-11 β 、C-15 α 、C-23 β 、C-26 和 C-27 位羟基化将减弱细胞毒活性;侧链成环也将减弱细胞毒活性。20(S)-原人参三醇的大多研究集中在母环上的羟化,很少有关于甲基羟基化的报道,因此,这方面的研究对人参皂苷的构效关系的认识意义重大。田茵比较了多种微生物对 20(S)-原人参三醇和 20(S)-原人参二醇两类底物的转化,结果发现,所筛选的微生物对两种化合物的转化均以 C-12 位的羰基化为主;同时发现长柄链格孢霉 *Ahemaria longipes* AS 3. 2875 对 20(S)-原人参二醇有转化活性,而对 20(S)-原人参三醇几乎没有活性;相反绿色木霉 *Trichoderma viride* AS 3. 2942 对 20(S)-原人参三醇有较好的转化,而对 20(S)-原人参二醇几乎不转化。这体现了微生物中的活性酶对底物的选择性。以上的筛选结果对达玛烷型三萜类化合物的生物转化具有一定的参考价值。有人报道陈甘草(其中以甘草次酸为主要成分)对于治疗消化道溃疡更为有利。马晶等^[3]利用刺囊毛霉 *Mucor Spinosus* AS 3. 3450 对甘草次酸进行转化,得到 7 β -羟基甘草次酸。黄鸿志等^[4]利用黑曲霉 *Aspergillus niger* 先将甘草酸 C-3 位上的两个葡萄糖醛酸基水解后,然后在母核的 C-7 和 C-15 位上羟基化,得到两个羟基化产物,并发现其 C-3 位的羟基被氧化成酮基是实现羟基化的关键。

1.3 其他糖苷

1.3.1 强心苷:蟾酥(来源于中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的干燥分泌物)中的主要有效成分为蟾蜍甾烯类化合物(bufadienolides),其中中华蟾毒精(cinobufagin)、蟾毒灵(bufalin)及脂蟾毒配基(resibufogenin)在蟾酥中的量最高。此类化合物具有强心、局部麻醉、抗休克、抗病毒等多种活性,近年又发现有显著的抗肿瘤作用,其中以蟾毒灵的活性尤为显著。Ye 等^[5]利用微生物等酶体系对中华蟾毒精、蟾毒灵、脂蟾毒配基、蟾毒它灵进行了生物转化研究,获得了 80 余个转化产物,其中 50 余个为新化合物。蟾蜍甾烯类及其衍生物细胞毒活性的构效关系研究显示,脂蟾毒配基类的转化产物大多有明显的细胞毒活性,但比底物作用弱;C-12 β 、C-16 β 、C-15 α 、C-16 α 、C-14 α 、C-7 α 、C-11 α 和 C-12 α 等羟基化大多不同程度减弱了细胞毒活性,其中 C-7 β 、C-15 β 及 C-16 α 等位点的羟基取代的衍生物结构对于天然蟾蜍甾烯而言均属罕见。研究还发现链格孢霉 *Ahemaria ahernata* 对华蟾毒精的羟基化反应具有很强的选择性,主要产物均在 C-12 β 发生羟基化,此反应与长柄链格孢霉 *Ahemaria longipes* AS 3. 2875 对 20(S)-原人参二醇 C-12 位羰基化选择性反应极其相似,这对于进一步利用该属霉菌对皂苷位置选择性的研究具有重要参考价值。

1.3.2 C-21 甾苷:李于善等^[6]利用黑根霉 *Rhizopus nigri-*

cans AX86 和黑曲霉 *Aspergillus ochraceu* A28,以三峡白首乌提取分离得到的 C-21 甾苷元告达庭甾苷元(caudatin steroidal aglycones)和开德甾苷元(Kaider steroidal aglycones)作为底物进行 C-11 α 羟基化,研究表明,羟化反应控制 pH 值在 5.0~6.0 很重要,此 pH 值条件下 C-11 位羟化活性高,副反应少,副产物也少;将连续转化或两种霉菌同时加入混合培养两种转化方法进行比较,结果表明,两种霉菌同时加入混合培养转化效果最好;两种霉菌混合培养的羟化机制是先由黑根酶将 C-11 位的 α -H 活化或少量羟化再由黑曲霉引入 C-11 羟基。提示可以利用混合菌培养实现皂苷 C-11 α 羟基的定向转化。

2 水解反应

近年来,通过大量研究发现,甾体皂苷分子中糖链的结构与其生物活性密切相关^[7]。皂苷中的糖链一般较短(2~5 个糖基),其糖基的组成也比较简单,但糖基与糖基之间的连接位置变化多样。因此皂苷中糖链结构的复杂性给糖基的选择性水解研究带来了许多困难。

2.1 三萜皂苷:人参皂苷(约为 30 余种)是人参中的主要活性成分。研究表明,量较少的一些人参皂苷有较高的药理活性,如人参皂苷 Rh₁ 有强的抗癌活性,人参皂苷 G-K 在体内外均具有良好的抑制癌细胞生长和转移作用。因此,人参皂苷糖基的水解成为研究的热点。如将人参二醇类皂苷转化成 Rh₂,人参皂苷 Rb₁ 转化成 Rd,人参皂苷 Re 转化成 Rg₁,人参皂苷 Rb₁ 转化成 F₂ 和 G-K 等。近年来利用微生物或酶对人参皂苷的结构修饰见表 1。

表 1 水解人参皂苷的微生物与酶

Table 1 Microorganisms and enzymes of hydrolyzed ginsenosides

微生物或酶	底物	产物	参考文献
<i>Absidia</i> sp. 39	Re	Rg ₁	
<i>Absidia</i> sp. F7 菌	Rb ₁	Rd	
人参皂苷-葡萄糖苷酶	Rb ₁	Rg ₃	
<i>Caulobacter leidyia</i>	Rb ₁	RF ₂	8
人参皂苷酶	Rb ₁ 、Rb ₂ 、Rc、Rd	Rh ₂ 、Rh ₃ 、Rh ₁ 、Rg ₃	9
小型丝状真菌黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i> 3. 1858 和蓝色犁头霉 <i>Absidia coerulea</i> 3. 3583	Rg ₁	Rh ₁	
真菌 ES T- I、ES T- II 菌株 SYP235	Rg ₁	人参皂苷 F ₁	10
人参皂苷酶	Rg ₃	Rh ₂	11
果胶酶	人参二醇类皂苷	Rh ₂ 、Rh ₃	12
镰刀霉属霉菌	人参、人参果皂苷	人参皂苷 G-K	13
柚苷酶、果胶酶、纤维素酶、乳糖酶	人参二醇系皂苷	人参皂苷 G-K	14

以麦麸为培养基从腐化米霉菌 *Absidia* sp. 中提取出的 β -葡萄糖苷酶能水解人参皂苷 Rb₁ C-20 位末端的一个 β -葡萄糖基,生成 Rd。从腐化米霉菌 *Absidia* sp. 39 中提取出的人参皂苷- α -鼠李糖苷酶对人参皂苷 Re 进行转化生成 Rg₁,转化率达到 56%。人参皂苷 G-K 是非天然的人参皂苷,由于人参皂苷四环三萜母核结构上 C-3 位和 C-20 位糖苷键的特

异性,决定了人参皂苷 C-K 只能由温和的生物转化方法获得,而常用的酸或碱水解方法是行不通的。目前用于制备人参皂苷 C-K 的酶主要是工业酶制剂,国外主要采用柚苷酶、果胶酶、纤维素酶及乳糖酶转化二醇型人参皂苷混合物来制备人参皂苷 C-K。国内学者利用 β -葡聚糖苷酶对三七茎叶总皂苷进行转化也取得了较好的转化效果。复旦大学药学院从野山参土样分离筛选到了高转化活性菌株 *Paecilomyces bainier* sp. 229,并选用价廉易得的二醇型三七茎叶总皂苷作为底物,通过菌种诱变和发酵工艺优化,转化率达到 80% 以上,并已扩大到 10 L 发酵罐规模。韩国学者^[13]找到制备人参皂苷 C-K 的新途径,利用从食物中提取一种果胶酶直接对人参进行转化,此法对转化条件要求低,与以往手段相比具有明显优势,可以用于大规模工业化生产。

最近十几年,以人参二醇系皂苷及人参三醇系皂苷为原料进行生物转化的研究已获得了许多有意义的成果,对转化机制的研究亦取得了不少进展。有文献报道菌株对原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷具有较强的选择性。应用大型药食两用菌对西洋参及其根部提取物进行共培养,并以固态发酵法对人参皂苷进行转化,对不同时间产物中人参皂苷量的测定发现,菌体生长所分泌的酶系对二醇系皂苷有分解的功能,对三醇系皂苷分解功能极弱,并可以产生人参皂苷 C-K。由此推测:真菌酶体系中的水解酶对人参皂苷 C-20 位的葡萄糖有特异的立体选择性,而对 C-6 位的葡萄糖则立体选择性较低。韩冰对 *Absidia* sp. C3g 中的人参皂苷- α 鼠李糖苷酶(RhaG)和 *Absidia* sp. R9g 中芦丁- α 鼠李糖苷酶(RhaR)进行了比较,结果表明,RhaG 只水解人参皂苷 Re 的 C-6 位末端上的一个 α -鼠李糖基,而 RhaR 却能水解芦丁、橙皮苷、柚皮苷的 α -鼠李糖基,说明来源于不同菌种的两种鼠李糖苷酶在酶反应条件和酶反应特性上都存在着差异。这些研究为进一步探讨酶的生物转化作用机制及转化规律奠定了基础。

吴少杰等利用米曲霉 *Aspergillus oryzae* (Ahlb.) Cohn 39 s 和黑曲霉 *Aspergillus niger* v. Tiegh 突变株 UV-48 两种菌株将甘草皂苷转化为单葡萄糖醛酸甘草酸(GAMG),但转化率较低。王云^[15]筛选发现一株绿色木霉 *Trichoderma viride* 能够高效转化甘草酸生成 GAMG,转化率达到 90%。陈永强筛选到的一株产 β -葡萄糖苷酸酶的黄曲霉 HC-12,可水解甘草酸为甘草次酸,转化率较高,产物单一。王小艳筛选到 3 株能表达 β -D-葡萄糖苷酸酶的真菌,发现其在催化同一底物甘草酸时却表现出了不同的催化特性。据目前国内外研究报道 β -D-葡萄糖苷酸酶的表达多存在于人体、老鼠和大肠杆菌中,在真菌和植物中却未见该酶的表达。冯世江^[16]通过建立一种生物催化剂高效筛选的方法,筛选到能够以甘草酸为唯一碳源的 65 株菌株,其中一株真菌经初步鉴定后命名为 *Penicillium* sp. Li-3,其表达的葡萄糖苷酸酶具有高度底物特异性,能定向水解甘草酸后生成 GAMG,而几乎没有副产物甘草次酸的生成。

徐龙权筛选到 3 株对大豆皂苷水解活性较高的菌株,分

别是 *Aspergillus niger* 848s、*A. niger* 48 s 和 *A. oryzae* 39 s,通过提取其粗酶进行转化,确定了大豆皂苷水解的最佳时间为 12 h,最佳 pH 值为 5。日本学者^[17]筛选到一株菌 *Neocosmospora vasinfecta* var. *vasinfecta* PF 1225 能够水解大豆皂苷,结果显示该菌株不仅可以水解大豆皂苷 C-3 位连接的鼠李糖、葡萄糖和半乳糖,还可以水解其内端的葡萄糖醛酸;通过对相关菌株米曲霉 *Aspergillus oryzae* PF 1224 和布氏正青霉 *Eupenicillium brefeldianum* PF 1226 中分离得到的具有相同活性的水解酶进行基因改造,阐明了这些酶的编码基因的基本结构,探讨了其水解大豆皂苷和甘草皂苷 C-3 位的糖链的底物特异性比例为 1 : 1.5。这对于研究皂苷的选择性水解有重要价值。

富瑶瑶^[18]通过菌株筛选发现一株菌 sp. c42 对柴胡皂苷水解活性较高,通过粗酶反应得到低糖基柴胡皂苷,确定了酶的最佳反应时间为 24 h,最佳 pH 值为 5。毛羽^[19]利用黄芪诱导的腐化米霉菌 *Absidia* sp. A3r 所产酶液能较好地水解黄芪总皂苷,进而生成糖基较少的皂苷,确定了酶的最佳反应时间为 24 h,最佳 pH 值为 6。隋玉辉^[20]通过菌种筛选首次发现长柄链格孢霉 *Alternaria longipes* 3. 2875 对百两金皂苷(ardisiacrispin) A 和 B 的 C-3 位的糖链末端葡萄糖基有选择性水解作用,为三萜皂苷去糖基衍生物的制备提供了依据。

2.2 甾体皂苷:薯蓣皂苷具有较好的药理活性,国内的科研人员对其糖基水解也进行了比较系统的研究。金凤燮已申请了“酶法水解薯蓣类皂苷基制备低糖基薯蓣皂苷的方法”的专利。该方法主要是利用胞外发酵液中提取酶来水解皂苷。王元好筛选的 *Absidia* sp. D38b 菌所产的穿山龙薯蓣皂苷酶,刘冰筛选的 sp. s00c 菌所产的穿山龙薯蓣皂苷酶,以及 Qian 等^[21]在猪肝脏中发现的一种量很高且水解能力很强的穿山龙薯蓣皂苷酶,3 种酶水解薯蓣皂苷得到相同糖基水解产物,提示该酶只能水解穿山龙薯蓣皂苷的鼠李糖基。陶媛媛^[22]对从麦麸中提取的穿山龙薯蓣皂苷酶进行分离提纯,并对其酶学性质进行考察,结果表明该酶不仅能水解穿山龙薯蓣皂苷的 α -鼠李糖基,也能水解人参皂苷 Rc 的 20-O- α -阿拉伯糖基和 3-O- β -葡萄糖基,表现出相对专一性。王红英^[23]发现来源于羊肝的一种 α -L-鼠李糖苷酶对穿山龙薯蓣皂苷的 α -鼠李糖基具有高度专一性,该酶不仅能识别其糖苷键的类型,而且还能识别皂苷元的结构。赵玉婷筛选到曲霉属 *Aspergillus* sp. 和交链孢属 *Alternaria* sp. 两菌株可水解薯蓣皂苷得到皂苷元,并预期将曲霉接种于添加了薯蓣皂苷培养基中的生产工艺替代酸水解工艺。

He 等^[24]通过 29 株微生物筛选,发现一株青霉菌 *Penicillium melinii* 对原薯蓣皂苷转化较好,得到 7 个转化产物,其中 3 个为水解产物,3 个为加糖产物。此菌对皂苷 C-3 位的鼠李糖基、C-26 位葡萄糖基均没有选择性。Quan 等^[25]在对原薯蓣皂苷转化时,发现米曲霉 *Aspergillus oryzae* 可以在不水解 C-26 位葡萄糖的情况下,选择性水解甾体皂苷 C-3 位糖链的 1,2 连接的鼠李糖,同时也可生成相应的螺甾及去羟基产物。Feng 等^[26~28]利用新月弯孢霉 *Curvularia lunata*

中的糖苷酶能特异性水解甾体皂苷 C-3 位糖链中 α -1,2 连接的末端鼠李糖基,同时转化制备了 28 种去 α -1,2 鼠李糖基的次生皂苷。该酶明确不水解 α -1,4 鼠李糖和其他糖基,具有高度的底物专一性和严格的位置选择性,且活性较高,产物单一。进一步将新月弯孢霉 *Curvularia lunata* 中的特异性糖苷酶分离、纯化,通过消化和 MALDI-TOF/TOF 鉴定蛋白结构,表明此酶与来源于米曲霉 *Aspergillus oryzae* 中的 α -1,4-葡萄糖糖苷酶 (EC 3.2.1.3、GA- γ -淀粉酶、糖化酶)同源,而与 α -L-鼠李糖苷酶 (EC 3.2.1.40) 的氨基酸序列不同,同时对该酶酶学性质进行了研究。

3 研究方向及展望

我国天然产物的生物转化研究工作的发展大致可分为 3 个阶段。20 世纪的 60~80 年代,以植物组织和细胞培养为主要研究手段;1980 年之后,植物悬浮细胞培养成为研究热点;到了 20 世纪 90 年代以后,随着微生物、酶在大量天然产物转化中的广泛应用,该领域的研究进入了高潮。

然而这些研究的主流仍停留在酶、微生物及植物细胞的筛选水平,对转化规律的总结、酶作用机制的研究相对薄弱,尤其从分子水平对生物转化关键酶的立体结构、底物与酶相互结合的具体位点、以及酶的分子结构与其位置和立体选择性关系的研究更少。目前的研究结果还难于指导酶及微生物的选择,限制了其在天然产物结构修饰中的应用。

随着生物技术的日趋成熟,酶工程和基因工程研究的深入,应用微生物及其酶对天然产物的结构修饰的发展趋势从微生物的纯培养到混合培养、从关键酶的分离纯化到利用基因工程对关键酶结构的改造,其目的就是要高效、稳定地合成目标化合物。

(1) 多种微生物的协同作用:人类对微生物的利用经历过天然混合培养到纯种培养两个阶段,但是,在长期的实验和生产实践中,人们也不断地发现很多生物过程是单株微生物不能完成或只能微弱地进行,必须依靠两种或两种以上的微生物共同培养完成。对皂苷元这类溶解性较差的化合物来讲,提高转化率的方法除增加底物的溶解性以外,也可以利用多种具有相同活性的菌株协同转化。这种协同作用机制可解释为在混合发酵过程中,一种微生物必须能够在另一种微生物存在的条件下诱导产生自身酶系统。随着对微生物之间互生和共生现象研究的深入,相信多种微生物混合培养对皂苷的结构修饰具有一定的开发前景。

(2) 关键酶的分离纯化:迄今已有多种关键酶被分离出来,如人参皂苷 β -葡萄糖糖苷酶、甾体皂苷 α -1,2 鼠李糖苷酶、穿山龙 α -鼠李糖苷酶,以及合成异羟基洋地黄毒苷 (digoxin) 的洋地黄毒苷 1 β -羟基化酶。这些分离得到的酶,对指导从微生物中有目的的筛选关键酶,以及有目的的定向转化奠定了理论基础,并具有重要的应用价值。

(3) 酶及基因工程:目前,已经有许多天然药物的生命合成途径基本被阐明,在生物合成途径中的一些关键酶也被确定。甾体皂苷的生物合成途径是甲羟戊酸 (MVA) 在 ATP 和一系列合成酶与还原酶的作用下生成胆固醇;胆固醇在各

种葡萄糖转移酶的作用下,通过 3 种途径分别合成螺甾烷型皂苷、甾甾烷型皂苷和胆甾烷型皂苷。胆固醇生物合成甾体皂苷的关键酶主要有 C-26 (27)、C-16 和 C-22 位加氧酶,26- β -糖苷酶,26-O-糖基转移酶和 3-O-糖基转移酶。其中,对加氧酶和 26-O-糖基转移酶研究报道较少,而对 26- β -糖苷酶和 3-O-糖基转移酶研究较为深入^[29]。这些生物合成中关键酶的研究和基因克隆为在分子水平上改造这些药物合成途径,提高其合成能力提供了可能。

目前利用微生物或酶对皂苷的生物转化研究还处于初级阶段,研究大多集中在皂苷糖基的水解,对皂苷羟基化、糖基化、异构化和乙酰化结构修饰的研究较少。但随着相关学科的发展和科研成果的不断涌现,这一技术必将在皂苷的开发与利用等领域发挥更加重要的作用。

参考文献:

- [1] 田茵. 人参薯蓣皂苷元的微生物转化及抗肿瘤活性研究 [D]. 北京:北京大学, 2004.
- [2] Zhang J, Guo H Z, Tian Y, et al. Biotransformation of 20 (S)-protopanaxatriol by *Mucor spinosus* and the cytotoxic structure activity relationships of the transformed products [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(2): 2523-2530.
- [3] 马晶, 辛秀兰, 张薇, 等. 刺囊毛霉对甘草酸微生物转化研究 [J]. 北京化工大学学报, 2008, 35(1): 79-82.
- [4] Huang H Z, Feng B, Ma B P, et al. Biotransformation of glycyrrhizin by *Aspergillus niger* [J]. *Biocatal Biotrans*, 2009, 27(2): 1-6.
- [5] Ye M, Han J, Guo D A. Microbial hydroxylation of bufalin [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(4): 625-628.
- [6] 李于善, 贺艳. 白首乌甾元 C11 α -羟基化的两种微生物转化 [J]. 化学与生物工程, 2008, 25(7): 48-50.
- [7] Zhao Y, Kang L P, Liu Y X, et al. Steroidal saponins from the rhizome of *Paris polyphylla* and their cytotoxic activities [J]. *Planta Med*, 2009, 75: 356-362.
- [8] Chen G L Q, Kim M K, Lee J W, et al. Conversion of major ginsenoside Rb₁ to ginsenoside F₂ by *Caulobacter leidyia* [J]. *Biotechnol Lett*, 2006, 28(14): 1121-1127.
- [9] 薛丽莉, 周海彬, 李龙华, 等. 酶转化人参皂苷中间产物 Rg₃ 皂苷的分析 [J]. 大连轻工业学院学报, 2007, 26(1): 1-4.
- [10] 吴秀丽, 张怡轩, 赵文倩, 等. 真菌 EST-I 及 EST-II 对人参皂苷 Rg₁ 定向转化为人参皂苷 F₁ 的研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(1): 73-76.
- [11] 吕秀丽, 张怡轩, 赵文倩, 等. 一种真菌对人参皂苷 Rg₃ 的转化 [J]. 微生物学报, 2008, 48(9): 1181-1185.
- [12] 吕迪, 王亮, 朱靖博. 酶解产物人参稀皂苷 Rh₃ 的制备与分离 [J]. 大连轻工业学院学报, 2005, 24(3): 182-185.
- [13] Kim B, Lee S, Cho H, et al. Biotransformation of Korean *Panax ginseng* by *Pectinex* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(12): 2472-2478.
- [14] 崔宇, 姜彬慧, 韩颖, 等. 微生物对人参总皂苷中人参皂苷 G-K 转化作用 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 189-193.
- [15] 王云. 微生物转化甘草酸生成单葡萄糖醛酸甘草酸 [J]. 食品工业科技, 2005, 26(11): 159-160.
- [16] 冯世江, 李春, 李晖, 等. 葡萄糖苷酶生产菌株的筛选及其酶学特性的研究 [J]. 高校化学工程学报, 2007, 6(21): 977-982.
- [17] Watanabe M, Sumida N, Yanai K, et al. Cloning and characterization of saponin hydrolases from *Aspergillus oryzae* and *Eupeenicillium brefeldianum* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69(11): 2178-2185.
- [18] 富瑶瑶, 张波, 苏晓凤, 等. 发酵产柴胡皂苷的研究 [J]. 大连轻工业学院学报, 2007, 26(2): 136-139.
- [19] 毛羽, 鱼红闪, 金凤雯, 黄氏皂苷糖苷酶产生菌的筛选及其酶反应条件 [J]. 大连轻工业学院学报, 2005, 24(1): 19-21.
- [20] 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.
- [21] Qian S, Yu H, Zhang C, et al. Characterization of dioscinin-L-rhamnosidase from pig liver [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(8): 911-914.
- [22] 陶媛媛, 张波, 鱼红闪, 等. 植物来源穿山龙皂苷酶的分离提纯及其酶性质 [J]. 大连轻工业学院学报, 2007, 26(2): 120-123.
- [23] 王红英, 钱斯日古楞, 鱼红闪, 等. 羊肝源穿山龙薯蓣皂苷- α -L-鼠李糖苷酶的分离及其动力学特征 [J]. 高等学校化学

- 学报, 2007, 28(4): 663-667.
- [24] He X J, Qiao A M, Yao X S, et al. Bioconversion of methyl protodioscin by *Penicillium melinii* cells [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2005, 38: 400-406.
- [25] Quan B, Ma B P, Feng B, et al. The microbiological transformation of protodioscin by *Aspergillus oryzae* [J]. *Chin J Nat Med*, 2006, 4(5): 377-381.
- [26] Feng B, Ma B P, Kang L P, et al. The microbiological transformation of steroidal saponins by *Curvularia lunata* [J]. *Tetrahedron*, 2005, 61: 11758-11763.
- [27] Feng B, Kang L P, Ma B P, et al. The substrate specificity of a glucoamylase with steroidal saponin-rhamnosidase activity from *Curvularia lunata* [J]. *Tetrahedron*, 2007, 63: 6796-6812.
- [28] Feng B, Hu W, Ma B P, et al. Purification, characterization, and substrate specificity of a glucoamylase with steroidal saponin-rhamnosidase activity from *Curvularia lunata* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 76: 1329-1338.
- [29] 陈莉, 张剑波. 甾体皂苷的生物合成 [J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19: 316-320.

药用甘草植物资源生态学研究探讨

周应群^{1,2}, 陈士林^{1*}, 赵润怀^{2*}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 中国药材集团公司, 北京 100195)

摘要:甘草是中药中使用最为广泛的药用植物, 其资源状况直接影响到中药事业的健康发展。总结分析了药用甘草植物的资源生态学研究现状, 并对其今后的研究思路进行了探讨。

关键词:甘草; 生态; 资源; 中药

中图分类号: R282.23

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)10-1668-04

Studies on resource and ecology of medicinal plant licorice

ZHOU Ying-qun^{1,2}, CHEN Shi-lin¹, ZHAO Run-huai²

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. China National Group Corp. of Traditional Chinese Material Medicines, Beijing 100195, China)

Key words: licorice; ecology; resource; Chinese materia medica (CMM)

药用甘草,《中国药典》2005年版收载其原植物有乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.、光果甘草 *G. glabra* L., 不仅在中医中使用频繁, 有“十方九草”之说, 在其他领域也应用广泛, 遍及食品加工、日化等行业。近年来, 由于过度开发利用, 野生甘草资源出现了严重危机, 甘草供求矛盾日益激烈, 研究其资源状况, 揭示影响其生长发育及质量的生态因子对于开展资源繁育, 保护日益紧缺的甘草资源具有重要意义。本文拟对药用甘草资源生态学方面的研究进行概述, 并探讨其今后的研究方向。

1 资源的分布

多年来的资源调查工作发现, 甘草具有整体上分布范围广, 在局部呈聚集性分布的特点, 甘草广泛分布于我国西北干旱区域的温带荒漠区域和温带草原区域, 随着气候带的延伸, 呈东西长、南北极窄的带状分布。其中乌拉尔甘草集中分布于西鄂尔多斯高原的几个相关县市, 及新疆叶尔羌—塔里木河流域; 胀果甘草集中分布于新疆南疆; 光果甘草的世界分布中心在地中海北部沿岸, 在中国集中分布于新疆天山南北坡水源较充足的地方^[1,2]。近年来也有学者对甘草进行了区域性的调查, 调查内容包括蕴藏量、群落多样性、种群密

度、盖度、植株高度、等级草比例等。从总体来看, 甘草资源的破坏仍很严重, 需要加强保护, 研究表明, 野生甘草的遗传多样性还是比较丰富的, 如果采取一定的保护措施, 是可以得到恢复的^[3]。

空间分布格局方面, 只针对乌拉尔甘草进行了研究。地上部分空间分布格局方面, 从宁夏盐池实验地的状况看, 宁夏野生甘草不同尺度空间分布的异质性不十分强烈, 在整个所有尺度上受简单过程控制, 在干旱半干旱地区, 水肥条件普遍较差的情况下, 土壤质地的异质性可能是导致甘草分布异质性的重要原因, 土壤质地疏松有利于甘草匍匐茎的自然延伸和新植株的产生, 因此甘草在沙质土壤中广泛分布, 形成与沙质土壤质地相对应的较多植株团块分布和坚硬质地上的稀疏分布的格局^[4]。地下部分生长格局方面, 种子根、不定根、水平地下茎和垂直地下茎以及吸收根组成甘草地下部分, 其生长分布格局在一定程度上影响着甘草酸在地下各器官中的分布, 水平地下茎的生长年限, 不定根的粗度对甘草酸的合成有一定影响, 不定根和垂直地下茎的分布格局影响水平地下茎中甘草酸的合成和积累, 全株的水平地下茎、粗度大于 0.5 cm 以上的不定根、垂直地下茎三者之间甘

* 收稿日期: 2009-03-30

基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BA109B02-2)

作者简介: 周应群 (1979—), 男, 江西省鄱阳县人, 在读博士研究生, 研究方向为中药资源方法学研究。

Tel: (010) 61252991 E-mail: zhongyaoziyuan@126.com

* 通讯作者 陈士林 Tel: (010) 62899700 E-mail: slchen@implad.ac.cn