

中药皂苷类化合物生物转化研究进展

李忆红, 梁雨璐, 解嘉琪, 王 灿*, 黄建梅*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘 要: 皂苷广泛存在于药用植物中, 按母核结构可分为三萜和甾体皂苷, 具有多种药理活性。众多研究发现皂苷中糖基部分的组成与其药理活性密切相关, 改变皂苷分子中的糖基数量和结构能改变皂苷的药理活性及其生物利用度, 为开发药物提供更多的化合物资源。相较于传统的化学方法, 皂苷生物转化修饰糖基部分具有选择性高、成本低、污染小等优点, 被广泛用于次级皂苷与皂苷元的制备。通过对皂苷脱糖基转化生成较高生物活性的次级皂苷与苷元的研究进展进行综述, 为皂苷类化合物生物转化研究提供思路和方法。

关键词: 皂苷; 生物转化; 肠内菌; 微生物; 酶; 脱糖基; 人参皂苷; 绞股蓝皂苷; 黄芪甲苷

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)03-0989-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.029

Research progress on biotransformation of saponins from traditional Chinese medicine

LI Yihong, LIANG Yulu, XIE Jiaqi, WANG Can, HUANG Jianmei

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Saponins, which are present in various medicinal plants, can be categorized into triterpenoid saponins and steroidal saponins based on the structure of their core nucleus, which have various pharmacological activities. Many studies have found that the composition of glycoside is closely related to its pharmacological activity, altering the number and structures of glycosyl groups attached to saponins can modulate their pharmacological activity and bioavailability, thereby offering potential avenues for drug development. Biotransformation of saponins, as opposed to traditional chemical methods, presents several advantages such as heightened selectivity, reduced costs, and minimal environmental impact and has extensive application in the synthesis of secondary saponins and sapogenin. This paper reviews the research progress of secondary saponins and aglycans with high biological activity from the deglycosylation of saponins, which provided the idea and method for the biotransformation of saponins.

Key words: saponins; biotransformation; intestinal bacteria; microorganism; enzyme; deglycosylation; ginsenosides; gypenoside; astragaloside-IV

皂苷是由皂苷元与糖基通过糖苷键连接而成的糖苷类化合物, 在水溶液中可形成肥皂状泡沫, 故得皂苷之名。皂苷类化合物广泛分布于陆生植物中, 少量存在于海绵、海星、珊瑚等海洋生物中^[1], 皂苷按其苷元碳骨架结构可分为三萜和甾体皂苷。三萜皂苷在豆科(甘草、黄芪等)、五加科(人参、三七等)、桔梗科(桔梗等)、远志科(远志等)、伞形科(柴胡等)和石竹科等植物中分布较多; 甾体皂

苷大部分分布于百合科(知母、重楼等)、薯蓣科(薯蓣等)和玄参科等植物中。皂苷在中药中广泛存在, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎、抗菌、解热、镇静等生物活性^[2]。与生物碱、黄酮等其他天然产物不同, 皂苷原型成分口服后生物利用度相对较低, 但通过生物转化可以获得生物利用度相对较高的次级皂苷和苷元, 其生物学活性增强。研究发现人参皂苷药效活性与人参皂苷分子糖基数量有关, 如稀有人参

收稿日期: 2023-07-26

作者简介: 李忆红, 女, 硕士研究生, 研究方向为抗焦虑中药及生物转化。E-mail: liyihong98@126.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82304811); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2023-JYB-JBQN-056)

*通信作者: 黄建梅, 博士生导师, 从事中药有效成分及体内过程分析研究。E-mail: huangjm@bucm.edu.cn

王 灿, 讲师, 从事中药防治代谢性心血管疾病研究。E-mail: 202001027@bucm.edu.cn

皂苷具有更高的药理活性, 药动学性质优于原型人参皂苷^[3-4], 稀有人参皂苷与人参皂苷具有相同的母核结构, 只是糖基的数量不同, 说明修饰皂苷分子中的糖基部分, 对提高其药理活性及生物利用度具有重要意义。

天然皂苷可以通过水解而获得次级皂苷及其衍生物、苷元, 常见的方法有物理(加热)、化学(酸、碱水解)和生物转化等方法, 其中生物转化包括肠道菌群转化、微生物转化和体外酶催化。酸水解反应条件剧烈, 易使苷元发生脱水、双键移位和环合等结构变化^[5-6], 无法控制糖基的选择性水解。另外, 利用酸碱水解皂苷的方法副反应产物较多, 水解产物仍需进一步处理。因此, 近年来皂苷成分转化生成次级皂苷及苷元的研究主要集中于生物转化领域, 由于其反应条件温和, 具有更强的位置选择性和立体选择性, 被广泛应用于研究和生产中。生物转化主要反应类型包括糖基水解反应、氧化还原反应、羟基化及断裂重排反应等^[7-8], 其中以糖基水解反应应用最为广泛。本文结合国内外近年研究成果, 对不同类型的皂苷化合物通过生物转化的方式水解糖基的文献进行整理, 为后续皂苷定向修饰糖基的研发和利用的研究提供思路 and 参考。

1 三萜皂苷的生物转化

1.1 四环三萜

1.1.1 人参皂苷 人参皂苷根据其苷元骨架可分为达玛烷、奥克梯隆醇和齐墩果烷型, 其中大多数人参皂苷母核结构属于达玛烷型^[9], 且是人参的主要活性成分, 根据苷元羟基位置的不同进一步将达玛烷型人参皂苷分为原人参二醇(protopanaxadiol, PPD)和原人参三醇(protopanaxatriol, PPT)型, PPD 型人参皂苷的糖基位于达玛烷的 C-3 和 C-20 位, PPT 型人参皂苷的糖基位于 C-6 和 C-20 位^[10]。人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rc、Rd、Rg₁ 等皂苷侧链含有多个糖基, 占人参总皂苷的 80% 以上, 被认为是人参皂苷的主要成分^[11-12]。相比之下, 次级人参皂苷 F₂、CK、Rg₃、Rh₂ 占人参总皂苷的比例不到 0.1%^[13]。综合文献分析发现, 人参皂苷的糖基水解反应主要发生在 C-3、C-6 和 C-20 位, 水解脱去葡萄糖基、鼠李糖基、呋喃型阿拉伯糖基和吡喃型阿拉伯糖基。人参皂苷在体内主要的代谢途径为逐级脱糖基, 将 PPD 型人参皂苷 Rd、F₂、Rg₃、CK、Rh₂ 与人源肠道菌群离体孵育培养, 发现人参皂苷 Rd 的主要转化产物为人参皂苷 F₂、Rg₃、Rh₂、CK 和 PPD; 人参

皂苷 F₂ 主要转化产物为人参皂苷 CK 和 PPD; 人参皂苷 Rg₃ 主要转化产物为人参皂苷 Rh₂ 和 PPD; 而人参皂苷 Rh₂ 和人参皂苷 CK 又可以生成 PPD^[14-15]。离体大鼠肠道菌群对人参皂苷 Rb₁ 的水解也是逐级脱糖基的过程^[16]。人参总皂苷在体内肠道菌群中的代谢同离体肠道菌群一致, Guo 等^[17]验证了肠道菌群转化三七皂苷的过程, 结果发现在常规饲养大鼠血浆中检测到人参皂苷 F₁、Rh₂、CK 3 个次级皂苷和 PPT, 而在无菌大鼠血浆中未检测到, 因此推断人参皂苷体内的代谢基本规律为四糖皂苷→三糖皂苷→二糖皂苷→单糖皂苷→皂苷元^[18]。

Chi 等^[19]研究发现, 多种微生物协同作用可以通过人参皂苷 Rd→人参皂苷 F₁→人参皂苷 CK 的途径将人参皂苷 Rb₁ 转化为人参皂苷 CK、Rh₂; 通过人参皂苷 Re→人参皂苷 Rg₂、Rg₂→人参皂苷 Rh₁ 的途径将人参皂苷 Re 转化为人参皂苷 Rh₁。从韩国主食泡菜中提取的各种菌株, 如 *Leuconostoc citreum* LH1, 可以很好地将 PPD 型人参皂苷转化为人参皂苷 CK^[20]。Kim 等^[21]筛选出 12 种菌株, 其中 *M. trithecenlyticum* 可将人参皂苷 Rb₁ 转化为人参皂苷 Rh₂。Zhou 等^[22-23]研究表明, *A. niger* 3.3883 和 *A. oryzae* 3.591 菌株的混合孢子液在 7% 海藻酸钠培养基中能够将人参皂苷 Rb₁ 转化为人参皂苷 Rd、Rg₃, 利用 *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, 可以水解人参皂苷 Rg₃ 中 C-3 位葡萄糖基, 获得人参皂苷 Rh₂^[24]。Hu 等^[25]利用来自 *Bifidobacterium adolescentis* ATCC15703 的 β-葡萄糖苷酶研究人参皂苷的生物转化, 以人参皂苷 Rb₁ 和 Rd 为底物, 人参皂苷 Rb₁ 的 C-3 葡萄糖基部分水解生成绞股蓝皂苷-XVII (gypenoside-XVII, Gyp-XVII), 人参皂苷 Rd 脱去 C-3 外侧葡萄糖基生成人参皂苷 F₂; 人参皂苷 Rb₁ 脱去 C-3 和 C-20 外侧葡萄糖基水解生成 Gyp-XVII 和人参皂苷 Rd。

人参皂苷结构包括 1~4 个糖苷键, 常见的糖基有 β-葡萄糖基、L-阿拉伯糖基和 L-鼠李糖基。因此, 通过使用特定糖苷酶(如 α-L-呋喃型阿拉伯糖苷酶、α-L-吡喃型阿拉伯糖苷酶、β-葡萄糖苷酶或果胶酶)选择性水解不同位置的糖基, 将人参皂苷水解制备次级人参皂苷是可行的^[26]。Zhang 等^[27]从枯草芽孢杆菌中克隆并优化了呋喃型阿拉伯糖苷酶基因, 能特异性水解人参皂苷 Rc 阿拉伯糖糖基, 将其转化生成人参皂苷 Rd, Kim 等^[28]报道了一种重组酶 α-L-吡喃型阿拉伯糖苷酶, 通过选择性水解 C-20 位的吡

喃型阿拉伯糖基,可高效催化人参皂苷 Rb_2 转化为人参皂苷 Rd 。 α -鼠李糖苷酶能够水解 PPT 型人参皂苷 C-6 位的鼠李糖产生人参皂苷 Rg_1 、 Rh_1 ^[29],此外,Chang 等^[30]对来自 *Aspergillus niger* KCCM 11239 的 β -葡萄糖苷酶进行优化,该酶在人参皂苷 Rb_1 的 C-20 位水解葡萄糖基生成人参皂苷 Rd 和 Rg_3 ,在 C-3 位水解葡萄糖基生成人参皂苷 F_2 , β -葡萄糖苷

酶 MT619 利用 2 种转化途径将人参皂苷 Rb_1 转化为次级人参皂苷 CK 和 PPD^[31]: 人参皂苷 $Rb_1 \rightarrow Gyp-XVII \rightarrow Gyp-LXXV \rightarrow$ 人参皂苷 CK $\rightarrow$ PPD; 人参皂苷 $Rb_1 \rightarrow Gyp-XVII \rightarrow$ 人参皂苷 $F_2 \rightarrow$ 人参皂苷 CK $\rightarrow$ PPD, 果胶酶可将人参皂苷 Rb_1 转化为人参皂苷 Rd ^[32]。对人参皂苷转化途径及生物转化情况见图 1。

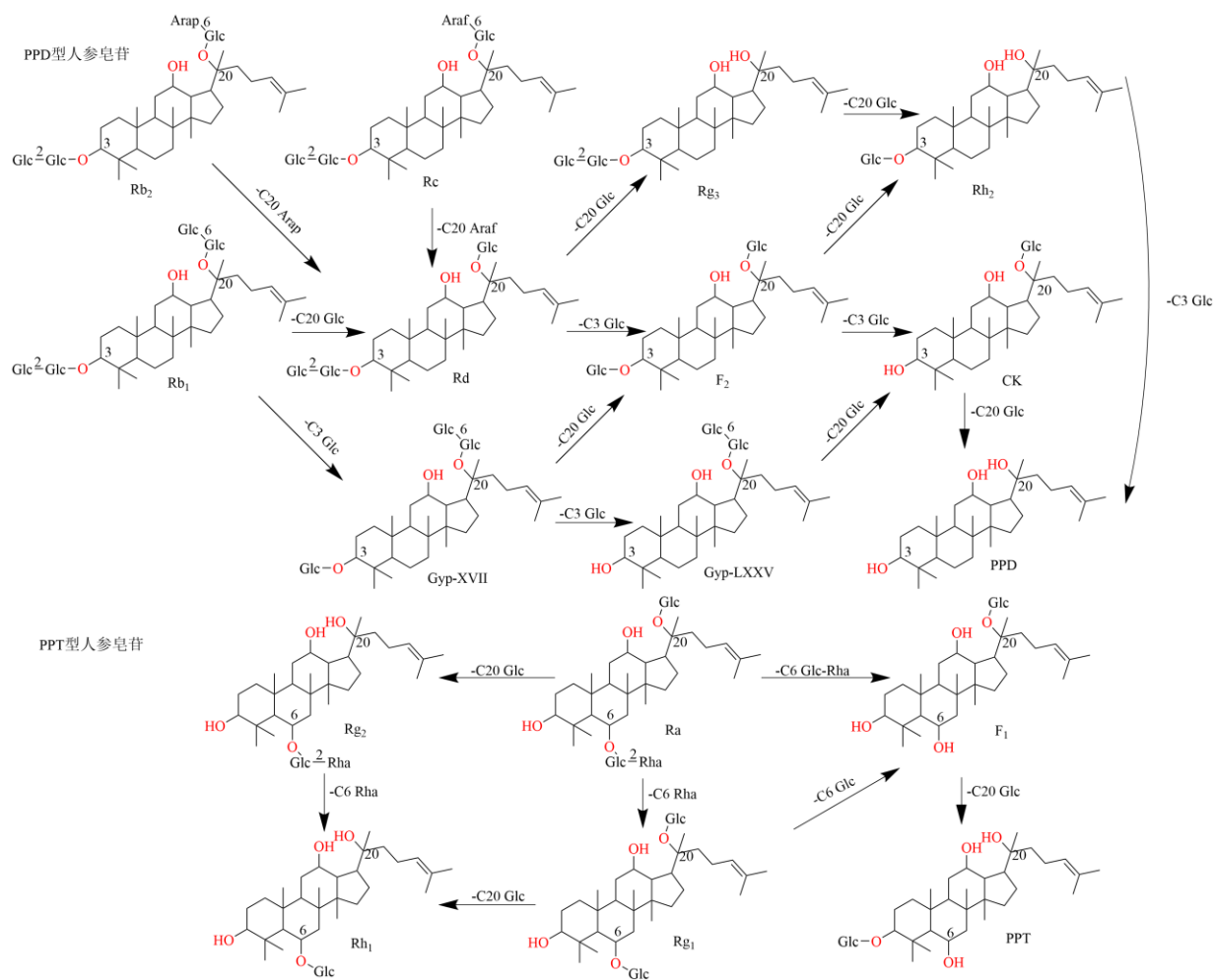


图 1 人参皂苷的生物转化途径

Fig. 1 Biotransformation pathway of ginsenosides

1.1.2 Gyp 目前, Gyp 的生物转化研究部分和人参皂苷重合, 如 Gyp-XVII、LXXV 转化途径, Gyp 生物转化途径见图 2。Chen 等^[33]研究发现给予大鼠 Gyp-LVI 后, 其在大鼠体内的主要转化代谢过程是脱糖基和脱水, 5 个代谢物分别是 Gyp-XLVI、Gyp-L、Gyp-LI、达木林 B 和 A。保加利亚乳杆菌对 Gyp-XLVI 的主要转化物与大鼠胃肠道转化产物一致, 分别为 Gyp-L、Gyp-LI、达木林 A 和 B^[34]。

利用高效液相色谱对比分析, 发现 Gyp 经微

生物 *Aspergillus glaucus* 转化后, 产生低极性的次级皂苷, 陈良华等^[35]利用微生物 FFCDL-90 菌株得到的鼠李糖苷酶将 Gyp-5 转化为人参皂苷 Rd 。以多糖基原型 Gyp 为底物, 筛选出高产 Gyp 糖苷酶的菌株 *Absida* sp. GYP4r, 采用离子交换色谱法分离纯化得到 Gyp 糖苷酶能够特异性水解 Gyp, 对 $pNP-\alpha-D-Glc$ 、 $pNP-\beta-D-Glc$ 、 $pNP-\alpha-D-Gal$ 均具有水解能力^[36-38]。

通过使用 *Fervidobacterium pennivorans* DSM9078

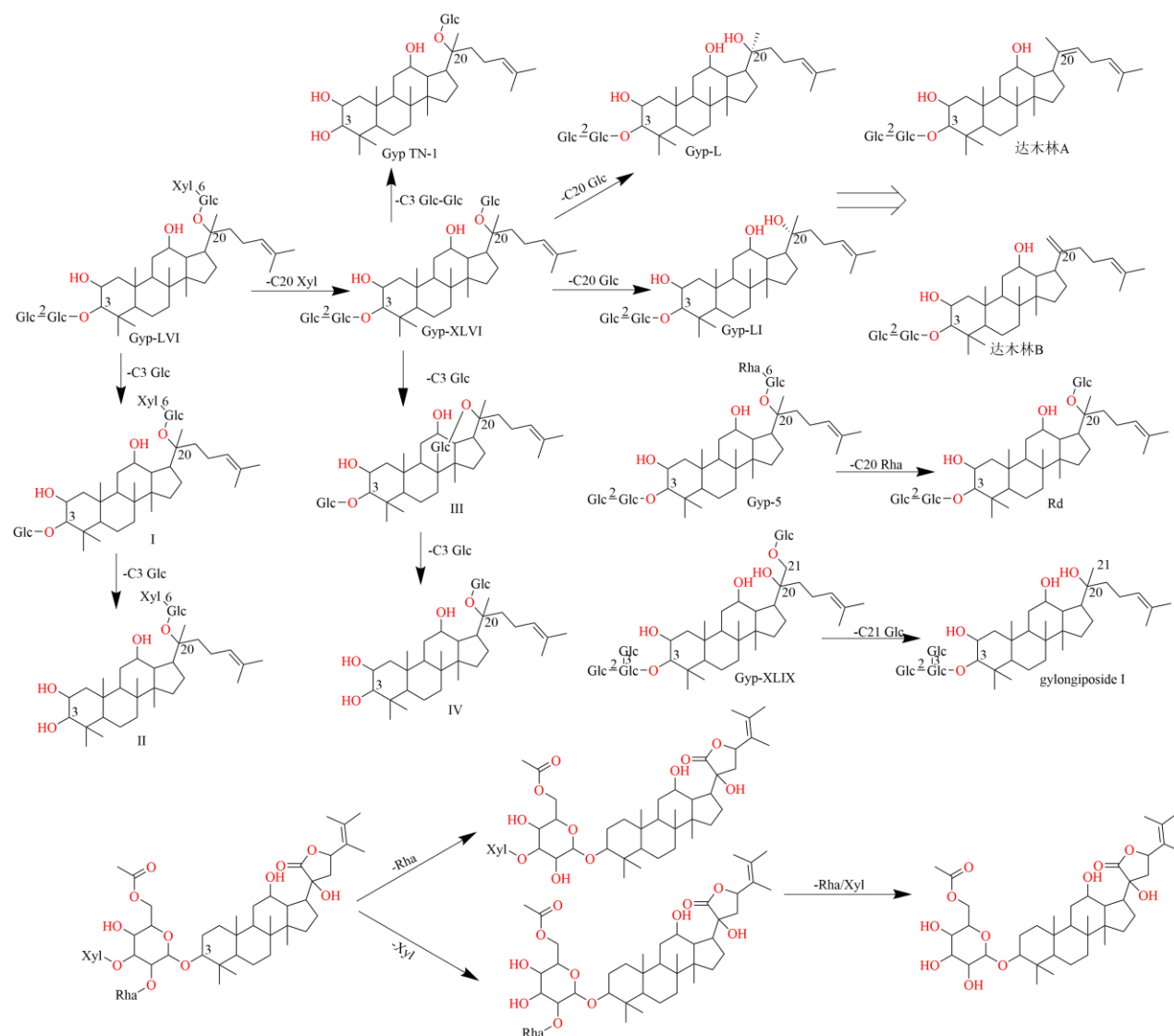


图 2 绞股蓝皂苷的生物转化途径

Fig. 2 Biotransformation pathway of gypenosides

产生的重组酶将 Gyp-XLIX 脱去 C-21 位葡萄糖基水解转化生成 gylongiposide I^[39], Gyp-XLVI 通过柚皮苷酶转化生成 Gyp-TN-1^[40]。刘玥^[41]利用 NLZ-R 和 NLZ-X 特异性水解 Gyp-NPLC0394 的鼠李糖糖基和木糖糖基, 生成化合物 A~C; 利用蜗牛酶可以水解 Gyp-LVI 和 Gyp-XLVI 的葡萄糖基, 生成 2-羟基-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(20S)-原人参二醇-20-O-[β-D-吡喃木糖基-(1→6)]-β-D-吡喃葡萄糖苷 (I)、2-羟基-(20S)-原人参二醇-20-O-[β-D-吡喃木糖基-(1→6)]-β-D-吡喃葡萄糖苷 (II)、2-羟基-3-O-β-D-吡喃葡萄糖-(20S)-原人参二醇-20-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (III)、2-羟基-(20S)-原人参二醇-20-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (IV)。

1.1.3 黄芪皂苷 黄芪皂苷是黄芪的主要药效成

分, 在黄芪研究中占有重要地位。目前关于黄芪皂苷生物转化的研究较少, 但对其皂苷结构的修饰, 如脱乙酰基、脱糖基途径的规律总结较充分。黄芪皂苷在肠道菌群中的主要转化途径包括脱糖基、脱乙酰基、脱氢等, 共同转化产物为环黄芪醇 (cycloastragenol, CA)。孟欣桐等^[42]研究表明黄芪甲苷 (astragaloside-IV, AS-IV) 可经人源肠道菌群脱糖基后, 转化成易吸收入血的 CA, 大鼠肠道菌也可将 ASI 脱去 C-3 和 C-6 位的木糖基和葡萄糖基生成环黄芪醇-6-O-β-D-吡喃葡萄糖苷和 CA^[43]。AS-IV 与大鼠肠道菌群离体孵育 4 h, 脱去 C-3 和 C-6 位糖基, 水解生成环黄芪醇-6-O-β-D-葡萄糖苷 (brachyoside B, Bra B)、cyclogaleginoside B (Cyc B)、CA 和氧化型 CA^[44]。

刘晓会^[45]从不同来源的霉菌中筛选到能够转化黄芪总皂苷生成 AS-IV 的菌种——*Absidia corymbifera* AS2。采用微生物转化技术，以黄芪总皂苷作为底物，通过发酵转化提高 AS-IV 含量，并在黄芪总皂苷中鉴定出 4 个可以转化为 AS-IV 的化合物，经结构鉴定分别为黄芪皂苷 I (astragaloside I, ASI)、异 ASI (isoASI)、ASII 和 isoASII，进一步研究该菌株生物转化的机制发现，其所表达的乙酰酯酶可有效水解 ASII 中 C-3 位吡喃木糖基残基的乙酰基，转化途径分别是 ASII→ASI、isoASII→ASII→AS-IV、ASI→(ASII、isoASII)→AS-IV、isoASI→ASII→AS-IV^[46-47]。利用 *Penicillium canescens* 也可将黄芪总皂苷向 AS-IV 转化，使 AS-IV 含量显著升高，是未转化前的 5.51 倍^[48]。8

种不同的菌株进行 AS-IV 的生物转化研究，发现 *A. niger* M85 生物转化活性最强，转化后 AS-IV 含量是未转化前的 11.7 倍^[49]。阮鸣^[50]使用不同的药(食)用真菌发酵黄芪，发现均可以将 ASI 转化成异 AS-IV，推测其转化机制为菌株生长过程中所产生的木糖苷酶水解 AS-IV C-3 位木糖基后将其转化成异 AS-IV。Wang 等^[51]利用 *Bacillus* sp. LG-502 成功将 ASI 转化为 CA，经核磁和质谱分析，推测其对 AS-IV 的转化途径与肠内菌转化相似，转化机制为 *Bacillus* sp. LG-502 分泌的葡萄糖苷酶和木糖苷酶，AS-IV 在活性更高的葡萄糖苷酶的作用下优先脱去 C-6 位葡萄糖基，随后脱去 C-3 位木糖基生成 CA，黄芪皂苷类化合物的生物转化途径见图 3。

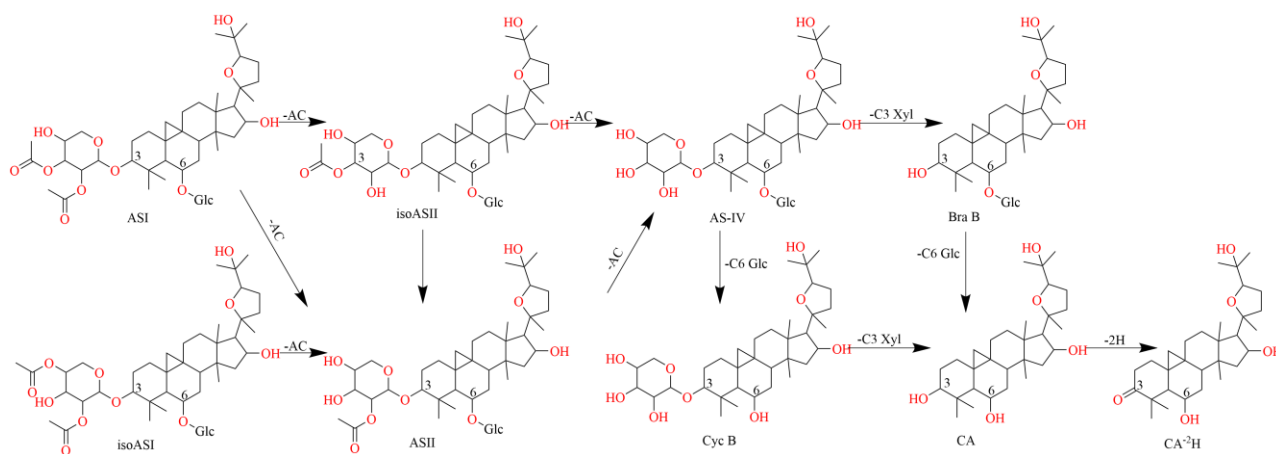


图 3 黄芪皂苷的生物转化途径

Fig. 3 Biotransformation pathway of astragalosides

Cheng 等^[52]使用来自 *Trichoderma reesei* 的 2 种酶 (β -木糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶) 将 AS-IV 转化生成 CA。来源于 *Dictyoglomus thermophilum* 的 β -葡萄糖苷酶和 β -木糖苷酶也能将 AS-IV 转化生成 CA^[53-54]。商品化的 β -葡萄糖苷酶可以将黄芪甲苷 C-3 位木糖基脱去生成 Bra B^[55]。从 *Absida* sp. A3r、A84r、A9r、A8r、A38r、ARr 6 种菌株中筛选出了黄芪皂苷糖苷酶高产菌株，可以将多糖基的黄芪皂苷转化生成低糖基的次级皂苷^[56-57]，研究还发现，来自 *Absidia* sp. A3r 的黄芪皂苷糖苷酶特异性强，底物为人参皂苷 Re、ASI 和柴胡皂苷等均未发生脱糖基的水解反应，该酶只水解四环三萜环阿屯烷型的黄芪皂苷 C-16 位的 α -鼠李糖基^[58]。

1.1.4 罗汉果皂苷类成分 Zhou 等^[59]在 ig 罗汉果皂苷 V 于大鼠后，在血浆、尿液、胆汁和粪便样品

中发现罗汉果皂苷 V 的脱糖基代谢物，其转化是依次脱去不同数量和位置上的葡萄糖，李典鹏等^[60]在大鼠体外代谢研究中得出相同结论。经人源肠道菌群孵育，罗汉果皂苷 III 依次脱去 C-3 位葡萄糖基和 C-24 位龙胆二糖基水解生成次级皂苷罗汉果皂苷 II_{A1} 和皂苷元罗汉果醇^[61]。

采用产高活性 β -葡萄糖苷酶的青霉属真菌 J-9 对罗汉果总皂苷进行生物转化，转化生成次级皂苷产物的化学结构：罗汉果醇-24-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (A)、B 为罗汉果皂苷 III_E (B)、11-酮-罗汉果醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-24-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (C) ^[62-63]。罗汉果总皂苷经 β -葡萄糖苷酶水解 1 次的产物以三糖皂苷和四糖皂苷为主；水解 2 次的产物经鉴定结构为 C-3 或 C-24 位连接 1 个 β -葡萄糖

基的单糖皂苷及少量二糖皂苷为主^[64], 利用 β -葡聚糖酶水解转化罗汉果皂苷 V, 生成连接不同数量糖基的罗汉果皂苷 IIIIE、III、IVE 和赛门苷 I 等次级皂苷^[65], 生物转化途径见图 4。

1.1.5 酸枣仁皂苷类成分 杜晨晖等^[66]利用 UPLC-Q-Orbitrap-MS 分析发现, 酸枣仁皂苷类成分在正常人源肠道菌群中的主要转化途径为脱糖基反应, 依次脱去皂苷元外侧糖基, 脱糖基顺序不同会生成不同的转化产物。酸枣仁皂苷在大鼠肠道菌群中的转化途径与人源相似, 均会产生及次生皂苷和酸枣仁皂苷元。酸枣仁皂苷 A (jujuboside A, Ju A)

被茯苓真菌中的葡萄糖苷酶水解脱去 C-3 位葡萄糖基, 生成 Ju B^[67], Ju A 在离体人源肠道菌群中也会转化生成酸枣仁皂苷 B^[68-69], 酸枣仁皂苷在肠道菌群和微生物中的转化途径见图 5。Matsuda 等^[70]通过酶解法将原酸枣仁皂苷 A、B、B1 C-23 位的葡萄糖基脱去, 转化生成已知的酸枣仁皂苷。

1.2 五环三萜

1.2.1 甘草酸 多数甘草皂苷类成分均具有五环三萜结构母核, 甘草酸是其中含量最高的成分, 也是甘草皂苷类成分的代表性化合物。GL 为齐墩果烷型三萜皂苷, 在 C-3 位有 2 分子葡萄糖醛酸基^[71]。

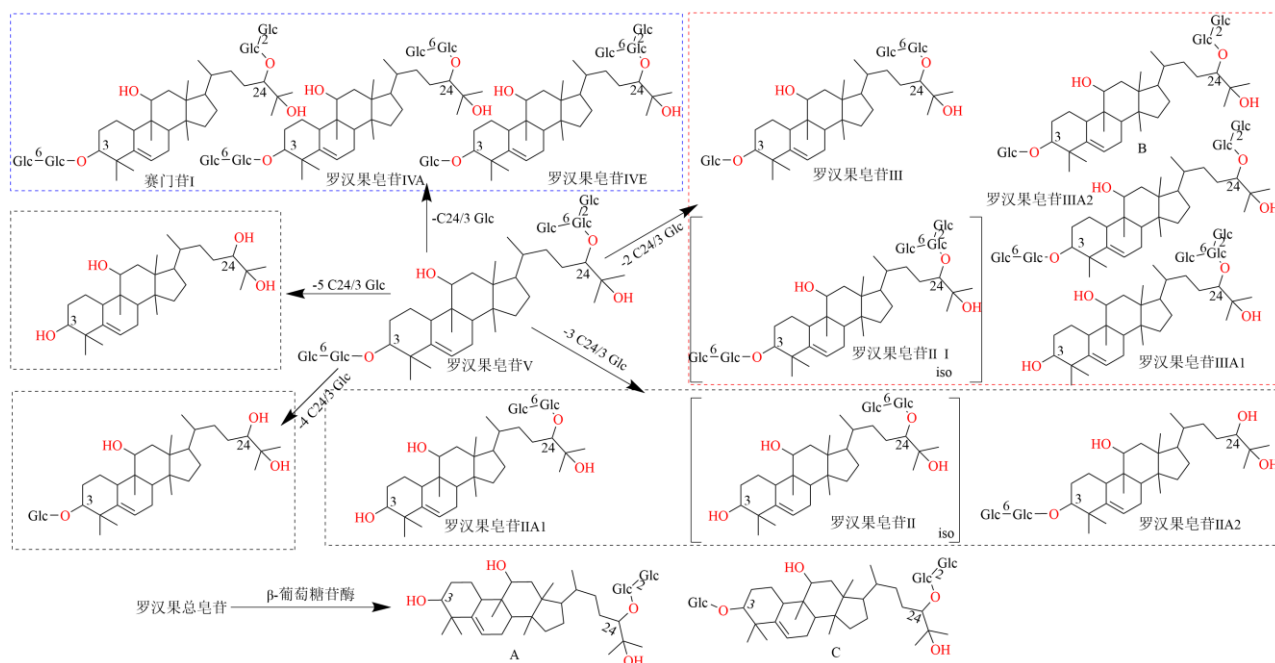


图 4 罗汉果皂苷类成分的生物转化途径

Fig. 4 Biotransformation pathway of mogrosides

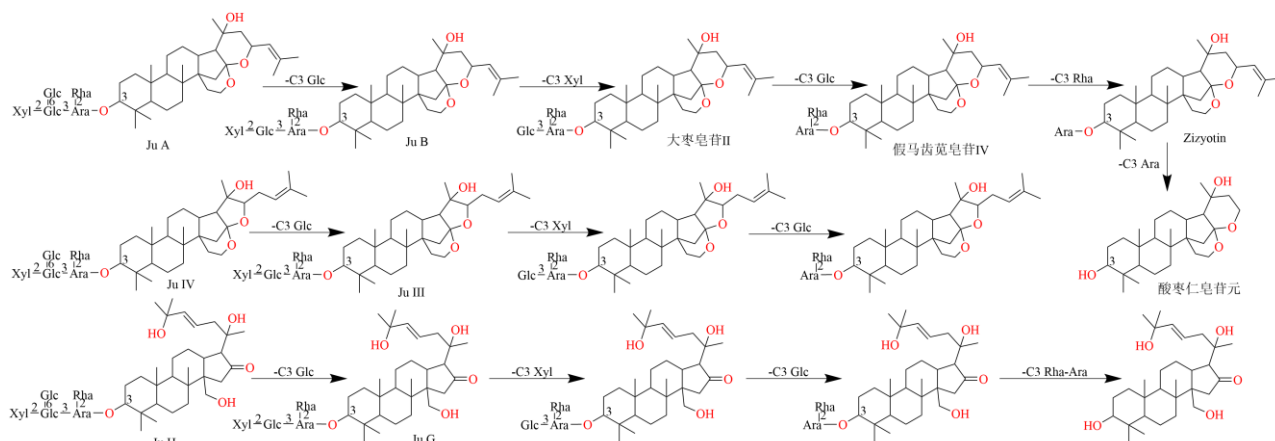


图 5 酸枣仁皂苷类成分的生物转化途径

Fig. 5 Biotransformation of jujubosides

Akao 团队^[72-74]阐明甘草酸的肠道菌群转化途径主要有 2 种, 见图 6。(1) 甘草酸 1 次性水解脱去 2 个葡萄糖醛酸, 直接生成甘草次酸; (2) 先水解掉 C-3 位末端的 1 个葡萄糖醛酸基, 生成中间体单葡萄糖醛酸甘草次酸 (glycyrrhetic acid monoglucuronide, GAMG), 再水解脱去 1 个葡萄糖醛酸生成甘草次酸。有研究发现无菌大鼠无法将甘草酸吸收入血且未发生脱糖基的转化反应, 说明肠道菌的转化作用是将甘草皂苷类成分吸收入血的必要环节, 随后研究团队从人源粪便中分离筛选到参与甘草酸转化的菌株, 如 *Eubacterium* sp. GLH、*Ruminococcus* sp. PO1-3 和 *Streptococcus* sp. LJ-22 等, 其中 *Streptococcus* sp. LJ-22 被证实可特异性地水解甘草酸 C-3 位末端的 1 个葡萄糖醛酸基生成 GAMG^[75]。Huang 等^[76]将甘草提取物与人源肠道菌群体外孵育, 研究结果表明甘草皂苷 A3、E2、G2、22- β -乙酰氧基甘草酸等三萜皂苷的肠道菌群转化方式与甘草酸相同, 均为脱糖基后生成次级皂苷及苷元。

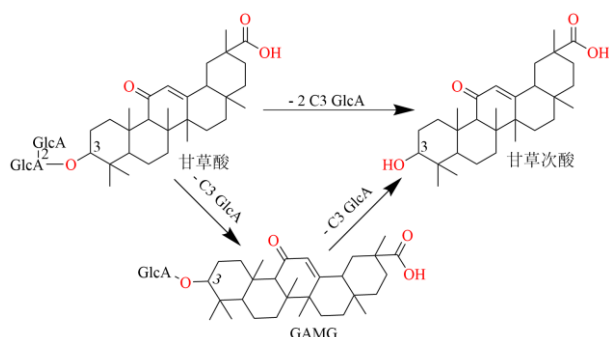


图 6 甘草酸的生物转化途径

Fig. 6 Biotransformation pathway of glycyrrhizic acid

近些年, 研究者对甘草酸的微生物转化的相关研究较多^[77-79], 发现了许多能成功转化甘草酸的菌株, 但甘草酸的转化途径简单, 与肠道菌群转化途径一致。用于微生物转化的菌株产 β -D-葡萄糖醛酸苷酶, 不同来源的酶对脱糖基的位置具有立体选择性, 从 *Streptococcus* LJ-22^[80]、*Penicillium purpurogenum* Li-3^[81] 和 *Talaromyces pinophilus* Li-93^[82] 中分离纯化的葡萄糖醛酸苷酶仅水解甘草酸 C-3 位末端葡萄糖醛酸基生成 GAMG, 水解生成甘草次酸。来源于 *Aspergillus niger*^[83] 和 *Eubacterium* L-8^[84] 的葡萄糖醛酸苷酶可将甘草酸彻底水解生成甘草次酸。

1.2.2 柴胡皂苷类成分 Shimizu 等^[85]研究表明柴

胡皂苷 A、B1、B2、D、G 等在大鼠肠道中主要发生脱糖基反应, 首先脱去 C-3 位末端的葡萄糖基生成次级苷原柴胡皂苷 F、A、H、G、D, 然后脱去 C-3 位岩藻糖生成皂苷元 F、A、H、G、D, Kida 等^[86]将柴胡皂苷类成分与人粪便共同培养后, 也得到相同的结论, 并从人源肠内菌株中筛选出 *Eubacterium* sp. A-44, 研究该菌株参与生物转化的机制。研究发现从 *E. sp. A-44* 中分离得到的酶 (β -葡萄糖苷酶和 β -岩藻糖苷酶) 可逐级脱去柴胡皂苷 C-3 位的岩藻糖和葡萄糖, 最终生成柴胡皂苷元。Yu 等^[87]发现柴胡皂苷 C 在人源肠道菌群中的转化途径与柴胡皂苷 A、B1、B2、D、G 类似, 在体内均为逐步脱糖基的转化。国内学者研究发现柴胡皂苷 A 经大鼠肠道菌群转化生成柴胡次皂苷 F 和柴胡皂苷元 F^[88], 进一步证明了柴胡皂苷在肠内菌的转化途径。

徐金丽和富瑶瑶发现 *sp.c42*、*Microbacterium* sp.GS514-saiko 和 *Rhodanobacter* sp.GS3054 所产的酶都能将柴胡皂苷转化为低糖基的次级皂苷^[89-90]。重组酶 ABQ 与柴胡皂苷 A 反应使 C-3 位的葡萄糖水解生成柴胡次皂苷 F, 继续水解 C-3 位的岩藻糖生成柴胡皂苷元 F^[91], 纤维素酶可以将柴胡皂苷 B2 脱糖基生成前柴胡皂苷 D, 蜗牛酶可以将柴胡皂苷 B1、A、D 脱糖基分别生成前柴胡皂苷 A、F、G^[92], 柴胡皂苷的生物转化途径见图 7。

1.2.3 白头翁皂苷类成分 白头翁皂苷 B4 (anemoside B4, B4) 与不同肠段的肠道菌群孵育共鉴定得到 10 个代谢物, 其中 9 个产物均是脱糖基生成, B4 母核为 2,3-羟基白桦脂酸皂苷元, 含有 5 个糖基, 在肠道菌群中逐级脱糖基, 生成含有 2~4 个不同数量糖基的次级皂苷及 2,3-羟基白桦脂酸^[93]。白头翁皂苷 D、B7 和 BD 在体外肠道菌群中也发生类似的脱糖基反应, 得到次级皂苷及常春藤皂苷元^[94-95]。

当前, 对于白头翁皂苷糖苷酶的生物转化已有大量研究, 并从中分离出多种能转化白头翁皂苷的糖苷酶^[96-97], 利用来自 *Absidia* sp.P00r 的酶, 将六糖基白头翁皂苷转化生成含有 2 个糖基的次级皂苷常春藤皂苷元-3-O-L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-L-吡喃阿拉伯糖苷^[98]。利用菌株 *Absidia* sp. P39r 生成的水解酶, 水解白头翁皂苷 H C-28 位末端鼠李糖基, 得到白头翁皂苷 PS-I; C-3 和 C-28 位分别脱去葡萄糖基, 得到白头翁皂苷 PS-II; 进一步水解脱去 C-28 位葡萄糖基, 得到白头翁皂苷 A, 白头翁皂苷在肠

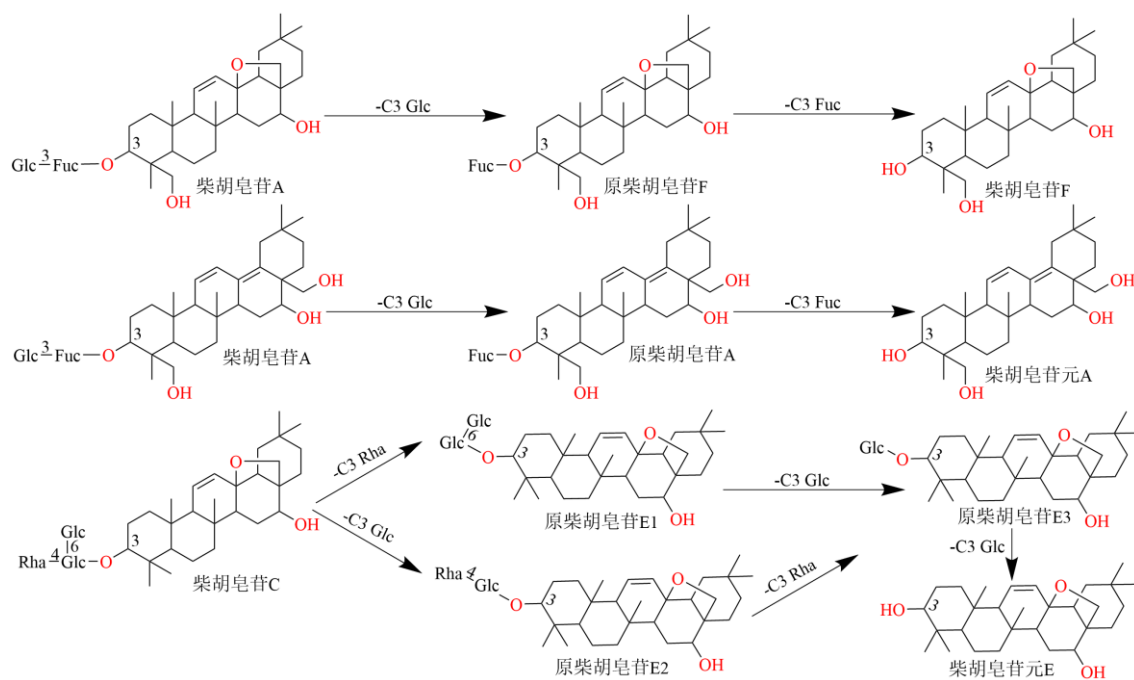


图 7 柴胡皂苷类成分的生物转化途径

Fig. 7 Biotransformation pathway of saikosaponins

内菌及其酶的转化见图 8。

1.2.4 走马胎皂苷类成分 走马胎为紫金牛科植物，九节龙皂苷-I (ardipusilloside-I, ADS-I) 和走马胎皂苷 Ag₃ 是该药材中 2 个代表性的皂苷成分。体外模拟人肠道菌群对 ADS-I 进行生物转化研究，初步推断出 M1~M4 4 个代谢产物的结构^[99]。其中代谢产物 M1、M2、M4 与 ADS-I 在大鼠肠内菌的转化产物相同^[100]，均为 ADS-I 分别脱去 C-3 位葡萄糖基 (M1)、葡萄糖基和鼠李糖基 (M2) 及 C-3 位全部糖基脱去后生成的苷元 (M4)。脱去 3 个糖基的 M3 是人体肠道菌独有的转化产物，脱去 C-3 位

末端鼠李糖基的 M5 是大鼠肠道菌独有的转化产物，提示人和动物菌群的组成不同，ADS-I 的生物转化产物也会发生变化。

张静^[101]在内生菌和土壤菌种筛选得到 3 株对走马胎皂苷 Ag₃ 具有转化能力的菌株，分别是 *Sphingomonas yabuuchiae* GTC868^T (AB071955)、*Bacillus licheniformis* ATCC14580^T (AE017333) 和 *Bacillus asahii* MA001^T (AB109209)。该团队也发现果胶酶也可以转化走马胎皂苷 Ag₃ 生成次级皂苷 A-1、A-2、A-3 及苷元。ADS-I 和走马胎皂苷 Ag₃ 生物转化途径见图 9。

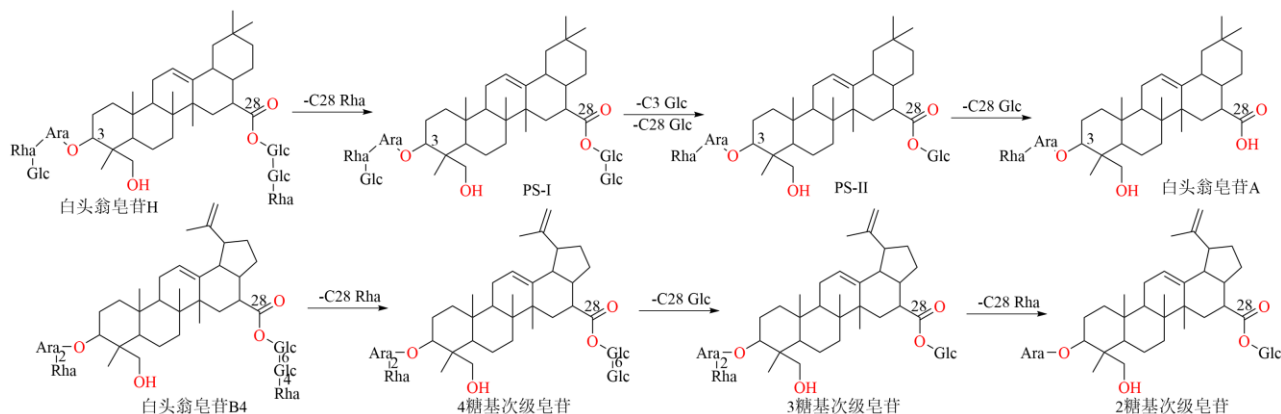


图 8 白头翁皂苷类成分的生物转化途径

Fig. 8 Biotransformation pathway of anemosides

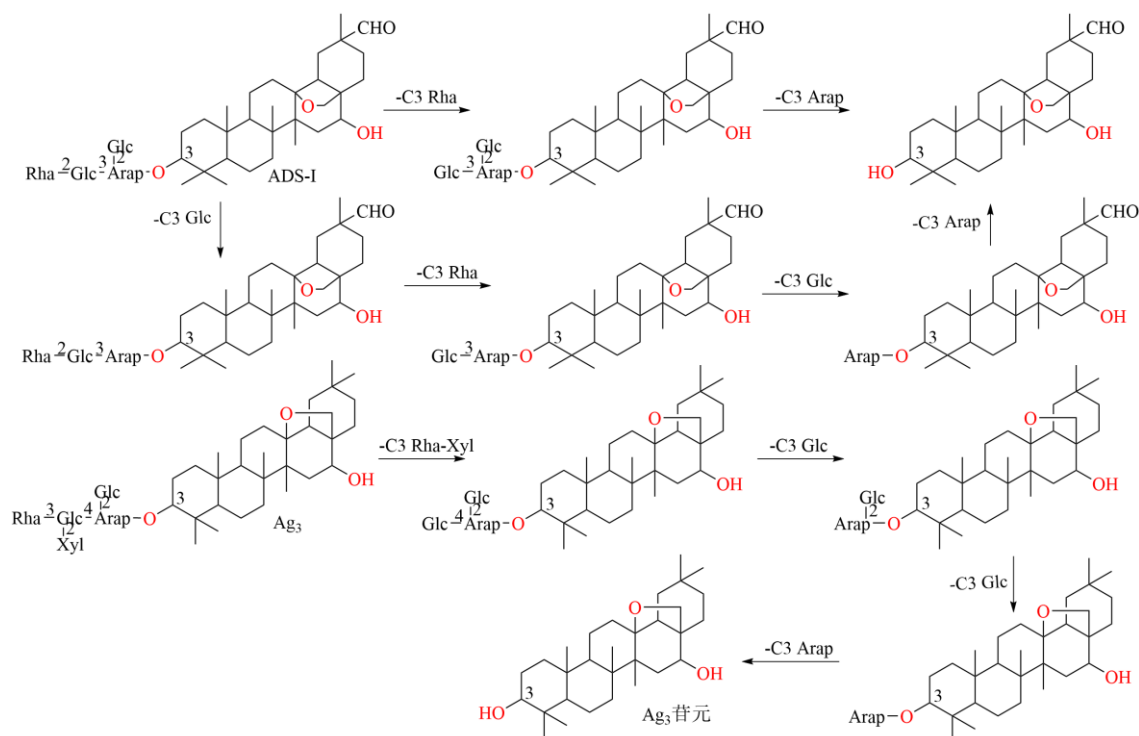


图 9 ADS-I 和 Ag₃ 生物转化途径

Fig. 9 Biotransformation pathway of ADS-I and Ag₃

1.2.5 其他五环三萜类皂苷 桔梗皂苷肠内菌的转化途径主要是脱去 C-3 位糖基^[102]。经黑曲霉与黑根霉转化后桔梗总皂苷的色谱峰明显后移,说明皂苷糖基脱去生成次级皂苷或苷元^[103]。Shin 等^[104-105]发现耐酸性果胶酶 Cytolase PCL5 可以水解桔梗皂苷 E C-3 位葡萄糖基和 C-28 位的木糖基和芹糖基,具有底物特异性,Cytolase PCL5 是一种混合酶,因此可能对多种糖基具有特异性。同样,来自黑曲霉的 Pluszyme 2000P 仅水解桔梗皂苷 C-3 位葡萄糖基^[106]。利用蜗牛酶水解桔梗总皂苷^[107],可以将结构相近的桔梗皂苷 E、D3 等转化为桔梗皂苷 D;从 *Trichoderma reesei*、*Aspergillus oryzae*^[108]、*Aspergillus usami* KFRI 1004^[109]、*P. grandiflorus*^[110] 和 *Aspergillus aculeatus*^[111] 分离纯化得到的纤维素酶、β-半乳糖苷酶、β-葡萄糖苷酶和果胶酶均能将桔梗皂苷 E 和 D3 转化为桔梗皂苷 D。

商陆的主要活性成分之一为商陆皂苷甲 (esculentoside A, EsA), 研究发现 EsA 具有抗炎、抗菌和利尿等多种活性^[112], 但 EsA 的溶血性限制了其应用。EsA 经生物转化脱糖基后, 生成 EsB, 该化合物溶血性降低, 增强了抗炎活性^[113-114]。EsA 经微生物 *Streptomyces griseus* ATCC 13273 脱去 C-3 位木糖基和葡萄糖基, 生成 EsB 和苷元-商陆

酸甲酯^[115]。

重组糖苷酶和蜗牛酶与 EsA 反应均使 C-3 位末端葡萄糖基被水解, 生成 EsB^[91], 蜗牛酶在 48.28 °C、pH 值为 6.4 时产率最高^[116]。赖道万^[117]使用黑曲霉 β-葡萄糖苷酶、苦杏仁酶、蜗牛酶等酶也能使 EsA 中的葡萄糖基发生水解, 生成 EsB, 其中只有蜗牛酶能使 EsA C-3 位糖基侧链完全水解, 得到其皂苷元。

Watanabe 等^[118-119]从 *Aspergillus oryzae* PF1224、*N. vasinfesta* var. *vasinfesta* P F1225 和 *Eupenicillium brefeldianum* PF1226 中纯化出大豆皂苷水解酶, 显示该酶不仅可以水解大豆皂苷 I 的 C-3 位连接的鼠李糖基和半乳糖基, 还可以进一步水解其内端的葡萄糖醛酸基生成大豆甾醇 B。Abdel 等^[120]筛选了 5 种菌株, 发现 *A. terreus* II 能将大豆总皂苷最大效率地转化为大豆甾醇 B。田晶等^[121]利用 8 种霉菌菌株对大豆皂苷糖基的水解能力进行探讨, 得到米曲霉 *A. oryzae* 39s、*A. oryzae* slows 和黑曲霉 *A. niger* 848s 3 种具有较高活性的菌种, 均使大豆皂苷部分糖基水解生成低糖基皂苷及苷元。

牛膝三萜皂苷和大鼠肠道菌群共培养, 产生 39 个转化产物, 结果显示牛膝皂苷在肠内的主要转化途径是去糖基化, 竹节参皂苷 V、IV、IVa 等原型

皂苷的转化产物为姜状三七皂苷 R1、28-去葡萄糖基竹节参皂苷 IVa 和齐墩果酸等。根据产物特征碎片推断,脱糖基反应主要发生在 C-3 和 C-28 位的糖苷键^[122]。

在人参皂苷、黄芪皂苷和甘草皂苷等三萜皂苷的生物转化中,反应机制主要为脱糖基的水解反应,通常发生在 C-3、C-6、C-20、C-21、C-23、C-24 和 C-28 位。转化生成的次级皂苷和苷元不仅可以提高生物利用度,也能增强抗炎、抗病毒和抗癌等药效^[79,123]。

2 甾体皂苷的生物转化

2.1 薯蓣皂苷

薯蓣皂苷在人源肠道菌群中糖基被逐个水解,形成相应的次级皂苷和薯蓣皂苷元^[8,124]。Tang 等^[125]表征了给药后大鼠体内总薯蓣皂苷、薯蓣皂苷和薯蓣皂苷元的代谢轮廓,结果表明薯蓣皂苷的逐级脱糖基是最重要的转化过程。

Chen 等^[126]利用 *Lactobacillus casei* 脱去薯蓣皂苷 C-3 位糖基生成薯蓣皂苷元, Liu 等^[127]从米曲霉 *Aspergillus oryzae* 中分离纯化的水解酶,可以水解原薯蓣皂苷中 C-3 位末端 α -1,4-鼠李糖基和 C-26 位葡萄糖基生成薯蓣次皂苷 A。从新月弯孢霉 *Curvularia lunata* 中分离纯化出的 α -L-鼠李糖苷酶能够水解 C-3 位末端 α -1,2-鼠李糖基,生成 progenin V^[128]。从新鲜牛肝中分离得到的鼠李糖苷酶能够水解 2 个鼠李糖基生成 C-3 位连有 1 个葡萄糖基的次级薯蓣皂苷^[129]。Jin 等^[130]则从 *Absidia* sp. d38 中分离纯化出了薯蓣皂苷水解酶,可将薯蓣皂苷侧链糖基全部脱去,水解生成薯蓣皂苷元。

2.2 知母皂苷 B-II/III

在大鼠肠道菌群中,知母皂苷 B-II 和 B-III 发生的转化反应主要有脱糖基化、脱水、羟基化、E 环裂解和氧化反应^[7,131-133],脱糖基是我们重点关注的途径,转化途径为知母皂苷 B-II 的 C-3 位依次脱去葡萄糖基及半乳糖基,得到次级知母皂苷 B-II-a 和 B-II-b; C-26 位脱去葡萄糖基,生成知母皂苷 A-III; 知母皂苷 B-III 的 C-3 位脱去葡萄糖基及半乳糖基,得到次级知母皂苷 B-III-a、B-III-b。利用微生物 *Aspergillus niger* AS 3.0739^[134] 和 *Colletotrichum gloeosporioides*^[135] 转化知母皂苷 B-II, 均会水解脱去 C-3 和 C-26 位糖基,得到次级皂苷。

甾体皂苷的生物转化中,大多以皂苷与皂苷元

之间的相互转化为主,脱糖基水解反应主要发生在 C-3 和 C-26 位。与三萜皂苷类化合物相比,甾体皂苷的生物转化机制更简单,涉及到的反应类型少。

3 结语与展望

以几种具有代表性的三萜皂苷和甾体皂苷为例,综述了中药中皂苷类成分生物转化研究进展。其中,肠道菌群种类多样,逐级脱糖基是最主要的转化方式,即生成一系列次级皂苷及对应的皂苷元。另外,肠内菌还可以使皂苷发生羟基化、氧化和去甲基化等反应,是次要的肠内菌转化途径。因人体肠道菌群与模型动物在物种组成及多样性上的差异,皂苷的肠内转化也存在物种差异。如 ADS-I 在人和大鼠肠道菌群中转化产物部分一致^[99-100]。从微生物中筛选合适的菌株或酶进行生物转化,是制备次级皂苷的有效途径。大多数生物转化研究所选用的菌株主要包括 4 个来源:(1) 从人源或大鼠的肠道菌群中筛选出能够转化皂苷的优良菌株;(2) 从产生糖苷酶的已知菌株中筛选出转化特异性高的优良菌株^[79];(3) 从药用植物生长土壤中筛选出具有转化优势的优良菌株;(4) 从植物内生菌中筛选优良菌株。随着酶工程和基因工程研究的发展,部分课题组储有用于生物转化的特异性纯化酶或重组酶,若能将特异性高的糖苷酶转化为产品,实现水解酶的工业化生产,对皂苷类化合物的生物转化研究和经济效益具有深远意义,以满足后续成药性研究和新药开发的需求。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 汪子翔, 赵梅. 皂苷类化合物抗肿瘤血管生成作用及机制研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(6): 3029-3032.
- [2] Chen Y, Yao F K, Ming K, et al. Polysaccharides from traditional Chinese medicines: Extraction, purification, modification, and biological activity [J]. *Molecules*, 2016, 21(12): 1705.
- [3] Deng X Q, Zhao J Q, Qu L L, et al. Ginsenoside Rh₄ suppresses aerobic glycolysis and the expression of PD-L1 via targeting Akt in esophageal cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 178: 114038.
- [4] Deng J J, Liu Y, Duan Z G, et al. Protopanaxadiol and protopanaxatriol-type saponins ameliorate glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus in high-fat diet/streptozocin-induced mice [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 506.

- [5] 孙亮, 张美萍, 王义, 等. 人参皂苷生物转化及固体发酵工艺研究进展 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 395-399.
- [6] 杨双革, 宋超, 刘明峰, 等. 远志水解产物的分离及鉴定 [J]. 河北医科大学学报, 2011, 32(1): 66-68.
- [7] 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.
- [8] Zhu H, Xu J D, Mao Q A, *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.
- [9] Xu X H, Li T, Fong C, *et al.* Saponins from Chinese medicines as anticancer agents [J]. *Molecules*, 2016, 21(10): 1326.
- [10] Chopra P, Chhillar H, Kim Y J, *et al.* Phytochemistry of ginsenosides: Recent advancements and emerging roles [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(5): 613-640.
- [11] Ma Z, Mi Y, Han X, *et al.* Transformation of ginsenoside via deep eutectic solvents based on choline chloride as an enzymatic reaction medium [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2020, 43(7): 1195-1208.
- [12] Geraldi A, Cui C H, Nguyen T T, *et al.* Enzymatic biotransformation of ginsenoside Rb₁ by recombinant β -glucosidase of bacterial isolates from Indonesia [J]. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2020, 23: 101449.
- [13] Hou M Q, Wang R F, Zhao S J, *et al.* Ginsenosides in *Panax* genus and their biosynthesis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(7): 1813-1834.
- [14] Bae E A, Han M J, Choo M K, *et al.* Metabolism of 20(S)- and 20(R)-ginsenoside Rg₃ by human intestinal bacteria and its relation to *in vitro* biological activities [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(1): 58-63.
- [15] 韩铭鑫, 李方形, 张琰, 等. 稀有原人参二醇型皂苷的人肠道菌群生物转化 [J]. 高等学校化学学报, 2019, 40(7): 1390-1396.
- [16] 唐岚, 傅璐璐, 沈丽婷, 等. 大鼠肠道菌群对三七总皂苷体外降解的研究 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 396-399.
- [17] Guo Y P, Chen M Y, Shao L, *et al.* Quantification of *Panax notoginseng* saponins metabolites in rat plasma with *in vivo* gut microbiota-mediated biotransformation by HPLC-MS/MS [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(3): 231-240.
- [18] 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.
- [19] Chi H, Ji G E. Transformation of ginsenosides Rb₁ and Re from *Panax ginseng* by food microorganisms [J]. *Biotechnol Lett*, 2005, 27(11): 765-771.
- [20] Quan L H, Piao J Y, Min J W, *et al.* Bioconversion of ginsenoside Rb₁ into compound K by *Leuconostoc citreum* LH1 isolated from kimchi [J]. *Braz J Microbiol*, 2011, 42(3): 1227-1237.
- [21] Kim H, Kim J H, Lee P Y, *et al.* Ginsenoside Rb₁ is transformed into Rd and Rh₂ by *Microbacterium trichothecenolyticum* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2013, 23(12): 1802-1805.
- [22] Zhou W, Feng M Q, Li J Y, *et al.* Studies on the preparation, crystal structure and bioactivity of ginsenoside compound K [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(6): 519-527.
- [23] Zhou W, Yan Q, Li J Y, *et al.* Biotransformation of *Panax notoginseng* saponins into ginsenoside compound K production by *Paecilomyces bainier* sp. 229 [J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 104(3): 699-706.
- [24] Palaniyandi S A, Son B M, Damodharan K, *et al.* Fermentative transformation of ginsenoside Rb₁ from *Panax ginseng* C. A. Meyer to Rg₃ and Rh₂ by *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* MJM60396 [J]. *Biotechnol Bioproc E*, 2016, 21(5): 587-594.
- [25] Hu Y B, Zhai L Y, Hong H L, *et al.* Study on the biochemical characterization and selectivity of three β -glucosidases from *Bifidobacterium adolescentis* ATCC15703 [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 860014.
- [26] 刘文山, 李振伟, 傅荣昭. 糖苷酶在人参皂苷转化中的应用 [J]. 生物技术通讯, 2019, 30(4): 579-588.
- [27] Zhang R, Tan S Q, Zhang B L, *et al.* Two key amino acids variant of α -l-arabinofuranosidase from *Bacillus subtilis* str. 168 with altered activity for selective conversion ginsenoside rc to rd [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1733.
- [28] Kim J H, Oh J M, Chun S, *et al.* Enzymatic biotransformation of ginsenoside Rb₂ into Rd by recombinant α -L-arabinopyranosidase from *Blastococcus saxosidens* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(3): 391-397.
- [29] 吴秀丽, 刘成, 陈靖. 黑曲霉 *Aspergillus niger* 对人参皂苷 Re 的微生物转化 [J]. 中国当代医药, 2011, 18(33): 7-9.
- [30] Chang K H, Jo M N, Kim K T, *et al.* Purification and characterization of a ginsenoside Rb₁-hydrolyzing β -glucosidase from *Aspergillus niger* KCCM 11239 [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(12): 12140-12152.
- [31] Cui C H, Jeon B M, Fu Y Y, *et al.* High-density

- immobilization of a ginsenoside-transforming β -glucosidase for enhanced food-grade production of minor ginsenosides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(17): 7003-7015.
- [32] Fang H Y, Wei Y Q, Li Y Q, *et al.* One-pot process for the production of ginsenoside Rd by coupling enzyme-assisted extraction with selective enzymolysis [J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(10): 1443-1447.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] 陈良华, 翁梦婷, 秦江, 等. 灰绿曲霉对绞股蓝皂苷的微生物转化及其生物活性 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2016, 55(5): 775-780.
- [36] 毛泽仁. 绞股蓝皂苷糖苷酶的分离纯化及酶性质的研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2011.
- [37] 杨宇. 生物酶法转化绞股蓝皂苷的研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2009.
- [38] Yu H S, Liu H, Zhang C Z, *et al.* Purification and characterization of gypenoside- α -l-rhamnosidase hydrolyzing gypenoside-5 into ginsenoside rd [J]. *Process Biochem*, 2004, 39(7): 861-867.
- [39] Zhao H X, Jiao W B, Xiu Y, *et al.* Enzymatic biotransformation of gypenoside XLIX into gylongiposide I and their antiviral roles against enterovirus 71 *in vitro* [J]. *Molecules*, 2022, 27(13): 4094.
- [40] Zheng Y, Zheng Z Z, Ming Y L, *et al.* Gynasaponin TN-1 producing from the enzymatic conversion of gypenoside XLVI by naringinase and its cytotoxicity on hepatoma cell lines [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 119: 161-168.
- [41] 刘玥. 绞股蓝皂苷和次级苷制备及抗肝纤维化活性研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [42] 孟欣桐, 乐世俊, 杨智睿, 等. 黄芪皂苷类成分在人源肠道菌群中生物转化特征研究 [J]. 食品与药品, 2018, 20(3): 161-167.
- [43] 孙桂霞, 赵园园, 苗培培, 等. 黄芪甲苷的生物样品稳定性考察及在大鼠体外肠菌中代谢转化研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(21): 4258-4264.
- [44] Jin Y, Guo X J, Yuan B, *et al.* Disposition of astragaloside IV via enterohepatic circulation is affected by the activity of the intestinal microbiome [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(26): 6084-6093.
- [45] 刘晓会. 伞枝犁头霉 *Absidia corymbifera* AS2 生物转化富集黄芪甲苷研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [46] Zhou W, Liu X H, Ye L, *et al.* The biotransformation of astragalosides by a novel acetyl esterase from *Absidia corymbifera* AS2 [J]. *Process Biochem*, 2014, 49(9): 1464-1471.
- [47] Ye L, Liu X H, Zhou W, *et al.* Microbial transformation of astragalosides to astragaloside IV by *Absidia corymbifera* AS2 [J]. *Process Biochem*, 2011, 46(9): 1724-1730.
- [48] Yao M L, Liu J Z, Jin S, *et al.* A novel biotransformation of astragalosides to astragaloside IV with the deacetylation of fungal endophyte *Penicillium canescens* [J]. *Process Biochem*, 2014, 49(5): 807-812.
- [49] Chen C Y, Fu Y J, Zu Y G, *et al.* Biotransformation of saponins to astragaloside IV from *Radix Astragali* by immobilized *Aspergillus niger* [J]. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2013, 2(3): 196-203.
- [50] 阮鸣. 不同药 (食) 用真菌固体发酵对黄芪中黄芪甲苷的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1421-1424.
- [51] Wang L M, Chen Y. Efficient biotransformation of astragaloside IV to cycloastragenol by *Bacillus* sp. LG-502 [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2017, 183(4): 1488-1502.
- [52] Cheng L Y, Zhang H, Cui H Y, *et al.* Efficient production of the anti-aging drug Cycloastragenol: Insight from two glycosidases by enzyme mining [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(23): 9991-10004.
- [53] Li Q, Wu T, Zhao L G, *et al.* Highly efficient biotransformation of astragaloside IV to cycloastragenol by sugar-stimulated β -glucosidase and β -xylosidase from *Dictyoglomus thermophilum* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2019, 29(12): 1882-1893.
- [54] Li Q, Wu T, Qi Z P, *et al.* Characterization of a novel thermostable and xylose-tolerant GH 39 β -xylosidase from *Dictyoglomus thermophilum* [J]. *BMC Biotechnol*, 2018, 18(1): 1-11.
- [55] 夏广萍, 刘鹏, 赵娜夏, 等. β -葡萄糖苷酶水解黄芪甲苷的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(6): 1112-1114.
- [56] 毛羽, 鱼红闪, 金凤燮. 黄芪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.
- [57] 许平平. 真菌微生物酶转化黄芪皂苷的研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2009.
- [58] 王东明, 汤思慧, 金凤燮, 等. 两种菌产皂苷糖苷酶的性质比较 [J]. 大连工业大学学报, 2009, 28(4): 261-266.
- [59] Zhou G S, Zhang Y L, Li Y, *et al.* The metabolism of a natural product mogroside V, in healthy and type 2 diabetic rats [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1079: 25-33.

- [60] 李典鹏, 徐风, 黄振聪, 等. 罗汉果皂苷 V 的体内、体外代谢研究 [A] // 生态文明建设中的植物学: 现在与未来——中国植物学会第十五届会员代表大会暨八十周年学术年会论文集 [C]. 南昌: 中国植物学会, 2013: 1.
- [61] 杨秀伟, 张建业, 徐崑. 罗汉果皂苷 III 的人肠内细菌生物转化 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2007, 39(6): 657-662.
- [62] 杜鹏. 积雪草总苷转化菌株的筛选及转化产物的分离纯化与鉴定 [D]. 上海: 上海师范大学, 2010.
- [63] 司鹏鹏. 罗汉果总苷的微生物转化研究 [D]. 上海: 上海师范大学, 2011.
- [64] 羊学荣, 卢凤来, 王磊, 等. 酶水解百分之五十罗汉果皂苷 V 方法学研究 [J]. 广西植物, 2015, 35(6): 812-816.
- [65] 李炳辰, 符毓夏, 羊学荣, 等. 酶水解与氧化裂解联用制备罗汉果醇和 11-氧代罗汉果醇 [J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(5): 735-739.
- [66] 杜晨晖, 李泽, 崔小芳, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS/MS 技术研究酸枣仁发酵过程中的化学成分转化 [J]. 高等学校化学学报, 2019, 40(8): 1614-1620.
- [67] 崔小芳. 酸枣仁总皂苷的肠道菌群体外代谢转化研究 [D]. 太原: 山西中医药大学, 2020.
- [68] 庞萌萌, 张惠惠, 窦家聪, 等. 人体粪便孵育液对酸枣仁皂苷 A 的代谢转化研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(7): 1459-1462.
- [69] 张群. 酸枣仁总皂苷的提取纯化及酸枣仁皂苷 A 的生物转化研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [70] Matsuda H, Murakami T, Ikebata A, *et al.* Bioactive saponins and glycosides. XIV. structure elucidation and immunological adjuvant activity of novel protojubilogenin type triterpene bisdesmosides, protojubilosides A, B, and B1, from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* (*Zizyphi Spinosa Semen*) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1999, 47(12): 1744-1748.
- [71] 谢果珍, 黄莉莉, 张水寒, 等. 肠道微生物代谢苷类化合物的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(7): 1261-1271.
- [72] Akao T, Hayashi T, Kobashi K, *et al.* Intestinal bacterial hydrolysis is indispensable to absorption of 18 β -glycyrrhetic acid after oral administration of glycyrrhizin in rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 46(2): 135-137.
- [73] Akao T. Localization of enzymes involved in metabolism of glycyrrhizin in contents of rat gastrointestinal tract [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(2): 122-126.
- [74] Akao T. Influence of various bile acids on the metabolism of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid by *Ruminococcus* sp. PO1-3 of human intestinal bacteria [J]. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(8): 787-793.
- [75] Kim D H, Lee S W, Han M J. Biotransformation of glycyrrhizin to 18 β -glycyrrhetic acid-3-*O*- β -D-glucuronide by *Streptococcus* LJ-22, a human intestinal bacterium [J]. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(3): 320-322.
- [76] Huang W W, Wang M Y, Shi H M, *et al.* Comparative study of bioactive constituents in crude and processed *Glycyrrhizae Radix* and their respective metabolic profiles in gastrointestinal tract *in vitro* by HPLC-DAD and HPLC-ESI/MS analyses [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(11): 1945-1952.
- [77] Li Q F, Jiang T, Liu R, *et al.* Tuning the pH profile of β -glucuronidase by rational site-directed mutagenesis for efficient transformation of glycyrrhizin [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(12): 4813-4823.
- [78] 赵明哲, 张森, 陈量量, 等. 单葡萄糖醛酸甘草次酸高效生物制备菌种筛选及发酵工艺 [J]. 生物加工过程, 2023, 21(1): 67-75.
- [79] 李倩, 于丹, 国立东, 等. 微生物发酵转化皂苷类化合物机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7264-7278.
- [80] Park H Y, Kim N Y, Han M J, *et al.* Purification and characterization of two novel β -D-glucuronidases converting glycyrrhizin to 18 β -glycyrrhetic acid-3-*O*- β -D-glucuronide from *Streptococcus* LJ-22 [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2005, 15: 792-799.
- [81] Zou S P, Liu G Y, Kaleem I, *et al.* Purification and characterization of a highly selective glycyrrhizin-hydrolyzing β -glucuronidase from *Penicillium purpurogenum* Li-3 [J]. *Process Biochem*, 2013, 48(2): 358-363.
- [82] Xu Y H, Feng X D, Jia J T, *et al.* A novel β -glucuronidase from *Talaromyces pinophilus* Li-93 precisely hydrolyzes glycyrrhizin into glycyrrhetic acid 3-*O*-mono- β -D-glucuronide [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 84(19): e00755-e00718.
- [83] Morana A, Di Lazzaro A, Di Lernia I, *et al.* Enzymatic production of 18- β -glycyrrhetic acid from *Glycyrrhizaglabra* L. [J]. *Biotechnol Lett*, 2002, 24(22): 1907-1911.
- [84] Kim D H, Hong S W, Kim B T, *et al.* Biotransformation of glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities [J]. *Arch Pharm Res*, 2000, 23(2): 172-177.
- [85] Shimizu K, Amagaya S, Ogihara Y. Structural transformation of saikosaponins by gastric juice and intestinal flora [J]. *J Pharmacobio Dyn*, 1985, 8(9): 718-725.

- [86] Kida H, Akao T, Meselhy M, *et al.* Enzymes responsible for the metabolism of saikosaponins from *Eubacterium* sp. A-44, a human intestinal anaerobe [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(12): 1274-1278.
- [87] Yu K U, Jang I S, Kang K H, *et al.* Metabolism of saikosaponin c and naringin by human intestinal bacteria [J]. *Arch Pharm Res*, 1997, 20(5): 420-424.
- [88] 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.
- [89] 徐金丽. 柴胡皂苷酶水解特性的研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2008.
- [90] 富瑶瑶, 安家彦, 鱼红闪, 等. 特异的柴胡皂苷糖苷酶的分离纯化 [J]. *高等学校化学学报*, 2010, 31(6): 1152-1157.
- [91] 孙红梅, 陆泽林, 赵幻希, 等. 液相色谱-质谱联用-定向进化酶组合技术应用于三萜类皂苷转化研究 [J]. *分析化学*, 2020, 48(1): 129-136.
- [92] 吴梦茹. 酶水解获取系列稀有前柴胡皂苷的研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2021.
- [93] 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, doi: 10.1002/bmc.3873.
- [94] 陈龙, 张民权, 司梦洁, 等. UPLC-Q-TOF-MS^E 技术研究白头翁皂苷在正常和溃疡性结肠炎模型大鼠体内代谢 [J]. *药学学报*, 2023, 58(9): 2754-2762.
- [95] 欧阳辉, 郭宜城, 何明珍, 等. UPLC-Q-trap-MS 鉴定白头翁皂苷 D 在大鼠离体肠道菌群中的代谢产物 [J]. *中草药*, 2014, 45(4): 523-526.
- [96] 林迪, 金凤燮, 鱼红闪. 白头翁皂苷 H3 糖苷酶的分离纯化及酶性质 [J]. *大连工业大学学报*, 2015, 34(6): 401-403.
- [97] 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.
- [98] 李妍, 刘春莹, 金凤燮, 等. 六糖基白头翁皂苷的酶法降解及其产物鉴定 [J]. *大连工业大学学报*, 2018, 37(2): 89-93.
- [99] 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.
- [100] Wang X J, Cui H, Wang R, *et al.* Metabolism and pharmacokinetic study of ardipusilloside I in rats [J]. *Planta Med*, 2012, 78(6): 565-574.
- [101] 张静. 走马胎中三萜皂苷 Ag₃ 的生物转化及其产物抗肿瘤活性研究 [D]. 太原: 山西中医学院, 2016.
- [102] Ha Y W, Na Y C, Ha I J, *et al.* Liquid chromatography/mass spectrometry-based structural analysis of new platycoside metabolites transformed by human intestinal bacteria [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51(1): 202-209.
- [103] 郑繁慧. 黑曲霉转化桔梗皂苷及其祛痰作用研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [104] Shin K C, Seo M J, Oh Y J, *et al.* Improved biotransformation of platycoside E into deapiose-xylosylated platycodin D by cytolase PCL5 under high hydrostatic pressure [J]. *Appl Sci*, 2021, 11(22): 10623.
- [105] Shin K C, Kim D W, Woo H S, *et al.* Conversion of glycosylated platycoside E to deapiose-xylosylated platycodin D by cytolase PCL5 [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1207.
- [106] Shin K C, Kim D W, Oh Y J, *et al.* Improved production of deglycosylated platycodin D from saponins from balloon flower leaf by a food-grade enzyme using high hydrostatic pressure [J]. *Heliyon*, 2021, 7(10): e08104.
- [107] Li W, Zhao L C, Wang Z, *et al.* Response surface methodology to optimize enzymatic preparation of deapio-platycodin D and platycodin D from *Radix Platycodi* [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(4): 4089-4100.
- [108] Ha I J, Ha Y W, Kang M, *et al.* Enzymatic transformation of platycosides and one-step separation of platycodin D by high-speed countercurrent chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2010, 33(13): 1916-1922.
- [109] Ahn H, You H, Park M, *et al.* Biocatalysis of platycoside E and platycodin D3 using fungal extracellular β -glucosidase responsible for rapid platycodin D production [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2671.
- [110] Su X L, Meng F, Liu Y Y, *et al.* Molecular cloning and functional characterization of a β -glucosidase gene to produce platycodin D in *Platycodon grandiflorus* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 955628.
- [111] Ju J H, Lee T E, Lee J, *et al.* Improved bioactivity of 3-O- β -D-glucopyranosyl platycosides in biotransformed *Platycodon grandiflorum* root extract by pectinase from *Aspergillus aculeatus* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2021, 31(6): 847-854.
- [112] 谭子富, 李家权, 于颖, 等. 商陆皂苷甲抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路改善大鼠动脉粥样硬化的作用研究 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(12): 2509-2514.
- [113] Escalante A, Gattuso M, Pérez P, *et al.* Evidence for the mechanism of action of the antifungal phytoalexin B isolated from *Phytolacca tetramera* Hauman [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(10): 1720-1725.

- [114] Escalante A M, Santeccchia C B, López S N, *et al.* Isolation of antifungal saponins from *Phytolacca tetramera*, an Argentinean species in critic risk [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 82(1): 29-34.
- [115] Zhu Y Y, Qian L W, Zhang J, *et al.* New approaches to the structural modification of olean-type pentacylic triterpenes via microbial oxidation and glycosylation [J]. *Tetrahedron*, 2011, 67(23): 4206-4211.
- [116] 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*, 2016, 130: 25-31.
- [117] 赖道万. 商陆总皂苷及其总苷元的化学成分研究 [D]. 西安: 西北大学, 2008.
- [118] Watanabe M, Sumida N, Yanai K, *et al.* Cloning and characterization of saponin hydrolases from *Aspergillus oryzae* and *Eupenicillium brefeldianum* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69(11): 2178-2185.
- [119] Watanabe M, Sumida N, Yanai K, *et al.* A novel saponin hydrolase from *Neocosmospora vasinfecta* var. *vasinfecta* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(2): 865-872.
- [120] Abdel Salam Amin H, Hanna A G, Mohamed S S. Comparative studies of acidic and enzymatic hydrolysis for production of soyasapogenols from soybean saponin [J]. *Biocatal Biotransform*, 2011, 29(6): 311-319.
- [121] 田晶, 苏志国, 徐龙权, 等. 酶法改变大豆皂甙糖基的研究 [J]. 食品科学, 2001, 22(4): 14-17.
- [122] Fu J, Wu H, Wu H, *et al.* Chemical and metabolic analysis of *Achyranthes bidentate* saponins with intestinal microflora-mediated biotransformation by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled with metabolism platform [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 170: 305-320.
- [123] 周中流, 李春燕, 陈林浩, 等. 天然产物皂苷类化合物生物转化的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(16): 173-192.
- [124] 董梅. 黄山药化学成分代谢及其诱导细胞凋亡的分子机制的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2001.
- [125] Tang Y N, Pang Y X, He X C, *et al.* UPLC-QTOF-MS identification of metabolites in rat biosamples after oral administration of *Dioscorea* saponins: A comparative study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 165: 127-140.
- [126] Chen H, Wang Z, Shu G W. A cleaner production of diosgenin from *Dioscorea Zingiberensis* Wright biotransformed by *Lactobacillus casei* [J]. *Emir J Food Agric*, 2017: 760.
- [127] Liu T Q, Yu H S, Liu C Y, *et al.* Protodioscin-glycosidase-1 hydrolyzing 26-O- β -D-glucoside and 3-O-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-rhamnoside of steroidal saponins from *Aspergillus oryzae* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(23): 10035-10043.
- [128] 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(6): 1329-1338.
- [129] Qian S, Wang H Y, Zhang C Z, *et al.* Isolation and characterization of dioscin- α -L-rhamnosidase from bovine liver [J]. *J Mol Catal B*, 2013, 97: 31-35.
- [130] Jin F X. New dioscin-glycosidase hydrolyzing multi-glycosides of dioscin from *Absidia* strain [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2010, 20(6): 1011-1017.
- [131] Li D D, Xue R, Li Z X, *et al.* *In vivo* metabolism study of timosaponin BIII in rat using HPLC-QTOF-MS/MS [J]. *Chromatographia*, 2014, 77(11): 853-858.
- [132] 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.
- [133] 刘艳平, 余自成, 陈红君. 基于肠道菌群代谢的知母皂苷 BII 体外代谢转化研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(5): 66-70.
- [134] Zhou W B, Feng B, Huang H Z, *et al.* Hydrolysis of timosaponin BII by the crude enzyme from *Aspergillus niger* AS 3.0739 [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(11): 955-961.
- [135] Zhao Y, Jiang T C, Han B Q, *et al.* Preparation of some metabolites of timosaponin BII by biotransformation *in vitro* [J]. *Process Biochem*, 2015, 50(12): 2182-2187.

[责任编辑 赵慧亮]