

商品化糖苷酶转化糖苷类天然产物研究进展

刘玥, 胡立宏, 张毅楠

(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023)

摘要:糖苷类化合物广泛存在于药用植物中, 具有多种潜在的生物活性。众多研究表明糖苷类化合物中糖单元对于活性具有至关重要的作用。相比于传统的化学方法, 使用酶解法进行糖基转化, 具有反应温和和环保, 特异性好等特点, 可以实现糖基部分的选择性水解。但是不同实验室来源的糖基酶也具有基原复杂、比化学试剂质量稳定性差等劣势。因此, 使用来源可控、性能相对稳定的商品化糖苷酶是开展糖苷类天然产物糖基选择性修饰的可行途径。以使用商品化酶水解中药天然产物的研究为切入点, 对它们的特点和应用展开综述。

关键词:糖苷类天然产物; 商品化糖苷酶; 酶促水解反应

中图分类号:R93 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-0482(2020)05-0721-06

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2020.0721

引文格式:刘玥, 胡立宏, 张毅楠. 商品化糖苷酶转化糖苷类天然产物研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 721-726.

Research Progresses on Converting Glycoside Natural Products by Commercial Glycosidases

LIU Yue, HU Li-hong, ZHANG Yi-nan

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT: Glycoside compounds are widely present in medicinal plants and have a variety of potential biological activities. Numerous studies have shown that sugar units in glycoside compounds play an essential role in their biological activity. Compared with traditional chemical methods, enzymatic hydrolysis by glycosylases has characterized by mild condition, environmental-friendship, and high specificity and could be used for selective hydrolysis of sugar unit. However, glycosylases from different labs suffer from various origins, uncontrollable quality and stability issues in comparison with chemical reagents. Therefore, the use of commercially available glycosylases that originate from a stable source with quality control is a feasible way to carry out selective modification on the glycoside compounds. Toward to this end, this review summarized recent applications on converting glycosides in TCM natural products by commercially available glycosidases.

KEYWORDS: glycosides; commercial glycosylases; enzymatic hydrolysis

天然来源的生物活性物质是新药发现的重要来源, 随着分离技术的提高, 从中草药植物中分离得到了包括糖苷在内的众多具有生物活性的天然产物^[1-2]。糖苷类化合物的糖基部分不易透过肠壁黏膜^[3], 在肠内与菌群作用方式复杂^[4], 导致其药理活性有较大的不确定性^[5]。同时糖基连接方式的多样性与复杂性给糖基部分结构优化和构效关系研究带来了许多困难。洋地黄毒苷(Digitoxin)和异羟基洋地黄毒苷(Digoxin, 图 1)C-3 β 位的 3 个连续的洋地黄毒素糖基可影响强心苷的药效活性和药代动力学

性质^[6], 活性和晶体实验证明含有单个洋地黄毒素糖的衍生物与含有 3 个糖的洋地黄毒苷, 在 Na/K 离子泵抑制活性上具有同等的效果^[7-8]; 通过酶催化反应变换其 C-3 位为葡萄糖或其他单糖, 也证明苷元连接单个糖分子后活性和选择性的提高最为明显^[9]。酸水解等化学法反应条件剧烈, 副产物多, 无法控制糖基的选择性水解。因此, 近年来的研究倾向通过糖基水解酶的方法进行催化水解^[10], 由于其反应条件温和, 位置选择性和立体选择性强, 不易造成环境污染等, 具有较大的研究前景^[11]。

收稿日期: 2020-08-26

基金项目: 国家自然科学基金(21877062); 江苏省高校自然科学研究重大项目(18KJA360010)

第一作者: 刘玥, 女, 硕士研究生, E-mail: 18795862089@163.com

通信作者: 张毅楠, 男, 教授, 主要从事天然产物合成和作用靶标发现研究, E-mail: yinanzhang@njucm.edu.cn

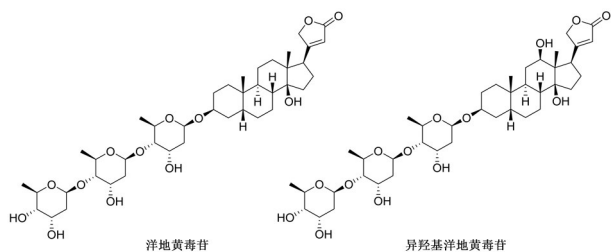


图 1 强心苷类药物的化学结构

1 糖苷类化合物

强极性的糖基和弱极性的苷元通过碳、氮、氧、硫等原子连接组成了糖苷。糖苷有以下多种不同的分类方式：①按苷元类型可分为：黄酮苷、蒽醌苷、香豆素苷、强心苷、皂苷等；②按连接原子类型可分为：碳苷如芒果苷、氮苷如腺苷、硫苷如萝卜硫苷、氧苷等(图 2)；其中最为常见的氧苷又可根据连接氧键的不同分为醇氧苷(红景天苷)、酚氧苷(天麻苷)、酯氧苷(山慈菇苷 A)，再根据异头碳构型可分为 α -苷和 β -苷；③按连接单糖个数可分为：单糖苷、双糖苷、三糖苷等；④按生物体内存在形式可分为：原级苷(在植物体内原存在的苷)、次级苷(原级苷水解掉 1 个糖或结构发生改变)等。

氧苷是最为常见的糖苷类化合物，植物来源的氧苷中最为常见的糖有葡萄糖、吡喃型阿拉伯糖、呋喃型阿拉伯糖、鼠李糖、木糖等^[12-13]。因此目前糖苷酶解转化中所采用的底物基本以这几类糖的氧苷为主。

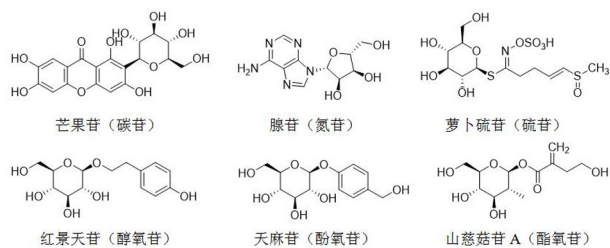
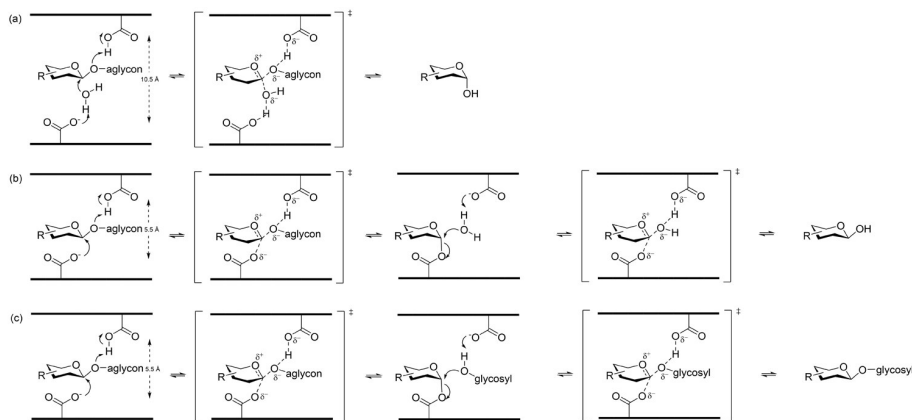


图 2 不同连接原子的糖苷化合物实例

2 商品化糖苷酶

糖苷酶(Glycoside hydrolases, GH), 是水解酶家族(EC 3)中的一大类酶, 在生物体的糖水解与合成过程中扮演着重要角色。根据水解的底物不同, 又可具体分为 195 种不同的酶(编号: EC 3.2.1.1-EC 3.2.1.195)^[14]。这些糖苷水解酶可具体归为 135 个类型(GH 1~135), 每个类型的成员彼此具有很高的结构相似度。根据其催化活性中心的结构, 又可将这些家族归纳为 14 个亚族(GH A~GH N)^[15]。这些亚族的糖苷酶在催化反应时, 如果是水分子充当亲核试剂进攻受体糖的异头碳, 发生的是水解反应, 水解后为构型翻转的脱糖产物(图 3a); 如果是糖苷酶催化活性中心的羧酸残基充当亲核试剂进攻受体糖, 然后再被水分子或另一分子糖第 2 次亲核进攻, 得到构型保持的脱糖产物(图 3b)或糖苷化产物(图 3c)^[5,16]。如亚族 GH A 的糖苷酶三维结构状态为 $(\beta/\alpha)_8$, 使用葡萄糖作为亲核试剂以及质子供体, 水解后为构型保持产物。



注: a. 构型翻转, 水解; b. 构型保持, 水解; c. 构型保持, 转糖基

图 3 糖苷酶作用机制

糖苷酶广泛存在于自然界中, 主要来源于细菌、真菌以及动物的肝脏。目前糖苷酶的获取方式主要有 2 种, 一种是直接从动植物或微生物的体内分离纯化(即纯化酶), 另一种是通过蛋白重组工程表达获得(即重组酶)^[17]。有多个研究团队利用纯化酶

或重组酶转化人参皂苷等糖苷类天然产物^[18], 但這些水解方法使用的酶往往是各自独立制备, 难以被研究团队以外的人员和机构获得。商品化的糖苷酶是已经规模化生产的纯化酶或重组酶, 具备来源可控、生产率高、品质稳定、使用方便等特点, 是适合不

同实验室和工业生产转化糖苷类天然产物的对象。截至 2020 年 6 月,国内市场现有主要的商品化糖苷酶列于表 1,主要包括纤维素酶、蜗牛酶、 β -葡萄糖苷酶、 β -葡聚糖酶、木聚糖酶、果胶酶、糖化酶、高峰

淀粉酶、 α -L-鼠李糖苷酶、橙皮苷酶等,其中 β -葡萄糖苷酶、 α -L-鼠李糖苷酶为单一酶,其他为多个同功能亚类的混合物。

表 1 商品化糖苷酶的种类与性质参数

商品酶	CAS	酶属	酶活性/ (U · mg ⁻¹)	使用 pH	使用温度/ ℃
纤维素酶(混)	9012-54-8	EC 3.2.1.4	10	4.5~6.5	40~60
木聚糖酶(混)	9025-57-4	EC 3.2.1.8	100	3.5~6.5	50~60
β -葡聚糖酶	9025-70-1	EC 3.2.1.11	50	4.8~7.5	30~60
β -葡萄糖苷酶(单)	9001-22-3	EC 3.2.1.21	10	5.0	50
果胶酶(混)	9032-75-1	EC 3.2.1.15	500	3.0	50
糖化酶	9032-08-0	EC 3.2.1.3	100	4.0~4.5	60~62
高峰淀粉酶(混)	9001-19-8	EC 3.2.1.1	100	4.8~5.5	50~60
橙皮苷酶(混)	37213-47-1	—	100	3.0~8.5	60
α -L-鼠李糖苷酶(单)	37288-35-0	EC 3.2.1.40	—	4.0~5.0	45~60
蜗牛酶(混)	—	—	—	5.8~7.2	30~55

3 商品化糖苷水解酶转化糖苷类天然产物

近年来,糖苷酶选择性水解糖苷类天然产物取得了较快的进展,因此本文着重对其中使用了商品化糖苷酶的研究进行综述,通过分析商品酶水解不同氧苷类天然产物的方法,为后续糖苷类天然产物选择性水解的研发与利用提供参考。

3.1 商品化水解酶转化醇氧糖苷类天然产物

醇氧键连接的糖苷是糖苷类天然产物的主要类型,使用商品酶对人参、罗汉果、走马胎、黄姜、黄芪等的糖苷进行水解已有较多的运用。

人参皂苷是人参的主要活性成分,具有抗癌、抗炎、抗过敏和抗氧化等多种药理活性。人参皂苷属于达玛烷型四环三萜类糖苷,多在 C-3、C-6 和 C-20 位连有葡萄糖、吡喃型阿拉伯糖、呋喃型阿拉伯糖、木糖和鼠李糖基形成多糖侧链。人参皂苷中含量较高的成分包括 Rb1、Rb2、Rc、Rd、Rg1 和 Re 等,占总皂苷的 80% 以上^[19];部分去糖基化的产物如 C-K、Rg3、Rh2、F2、Rh1、APPD、APPT 在天然人参中不存在或含量极低,被称为稀有人参皂苷。研究表明稀有人参皂苷多具有更强的生物活性及更好的生物利用度^[20-21],因此它们的选择性制备是国内外研究糖苷酶水解天然糖苷的主要热点。使用商品酶进行转化的方法主要用于制备人参皂苷 C-K,它是原人参二醇类人参皂苷进入人体后的代谢产物,相比其他人参皂苷具有更高的生物利用度^[22]。姜彬慧等^[23]和童庆宣等^[24]分别用 β -葡聚糖苷酶(购自北京诺唯信公司)和蜗牛酶(购自 Sigma Chemical

Co.)转化三七叶总皂苷制备人参皂苷 C-K,前者时间对转化率影响较大,后者物料比对转化率影响较大,酶解得率为 54%。林毅团队^[25]和贾晓斌课题组^[26]同样用蜗牛酶(购自福建漳州金田生物科技公司、北京拜尔迪生物技术有限公司)分别转化单体皂苷 Rd 和 Rb1 制得 C-K(图 4),其中最佳酶解条件为温度 55℃、醋酸-醋酸钠缓冲液 pH=5.5、底物浓度 1.0 mg/mL、酶与底物质量比 1:1、反应时间 36 h,转化率可高达 87%。

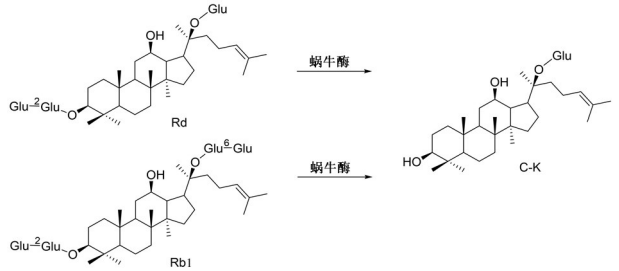
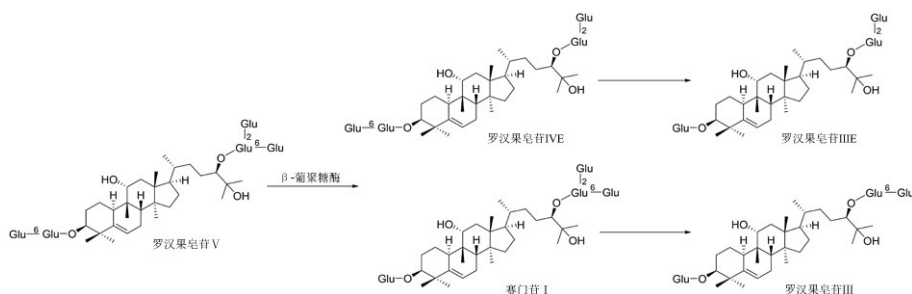


图 4 蜗牛酶水解人参皂苷示意图

中药罗汉果具有降血糖、抗癌、抗氧化、辅助降血压等功效。罗汉果皂苷是中药罗汉果的主要有效成分,属于葫芦烷三萜皂苷,多在 C-3 和 C-21 位连有 2 个多糖侧链。羊学荣等^[27]为获取罗汉果次级皂苷进行代谢和药理实验研究,用 β -葡聚糖酶(购自上海源叶生物有限公司)水解罗汉果皂苷 V 可以同时制得连接不同糖链的罗汉果皂苷ⅢE、Ⅲ、ⅣE 和赛门苷 I 等次级皂苷(图 5),正交试验确定最佳水解条件为温度 55℃、醋酸-醋酸钠缓冲液 pH=5.6、 β -葡聚糖酶活性浓度为 400 000 U/L、底物浓度为 0.2 g/L、水解时间 10 h。

图 5 β -葡聚糖酶水解罗汉果皂苷过程

中药走马胎具有治疗跌打损伤、风湿关节痛、产后瘀血及溃疡等功效^[28],走马胎皂苷是中药走马胎的主要有效成分,具有很好的抗肿瘤活性^[29-31],走马胎皂苷属于三萜皂苷,多在 C-3 位有 1 个多糖侧链。其中含量较高的三萜皂苷 Ag3 对多种肿瘤有显著抑制作用。为深入研究 Ag3 活性位点并总结糖链

与抗肿瘤活性构效关系,张静^[32]采用果胶酶 Pectinex Ultra AFP (SON60088, 购自诺维信中国生物技术有限公司)转化三萜皂苷 Ag3,可以同时得到 3 种次级皂苷和苷元(C1~C4,图 6);单因素试验确定最佳反应条件为温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH=4.0、反应时间 52 h。

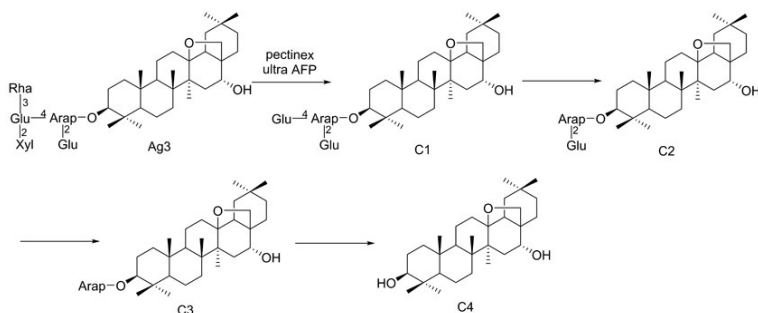
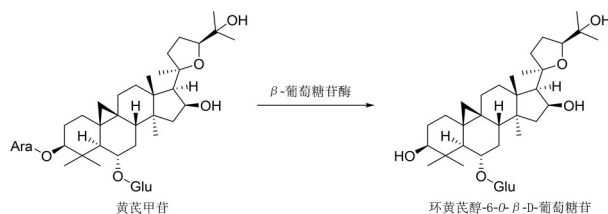


图 6 果胶酶水解走马胎三萜皂苷过程

薯蓣皂苷元是生产甾体激素类药物的重要基础原料,黄姜是世界上薯蓣皂苷元含量最高的植物种属,黄姜粗皂苷包括螺甾醇皂苷和呋甾醇皂苷,两者均在 C-3 位有 1 个多糖侧链,其中呋甾醇皂苷在 C-26 位还有 1 个葡萄糖基。为优化薯蓣皂苷元制备工艺, Liu 等^[33]用纤维素酶(来自 *Trichoderma viride*, 购自上海博奥生物技术有限公司)水解黄姜粗皂苷制备薯蓣皂苷元,其结合酸水解释放苷元的产率相比于传统方法提高了 15%;优化反应条件得到最佳酶解条件为温度 55 $^{\circ}\text{C}$ 、醋酸盐缓冲液 pH=5.0、酶/底物=15 $\times 10^3$ U/g。

黄芪甲苷是中药黄芪的代表性成分,具有强心、降压、心肌保护等作用,黄芪甲苷属于环黄芪醇皂苷,在 C-3 和 C-6 位有 2 个糖基侧链。研究发现环黄芪醇-6-O- β -D-葡萄糖苷是黄芪甲苷的主要代谢产物之一。为研究这类天然药物在体内的相关代谢产物制备,夏广萍等^[34]用 β -葡萄糖苷酶(购自上海宝丰生化有限公司)转化黄芪甲苷可以制得环黄芪醇-6-O- β -D-葡萄糖苷(图 7);优化得到最佳水解条件为温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 反应液 pH=5.0, 酶浓度

460 U/mL,底物初始浓度 0.10 mmol/L,反应时间 48 h。

图 7 β -葡萄糖苷酶水解黄芪甲苷过程

3.2 商品化水解酶转化酚氧糖苷类天然产物

中药淫羊藿具有补肾阳、强筋骨、祛风湿等作用^[35],淫羊藿黄酮苷是中药淫羊藿的主要有效成分,主要包括淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B 和朝藿定 C 这 4 种黄酮苷^[36],属于多羟基黄酮醇类糖苷化合物,多在 C-3 和 C-7 位有多糖基侧链。研究发现淫羊藿黄酮苷在肠道菌群作用下代谢为淫羊藿次级黄酮苷——宝藿苷 I、箭藿苷 A、箭藿苷 B、鼠李糖基淫羊藿次苷 II 和淫羊藿苷元,这些部分脱糖产物的抗骨质疏松活性显著增强。为进一步进行药理研究,贾晓斌课题组用纤维素酶^[37] (Cellulase) 和 β -葡萄糖苷酶^[38] (购自夏盛实业集团有限公司)转化淫

羊藿苷均可制备宝藿苷 I, 转化率分别为 95% 和 100%; 用蜗牛酶^[39] (购自北京拜尔迪生物科技有限公司) 转化淫羊藿苷可制备淫羊藿苷元, 转化率为 93%; 用纤维素酶^[40] (购自夏盛实业集团有限公司) 也可转化朝藿定 B 制得箭藿苷 B, 转化率为 94% (图 8)。陈彦课题组用蜗牛酶^[41-42] (购自上海源叶生物科技有限公司) 转化淫羊藿总黄酮也可同时得到 4 种次级黄酮苷, 转化率均在 75% 左右。卢艺^[43] 用 β -葡聚糖酶 (购自江苏锐阳生物科技有限公司) 可分别将朝藿定 A 和朝藿定 C 完全转化为箭藿苷 A 和鼠李糖基淫羊藿次苷 II, 采用双相酶水解体系 β -葡聚糖酶在连续使用了 7 次之后, 底物的相对转化率仍高于 70% (图 8)。这些研究都为进一步明确淫羊藿核心药效团和研究构效关系打下了良好的基础。

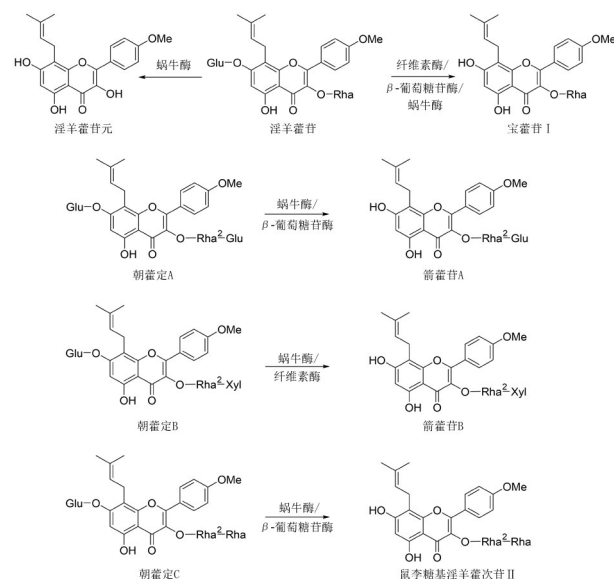


图 8 不同糖苷酶水解淫羊藿黄酮苷示意图

3.3 商品化水解酶转化酯氧糖苷类天然产物

Chiisanoside 是药用植物短梗五加和刺五加叶片中最主要的有效成分, 具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗急性肝损伤等药理作用^[44-46], Chiisanoside 属于 3,4-裂环羽扇豆烷型三萜皂苷, 在 C-28 位有 1 个多糖侧链。研究发现短梗五加叶总三萜皂苷具有一定的抗心律失常作用, 为进一步研究短梗五加叶三萜皂苷抗心律失常的作用机制与构效关系, 陈晨^[47] 先用鼠李糖苷酶 (购自苏州昆蓝生物科技有限公司) 将 Chiisanoside 转化为二糖基化合物 Divaroside (图 9), 酶解条件为底物 2 g、酶 1 g、50% 乙醇溶液 (pH = 4.5) 150 mL、温度 30 °C、反应 24 h; 接着用 β -葡萄糖苷酶 (购自苏州昆蓝生物科技有限公司) 进一步将

Divaroside 转化为单糖基化合物 Sessiloside-A1 (图 9), 酶解条件为底物 1 g、酶 1 mL、50% 乙醇溶液 (pH = 4.5) 100 mL、室温、反应 5 h。这种依次水解糖苷的方法, 为开展刺五加三萜皂苷的活性研究创造了良好的条件

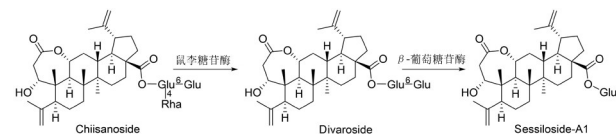


图 9 多个糖苷酶依次水解 Chiisanoside 糖链

4 讨论

综上所述可以看出, 商业化的纤维素酶和蜗牛酶被广泛应用于水解氧糖苷类天然产物, 具有较强的酶解活性。纤维素酶是降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称, 是一种复合酶, 主要由外切 β -葡聚糖酶、内切 β -葡聚糖酶、 β -葡萄糖苷酶以及活力很高的木聚糖酶等组成。蜗牛酶是从蜗牛的唾液和消化道中制备的酶, 它是含有纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶、阿尔法淀粉酶、甘露糖酶、蔗糖酶、半乳聚糖酶、蛋白水解酶、氨基酸转移酶等的混合酶。纤维素酶和蜗牛酶两者本身都是复合酶, 所含的酶种类也很多, 有可能是其中某一种酶发挥了独特的作用, 也有可能是某几种酶协同发挥了作用, 从而使其具有较强的酶解活性。在尝试酶解转化糖苷可以先行筛选上述几种价廉易得的商品酶, 然后考虑反应温度、pH 值、底物浓度和加酶量等因素。初筛温度区间建议选用 37 °C 至商品酶标注的参考温度, 缓冲溶液选用待水解糖苷具有较好溶解性的体系, 溶液 pH 选用标注参考范围的中值, 加酶量可根据底物用量按照质量比 1 : 1 添加。筛选发现合适的水解酶后, 再用单因素试验或正交试验优化酶解转化条件。

丰富的糖苷类天然产物是新药发现的重要来源, 酶解法水解糖基具有选择性高、副产物少、绿色环保等优点, 通过体外酶解转化可大大提高糖苷类化合物的生物利用度, 降低毒副作用, 提高生物活性, 同时可获得众多新化合物以供活性筛选, 用于创新药物研究。商品酶转化专一性好、选择性强, 适用于多样化的糖苷类天然产物; 同时反应条件温和, 无需进行官能团的保护和脱保护, 不破坏苷元结构, 保持母核骨架不变; 另外操作简单、反应时间短、重复性好。

随着蛋白质和基因工程的发展, 糖苷酶的生物转化应用越来越广泛。与此同时, 因商品酶来源有限和底物特异性的影响, 商品酶的应用仍然存在一

些局限性,有待于进一步的深入研究。另外,部分课题组储有对特定的糖苷生物转化的特异性纯化酶或重组酶,若能通过专利授权、技术转让等将这些特异性高的糖苷酶转化为产品,对糖苷类天然产物的生物转化研究和经济效益具有深远意义。

参考文献:

- [1] WOLFENDER JL, LITAUDON M, TOUBOUL D, et al. Innovative omics-based approaches for prioritisation and targeted isolation of natural products—new strategies for drug discovery [J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36(6): 855-868.
- [2] KHAN H, SAEEDI M, NABAVI SM, et al. Glycosides from medicinal plants as potential anticancer agents: Emerging trends towards future drugs[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(13): 2389-2406.
- [3] 杨云松, 高鹏, 代龙. 糖苷类化合物体外生物转化的研究进展[J]. *中国生化药物杂志*, 2012, 32(6): 927-930.
- [4] SPANOGLIANNPOULOS P, BESS EN, CARMODY RN, et al. The microbial pharmacists within us: A metagenomic view of xenobiotic metabolism[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(5): 273-287.
- [5] RYE CS, WITHERS SG. Glycosidase mechanisms[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2000, 4(5): 573-580.
- [6] PRASSAS I, DIAMANDIS EP. Novel therapeutic applications of cardiac glycosides[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(11): 926-935.
- [7] ZHANG J, PONOMAREVA LV, NANDURKAR NS, et al. Influence of sugar amine regiochemistry on digitoxigenin neoglycoside anticancer activity[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6(10): 1053-1058.
- [8] LAURSEN M, GREGERSEN JL, YATIME L, et al. Structures and characterization of digoxin- and bufalin-bound Na⁺, K⁺-ATPase compared with the ouabain-bound complex[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(6): 1755-1760.
- [9] HUANG W, WEN C, ZHOU ZR, et al. An efficient one-pot enzymatic synthesis of cardiac glycosides with varied sugar chain lengths[J]. *Adv Synth Catal*, 2019, 361(13): 3114-3119.
- [10] 于荣敏. 天然药物活性成分的生物合成与生物转化[J]. *中草药*, 2006, 37(9): 1281-1288.
- [11] 穆丽华, 刘屏, 张静. 皂苷体外生物转化水解反应的研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(1): 156-163.
- [12] 范冬冬, 匡艳辉, 向世颢, 等. 绞股蓝化学成分及其药理活性研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2017, 52(5): 342-352.
- [13] 王宇. 生物转化法制备人参皂苷 F1 及 Rh1 的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2015.
- [14] MCDONALD AG, BOYCE S, TIPTON KF. ExplorEnz: the primary source of the IUBMB enzyme list[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(S1): D593-D597.
- [15] LOMBARD V, GOLACONDA RAMULU H, DRULA E, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 490-495.
- [16] 黄红卫, 刘艳丽, 李春. 糖苷酶的研究及其改造策略[J]. *生物技术通报*, 2010(5): 55-60.
- [17] 崔莹莹. 酶法分离和转化人参皂苷 Rb2、Rb3 和 Rc 的研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2019.
- [18] SHIN KC, OH DK. Classification of glycosidases that hydrolyze the specific positions and types of sugar moieties in ginsenosides[J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2016, 36(6): 1036-1049.
- [19] NOH KH, OH DK. Production of the rare ginsenosides compound K, compound Y, and compound Mc by a thermostable beta-glycosidase from *Sulfolobus acidocaldarius* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(11): 1830-1835.
- [20] TAWAB MA, BAHR U, KARAS M, et al. Degradation of ginsenosides in humans after oral administration [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(8): 1065-1071.
- [21] HASEGAWA H. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: Basic and clinical trials: Metabolic activation of ginsenoside; Deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid[J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 95(2): 153-157.
- [22] 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.
- [23] 姜彬慧, 韩颖, 赵余庆, 等. 酶转化三七总皂苷制备人参皂苷 C-K 的工艺优化[J]. *中草药*, 2004, 35(9): 986-988.
- [24] 童庆宣, 林良华, 明艳林, 等. 稀有人参皂苷 IH901 酶法转化与制备研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(6): 1039-1044.
- [25] 张阳, 林毅. 酶法转化二醇型人参皂苷 Rd 及制备稀有人参皂苷 C-K[J]. *华侨大学学报(自然科学版)*, 2011, 32(6): 668-671.
- [26] 于兆慧, 刘其媛, 崔莉, 等. 蜗牛酶转化人参皂苷 Rb1 制备人参参稀皂苷 Compound K 的研究[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(2): 412-416.
- [27] 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, 898.
- [28] 卢文杰, 王雪芬, 陈家源, 等. 大叶紫金牛化学成分的研究[J]. *华西药理学杂志*, 1990, 5(3): 136-138.
- [29] ZHENG ZF, XU JF, FENG ZM, et al. Cytotoxic triterpenoid saponins from the roots of *Ardisia crenata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(9/10): 833-839.
- [30] CHANG X, LI W, JIA Z, et al. Biologically active triterpenoid saponins from *Ardisia japonica* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(2): 179-187.
- [31] 熊剑, 章翔, 程光, 等. Ardisiposilolide I 诱导胶质母细胞瘤细胞凋亡实验研究[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2010, 9(1): 10-14.
- [32] 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.
- [33] LIU W, HUANG W, SUN WL, et al. Production of diosgenin from yellow ginger (*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright) saponins by commercial cellulase[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26(7): 1171-1180.
- [34] 夏广萍, 刘鹏, 赵娜夏, 等. β -葡萄糖苷酶水解黄芩甲苷的研究[J]. *中草药*, 2012, 43(6): 1112-1114.
- [35] 王霄畅, 谢人明, 孙文基. 淫羊藿属药用植物黄酮类化合物的研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2010, 26(5): 171-175.
- [36] 于霄, 宋静, 熊志立, 等. 一测多评法测定淫羊藿中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 及淫羊藿苷的含量[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(24): 3310-3313.
- [37] 贾东升, 贾晓斌, 赵江丽, 等. 纤维素酶转化淫羊藿苷制备宝苷 I 的研究[J]. *中草药*, 2010, 41(6): 888-892.
- [38] 张振海, 陈玲玲, 贾晓斌, 等. β -葡萄糖苷酶酶解淫羊藿苷制备宝苷 I 的工艺研究[J]. *中国药房*, 2011, 22(43): 4059-4061.
- [39] 贾东升, 贾晓斌, 薛璟, 等. 蜗牛酶转化淫羊藿苷制备淫羊藿苷元的研究[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(7): 857-860.
- [40] 徐凤娟, 孙娥, 张振海, 等. 纤维素酶转化朝藿定 B 制备箭毒苷 B 的研究[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(2): 235-239.
- [41] 高霞, 刘璇, 陈彦, 等. 淫羊藿总黄酮的生物转化过程分析[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(23): 4079-4083.
- [42] 彭静, 马益华, 陈彦, 等. 固定化蜗牛酶同时生物转化淫羊藿中 4 种黄酮苷[J]. *中成药*, 2016, 38(9): 1984-1990.
- [43] 卢艺. 基于酶水解制备淫羊藿次级黄酮苷的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2019.
- [44] BIAN X, WANG S, LIU J, et al. Hepatoprotective effect of chiisanoside against acetaminophen-induced acute liver injury in mice[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(18): 2704-2707.
- [45] BIAN X, LIU X, LIU J, et al. Study on antidepressant activity of chiisanoside in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 57: 33-42.
- [46] BIAN XB, ZHAO Y, GUO X, et al. Chiisanoside, a triterpenoid saponin, exhibits anti-tumor activity by promoting apoptosis and inhibiting angiogenesis[J]. *RSC Adv*, 2017, 7(66): 41640-41650.
- [47] 陈晨. Chiisanoside 次级苷的分离、制备及其抗心律失常活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.

(编辑: 杨巍敬)