

微生物转化技术在中药开发中的应用进展

关松磊¹ 吴雅馨¹ 孙赫¹ 张亚超¹ 赵容祺¹ 王虹¹ 孙立静¹ 苏玲^{2*}

(1. 吉林农业大学生命科学学院 吉林 长春 130118)

(2. 吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心 吉林 长春 130118)

摘要: 中药现代化是目前中药研究最迫切的需要, 微生物转化技术可以利用微生物的特性解决中药现代化研究中难以解决的诸多问题, 我们总结了微生物转化中药的特点, 转化酶系统及反应类型, 分析了微生物生物转化对中药的影响, 认为微生物转化技术酶系统广泛, 选择性强, 反应条件温和可控, 反应类型广泛, 适用于所有类型的中药有效成分的生物转化, 经过转化后, 可以提高中药药效, 降低毒性, 去除杂质, 帮助有效成分的体内代谢及产生新的药物成分。中药微生物转化技术必定成为中药学与微生物学完美契合的典范, 推进中药现代化的进程。

关键词: 微生物, 中药, 生物转化, 药效

Application of microbial transformation technology in the development of Chinese medicine

GUAN Song-Lei¹ WU Ya-Xin¹ SUN-He¹ ZHANG Ya-Chao¹ ZHAO Rong-Qi¹
WANG Hong¹ SUN Li-Jing¹ SU Ling^{2*}

(1. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

(2. Engineering Research Center of Edible and Medicinal Fungi, Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: The modernization is the most urgent to traditional Chinese medicine research. Microbial biotransformation can help to solve many difficult problems of traditional Chinese medicine research. The article summarizes the characteristics of microbial biotransformation, enzyme systems and reaction types, and analyze the influence of Chinese medicine microbial biotransformation. The conclusions were that the enzyme systems had widely variability, strong selectivity, mild and controllable reaction conditions, multiple reaction types to all active ingredients of traditional Chinese medicine, and the technology was very suitable for the daily and industrial production. After biotransformation, the effects of drugs can be improved, reduce the toxicity, remove the impurities, help to the metabolism in vivo and produce new drug ingredients. The Chinese medicine combined with microbiology model will significantly promote the modernization of traditional Chinese medicine process.

Foundation items: College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program Project of Jilin Province; Jilin Agricultural University Students' Science and Technology Innovation Fund Project

*Corresponding author: E-mail: xiaoke377_1979@163.com

Received: June 07, 2017; **Accepted:** October 26, 2017; **Published online** (www.cnki.net): January 09, 2018

基金项目: 吉林省大学生创新创业训练计划项目; 吉林农业大学大学生科技创新基金

*通信作者: E-mail: xiaoke377_1979@163.com

收稿日期: 2017-06-07; 接受日期: 2017-10-26; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-01-09

Keywords: Microorganism, Traditional Chinese medicine, Biotransformation, Drug effect

中药是一个复杂庞大的系统,活性成分一般包括几大类:配糖体类(皂苷)、黄酮类、苯丙素类、生物碱类、醌类、鞣质、酯类等^[1]。这些成分多数含量低,口服利用度低,体内转化能力弱,起效慢,有些成分还具有毒性,是阻碍中药广泛应用的主要障碍。所以“增效减毒”是中药目前亟待解决的难题。微生物转化技术是当前中药现代化研究的热点之一,它可以利用微生物产生的一系列酶作用于中药底物,通过酶的催化作用影响天然药物的成分含量,借此提高药效,去除杂质,增加稳定性,降低毒性或产生新的成分。此项技术利用微生物强大的酶系统分解转化物质的能力生产中草药活性成分,为中药现代化的发展开辟了新思路^[2]。本文主要针对微生物转化酶系统和转化反应类型以及生物转化对中药药效等方面的影响,介绍微生物转化技术在中药现代研究中的应用现状。

1 微生物转化酶系统

1.1 酶系统及其特点

微生物在发酵过程中产生的丰富而强大的酶系统构成了高效生物催化体系的核心。目前在微生物发酵过程中已经发现了3 000余种能催化各种化学反应的酶^[3],如纤维素酶、糖化酶、羟化酶、 β -糖苷酶、脱氢酶、还原酶、蛋白酶、脂酶等。微生物转化酶系统不仅具有催化反应快、成本低、选择性强、反应条件易控制、操作简单、环境污染小等特点,而且还能够产生一些化学合成法难以生成的物质^[4]。酶可以将中药材植物的细胞壁和细胞间质中的纤维素、半纤维素等物质降解,减少有效成分从胞内向提取介质扩散的传质阻力,促进有效成分提取。郭双双等^[5]利用菌种HQ-10产生的 β -葡萄糖醛酸酶对黄芩进行发酵,发酵后黄芩素得率超过原药材的5倍以上。而Wang等^[6]利用一株产18- β -甘草次酸的黄曲霉对甘草进行转化,转化后甘草中的甘草酸水解为甘草次酸的产量大幅度提

高。一般来讲,一种药物成分进行生物转化的菌种可能有多种,只要产生的酶相同即可。

酶对底物的催化具有选择性,这种选择性主要包括化学选择性、结构选择性、区域选择性、面选择性。利用微生物进行生物转化不需要其他特殊的催化剂,只要将筛选得到的微生物菌种进行活化和产酶培养,然后再对底物进行单一的催化反应即可完成。催化反应的酶对底物具有针对性和选择性,对不需要转化的成分无需保护。微生物的转化法相比其它化学试剂更具有专一性的原因在于,它可以做到转化某些化学方法所难转化或者不能进行的化学合成反应。例如紫杉醇是一线抗肿瘤药物,多年来,美国施贵宝公司筛选得到多个菌种,对紫杉醇的合成工艺进行了不断的改进和研究,攻克了多个化学合成中的难题,取得了重要的成果^[7]。另外,微生物的转化反应通常条件温和(常温常压、pH 7.0),容易控制,操作设备简单,转化产物的后期处理简单。转化过程中可以最大限度地保护底物成分的活性,在酶的催化下,可以有效地解决煎、煮、蒸、浸等传统工艺中活性成分提取不充分的难题。有学者利用食品中分离得到的乳酸菌对人参皂苷Rb1进行转化,发现在37 °C厌氧的简单环境下即可将Rb1转化得到稀有皂苷F2或C-K,有效解决了F2及C-K提取困难的问题^[8]。

1.2 转化反应的类型及应用

据了解,微生物转化涉及了多种化学反应类型,例如:糖苷键反应、羟基化、脱氢(脱水)反应、酯化反应、环氧化反应、水解反应、水合反应、异构化等^[9]。一种中药的转化过程中可能涉及一种或多种反应。其中,羟基化反应是最常见的,也是最重要的反应,可以生成多种羟基化衍生物。中药的活性成分一般包括:配糖体类(蒽类,甾体类)、黄酮类、苯丙素类、生物碱类、醌类、鞣质、酯类等^[1]。一般来讲,获得不同的活性成分涉及的反应类型也不同(表1)。

表 1 微生物转化系统的主要化学反应类型

Table 1 The main chemical reaction types of microbial transformation system

反应类型 Reaction type	转化酶 Enzyme	典型反应(底物→产物) Typical reaction (Substrate→Product)	效果 Effect	转化体系 Transformation system
糖苷键反应 Glycosidic linkage	β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase	葛根→葡萄糖基葛根素 ^[10] Puerarin→Glucosamine puerarin 水飞蓟素 A/B→水飞蓟宾 A/B-3(7)-O-β-葡萄糖苷 ^[11] Silymarin A/B→Silybin A/B-3(7)-O-β-glucoside	增加溶解度 Increase solubility 得到有效成分 Get the active ingredients	红曲霉 <i>Monascus</i> 曲霉或木霉 <i>Aspergillus</i> or <i>Trichoderma</i>
糖苷键水解 Glycosidic bond hydrolysis	β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase	人参皂苷 Rg1→人参皂苷-F1 或 3-O-20s-原人参三醇或 Rf ^[12] Ginsenoside Rg1→Ginsenoside-F1 or 3-O-20s-propanax three alcohol or Rf 牛蒡子→牛蒡子苷元 ^[13] Burdock→Arctigenin 黄芩苷→黄芩素 ^[14] Baicalin→Baicalein	得到稀有品种 Get rare varieties 得到有效成分 Get the active ingredients 提高产量 Increase production	灵芝 <i>Glossy ganoderma</i> 黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i> 青霉 <i>Penicillium</i>
羟基化 Hydroxylation	羟化酶 Hydroxylase	喜树碱→10 羟喜树碱 ^[15] Camptothecin→10 Hydroxycamptothecin 甘草次酸→羟基甘草次酸 ^[16] Glycyrrhetic acid→Hydroxy glycyrrhetic acid 蟾毒灵→羟基(二羟基)蟾毒灵衍生物, 蟾毒精等 ^[17] Tovena→Derivatives of hydroxy tovenom or resibufagin 莪术醇→羟基莪术醇衍生物 ^[18] Zedoary turmeric→Hydroxyl curcumazyl alcohol derivatives	增加药理活性 Increase the pharmacological activity 得到新化合物 Get new compounds 降低毒性 Reduce toxicity 增加药效 Enhance effects	无毒黄曲霉 <i>Nontoxic Aspergillus flavus</i> 小克银汉霉或黑曲霉 <i>Cunninghamella</i> sp. or <i>Aspergillus niger</i> 连格孢霉 <i>Alternaria Nees</i> 青霉类 <i>Penicillium</i>
脱氢 Dehydrogenation	脱氢酶 Dehydrogenase	四氢小檗碱→小檗碱 ^[19] Tetrahydroberberine→Berberine	稳定结构 Rock-steady structure	轮枝霉菌 <i>Verticillium fungicola</i>
酯化 Esterification	酯化酶 Esterase	乌头碱→苯甲酰乌头碱 ^[20] Aconitine→Benzoyl aconitine	降低毒性 Reduce toxicity	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>
酯键水解 Hydrolysis of ester bond	脂肪酶 Lipase	紫杉醇类似物→巴卡汀 III, 巴卡汀 V, 10-去乙酰巴卡汀 III ^[7] Paclitaxel analogues→Bakating III, Bakating V, 10-deacetylates Bakating III	增加产量 Increase production	铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i>
脱乙酰作用 ^① Deacetylation	乙酰基转移酶 Acetyltransferase	华蟾毒精→去乙酰基化蟾毒精衍生物 ^[17] Toad venom→Deacetylation of toad derivatives	降低毒性 Reduce toxicity	连格孢霉 <i>Alternaria Nees</i>
支链降解 Branched chain degradation		胆固醇→胆甾-4-烯-3-酮, 胆甾-1,4-二烯-3-酮 ^[21] Cholesterol→Cholenene-4-3-ketone and Cholesteric-1,4-diene-3-ketone	减低含量 Reduce content	嗜酸乳杆菌 <i>Lactobacillus acidophilus</i>
还原反应 Reduction	还原酶 Reductase	阿魏酸→香草酸→香草醛 ^[4] Ferulic acid→Vanillic acid→Vanillin	制备香兰素 Preparation of vanillin	黑曲霉, 朱红密孔菌 <i>Aspergillus niger</i> , <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> (Jacq.:Fr.)Karst.

注: ①: 常与羟基化、脱氢等反应并存。

Note: ①: Coexists with hydroxylation, dehydrogenation and other reactions.

1.2.1 黄酮类的生物转化

黄酮类化合物种类繁多,代表化合物包括黄芩苷、槲皮素、芦丁、水飞蓟素、葛根素等。黄酮类化合物在植物体中通常与糖结合成苷类,小部分以游离态(苷元)的形式存在,分子中有一个酮式羰基^[22]。微生物转化黄酮类化合物主要涉及糖苷键反应,另外还有甲基化反应及羟基化反应^[9]。

1.2.2 生物碱类的生物转化

生物碱类化合物是一类含氮的碱性有机化合物,按照结构可以分为60类,代表化合物包括:喜树碱、小檗碱、乌头碱等。微生物转化主要涉及羟基化反应、酯键水解、脱氢反应、酯化反应^[9]。附子药理作用广泛,具有“回阳气,散阴寒”的作用,其中含有大量的乌头碱,具有毒性。孙鹏等^[20]利用黑曲霉对附子进行生物转化,利用了酯化反应,可使乌头碱含量减少,而且新增一种毒性较小的苯甲酰乌头原碱。

1.2.3 苯丙素类的生物转化

苯丙素是天然存在的一类苯环与3个直链碳连接(C6-C3基团)构成的化合物。代表化合物包括:香豆素、木质素、牛蒡子苷、香草酸等。苯丙素的微生物转化主要涉及开环反应、糖苷键水解、糖基化反应。利用黑曲霉将牛蒡子苷转化为牛蒡子苷元即是主要利用了糖苷键的水解反应^[13]。

1.2.4 萜类化合物的生物转化

萜类化合物由异戊二烯或异戊烷以各种方式连结而成的一类天然化合物。萜类化合物是挥发油(又称精油)的主要成分。代表化合物包括:人参皂苷、熊果酸、青蒿素、栀子苷、穿心莲内酯、莪术醇等。反应类型包括羟基化、糖苷键水解、酯化反应、脱氢、氧化反应。紫杉醇是萜类化合物家族中的明星抗肿瘤药物,对紫杉醇的工艺改造涉及了紫杉烷水解、酯化、羟基化、脱氢、差向异构化等反应,利用微生物转化改造攻克了多个紫杉醇化学合成中的难题^[7]。利用人参-灵芝共发酵过程的复杂反应类型,将原人参二醇型及原人参三醇型人参皂苷可转变为稀有人参皂苷 Rg3、20s-Rg3、Rf^[12]。

1.2.5 甾体类的生物转化

甾体类中药化合物主要包括甾体皂苷、甾体生

物碱、蟾毒配基等。代表成分有:华蟾素精、蟾毒灵、重楼皂苷等。涉及的反应类型包括:羟基化、脱乙酰基反应、糖苷键水解、支链降解。利用连格孢对华蟾毒精进行转化,利用羟基化、脱氢、脱乙酰基反应得到了6种羟基化和乙酰基产物,大大降低了华蟾毒精的毒性,增加了药效^[17]。

综上所述,利用何种微生物进行中药转化主要取决于中药有效成分的化学结构,同一种中药可以利用不同的微生物进行转化,利用不同的反应类型得到不同的产物,取得不同的效果。反之,不同的中药也可以采用同一种微生物,主要取决于微生物的酶系统和反应类型。总之,选择微生物之前要进行筛选和比较,还要对中药的活性成分具有充分的了解,才能获得目的产物。

2 微生物转化技术对中药的影响

2.1 增加有效成分,提高药效

利用微生物转化中草药,比起一般通过物理和化学的方法处理中草药,能够最大程度地改变药性,提升疗效。Yu等^[23]对人参中的Rb1、Re及Rg1等成分进行了微生物转化,得到产物的量和抗炎症的效果明显提高($P<0.05$)。本课题组研究人员利用人参-灵芝共发酵的方法,利用灵芝的菌液转化人参,发现人参的有效成分的比例和产物的种类发生了明显的变化,人参的抗氧化活性明显增强^[12]。京尼平是栀子的有效成分之一,具有很多重要的药理作用,但在栀子中的含量很低,赵平等^[24]利用产 β -葡萄糖苷酶的邬衣黑曲霉将京尼平苷转化为京尼平,大幅度提高了京尼平的产量。

2.2 产生新的药物成分

微生物转化中草药除了能够提高药物效果外,通过酶的催化和新陈代谢作用,还可以产生一些新的药物成分。一般来讲,中药的活性成分复杂,利用普通的化学合成进行结构修饰会出现产物得率低、反应专一性差、副产物多等问题。由于微生物种类繁多、繁殖快,所以利用微生物转化更易于生成新颖的化学结构,很多转化产物具有新的活性,所以微生物转化技术还可以用来对天然产物进行结构修饰,从而产生新的化合物。本课题组在前期

研究姜黄素的抗肿瘤特性中发现,虽然姜黄素的抗肿瘤活性很高,但是由于其难以溶解于水中,因此其生物利用度较低^[25]。一般的化学助溶剂效果均不明显。李锐等^[26]利用华根霉双脱甲氧基姜黄素进行微生物转化为双脱甲氧基姜黄素-O-葡萄糖苷,增加了其水溶性,并增强了其抗肿瘤活性。孙敏鸽等^[18]利用黑曲霉将莪术醇转化为活性更强的3 α -羟基莪术醇,这种新的化合物对副流感病毒、呼吸道合胞病毒和单纯疱疹病毒有较好的抑制作用,而在转化之前莪术醇并不具有这种作用。马媛等^[16]利用短刺小克银汉霉对甘草次酸进行生物转化,主要利用了酮基化和羟基化作用,获得1个主产物和5个次要产物,其中一个化合物为新的化学成分。苏玲等^[12]利用现代高分辨质谱检测技术研究人参-灵芝共发酵过程中产物的成分变化规律,原人参二醇型及原人参三醇型人参皂苷可转变为稀有人参皂苷 Rg3、20s-Rg3、Rf,大大增加了人参皂苷的药用价值。

2.3 降低中药的毒性

一些中药的毒副作用大大限制其在临床的应用范围。利用微生物转化技术对中药有毒成分进行分解或结构修饰后,可降低毒副作用。例如:五倍子鞣质、没食子酸等作为五倍子的主要成分,具有止泻、止血的功效,但是鞣酸会结合食物中的蛋白质形成具有收敛作用的鞣酸蛋白,导致胃肠道蠕动减慢,引起食欲不振。研究人员采用黑曲霉转化五倍子,发现没食子酸的含量显著提高,同时降低或消除了鞣酸引起的消化不良^[27]。马钱子是一味剧毒中草药,以往主要应用烫砂法和油炸法降低毒性。潘扬等^[28]通过朱红栓菌对马钱子进行转化,转化后马钱子类生物碱成分发生了质和量的明显变化,降低了马钱子毒性。雷公藤作为民间常用的植物药,功效极广,可用于风湿痹痛、关节僵硬、腰膝疼痛、抗肿瘤等,但其主要萜类成分及生物碱类成分均具有毒性,成为了雷公藤广泛使用的主要障碍。利用大肠杆菌对雷公藤次碱进行分解和转化,可使毒性明显降低^[29]。蟾酥具有解毒、止痛和开窍醒目的作用,但因蟾毒精、蟾毒灵和酯蟾毒配基都具有一定的毒性,在临床应用中受到了限

制。经过短刺小克银汉霉的转化作用,使其明显降低了毒性,提高了药用价值。

2.4 去除中药的杂质

中药中含有许多大分子杂质成分,对有效成分的活性有一定的影响,在日常生活中患者服药剂量一般较少,除去杂质可以减少服用剂量和提高药物稳定性。在中药成分进行人工处理的过程中,含量较高的杂质一般可以通过一定的工艺除去,但是含量较低的杂质反而难以去除。研究表明,微生物转化对于除去中药内的杂质成分也具有一定的作用。例如,在对中药多糖类物质的研发中常会遇到蛋白质杂质的干扰,可以利用产水解酶和蛋白酶的菌株除去蛋白质,从而提高多糖得率^[30]。而利用产糖苷水解酶的菌株也可以除去多肽、蛋白类药物中的糖类杂质。

2.5 辅助研究体内代谢

微生物转化技术还可以作为研究体内代谢的一个辅助工具,可以模拟药物体内代谢模型,并用来预测一些天然产物在动物体内的代谢情况。在“哺乳动物药物代谢的微生物代谢模型”理论中,明确指出可利用微生物转化系统研究哺乳动物药物代谢状况。在微生物体内与在哺乳动物体内代谢机制相似,例如,细胞色素 P450 酶系统和葡萄糖苷酸酶等均为真菌与哺乳动物药物代谢酶功能非常相似的功能酶,因此微生物转化体系有开发成预测药物代谢及毒理学体外模型的潜力。皂苷成分通常难以被肠道吸收,生物利用率低,肠道内的菌群也可以帮助其转化为易被吸收的苷元,从而提高药物的生物利用度^[31]。另外,甘草酸在肠道内也难以直接吸收,但与肠道菌群作用产生 18 α -甘草次酸的中间产物,并最终代谢为甘草次酸而被机体吸收,发挥药理活性^[32]。

3 存在问题与策略

由于中药成分复杂,中药现代化历程较短,新药受限等客观原因,导致微生物转化技术在中药领域的应用还停留在药效学和转化机制等研究的适应期,尚未应用于中药的大规模工业化生产。微生物的种类繁多,不同种类的微生物生物特性不同,

转化效果和产物也不相同。因此,优良菌种的选育是中药微生物转化的关键条件。然而,由于中药成分复杂,菌种数量多,种类繁多,在转化的最初设计中,菌种选育往往是最耗时耗力的工作。其次,菌种的代谢产物复杂,转化之后的成分鉴定和除杂工作程序繁琐,增加了工业化的成本,这也是影响其工业化生产的障碍之一。另外,菌种的代谢酶属于生物产品,对热敏感,易失活和变性,催化能力有限,这也是影响工业大规模应用的主要障碍之一。所以,菌种选育一般要遵循几个经验:(1)单一菌种:单一菌种的反应条件易控制,代谢产物相对稳定,利于后期的成分分析和除杂;(2)真菌:次生代谢产物多,酶种类多,易于培养,成本较低,目前的研究多倾向于选择有益真菌或植物内生真菌来完成中药的生物转化。利用基因工程手段构建和筛选菌株,优化条件,提高转化酶产量,增强催化活性,是目前较普遍的方法。本课题组研究人员利用双向发酵或几种中药共发酵等手段来完成高效菌株的选育,并提高活性成分的分离纯化能力,真正提高中药的药效和试用范围^[33-34]。

总之,中药微生物学作为中药学、微生物学及化学的交叉学科,发展前景颇为深远。在中药现代化的大背景下,随着微生物学及化学学科的快速发展和研究层次的深入,从菌种筛选,到培养条件优化,再到酶的活性鉴定和反应条件的控制,最后到产物的分析和鉴定,已经将中药微生物转化技术的水平和应用范围大大提高。科学家们逐渐认识到了微生物转化技术的优势,该技术可以大大推动新药的研发速度,突破中药应用的难点。中药微生物转化技术必定成为中药学与微生物学完美契合的典范。有利于推进中药现代化的进程,为我国传统中药文化走向世界做出重大贡献。

REFERENCES

- [1] Jin FX. Biotransformation of Natural Products[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009: 6-33 (in Chinese)
金凤鸾. 天然产物生物转化[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 6-33
- [2] Niu HJ, Wang P, Yang GE. Application of microbial transformation in research of Chinese medicine[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2013, 19(18): 346-349 (in Chinese)
- [3] Anbu P, Gopinath SCB, Cihan AC, et al. Microbial enzymes and their applications in industries and medicine[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: 204014
- [4] Wang SS, Hu P, Yu SW. Progress in research of biotransformation of natural products[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2016, 25(1): 71-75 (in Chinese)
王珊珊, 胡萍, 余少文. 天然产物微生物转化的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(1): 71-75
- [5] Guo SS, Cheng L, Yang LM, et al. Cloning and bioinformatic analysis and expression analysis of beta-glucuronidase in *Scutellaria baicalensis*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(22): 4370-4377 (in Chinese)
郭双双, 程林, 杨利民, 等. 黄芩葡萄糖醛酸水解酶基因的克隆、生物信息学分析及表达[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(22): 4370-4377
- [6] Wang J, Sun Q, Gao P, et al. Bioconversion of glycyrrhizic acid in liquorice into 18-β-glycyrrhetic acid by *Aspergillus parasiticus* speare BGB[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2010, 46(4): 421-425
- [7] Jiang PC, Chen BF, Zheng S, et al. A review on Taxol microbial transformation[J]. Journal of Changsha Medical University, 2014, 12(1): 9-12 (in Chinese)
蒋彭成, 陈碧峰, 郑水, 等. 紫杉醇微生物转化研究进展[J]. 长沙医学院学报, 2014, 12(1): 9-12
- [8] Shao Q, Chen H, Yin CR. Biotransformation of ginsenoside Rb1 by lactic acid bacteria[J]. Journal of Yanbian University (Natural Science), 2016, 42(2): 177-180 (in Chinese)
邵淇, 陈贺, 尹成日. 乳酸菌对人参皂苷 Rb1 的生物转化研究[J]. 延边大学学报: 自然科学版, 2016, 42(2): 177-180
- [9] Zhu LQ. Overview of microbial transformation of chemical constituents of Chinese medicine[J]. Journal of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2014, 38(1): 79-82 (in Chinese)
朱立俏. 中药化学成分的生物转化研究概述[J]. 山东中医药大学学报, 2014, 38(1): 79-82
- [10] Song YQ, Chen YW. Study on the chemical components of transforming *Puerariae* radix with *Monascus*[J]. Natural Product Research and Development, 2013, 25(11): 1525-1528 (in Chinese)
宋艳秋, 陈有为. 葛根的红曲霉转化产物化学成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(11): 1525-1528
- [11] Zhao H, Miu YY, Zhang YX, et al. Advances in biotransformation of Flavonoids[J]. Heilongjiang Science and Technology Information, 2013(9): 55 (in Chinese)
赵宏, 缪月英, 张义秀, 等. 黄酮类化合物生物转化的研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2013(9): 55
- [12] Su L, Liu S, Liu ZQ, et al. Studies on the antioxidant activities and the changes of the products during the co-fermentation of *Radix ginseng* and *Ganoderma lucidum*[J]. Food and Fermentation Science & Technology, 2016, 52(6): 41-46,65 (in Chinese)
苏玲, 刘舒, 刘志强, 等. 人参-灵芝共发酵过程中产物的抗氧化活性及其成分变化规律研究[J]. 食品与发酵科技, 2016, 52(6): 41-46,65
- [13] Ou ZM, Sui ZH, Shi HB, et al. Transformation of arctiin in water extract of *Arctii Fructus* with *Aspergillus niger*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(4): 698-700 (in Chinese)
欧志敏, 隋志红, 石寒冰, 等. 黑曲霉转化牛蒡子水提液中牛蒡子苷的研究[J]. 中草药, 2011, 42(4): 698-700
- [14] Su L, Liang GB, Long WY, et al. Screening and identify of the

- baicalin microbial transformation and optimization of fermentation conditions for baicalein by microorganism[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(8): 1483-1488 (in Chinese)
- 苏龙, 梁广波, 龙文英, 等. 黄芩苷微生物转化菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(8): 1483-1488
- [15] Chen MH, Yang MH, Kong LY. Research progress and development of camptothecin Derivatives[J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2016, 18(5): 724-730 (in Chinese)
- 陈梦涵, 杨鸣华, 孔令义. 喜树碱类药物的研究与开发[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2016, 18(5): 724-730
- [16] Ma Y, Xie D, Wang ZH, et al. Microbial transformation of glycyrrhetic acid by *Cunninghamella blakesleeana*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(21): 4212-4217 (in Chinese)
- 马媛, 谢丹, 王照华, 等. 短刺小克银汉霉对甘草次酸的微生物转化[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4212-4217
- [17] Ye M. Study on biotransformation of cinobufagin and bufalin[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Peking University, 2003 (in Chinese)
- 叶敏. 华蟾毒精和蟾毒灵的生物转化研究[D]. 北京: 北京大学博士学位论文, 2003
- [18] Sun MG, Zhao Q, Chen LX, et al. Biotransformation optimization of curcumin by *Aspergillus niger* AS 3.739[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2013, 30(3): 226-231 (in Chinese)
- 孙敏鸽, 赵倩, 陈丽霞, 等. 黑曲霉(AS 3.739)对姜黄素生物转化及条件优化[J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(3): 226-231
- [19] Jin X, Song X, Cao YB, et al. Research progress in structural modification and pharmacological activities of berberine[J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2014, 32(3): 171-175 (in Chinese)
- 金鑫, 宋霞, 曹永兵, 等. 小檗碱的结构改造及其药理活性的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2014, 32(3): 171-175
- [20] Sun P, Li L, Wu L, et al. Research on attenuated efficiency of *Aconitum carmichaeli* based on biotransformation[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(22): 16-19 (in Chinese)
- 孙鹏, 李玲, 吴丽, 等. 基于生物转化的附子减毒增效考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 16-19
- [21] Wang WM, Xu L. Lactic acid bacteria: mechanisms for cholesterol degradation *in vitro* and *in vivo* and its application[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(2): 295-303 (in Chinese)
- 王文梅, 许丽. 乳酸菌体外和体内降解胆固醇的机理及其应用[J]. 动物营养学报, 2014, 26(2): 295-303
- [22] Pei YH, Lou HX. Natural Pharmaceutical Chemistry[M]. 7th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016: 50-100 (in Chinese)
- 裴月湖, 娄红祥. 天然药物化学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 50-100
- [23] Yu SS, Zou XL, Li F, et al. Microbial transformation of ginsenoside Rb1, Re and Rg1 and its contribution to the improved anti-inflammatory activity of ginseng[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 138
- [24] Zhao P, Yang G, Zou JH. Research on transformation of Geniposide to Genipin by microorganism fermentation[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2016, 44(26): 98-101 (in Chinese)
- 赵平, 杨光, 邹积宏. 京尼平苷微生物转化生产京尼平的研究[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(26): 98-101
- [25] Guan SL, Hu XL, Liu ZY, et al. Anti-tumor effect of curcumin combining with *Cis*-platin on human Ovarian cancer cell line COC1 *in vitro*[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2011, 28(9): 1022-1027 (in Chinese)
- 关松磊, 胡秀丽, 刘忠英, 等. 姜黄素联合顺铂对卵巢癌细胞 COC1 的体外抗肿瘤作用[J]. 应用化学, 2011, 28(9): 1022-1027
- [26] Li R, Liu F, Li YX, et al. The preparation of bisdemethoxycurcumin-glucoside by microbial transformation method and its inhibitory effect to HepG2 tumor cells[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(6): 20-25 (in Chinese)
- 李锐, 刘芳, 李芸香, 等. 微生物转化法制备双脱甲氧基姜黄素糖苷化产物及其对 HepG2 肿瘤细胞的抑制作用[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(6): 20-25
- [27] Cao JL, Wang GL, Wang XD, et al. Biotransformation of gallic acid process by tannase produced by *Aspergillus niger* B0201[J]. China Brewing, 2013, 32(7): 68-70,97 (in Chinese)
- 曹建兰, 王广莉, 王晓丹, 等. 黑曲霉 B0201 产单宁酶生物转化没食子酸工艺研究[J]. 中国酿造, 2013, 32(7): 68-70,97
- [28] Pan Y, Zhang X, Liu LJ, et al. Alkaloids from fermentation product in *Strychni Semen*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(3): 452-457 (in Chinese)
- 潘扬, 张弦, 刘亮镜, 等. 马钱子发酵品中生物碱化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(3): 452-457
- [29] Liang YH, Leng HF, Yao HY, et al. A study on the biotransformation of wilforine by *Escherichia coli* (*E. coli*)[J]. Journal of Zhengzhou Normal Education, 2012, 1(4): 46-47,68 (in Chinese)
- 梁永红, 冷皓凡, 姚慧莹, 等. 大肠杆菌对雷公藤次碱的生物转化研究[J]. 郑州师范教育, 2012, 1(4): 46-47,68
- [30] Jiao FW, Xu YW, Wang JH. Total polysaccharide content in malt before and after fermentation[J]. Central South Pharmacy, 2016, 14(6): 652-654 (in Chinese)
- 焦方文, 徐有伟, 王集会. 中药麦芽发酵前后总多糖的含量对比研究[J]. 中南药学, 2016, 14(6): 652-654
- [31] Wang XM, Li XB, Peng Y. Impact of *Qi*-invigorating traditional Chinese medicines on intestinal flora: a basis for rational choice of prebiotics[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2017, 15(4): 241-254
- [32] Xiao J, Zhang YF, Wang Y, et al. Study on effect of different compatibility of saponins contained in Banxia Xiexin Tang on intestinal bacterium metabolism[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(4): 611-617 (in Chinese)
- 肖娟, 张宜凡, 王莹, 等. 不同配伍对半夏泻心汤皂苷类成分的肠菌代谢影响研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(4): 611-617
- [33] Song FR, Su L, Chen WJ, et al. Liquid fermentation method of ginseng-radix astragali-lucid ganoderma medical mycoplasma: China, CN201410088715.7[P]. 2014-07-09, <http://www.pss-system.gov.cn/sipopublicsearch/patentsearch/showViewList-jumpToView.shtml> (in Chinese)
- 宋凤瑞, 苏玲, 陈维佳, 等. 一种参芪芝药性菌质液体发酵方法: 中国, CN201410088715.7[P]. 2014-07-09, <http://www.pss-system.gov.cn/sipopublicsearch/patentsearch/showViewList-jumpToView.shtml>
- [34] Song FR, Su L, Chen WJ, et al. Bidirectional solid fermentation method of ginseng-radix astragali-lucid ganoderma medical mycoplasma: China, CN201410086789.7[P]. 2014-07-09, <http://www.pss-system.gov.cn/sipopublicsearch/patentsearch/searchHomeIndex-searchHomeIndex.shtml> (in Chinese)
- 宋凤瑞, 苏玲, 陈维佳, 等. 一种参芪芝药性菌质双向固体发酵方法: 中国, CN201410086789.7[P]. 2014-07-09, <http://www.pss-system.gov.cn/sipopublicsearch/patentsearch/searchHomeIndex-searchHomeIndex.shtml>