

·文献综述·

曲霉转化中药材的研究进展

金 灿,周 晋*,崔培梧,林 艳,徐德宏,李顺祥
(湖南中医药大学药学院,湖南 长沙 410208)

[摘要] 微生物转化已成为中药现代化研究的热点之一,本文对微生物转化中使用频率高的曲霉菌转化中药材的应用进行综述,并对广泛使用的黑曲霉对人参皂苷、黄山药、槐米中的芦丁、虎杖中的白藜芦醇苷、黄芩等的转化应用进行了介绍。

[关键词] 微生物转化;中药材;曲霉;黑曲霉

[中图分类号]R282.7;Q939 [文献标识码]A [文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.06.023

Research Progresses of *Aspergillus* Transforming Traditional Chinese Medicinal Materials

JIN Can, ZHOU Jin*, CUI Peiwu, LIN Yan, XU Dehong, LI Shunxiang

(School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] Microbial transformation has become one of the hot issues on the modernization of traditional Chinese medicine. This paper has reviewed the applications of aspergillus which is used frequently to transforming Chinese medicinal materials, and introduced the applications of transforming ginsenoside, dioscorea panthaica, lutein in Flos Sophorae, resveratrol glycosides in polygonum cuspidatum and Scutellaria baicalensis by aspergillus niger.

[Keywords] microbial transformation; traditional Chinese medicinal materials; aspergillus; *Aspergillus niger*

中药材成分复杂,不仅含有有效成分还含有无效、低效成分甚至有毒成分。已有研究表明,通过微生物转化的方法能增加有效成分的含量、减少毒性成分种类或含量、增加化合物的种类,为活性先导化合物的筛选提供更多选择;还能通过研究微生物转化中药材的过程来研究体内的代谢过程,探求中药的作用机制等^[1-2]。微生物转化的方法条件温和^[3],对环境的污染低,符合绿色环保的时代发展要求。因此本文针对微生物转化应用于中药材的研究,着重对曲霉系微生物在中药材转化的应用进行了综述。

1 微生物对中药材的转化

微生物转化中药材是指某一种微生物将一种中药材或某一种中药成分(底物)转化成另一种或

几种物质(产物)的过程,这一过程是微生物利用其在生长过程中产生的胞内或胞外酶来催化一种或多种化学反应的发生^[4]。

与化学催化相比,采用微生物转化的方法具有更强的专一性,具有立体选择性。因为转化条件为微生物的生存生长环境,条件温和,对环境的污染低;以及微生物种类繁多,对于一类反应的发生可能会有多种菌种有效,通过筛选出最佳菌种以及优化实验条件可以提高微生物转化的转化率^[5]。

应用微生物转化中药可以得到原来不存在的化合物,增加化合物的种类,通过筛选得到活性先导化合物,为中药的新药开发开辟道路;除此之外,微生物转化中药可以提高高活性组分的含量从而增强中药的药效;微生物转化还能通过分解或修饰的方式使中药中的毒性成分组成减少或含量降低,

[收稿日期]2015-07-26

[基金项目]湖南省中医药科研计划项目(201426);湖南省“十二五”中药学重点学科项目(湘教发[2011]76号);校生物工程重点学科项目。

[作者简介]金 灿,女,在读硕士研究生,研究方向:手性药物分离与分析。

[通讯作者]*周 晋,女,副教授,硕士研究生导师,E-mail:hzhoujin@sina.com。

达到降低毒副作用的效果;最后微生物在体外转化中药还可以模拟中药活性成分在体内的代谢过程,从而有助于研究中药的作用机制^[1-2],为中药的合理用药提供依据。基于微生物转化的特点以及用途,现已经有许多对微生物转化中药的探索与研究。

虽然微生物的种类繁多,但只有一小部分的微生物能应用于转化中药材这一领域,通常能用于转化中药材的微生物主要有毛霉菌、根霉菌、曲霉菌等^[5]。在以上几种菌种中又以曲霉菌的应用较为广泛,而曲霉菌中又分为黑曲霉、米曲霉、烟曲霉、红曲霉、土生曲霉、杂色曲霉等。又因黑曲霉具有多种活性强的酶系,能产生果胶酶、甘露聚糖酶、蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、半纤维素酶、脂肪酶、葡萄糖苷酶等酶而广泛使用^[6-7]。

2 黑曲霉在中药转化中的应用

2.1 黑曲霉的特点

黑曲霉是半知菌亚门丝孢纲丝孢目丛梗孢科曲霉属的一个常见种。因它具有多种活性强的酶系,能产生淀粉酶、果胶酶、葡萄糖苷酶等酶以及能分解有机物产生有机酸,是重要的工业发酵菌种。如利用黑曲霉产生的淀粉酶催化淀粉糖化、液化或制取工业酒精等;还可利用黑曲霉产生的葡萄糖苷酶使苷类化合物酶解掉糖的部分而得到苷元。

2.2 应用实例

吴秀丽等^[8]从长白山人参根际土壤中分离筛选出68种真菌菌种用于转化人参皂苷Re,其中有3种菌种对人参皂苷Re有转化作用,在这3种中,转化活性最高的是黑曲霉菌菌株。采用黑曲霉可以使药用价值相对低、组分含量大的人参皂苷Re转化生成具有极高药用价值的人参皂苷Rg₁、Rg₂、Rh₁,为提高人参的药效提供了一种新的思路。

张传会等^[9]采用黑曲霉对薯蓣科植物黄山药根茎进行微生物转化,转化后得到4种化合物,其中3种化合物具有抑菌活性。采用黑曲霉微生物转化技术使黄山药的化合物种类增多,与原药材提取物相比,生物活性更强,有效的提高了药物的药效。

在自然界中,芦丁的含量远远大于槲皮素,但槲皮素在抗菌、抗癌方面的药理作用明显强于芦丁^[10]。陈箐筠等^[11]筛选到一株能产 β -葡萄糖苷酶和芦丁- α -鼠李糖苷酶的黑曲霉菌株,并研究该菌株产酶的最佳

培养条件,利用该菌株转化从槐米中提取到的芦丁来制备苷元槲皮素。

牛蒡子苷和牛蒡子苷元同是菊科植物牛蒡的干燥成熟果实牛蒡子的有效成分之一,属于木脂素类化合物^[12]。牛蒡子苷元具有抗肿瘤、抗病毒、抗老年痴呆,并对急性肾炎和肾病综合征都有良好疗效^[14]。但是牛蒡子中牛蒡子苷的含量远远多于牛蒡子苷元,为了增加牛蒡子苷元的含量,增强药物的疗效,欧志敏等^[15]采用黑曲霉转化牛蒡子提取液,转化7d的转化率可超过百分之九十。利用黑曲霉转化牛蒡子,促使牛蒡子苷转化为牛蒡子苷元,有利于提高牛蒡子水提液中的牛蒡子苷元的量,提高药物的起效速度,是一种可行的牛蒡子生物炮制技术。

白藜芦醇-3,4',5-三羟基二苯乙烯,具有抗氧化、清除自由基、抗动脉粥样硬化、保肝、抗肿瘤、抗血栓以及降血脂等药理作用^[16-19],被认为是继紫杉醇之后的第二种最潜力的抗癌药物。白藜芦醇主要存在于蓼科植物虎杖、葡萄科植物葡萄、豆科植物花生中。在干燥的虎杖根茎中,白藜芦醇约占0.1%~0.2%,而白藜芦醇苷约占2%,为了满足人们对白藜芦醇的日渐庞大的需求,田天丽等^[20]采用黑曲霉将虎杖中白藜芦醇苷转化生成白藜芦醇;吕之尧等^[21]人对含糖苷键水解酶菌株的筛选得到4种能用于转化虎杖中白藜芦醇苷的菌种,其中以黑曲霉菌菌株的转化效果最好,白藜芦醇的提取率与直接用乙醇提取相比大大升高;龚云杰等^[22]筛选鉴定得到一株黑曲霉,采用固体发酵方式对虎杖进行转化,转化后白藜芦醇的提取率提高了3倍,并对转化条件进行优化;许南儿等^[23]人以虎杖为基质富集再分离、筛选得到9株菌落形态不同的霉菌,并用它们进行转化实验,以白藜芦醇的含量为标准,其中黑曲霉为转化能力最强的菌株。采用黑曲霉对虎杖进行转化,能够使大量存在的虎杖苷转化为药理作用更为显著的白藜芦醇,拓展了白藜芦醇的来源。

黄芩素是黄芩中的主要活性成分之一,研究表明其具有抗菌抗病毒、清除氧自由基及抗氧化、解热镇痛抗炎、抗肿瘤及对心脑血管保护等药理作用^[24]。车庆明等^[25]研究表明在体内黄芩苷代谢为黄芩素被吸收,因此黄芩素在体内的吸收较黄芩苷为快,且生物利用度也较黄芩苷高,汪红等^[26]采用黑曲霉对黄芩提取液进行转化制得黄芩素,转化率十分可观;陈丽

艳等^[27]采用黑曲霉对灭菌后的黄芩直接进行微生物转化,最后得到黄芩素和汉黄芩素的含量比黄芩原药材所含分别高出 1.73 倍和 4.77 倍,而黄芩苷的含量降低了。采用黑曲霉转化可以使黄芩苷转化成黄芩素,使黄芩的药效有所提升。

3 其他曲霉在中药转化中的应用

3.1 其他主要的曲霉及其特点

除黑曲霉以外,还有米曲霉、土生曲霉、红曲霉等曲霉也应用于中药材的转化研究中,但不及黑曲霉的应用广泛。其中米曲霉能产生蛋白酶、淀粉酶、糖化酶、纤维素酶等酶,作为最重要的酶制剂而广泛使用^[28];而红曲霉在生长过程中能产生淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、果胶酶、麦芽糖酶等多种酶^[29]。

3.2 应用实例

董悦生等^[30]采用米曲霉直接转化盾叶薯蓣皂苷制备薯蓣皂苷元,该苷元既具有抗肿瘤的药理作用^[31-32],还是工业上用于合成甾体激素和甾体避孕药的一种重要原料^[33]。全波^[34]利用米曲霉对中药穿山龙中水溶性总皂苷进行生物转化,并从转化产物中分离得到 11 个甾体皂苷类化合物,其中 2 个新的甾体皂苷,以及 5 个穿山龙中从未报道过的化合物,通过米曲霉的转化,增加了化合物的种类,有利于活性先导化合物的筛选。

陈有为等^[35]从西双版纳热带雨林土壤中分离得到土生曲霉并筛选得到高效转化菌株,用该菌株转化三七药材,最终药材中原来存在的化学成分大部分被降解或分解,得到新的化合物,部分稀有成分含量有所增加。宋艳秋等^[36]利用红曲霉在优化条件下转化葛根,得到葛根素的含量大幅提高,使药物的疗效得以增强。匡守权等^[37]采用红曲霉对人参进行转化,转化后人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 的含有量降低,而稀有的人参皂苷 Rg₃ 含量增多,有利于提高人参的药效。

4 展望

在曲霉属真菌众多种中,黄曲霉能产生有毒物质,不能应用于微生物转化中;黑曲霉的的酶系广泛,不产生毒素,在转化中药方面的应用相当普遍;除黑曲霉以外的曲霉如米曲霉等,也有所应用,但都远不及黑曲霉应用的多。

在经济高速发展的今天,突出疾病尤其是癌症每天都在吞噬着人类,成为一时还难以解决的医药学难题。通过微生物转化中药材的方法有望得到原来不存在的化学成分,经过筛选得到活性先导化合物,开发获得具有特异性好的药理药效的抗癌新药;而那些具有很好抗癌药理作用但毒性很大的药物,通过微生物的处理对其结构进行修饰从而降低毒副作用,有望能成为抗癌药物的新宠;除此之外,由于中药成分的复杂,以及中药复方配伍的复杂性,仅仅依赖于中医传统理论说服力欠佳,很难使中药走上国际化,通过微生物转化的手段,阐明中药的作用机制,说明中药用药的科学性以及合理性,有助于推动中药的现代化与国际化。

参考文献:

- [1] 牛红军,王 芃,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.
- [2] 阮晓东,张惠文,蔡颖慧,等.微生物在中药生物转化中的应用[J].中草药,2009,40(1):149-152.
- [3] 刘庆鑫,李慧梁,柳润辉.微生物转化在天然产物研究中的应用[J].药学实践杂志,2012,30(5):321-325.
- [4] 陈代杰.生物转化与药物开发[J].精细化工原料及中间体,2005,(10):5-7.
- [5] 崔 宇,姜彬慧,韩 颖,等.微生物对人参皂总皂苷中人参皂苷化合物 K 的转化作用[J].中草药,2007,38(2):189-193.
- [6] 陈 林,王明兹,柯崇榕,等.黑曲霉原生质体诱变选育果胶酶高产菌株[J].微生物学杂志,2011,31(5):27-30.
- [7] 赵 伟,郑 甲,周洪波.产 β-甘露聚糖酶 *Aspergillus* sp.LQ21 的分离、鉴定及发酵条件的研究[J].微生物学杂志,2010,30(5):12-18.
- [8] 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.
- [9] 张传会,陈有为,郑 毅,等.黄山药的黑曲霉转化产物化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2008,20(4):585-588.
- [10] Chen J W, Zhu Z Q, Hiu T X, et al. Structure-activity relationship of natural flavonoids in hydroxyl radical-scavenging effects [J]. Acta Pharmacol Sin, 2002,7(23):667-672.
- [11] 陈箬筠,张迎庆,干 信,等.黑曲霉 As3.4309 发酵转化芦丁的研究[J].生物技术,2009,19(2):88-91.
- [12] 王 瀚,赵 烽,刘 珂.牛蒡子苷及牛蒡子苷元的药理作用研究进展[J].中草药,2008,39(3):467-470.
- [13] 何 凡,孙小玲,宿亚柳,等.牛蒡子苷元抗肿瘤血管生成作用研究[J].中药药理与临床,2014,30(4):19-23.
- [14] 蒋淑敏.牛蒡化学成分和药理作用的研究现状[J].时珍国医国药,2001,12(10):941-942.

- [15] 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.
- [16] Bishayee A, Darvesh A S, Politis T, McGory R, Resveratrol and liver disease: from bench to bedside and community [J]. *Liver International*,2010,30:1 103-1 114.
- [17] 林春蕾,何磊,王凡,等.白藜芦醇的肝脏药理作用[J].现代生物医学进展,2013,13(26):5 162-5 164.
- [18] 巫志峰,赵瑞芝.白藜芦醇的抗肿瘤药理作用研究新进展[J].中中药学,2004,2(3):167-169.
- [19] 刘学珍,林军,刘向磊,等.白藜芦醇的药理作用及其微生物合成的研究进展[J].世界临床药物,2015,36(1):56-60.
- [20] 田天丽,沈竞,徐萌萌,等.虎杖中虎杖苷的微生物发酵转化研究[J].四川大学学报(自然科学版),2008,45(2):437-440.
- [21] 吕之尧,郭崇华.微生物酶法从虎杖中提取白藜芦醇的研究[J].食品科学,2008,29(5):283-286.
- [22] 龚云杰,王卫,曾柏全,等.产纤维素酶微生物发酵转化虎杖提高白藜芦醇收率的研究[J].中南林业科技大学学报,2010,30(9):190-193,201.
- [23] 许南儿,罗榴彬,梅建凤,等.生物转化法提高虎杖中白藜芦醇的含量[J].药物生物技术,2012,19(5):411-413,426.
- [24] 辛文好,宋俊科,何国荣,等.黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J].中国新药杂志,2013,22(6):647-653,659.
- [25] 车庆明,黄新立,李艳梅,等.黄芩苷的药物代谢产物研究[J].中国中药杂志,2001,26(11):46-47.
- [26] 汪红,高陪,廖勇,等.微生物发酵转化黄芩苷生成黄芩素的研究[J].四川大学学报,2009,46(3):795.
- [27] 陈丽艳,张迎,金爽,等.黄芩经侧耳菌和黑曲霉发酵后黄酮类成分的变化[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):63-65.
- [28] 李诗雯.米曲霉蛋白酶系协同水解大豆蛋白的研究[D].湖北工业大学,2015.
- [29] 张志刚,马歌丽.红曲霉菌的应用现状及发展前景[J].粮食流通技术,2007(3):36-38.
- [30] 董悦生,齐珊珊,刘琳,等.米曲霉直接转化盾叶薯蓣生产薯蓣皂苷元[J].过程工程学报,2009,9(5):993-998.
- [31] Corbiere C, Liagre B, Bianchi A, et al. Different Contribution of Apoptosis to the Antiproliferative Effects of Diosgenin and Other Plant Steroids, Hecogenin and Tigogenin, on Human 1547 Osteosarcoma Cells [J]. *Int J Oncol*, 2003,22(4):899-905.
- [32] Raju J, Bird R P. Diosgenin, a Naturally Occurring Furostanol Saponin Suppress 3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA Reductase Expression and Induces Apoptosis in HCT-116 Human Colon Carcinoma Cells [J]. *Cancer Lett*, 2007,255(2):194-204.
- [33] Fernandes P, Cruz A, Angelova B, et al. Microbial Conversion of Steroid Compounds: Recent Developments [J]. *Enzyme Microbiol. Technol*, 2003,32(6):688-705.
- [34] 全波.米曲霉对穿山龙中甾体皂苷的生物转化[D].沈阳:沈阳药科大学,2006.
- [35] 陈有为,苗翠苹,吴少华.土生曲霉转化三七中药材的研究[J].天然产物研究与开发,2012,24(8):1 014-1 019.
- [36] 宋艳秋,陈有为.红曲霉转化中药葛根固体发酵条件研究[J].安徽农业科学,2010,38(4):1 707-1 708,1 745.
- [37] 库守权,刘刚,李妍,等.红曲霉-人参双向固体发酵产物成分变化的初步分析[J].中成药,2015,37(3):599-603.

(本文编辑 匡静之)