

淫羊藿黄酮苷类化合物生物转化的研究进展[△]

张宇航^{1*}, 陈旺^{1,2#}, 冯自立^{1,2}, 袁洪超³, 高小林⁴, 王翠萍⁵(1. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000; 2. 陕西理工大学陕西省资源生物重点实验室, 陕西汉中 723000; 3. 陕西金慧方中药科技有限公司, 陕西汉中 723000; 4. 陕西天然谷生物科技股份有限公司, 陕西汉中 723000; 5. 陕西天谷药业有限公司, 陕西汉中 723000)

中图分类号 R914 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)12-1525-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.12.19



摘要 淫羊藿黄酮苷类化合物是淫羊藿及其同属植物的主要活性成分,根据所含糖基数目的不同分为多糖苷类化合物和低糖苷类化合物。淫羊藿多糖苷类化合物经生物转化后可生成低糖苷类化合物,后者在抗肿瘤、补肾阳、抗骨质疏松等方面的药理活性强于多糖苷类化合物。本文综述了淫羊藿黄酮苷类化合物生物转化技术的研究进展,发现通过除去糖基获得低糖苷类化合物是淫羊藿黄酮苷类化合物的主要生物转化途径;相关方法以酶水解法和微生物转化法为主,还包括植物细胞转化法、酸水解法和合成法。

关键词 淫羊藿;黄酮苷类化合物;低糖苷类化合物;生物转化

Research progress on the biotransformation of flavonoid glycosides in *Epimedii Folium*

ZHANG Yuhang¹, CHEN Wang^{1,2}, FENG Zili^{1,2}, YUAN Hongchao³, GAO Xiaolin⁴, WANG Cuiping⁵(1. School of Bioscience and Engineering, Shaanxi University of Technology, Shaanxi Hanzhong 723000, China; 2. Shaanxi Provincial Key Lab of Bio-resource, Shaanxi University of Technology, Shaanxi Hanzhong 723000, China; 3. Shaanxi Jinhuifang Traditional Chinese Medicine Technology Company, Shaanxi Hanzhong 723000, China; 4. Shaanxi Tianrangu Biotechnology Co., Ltd., Shaanxi Hanzhong 723000, China; 5. Shaanxi Tiangu Pharmaceutical Co., Ltd., Shaanxi Hanzhong 723000, China)

ABSTRACT Flavonoid glycosides are the main active constituents of *Epimedii Folium* and its related plants. They can be divided into polyglycosides and low glycosides according to the number of glycosyl group. The polyglycosides of *Epimedii Folium* can be transformed into low glycosides after biotransformation; pharmacological activities of low glycosides in anti-tumor, tonifying kidney yang and anti-osteoporosis are stronger than those of polyglycosides. In this paper, the research progress about biotransformation technology of flavonoid glycosides of *Epimedii Folium* was reviewed. It was found that the main biotransformation pathway of flavonoid glycosides of *Epimedii Folium* was to obtain low glycosides by removing glycosyl group; related methods were mainly enzymatic hydrolysis and microbial transformation, and also included plant cell transformation, acid hydrolysis method and synthesis method.

KEYWORDS *Epimedii Folium*; flavonoid glycosides; low glycoside; biotransformation

淫羊藿(*Epimedii Folium*)是我国传统中药材,2020年版《中国药典》(一部)收录的淫羊藿品种有淫羊藿 *Epimedium brevicornum* Maxim.、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim.、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 4个品种,具有滋补肾阳、祛除风湿、强壮筋骨等药理作用^[1-2]。黄酮苷类化合物是淫羊藿及其同属植物的主要活性成分,通常

可根据其黄酮母核上的糖基数目分为多糖苷类化合物(含3个及以上糖基)朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C和低糖苷类化合物(含2个或1个糖基)淫羊藿苷或宝藿苷I^[3]。研究表明,淫羊藿低糖苷类化合物具有类雌激素和抗氧化等多种药理作用,且活性强于多糖苷类化合物,这主要是由于低糖苷类化合物在人体内的生物利用度较多糖苷类化合物更优^[4-7]。可见,黄酮苷类化合物糖链的多寡在很大程度上影响了该类化合物的生物活性。但淫羊藿及其同属植物中高活性低糖苷类化合物的含量通常较低,不能通过常规分离纯化的方法大量制备^[8-9]。基于此,本研究对淫羊藿黄酮苷类化合物生物转化技术的研究进展进行综述,旨在为该类化合物的制备提供参考。

[△]基金项目:陕西省科技厅研发计划项目(No.2020LSFP2-34);陕西省重点研发计划项目(No.2022SF-406);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(No.2022JM-576)

*硕士研究生。研究方向:天然药物生物技术。E-mail: 1019127035@qq.com

#通信作者:讲师,硕士生导师。研究方向:天然药物化学。E-mail: 353174846@qq.com

1 酶水解法制备淫羊藿低糖苷类化合物

已有大量文献报道,淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B和朝藿定C可被蜗牛酶依次水解为宝藿苷I或淫羊藿苷元、箭藿苷A、箭藿苷B和鼠李糖基淫羊藿次苷II,淫羊藿苷可被纤维素酶转化为宝藿苷I^[10-13]。上述方法可用于制备淫羊藿低糖苷类化合物,但存在酶不能重复利用的问题,导致生产成本较高,故并不适用于工业化生产。为了进一步改善上述问题,彭静等^[14]以海藻酸钡为载体,通过交联-包埋法对蜗牛酶进行固定,以朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C和淫羊藿苷为底物进行水解,水解转化率可达75.52%;经5次重复使用后,固定化蜗牛酶的活性还可保持在原来的50%,表明该工艺在通过酶水解制得低糖苷类化合物的同时,实现了对酶的重复利用,但存在载体机械强度低、在高温和酸性条件下长时间搅拌容易吸水溶胀甚至破裂等不足。Liu等^[15]改善了酶的固定化方法,以二氧化硅为载体固定蜗牛酶,在水解淫羊藿苷和总黄酮时,酶重复利用6次后,仍保持了60%的酶活力,其pH和热稳定性、底物浓度及酶稳定性均得到了较好的提升;同时该研究还发现,淫羊藿总黄酮的水解产物具有明显的抗肿瘤作用。

蜗牛酶中含有大量的纤维素酶,而纤维素酶的主要成分为 β -葡萄糖苷酶,后者能够水解 β -葡萄糖苷键,通过除去 β -葡萄糖基来获得剩余黄酮母核^[16]。因此, β -葡萄糖苷酶很可能是纤维素酶和蜗牛酶水解淫羊藿黄酮苷C7位葡萄糖基的主要作用酶。研究表明,纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶均可将淫羊藿苷水解为宝藿苷I,但低浓度纤维素酶的专一性较差,容易生成副产物;而 β -葡萄糖苷酶的水解率和定向转化率均接近100%,具有较高的效率和较强的专一性。这基本证明了 β -葡萄糖苷酶是水解淫羊藿黄酮苷C7位葡萄糖基的主要作用酶^[17-20]。刘聪燕等^[21]以壳聚糖交联介孔纳米二氧化硅为载体进行 β -葡萄糖苷酶的固定,并将该酶重复用于淫羊藿苷的高效水解以制备宝藿苷I,该研究也同样证实了 β -葡萄糖苷酶对淫羊藿黄酮苷C7位葡萄糖基的高选择性和水解的高效性。淫羊藿多糖苷类化合物在被 β -葡萄糖苷酶水解的过程中会脱去C7位上的葡萄糖基,故在水解完成后会生成低糖苷类化合物和葡萄糖。为了进一步获得纯度较高的低糖苷类化合物,避免后续烦琐的分离纯化操作,提高反应效率及节约成本,汪燕等^[22]和Shen等^[23-25]构建了清洁、高效的新型双相酶水解体系,该体系集水解、分离纯化为一体,基于脂溶性有机溶剂与缓冲液互不相容且产物更易溶于有机溶剂的特点,以乙酸乙酯为有机相,以 β -葡萄糖苷酶、底物和缓冲液等为水相,在短时间内将高浓度的黄酮苷类化合物淫羊藿苷、朝藿定A和朝藿定B分别水解为相应产物(转化率均在98%以上,有机相转移率超过95%),反应结束后将有机层浓缩干燥,即可获得高纯度的低糖苷类化合物,同时缓冲液中的酶可被多次重复利用。该工艺在简化操作

步骤的同时,提高了反应效率,避免了后续烦琐的分离纯化过程;同时,该工艺对设备要求低,比较适合于大规模的工业化生产。

α -L-鼠李糖苷酶可特异性地作用于 α -1,2- α -1,3- α -1,4- α -1,6糖苷键,通过除去 α -L-鼠李糖基来获得新的糖苷类化合物^[26]。研究表明,在最优酶水解条件下,朝藿定C可被 α -L-鼠李糖苷酶特异性水解脱去C3位上的鼠李糖基转化为淫羊藿苷,但只有在底物浓度为100~200 μ g/mL的条件下才能实现完全水解^[27-28]。Lyu等^[29]研究发现,在大肠埃希菌中表达的重组 α -L-鼠李糖苷酶可使朝藿定C高效转化为淫羊藿苷,在最优水解条件下底物浓度有所提高但也只能达到1 mg/mL,且酶不能重复利用。该研究也同样证实了 α -L-鼠李糖苷酶对淫羊藿黄酮苷C3位鼠李糖基的高选择性。由此可见, α -L-鼠李糖苷酶主要作用于淫羊藿黄酮苷类化合物C3位上的鼠李糖基,将朝藿定C水解为淫羊藿苷。目前,该工艺仍处于实验室研究阶段,通过该酶水解淫羊藿多糖苷类化合物来制备低糖苷类化合物,还需进一步通过酶工程等技术构建高效的水解体系,解决水解效率低和酶重复利用性差等问题。

综上,淫羊藿苷和朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C可分别被不同的酶水解为宝藿苷I或苷元、箭藿苷A、箭藿苷B和淫羊藿苷或鼠李糖基淫羊藿次苷II,其水解途径及产物见图1。

2 微生物转化法制备淫羊藿低糖苷类化合物

微生物细胞中存在的酶种类较多,且具有较好的糖苷类化合物转化潜力^[30]。经发酵转化后脱去的糖可作为微生物生长繁殖所需的碳源,从而代谢生成更多的酶,因此微生物发酵法也被广泛应用于多糖苷类化合物的结构修饰领域^[31]。

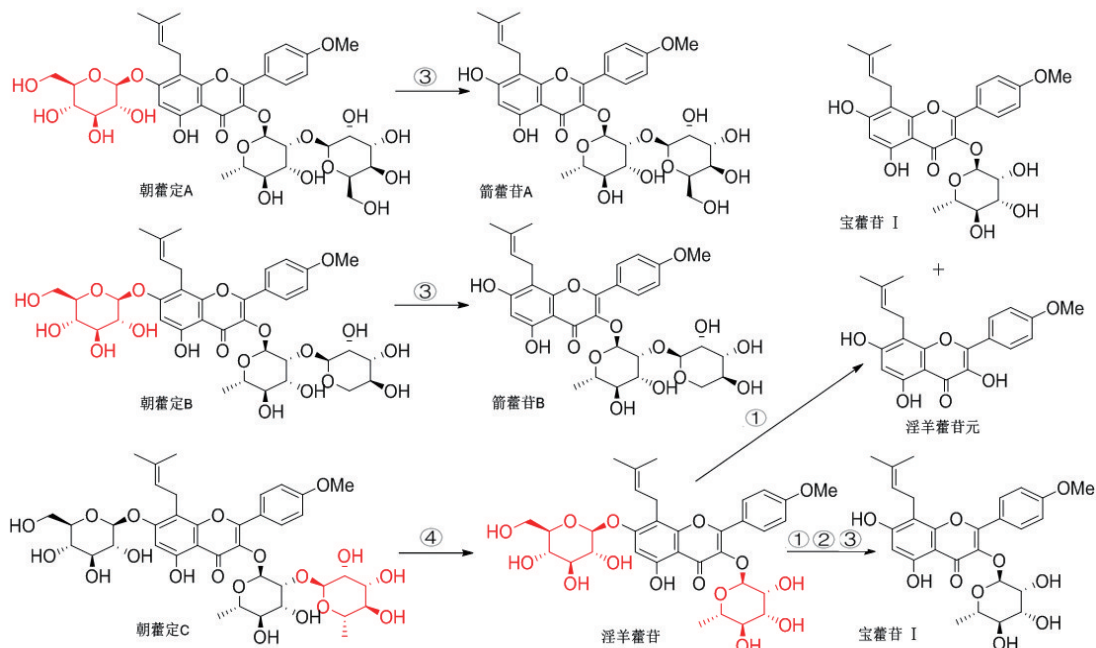
研究表明,短刺小克银汉霉菌 *Cunninghamella blakesleana*、平菇 *Pleurotus ostreatus*、链球菌 *Streptococcus* sp. MRG-ICA-B、肠球菌 *Enterococcus* sp. MRG-ICA-E、布劳特氏菌 *Blautia* sp. MRG-PMF-1 及大鼠肠道菌群均可将淫羊藿黄酮苷类化合物母核C7位上的葡萄糖基水解代谢,生成含有鼠李糖基的次级苷类化合物,如短刺小克银汉霉菌可将朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及淫羊藿苷A依次代谢为箭藿苷A、箭藿苷B、鼠李糖基淫羊藿次苷II、宝藿苷I及宝藿苷II,其中大鼠肠道菌群不仅可将淫羊藿苷水解为宝藿苷I,而且可把具有与宝藿苷I相同母核结构的化合物转化为宝藿苷I;平菇发酵液可将淫羊藿苷A代谢生成宝藿苷II;淫羊藿苷与链球菌、肠球菌孵育后仅生成了宝藿苷I,提示上述两种菌对淫羊藿黄酮苷类化合物母核C7位上的葡萄糖基具有较好的区域选择性^[32-35]。Cheng等^[36]和杨宇等^[37]分别对绿色木霉 *Trichoderma viride* 和柱孢梨头霉菌 *Absidia* sp. E9r 的菌株进行发酵培养,发现两者均可

分离纯化出一种酶,将淫羊藿苷水解为宝藿苷 I,在随后进行的鉴定中将这种酶鉴定为 β -葡萄糖苷酶。常景玲等^[38]研究发现,淫羊藿自生菌发酵液经超声处理后,可促进细胞内有效酶的释放,提高淫羊藿苷的生物转化效率。这一方面体现出微生物在天然多糖苷类化合物结构修饰方面的能力,另一方面也证明了酶是微生物进行代谢转化的关键组分。淫羊藿黄酮苷类化合物微生物

转化途径及产物见图2。

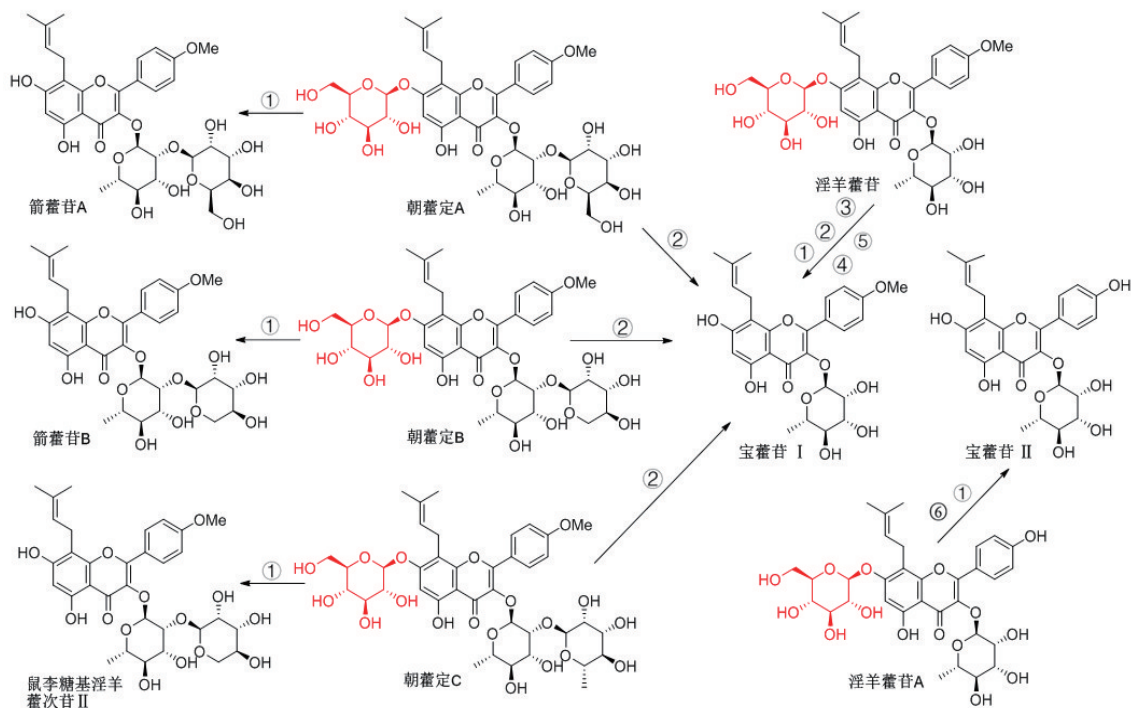
3 植物细胞转化法制备淫羊藿低糖苷类化合物

与微生物转化不同的是,植物细胞中通常存在多种微生物体内不具备的特异酶,可催化某些反应而生成多种复杂或新型的化合物^[39]。因此,植物细胞中的酶对黄酮苷类药物的开发具有极大的潜力。Feng等^[40]从淫羊藿属植物 *E. pseudowushanense* B. L.中分离纯化出一种



①:蜗牛酶;②:纤维素酶;③: β -葡萄糖苷酶;④: α -L-鼠李糖苷酶;红色基团:底物酶水解时脱去的糖基

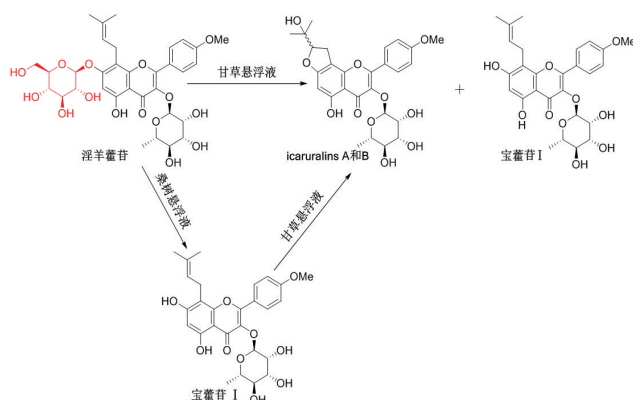
图1 淫羊藿黄酮苷类化合物酶水解途径及产物



①:短刺小克银汉霉菌;②:大鼠肠道菌群;③:链球菌、肠球菌、布劳特氏菌;④:柱孢梨头霉菌;⑤:绿色木霉;⑥:平菇;红色基团:底物微生物转化时脱去的糖基

图2 淫羊藿黄酮苷类化合物微生物转化途径及产物

具有高选择性的鼠李糖基转移酶(EpPf3rt),以淫羊藿苷元为基础区域,特异性催化其母核C3位上的鼠李糖基发生糖基化反应,生物合成出宝藿苷 I 和宝藿苷 II。Zhang 等^[41]通过培养甘草和白桑的细胞悬浮液,以淫羊藿苷为底物进行生物转化研究,通过光谱分析确定结构,生物合成出两种新的代谢物 icaruralins A、icaruralins B(手性异构体),以及已知的代谢产物宝藿苷 I(图3),表明白桑和甘草的细胞悬浮液可选择性地水解淫羊藿黄酮苷类化合物C7位上的葡萄糖基。



红色基团:底物植物细胞转化时脱去的糖基

图3 淫羊藿黄酮苷类化合物植物细胞转化途径及产物

4 其他

研究表明,盐酸和硫酸可脱去淫羊藿苷和淫羊藿总黄酮母核上的糖基,且水解率较高,但反应不易控制,易产生淫羊藿苷元等产物^[42-43]。此外,刘接卿等^[44]和牟关敏等^[45]分别以三羟基苯乙酮和间苯三酚为原料,经过12步反应或9步反应实现了淫羊藿苷元的合成,但合成路线均较为烦琐且收率较低。孟坤等^[46]以山柰酚-4-氧甲醚为原料,经过4步反应合成出纯度超过98%的淫羊藿苷元,收率为30%。总的来说,酸水解法多通过水解黄酮苷类化合物C3位和C7位的糖基来制备淫羊藿苷元;而合成法则以组成其母核结构的化合物为原料,通过逐步合成来实现淫羊藿苷元的制备。

5 结语

随着淫羊藿低糖苷类化合物药理作用研究的不断深入和新药研发的不断进展,其市场需求将会越来越大^[47]。目前,淫羊藿低糖苷类化合物的制备多以酶水解法和微生物转化法为主,两者均是通过相关酶来脱去多糖苷类化合物上的糖基,从而转化生成低糖苷类化合物。

酶水解法具有反应条件温和、专一性强、污染少等优点,是淫羊藿低糖苷类化合物制备的重要途径,被广泛应用于天然产物的结构改造和修饰领域^[48-49]。该法常用的酶包括蜗牛酶、纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶,可通过特异性脱去母核C7、C3位上的葡萄糖基或鼠李糖基来生成新的糖苷类化合物。由于蜗牛酶和纤维素酶的关键组分均为 β -葡萄糖苷酶,而后的主要作用位点为淫羊藿黄酮苷类化合物C7位上的 β -葡萄糖基,故其水解产物主要为含有鼠李糖基的淫羊藿次级

苷和宝藿苷等; α -L-鼠李糖苷酶的主要作用位点为淫羊藿黄酮苷类化合物C3位上的鼠李糖基,故其水解产物多为含有葡萄糖苷的淫羊藿苷等。

淫羊藿黄酮苷类化合物的生物转化主要通过切除黄酮苷类化合物上的糖基来获得低糖苷类化合物,从而为相关原料药的生产提供支持。酶水解法中, α -L-鼠李糖苷酶的水解工艺仍处于实验室研究阶段;微生物转化法和植物细胞转化法制备淫羊藿低糖苷类化合物转化体系的稳定性和产物的高效转化与分离是工业化应用的前提,相关工艺尚缺乏工业化放大生产的可行性研究;酸水解法和合成法制备中存在副产物多、收率低和环境污染等问题,且产物主要以淫羊藿苷元为主。因此,后续研究应围绕酶水解法和微生物转化法等放大生产工艺展开,进一步解决和完善工业化生产过程中所伴随的问题,从而实现科研成果真正产业化。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 340-342.
- [2] JIANG J, SONG J, JIA X B. Phytochemistry and ethnopharmacology of *Epimedium L. species*[J]. Chin Herb Med, 2015, 7(3): 204-222.
- [3] 李子豪. 淫羊藿低糖苷组分的制备技术及工艺工程化研究[D]. 镇江:江苏大学, 2019.
- [4] 赵冰洁. 淫羊藿低糖苷组分转化规律、生物药剂学性质及其软胶囊的初步研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2016.
- [5] 陈彦, 谭晓斌, 范晨怡, 等. 大鼠在体肠灌流模型研究淫羊藿不同黄酮苷的吸收代谢[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(22): 2928-2931.
- [6] 陈彦, 贾晓斌. Caco-2 细胞单层研究淫羊藿黄酮类成分的吸收转运[J]. 中草药, 2009, 40(2): 220-224.
- [7] CHEN Y, WANG J Y, JIA X B, et al. Role of intestinal hydrolase in the absorption of prenylated flavonoids present in *Yinyanghuo*[J]. Molecules, 2011, 16(2): 1336-1348.
- [8] 韩笋, 谢媛媛, 王玉明, 等. 淫羊藿属主要资源种类的化学品质比较研究[J]. 药学报, 2012, 47(4): 502-507.
- [9] 张华峰, 杨晓华. 淫羊藿黄酮类化合物提取研究进展[J]. 中药材, 2010, 33(3): 470-474.
- [10] 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.
- [11] 贾东升, 贾晓斌, 赵江丽, 等. 纤维素酶转化淫羊藿苷制备宝藿苷 I 的研究[J]. 中草药, 2010, 41(6): 888-892.
- [12] 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.
- [13] 宋川霞, 陈红梅, 戴宇, 等. Plackett-Burman 试验设计联用星点设计-效应面法优化纤维素酶水解淫羊藿苷为宝藿苷 I 的工艺[J]. 中药材, 2014, 37(11): 2082-2086.
- [14] 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.
- [15] LIU C Y, LI R Y, PENG J, et al. Enhanced hydrolysis and antitumor efficacy of *Epimedium* flavonoids mediated by immobilized snailase on silica[J]. Process Biochem, 2019,

- 86:80-88.
- [16] GODSE R, BAWANE H, TRIPATHI J, et al. Unconventional β -glucosidases: a promising biocatalyst for industrial biotechnology[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2021, 193(9):2993-3016.
- [17] XIE J C, XU H, JIANG J C, et al. Characterization of a novel thermostable glucose-tolerant GH1 β -glucosidase from the hyperthermophile *Ignisphaera aggregans* and its application in the efficient production of baohuoside I from icariin and total *Epimedium* flavonoids[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 104:104296.
- [18] XIA Q, XU D J, HUANG Z G, et al. Preparation of icariside II from icariin by enzymatic hydrolysis method[J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(5):437-442.
- [19] 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藿苷 I 的工艺研究[J]. *中国药房*, 2011, 22(43):4059-4061.
- [20] 王海燕. 双相酶水解制备宝藿苷 I 和薯蓣皂苷元的研 究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018.
- [21] 刘聪燕, 李瑞云, 马程遥, 等. 壳聚糖交联介孔二氧化硅固定化 β -葡萄糖苷酶生物转化淫羊藿苷研究[J]. *中草药*, 2021, 52(3):685-691.
- [22] 汪燕, 张小溪, 邵建兵, 等. 新型双相酶水解体系制备宝藿苷 I [J]. *中成药*, 2018, 40(12):2775-2778.
- [23] SHEN Y P, WANG H Y, LU Y, et al. Construction of a novel catalysis system for clean and efficient preparation of baohuoside I from icariin based on biphasic enzymatic hydrolysis[J]. *J Clean Prod*, 2018, 170:727-734.
- [24] SHEN Y P, WANG M, CHEN Y F, et al. Convenient preparation of sagittatoside B, a rare bioactive secondary flavonol glycoside, by recyclable and integrated biphasic enzymatic hydrolysis[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2019, 121:51-58.
- [25] SHEN Y P, LU Y, GAO J, et al. Efficient preparation of rare sagittatoside A from epimedin A, by recyclable aqueous organic two-phase enzymatic hydrolysis[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(21):3095-3102.
- [26] YADAV V, YADAV P K, YADAV S, et al. α -L-rhamnosidase: a review[J]. *Process Biochem*, 2010, 45(8):1226-1235.
- [27] 尹蔓妮. 巫山淫羊藿成分分析及成分转化研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2019.
- [28] WU T, PEI J J, GE L, et al. Characterization of a α -L-rhamnosidase from *Bacteroides thetaiotaomicron* with high catalytic efficiency of epimedin C[J]. *Bioorg Chem*, 2018, 81:461-467.
- [29] LYU Y B, ZENG W Z, DU G C, et al. Efficient bioconversion of epimedin C to icariin by a glycosidase from *Aspergillus nidulans*[J]. *Bioresour Technol*, 2019, 289:121612.
- [30] 陈思键, 吴冬雪, 刘淑莹, 等. 人参皂苷化学转化与生物转化研究进展[J]. *中成药*, 2022, 44(5):1539-1545.
- [31] 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.
- [32] XIN X L, FAN G J, SUN Z, et al. Biotransformation of major flavonoid glycosides in herb epimedii by the fungus *Cunninghamella blakesleana*[J]. *J Mol Catal B Enzym*, 2015, 122:141-146.
- [33] ZHOU J, CHEN Y, WANG Y, et al. A comparative study on the metabolism of *Epimedium koreanum* Nakai-prenylated flavonoids in rats by an intestinal enzyme (lactase phlorizin hydrolase) and intestinal flora[J]. *Mol Basel Switz*, 2013, 19(1):177-203.
- [34] WU H L, KIM M, HAN J. Icariin metabolism by human intestinal microflora[J]. *Molecules*, 2016, 21(9):1158.
- [35] 单金津. 药用真菌对基料中小分子化学成分的影响研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2015.
- [36] CHENG T, YANG J, ZHANG T, et al. Optimized biotransformation of icariin into icariside II by β -glucosidase from *Trichoderma viride* using central composite design method[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016:5936947.
- [37] 杨宇, 韩冰, 金凤婵, 等. 淫羊藿苷糖苷酶的纯化及其酶学性质的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(1):31-34.
- [38] 常景玲, 贾翠英, 张晖. 超声波处理对淫羊藿苷生物转化的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(4):630-633.
- [39] 扈飞凡. 植物生物转化技术在生物药物中的应用[J]. *赤峰学院学报(自然科学版)*, 2008, 24(11):16-18.
- [40] FENG K P, CHEN R D, XIE K B, et al. A regiospecific rhamnosyltransferase from *Epimedium pseudowushanense* catalyzes the 3-O-rhamnosylation of prenylflavonols[J]. *Org Biomol Chem*, 2018, 16(3):452-458.
- [41] ZHANG D W, TAO X Y, CHEN R D, et al. Regio-selective deglycosylation of icariin by cell suspension cultures of *Glycyrrhiza uralensis* and *Morus alba*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(6):656-661.
- [42] 李丹凤. 淫羊藿黄酮水解产物化学成分的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2009.
- [43] DELL'AGLI M, GALLI G V, DAL CERO E, et al. Potent inhibition of human phosphodiesterase-5 by icariin derivatives[J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(9):1513-1517.
- [44] 刘接卿, 马俊杰, 连晨蕾, 等. 一种全合成制备脱水淫羊藿素的方法: CN109776559B[P]. 2021-06-04.
- [45] 牟关敏, 蒲文臣, 周敏, 等. 淫羊藿素的合成[J]. *有机化学*, 2013, 33(6):1298-1303.
- [46] 孟坤, 方芳, 张彦重, 等. 淫羊藿素的合成方法: CN107298667B[P]. 2020-01-14.
- [47] 张成龙, 刘爱峰, 张超, 等. 基于文献计量学的淫羊藿研究现状及热点分析[J]. *药物评价研究*, 2021, 44(10):2242-2251.
- [48] DATTA S, CHRISTENA L R, RAJARAM Y R S. Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials[J]. *3 Biotech*, 2013, 3(1):1-9.
- [49] LIU D M, CHEN J, SHI Y P. Advances on methods and easy separated support materials for enzymes immobilization[J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2018, 102:332-342.

(收稿日期:2022-02-20 修回日期:2022-05-30)
(编辑:邹丽娟)