

网络出版时间:2014-09-10 18:19

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.10.061

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.10.061.html

呋酮生物合成路径及其关键酶的研究进展

冯晓晓¹, 刘 越^{1,2}, 孙洪波¹, 张琳霞¹,
李 华¹, 马 徐¹, 唐 丽¹

(1 中央民族大学 生命与环境科学学院, 北京 100081;

2 中国中医科学院 中药资源中心, 北京 100700)

[摘 要] 呋酮是一种特殊的黄酮类化合物,也是藏药中含量最高、生物活性较强、药用价值和经济价值丰富的一类有效成分。目前认为,3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶、二苯甲酮合成酶和呋酮合成酶是呋酮生物合成路径中的关键酶。文章对呋酮的结构类型、功能及其在植物中的分布,以及呋酮的生物合成路径与关键酶进行综述,并对相关研究进行了展望。

[关键词] 呋酮;3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶;二苯甲酮合成酶;呋酮合成酶

[中图分类号] S184

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)10-0177-09

Research progress on biosynthetic pathways of xanthone and related key enzymes

FENG Xiao-xiao¹, LIU Yue^{1,2}, SUN Hong-bo¹, ZHANG Lin-xia¹,
LI Hua¹, MA Xu¹, TANG Li¹

(1 College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China;

2 National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

Abstract: Xanthone, a special flavonoid, is the effective and active component of Tibetan medicine with great medicinal value and economic value. At present, 3-hydroxybenzoate CoA ligase, benzophenone synthase, and xanthone synthase are known as the key enzymes in pathways of xanthone biosynthesis. In this paper, we summarized the structural types, functions, distributions, biosynthetic pathways of xanthone and related key enzymes, and prospected related researches.

Key words: xanthone; 3-hydroxybenzoate; CoA ligase; benzophenone synthase; xanthone synthase

呋酮(Xanthone),又称苯并色原酮,是一种特殊的黄酮类化合物^[1],也是重要的植物次生代谢产物,分布于天然绿色植物中,尤其在青藏高原的藏药中分布最广。呋酮是藏药中含量最高、生物活性较强、具有很大药用价值和经济价值的一类有效成

分^[2]。呋酮类化合物具有广泛的生理活性和药理作用,在某些民族药中具有不可替代的作用,并已逐步成为研究热点。本研究从呋酮的结构类型、功能及其在植物中的分布,以及呋酮的生物合成路径与关键酶等方面进行综述,并对相关研究进行了展望。

[收稿日期] 2013-07-16

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274185,81373765);高等学校学科创新引智计划项目(2008-B08044);中央民族大学一流大学一流学科建设项目(YLXD01013);中国博士后基金项目(20110490556);教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-12-0578,NCET-13-0624);国家民委科研项目(12ZY019);2013年度人力资源与社会保障部留学人员科技项目;中央民族大学自主科研项目

[作者简介] 冯晓晓(1987—),女,山东临朐人,在读硕士,主要从事药用植物分子生物学研究。E-mail:yichuxiao.1024@163.com

[通信作者] 刘 越(1977—),女(赫哲族),黑龙江佳木斯人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事民族药物遗传多样性和功能基因组学研究。E-mail:hezheheliuyue@muc.edu.cn

1 醌的结构类型、功能及其在植物中的分布

1.1 醌的结构类型

醌在自然界中以其衍生物的形式存在,如图 1 所示,其母核是含有 2 个氧的 C₁₃ 结构,有 8 个可取代的位置。

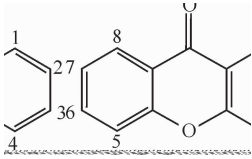


图 1 醌类化合物的基本母核

Fig. 1 Core structure of xanthone

根据 Peres 分类法^[3],可将醌类化合物分为 5 种结构类型:a. 简单的氧代醌(含羟基、甲氧基等

取代基),如 1-羟基-2,3,5-三甲氧基醌(同时含有羟基和甲氧基取代基)(图 2 a-1),3,4,5,6-四羟基醌(仅含有羟基取代基)(图 2 a-2);b. 醌糖苷(含糖基取代基),根据成苷的原子不同又可分为醌氧苷和醌碳苷 2 类,如当药醇苷(即 1,5-二羟基-3-甲氧基醌-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷,图 2 b-1)属于醌氧苷,芒果苷(即 2-β-D-吡喃葡萄糖基-1,3,6,7-四羟基醌,图 2 b-2)属于醌碳苷;c. 异戊烯基醌(含异戊烯基取代基),如 α-倒捻子素(即 1,3,6-三羟基-7-甲氧基-2,8-双异戊烯基醌)C2、C8 位置上含有 2 个异戊烯基(图 2 c);d. 醌木脂素(由苯丙基和邻位二羟基取代的醌通过二氧杂环己烷连接)^[4],结构式见图 2 d, R₁ ~ R₇ 指 -H, -OH, -OCH₃ 3 种取代基,不同物质的取代基数量和位置不同,如 kielcorins 和 subalatin 2 种物质的结构(图 2 d-1, d-2);e. 其他醌类化合物^[5]。

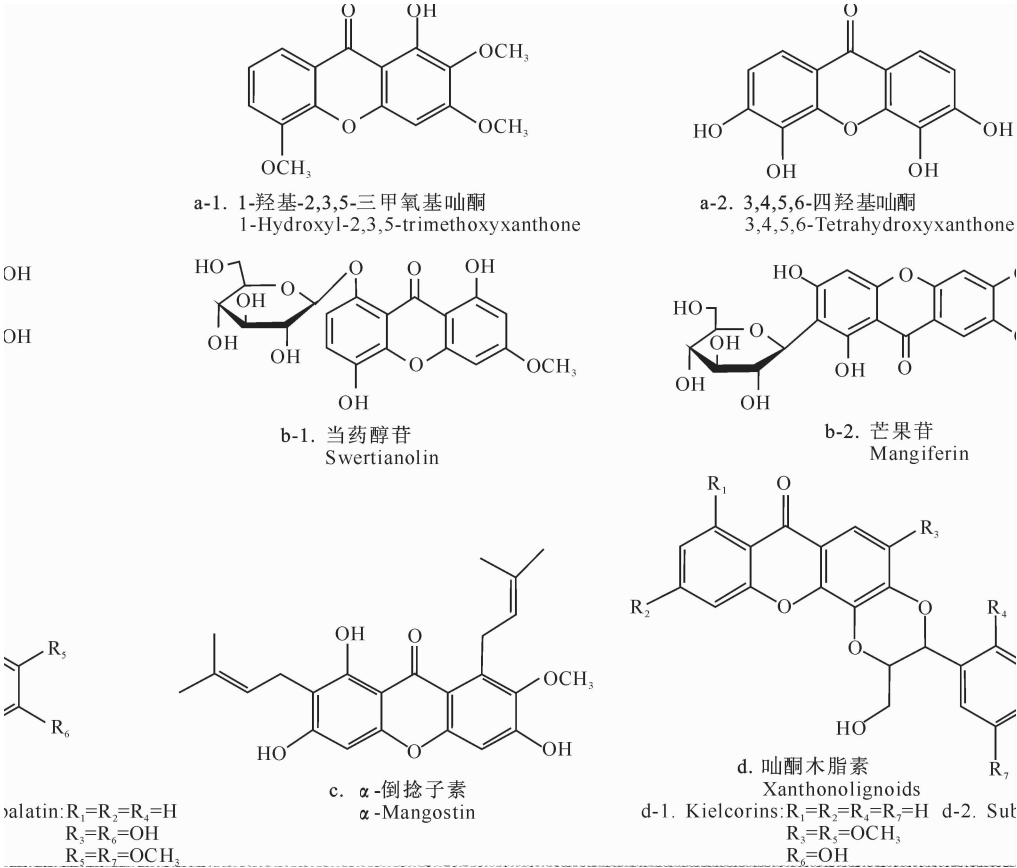


图 2 醌类化合物的结构类型

Fig. 2 Structural types of xanthenes

1.2 醌的功能

不同结构类型的醌类化合物的药理活性有一定差异。简单的氧代醌具有保护心血管、抗菌消炎、护肝等生理活性。邢丞等^[6]和戴忠等^[7]研究表

明,1-羟基-2,3,5-三甲氧基醌和 3,4,5,6-四羟基醌分别具有抑制肺损伤和保护心血管的作用;王焕弟等^[8]研究发现,湿生扁蕾有效成分 1,7-二羟基-3,8-二甲氧基醌具有强抑菌作用;Li 等^[9]通过试

验证实,去甲基维菊叶龙胆酮(即 1,3,5,8-四羟基蒽酮)能明显抑制大鼠活化的肝星状细胞的增殖,从而有效抑制大鼠肝星状细胞的活性。

蒽酮糖苷一般具有神经保护、抗氧化、抗炎、抗过敏等作用。Rivera 等^[10]研究表明,芒果苷具有抗过敏活性,能有效抑制大鼠和小鼠的过敏反应,是治疗过敏性疾病的有效药物。Rao 等^[11]研究发现,芒果苷具有神经保护作用,且在某种程度上是一种抗氧化剂和抗炎剂。

异戊烯基取代的蒽酮主要具有抗癌、抗氧化作用。Azevedo 等^[12]研究表明,烯化蒽酮衍生物具有很好的抗癌作用。Teh 等^[13]研究证实,含双异戊二烯取代基、双呋喃酮取代基或烯化呋喃酮取代基的蒽酮衍生物均具抗癌作用,能显著抑制癌细胞的生长,且在 C6 位置上有羟基取代基时对癌细胞的抑制作用会有所增强。Mahabusarakam 等^[14]研究发现,异戊烯基蒽酮 α -倒捻子素可抑制低密度脂蛋白氧化,是一种很好的抗氧化剂。

其他结构的蒽酮衍生物也具有多种不同的药理作用。蒽酮的哌嗪类衍生物一般具有抗心律失常、降低血压的作用^[15]。大部分多环化蒽酮具有很好的抗菌和抗球虫活性^[16]。Hu 等^[17]研究表明,作为胆固醇酰基转移酶辅酶 A 的抑制剂,蒽酮磺胺类可影响胆固醇的吸收和转化,间接导致胆甾醇酯在血管堆积的减少,从而发挥抗动脉粥样化作用。

1.3 蒽酮在植物中的分布

蒽酮主要存在于龙胆科(Gentianaceae)、藤黄科(Guttiferce,又称金丝桃科)、远志科(Polygalaceae)、桑科(Moraceae)和豆科(Leguminosea)植物中,其苷类大部分存在于龙胆科獐牙菜属(*Swertia*)、花锚属(*Halenia*)、扁蕾属(*Gentianopsis*)、喉毛花属(*Comastoma*)植物中^[2],这些植物作为藏茵陈原植物广泛用于治疗肝胆系统疾病^[18]。目前,在藏茵陈原植物中均已分离鉴定出蒽酮类成分。研究者已从龙胆科獐牙菜属的紫红獐牙菜^[19]、大籽獐牙菜^[20]、印度獐牙菜^[21]、川西獐牙菜^[22]和毛獐牙菜^[23]等多种獐牙菜中鉴定出芒果苷、当药醇苷、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基蒽酮、龙胆根素(即 1,7-二羟基-3-甲氧基蒽酮)等多种蒽酮成分;此外,从藏茵陈原植物的椭圆叶花锚^[24]、扁蕾^[25]、长梗喉毛花^[26]等中均分离鉴定出蒽酮成分。

2 蒽酮的生物合成路径

目前,关于蒽酮类化合物生物合成路径的研究

比较有限。Sanchez 等^[27]从基因水平研究真菌类异戊烯基蒽酮类化合物的生物合成,并提出构巢曲霉中异戊烯基蒽酮的可能合成路径。而高等植物仅在金丝桃科和龙胆科少数物种中有关于蒽酮类化合物生物合成路径的研究。根据现有研究,蒽酮的生物合成可能分为 2 条不同途径 I 和 II,途径 I 从 3-羟基苯甲酸或苯甲酸开始,即:3-羟基苯甲酸和苯甲酸均在 3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶(3-hydroxybenzoate:CoA ligase,3HBL)的作用下发生酯化反应,连接上辅酶 A 后,分别形成 3-羟基苯甲酰辅酶 A 和苯甲酰辅酶 A;两者在二苯甲酮合成酶(Benzophenone synthase,BPS)作用下,分别与 3 分子丙二酰辅酶 A 反应形成 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮和 2,4,6-三羟基二苯甲酮;同时,2,4,6-三羟基二苯甲酮在二苯甲酮-3'-羟化酶(Benzophenone 3'-hydroxylase,B3'H)的催化作用下形成 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮;2,3',4,6-四羟基二苯甲酮是蒽酮生物合成的直接前体物质,在不同植物中由蒽酮合成酶(Xanthone synthase,XS)催化形成不同的蒽酮。在金丝桃科观果金丝桃(*Hypericum androsaemum*)的悬浮细胞中,2,3',4,6-四羟基二苯甲酮被催化形成 1,3,7-三羟基蒽酮^[28],还可能形成少量 1,3,5-三羟基蒽酮,这 2 种三羟基蒽酮在蒽酮-6-羟化酶(Xanthone 6-hydroxylase,X6H)作用下分别形成 1,3,6,7-四羟基蒽酮和 1,3,5,6-四羟基蒽酮^[29],然后在异戊烯转移酶(Prenyltransferase,PT)作用下形成 1,3,6,7-四羟基-8-异戊烯基蒽酮、1,3,5,6-四羟基-2-异戊烯基蒽酮和 γ -倒捻子素(即 1,3,6,7-四羟基-2,8-双异戊烯基蒽酮)等异戊烯基蒽酮^[29-30]。此外,金丝桃细胞经诱导因子处理后,能够积累蒽酮植物抗毒素^[31]。在龙胆科植物百金花(*Centaurium erythraea*)中,2,3',4,6-四羟基二苯甲酮被蒽酮合成酶催化形成 1,3,5-三羟基蒽酮^[32-33],这种三羟基蒽酮在蒽酮-6-羟化酶作用下进一步反应形成 1,3,5,6-四羟基蒽酮^[29],继而经一系列反应后形成 3,5,6,7,8-五甲氧基-1-O-樱草糖氧基蒽酮,但具体的反应过程尚不明确;在龙胆科植物印度獐牙菜(*Swertia chirata*)中,2,3',4,6-四羟基二苯甲酮被蒽酮合成酶催化形成 1,3,5-三羟基蒽酮,进一步反应生成 1,3,5,8-四羟基蒽酮^[34](图 3)。

由途径 I 可知,蒽酮的生物合成离不开苯甲酸或 3-羟基苯甲酸。在观果金丝桃悬浮细胞中,蒽酮的合成主要以苯甲酸为起始反应物。苯甲酸的合成路径为:莽草酸途径产生的苯丙氨酸在苯丙氨酸解

验,证明在印度獐牙菜中,3-羟基苯甲酰辅酶 A 通过莽草酸途径早期的 1 个中间体形成,而不是由苯丙氨酸通过肉桂酸或苯甲酸形成,因而 3-羟基苯甲酸的可能合成路径是:由莽草酸在莽草酸激酶(Shikimate kinase, SK)催化作用下形成莽草酸 3-磷酸,然后脱磷酸、脱水形成 3-羟基苯甲酸(图 4)。

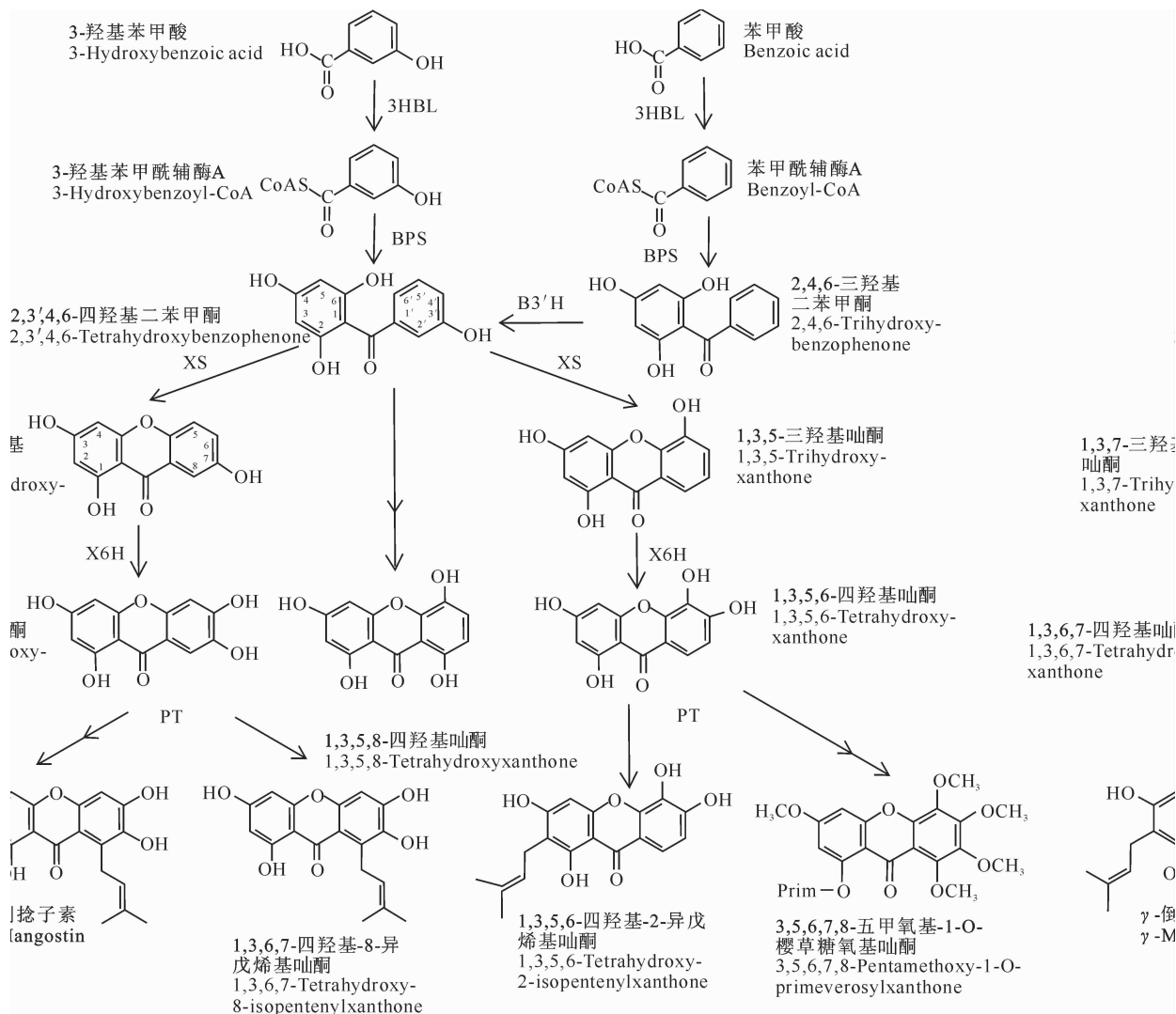


图 3 酮可能的合成路径 I

3HBL, 3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶; BPS, 二苯甲酮合成酶; B3'H, 二苯甲酮-3'-羟化酶; XS, 酮合成酶;

X6H. 酮-6-羟化酶; PT. 异戊烯转移酶; 连续箭头表示过程不是一步完成

Fig. 3 Pathways of xanthone biosynthesis I

3HBL, 3-hydroxybenzoate:CoA ligase; BPS, Benzophenone synthase;

B3'H. Benzophenone 3'-hydroxylase; XS. Xanthone synthase; X6H. Xanthone 6-hydroxylase; PT. Prenyltransferase;

Continuous arrow indicates that the process is not finished by one step

由蒽酮的生物合成路径 I 可知,整个生物合成需要大量酶的催化作用,苯甲酸、3-羟基苯甲酸生物合成过程需要以苯丙氨酸为底物的苯丙氨酸解氨酶,以及以莽草酸为底物的莽草酸激酶;后期蒽酮的

生物合成需要 3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶、二苯甲酮合成酶、二苯甲酮-3'-羟化酶、蒽酮合成酶、蒽酮-6-羟化酶等一系列酶的催化作用。3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶和二苯甲酮合成酶是蒽酮生物合成过

程中的 2 种关键酶。二苯甲酮-3'-羟化酶是观果金丝桃中催化 2,4,6-三羟基二苯甲酮的一种细胞色素 P450 单氧酶,是特定催化 3' 位置的底物^[28]。酮合成酶是酮生物合成过程中必不可少的另一关键酶,其可催化完成由二苯甲酮到酮的转变。酮-

6-羟化酶是催化酮进一步生成酮衍生物的一种细胞色素 P450 单氧酶,在百金花中对底物 1,3,5-三羟基酮表现出绝对特异性;而在观果金丝桃中,酮-6-羟化酶主要以 1,3,7-三羟基酮为底物,同时可少量催化 1,3,5-三羟基酮^[29]。

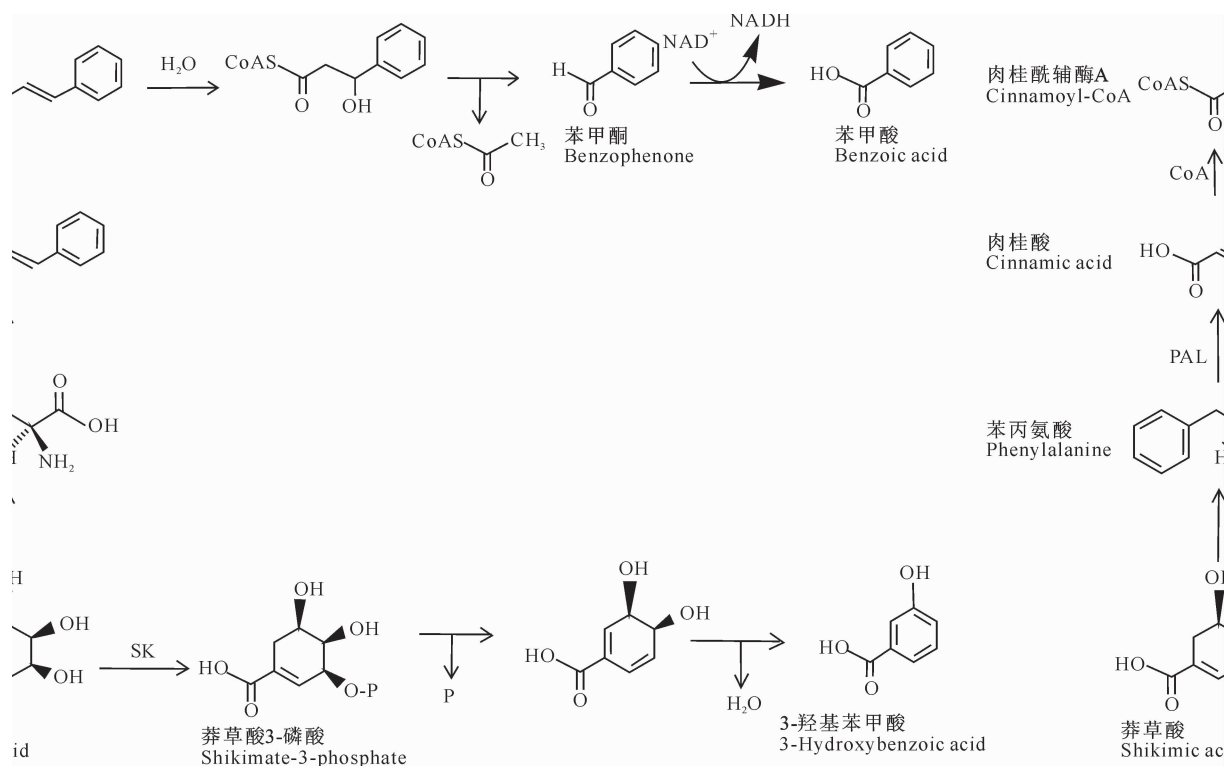


图 4 苯甲酸和 3-羟基苯甲酸的可能合成路径

PAL. 苯丙氨酸解氨酶;SK. 莽草酸激酶;P. 磷酸

Fig. 4 Possible pathways of benzoic acid and 3-hydroxybenzoic acid

PAL. Phenylalanine ammonia-lyase;SK. Shikimate kinase;P. Phosphoric acid

Chantarasriwong 等^[36]阐述了藤黄科植物中酮的可能生物合成路径 II (图 5),认为高等植物中酮的生物合成起始于莽草酸-乙酸途径(A 环来源于乙酸,C 环来源于莽草酸途径,图 5),并通过氧化模式获得。由磷酸烯醇式丙酮酸和 D-赤藓糖-4-磷酸通过醇醛缩合形成莽草酸,再经过氧化、脱水、烯醇化形成原儿茶酸,原儿茶酸通过辅酶 A 的活化形成活化酯,之后与 3 分子丙二酰辅酶 A 形成中间产物,烯醇化之后通过分子内的克莱森缩合反应形成桑橙素等二苯甲酮类物质,不同的二苯甲酮类物质来源可能不同,桑橙素通过酚醛耦合可形成 1,3,5,6-四羟基酮等酮类化合物。

3 酮生物合成路径中的关键酶

3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶、二苯甲酮合成酶、酮合成酶是酮生物合成过程中的关键酶。

3.1 3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶

3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶(3-hydroxybenzoate:CoA ligase,3HBL)是酮生物合成过程中的一种关键酶。酮的生物合成需要 3-羟基苯甲酸或苯甲酸为反应物,这 2 种物质在 3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶的活化作用下,形成 3-羟基苯甲酰辅酶 A 或苯甲酰辅酶 A,才能使酮的生物合成继续进行。在观果金丝桃中,3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶的首选底物是 3-羟基苯甲酸,同时苯甲酸也是相对有效的催化底物,但是催化活性较低;而在百金花中,3-羟基苯甲酸是其惟一的有效底物^[32]。

Barillas 等^[33]早期研究发现,3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶的最适 pH 为 7.0,最适温度为 25~30℃,酶分子质量大约是 50 ku。之后 Barillas 等^[37]通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,又发现分子质量分别为 41.5 和 40.5 ku 的 2 种多肽,并通过胰

蛋白酶消化试验发现这 2 种蛋白在结构上具有相关性。3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶在植物中的研究有限,在细菌上的研究相对较多。NCBI 上登录了 1 条关于固氮弧菌属物种 EbN1 的 3HBL 基因(登录号:3179571)和 10 条细菌的 3HBL 蛋白序列(登录

号:WP_004358116.1,ENO98131.1,CAC28158.1,YP_157393.1,WP_018988708.1,WP_006116890.1,WP_011236227.1,EGE47156.1,CAI06492.1,Q9AJS8.1)。目前未见植物 3HBL 基因或蛋白序列的报道,相关研究有待进一步深入。

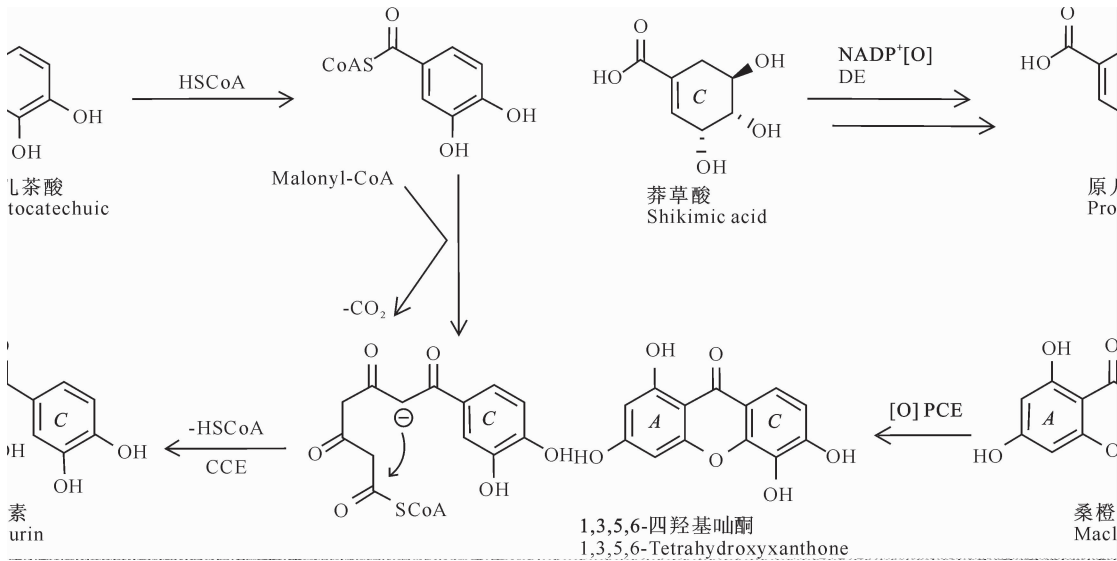


图 5 酮可能的合成路径 II [36]

DE. 脱水烯醇化作用;CCE. 克莱森缩合烯醇化作用;PCE. 酚醛耦合烯醇化作用

Fig. 5 Possible pathways of xanthone biosynthesis II [36]

DE. Dehydration enolization;CCE. Claisen condensation enolization;PCE. Phenolic coupling enolization

3.2 二苯甲酮合成酶

二苯甲酮合成酶 (Benzophenone synthase, BPS)也是酮生物合成路径中的一种关键酶。研究表明,二苯甲酮是许多高等植物器官中酮生物合成的直接前体物质[38],在百金花、观果金丝桃等植物中,2,3',4,6-四羟基二苯甲酮是酮生物合成的直接前体物质[39]。百金花细胞中酮类物质生物合成的关键步骤是 C₁₃ 骨架,如中间体二苯甲酮[40-41]的形成,二苯甲酮合成酶是二苯甲酮形成过程所必需的催化酶,它能催化二苯甲酮和酮 C₁₃ 骨架的形成[42]。此酶能有效地催化 3-羟基苯甲酰辅酶 A 与 3 分子丙二酰辅酶 A 缩合形成 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮,或是有效地催化苯甲酰辅酶 A 与 3 分子丙二酰辅酶 A 缩合形成 2,4,6-三羟基二苯甲酮,再进一步生成 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮[43]。在百金花中,二苯甲酮合成酶以 3-羟基苯甲酰辅酶 A 为底物;在观果金丝桃中,以苯甲酰辅酶 A 为底物时,二苯甲酮合成酶的活性比以 3-羟基苯甲酰辅酶 A 为底物时高[28]。

二苯甲酮合成酶(BPS)是一种植物类型Ⅲ聚酮合酶 (Polyketide synthases, PKS)。植物类型Ⅲ

PKS 即查尔酮合酶超家族,都是由分子质量为 40~45 ku、大小适中的亚基组成的同型二聚体,活性位点为 Cys164、His303 和 Asn336,这 3 个在植物类型Ⅲ PKS 超家族中绝对保守的氨基酸组成了该类酶的活性中心(三联体活性中心),即“起始底物分子结合结构域”和“环化反应结构域”[44-45]。植物Ⅲ型 PKS 基因家族包括查尔酮合成酶 (Chalcone synthase, CHS)基因以及由其分化形成的具有新的底物选择性和产物特异性的“类 CHS(CHS-Like)基因”[46]。从 1983 年首次从欧芹中克隆到 CHS 以来,目前 GenBank 上登录的Ⅲ型 PKS mRNA 全序列已超过 1 000 条[47],各种植物类型Ⅲ PKS 基因的保守性很强,序列一般由 2 个外显子和 1 个内含子组成,个别含有多个内含子。

二苯甲酮合成酶(BPS)基因作为一种“类 CHS 基因”在个别植物中已被克隆。目前,GenBank 上登录的 BPS mRNA 序列有 4 条。从金丝桃科植物观果金丝桃 (*Hypericum androsaemum*) 中克隆出了 1 398 bp 的 BPS 全长 cDNA 序列(GenBank 登录号:AF352395.1),其开放阅读框 (ORF)长 1 188 bp,编码 395 个氨基酸,形成的酶分子质量大小为

42.8 ku,这种酶与从观果金丝桃中克隆出的查尔酮合成酶的一致性为 60.1%,与查尔酮合酶超家族其他成员的一致性为 53%~63%^[48]。He 等^[49]通过金丝桃科贯叶金丝桃(*Hypericum perforatum*)转录组数据的分析,比对注释得到 BPS 基因。目前,从贯叶金丝桃中已克隆出长 1 185 bp 的 BPS 部分 mRNA 序列(GenBank 登录号:EF507429.1)。从金丝桃科植物元宝草(*Hypericum sampsonii*)中已克隆出二苯甲酮合成酶(HsBPS)cDNA(GenBank 登录号:JQ670939.1),其开放阅读框长 1 188 bp,编码 395 个氨基酸,形成分子质量大小为 42.7 ku 的酶,此酶与从元宝草中克隆出的查尔酮合成酶序列在基因和氨基酸水平上均有 57.0%的一致性^[50],且在元宝草根中表达量丰富。从藤黄科植物莽吉柿(*Garcinia mangostana*)中已克隆出二苯甲酮合成酶(GmBPS)(GenBank 登录号:JF907623.1)基因,其开放阅读框长 1 176 bp,编码 391 个氨基酸,形成分子质量大小为 42.7 ku 的酶,此酶与观果金丝桃 BPS 和元宝草 BPS 分别表现出 78%和 77%的同源性^[30]。目前,还未见龙胆科植物中有关 BPS 克隆的报道。

3.3 呋喃酮合成酶

呋喃酮合成酶(Xanthone synthase,XS)是呋喃生物合成路径中的另一关键酶。在观果金丝桃植物中,呋喃酮合成酶可催化 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮形成 1,3,7-三羟基呋喃酮;在百金花中,呋喃酮合成酶则催化 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮形成 1,3,5-三羟基呋喃酮^[28,32-33],这些呋喃酮在其他酶的催化作用下进一步生成呋喃酮派生物^[29]。催化 2,3',4,6-四羟基二苯甲酮形成 1,3,7-三羟基呋喃酮和 1,3,5-三羟基呋喃酮的酶是 2 种不同的呋喃酮合成酶,这 2 种呋喃酮合成酶均是催化过程中需要 NADPH 和 O₂ 的细胞微粒体中的膜约束酶,通过与 P450 抑制剂的反应和 CO 的蓝光可逆抑制证明,这 2 种酶均是细胞色素 P450 氧化酶^[32]。

细胞色素氧化酶 P450 酶系(Cytochrome P450s,CYPs)是一组结构和功能相关的超家族基因编码的同工酶,主要存在于生物体的内质网内,是混合功能氧化酶中最重要的一种酶系^[51]。植物 CYPs 的功能主要可归为 2 大类:参与生物合成途径和生物解毒途径。研究发现,龙胆科植物川西獐牙菜中烯醚萜类化合物生物合成的第 1 个限速酶是香叶醇 10-羟化酶,这种酶是一种细胞色素 P450 单氧酶 CYP76B10,属于 CYP76 亚家族^[52]。而呋喃酮合成酶

的分属家族目前还未明确,也未见关于呋喃酮合成酶基因的研究,需要进一步探索。

4 前景和展望

富含呋喃酮成分的龙胆科、藤黄科植物是比较常用的藏药原植物,随着藏药研究的不断深入,借助于代谢调控等生物工程手段,实现药用成分的人工介入是未来生物生产的发展方向之一。

目前,虽然已经找出呋喃生物合成路径中的 3 种可能关键酶,但是对这些酶的研究还不够深入,特别是 3-羟基苯甲酸辅酶 A 连接酶和呋喃酮合成酶,还未见关于其基因克隆的报道,有关呋喃酮的生物合成路径也未完全明确,因此,有必要进一步深入研究呋喃酮的生物合成路径及其关键酶,并对这些关键酶基因进行克隆和表达分析,为将来通过基因工程方法进行酶的体外改造,筛选获得高效生产呋喃酮的工程菌奠定基础,以满足人类对藏药天然药源日益增长的需求,使这种民族药发挥更大的经济和社会效益。

[参考文献]

- [1] 吴立军.天然产物化学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2003:175.
Wu L J. Natural product chemistry [M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003:175. (in Chinese)
- [2] 马 昌.呋喃在植物中的分布及其药理作用[J].安徽农业科学,2009,37(31):15244-15245.
Ma C. Distribution and pharmacological function of xanthenes in plants [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37 (31):15244-15245. (in Chinese)
- [3] Peres V, Nagem T J, Oliveira F F. Tetraoxygenated naturally occurring xanthenes [J]. Phytochemistry, 2000, 55 (7): 683-710.
- [4] 毋 艳.红厚壳、薄叶红厚壳和泰山赤灵芝菌丝体化学成分及生物活性研究[D].北京:中国协和医科大学,2004.
Wu Y. Chemical constituents and bioactivity of *Calophyllum inophyllum*, *Calophyllum membranaceum* and mycelium of *Ganoderma lucidum* [D]. Beijing: Chinese Peking Union Medical College, 2004. (in Chinese)
- [5] 王 杨,王世盛,周丹红,等.植物呋喃酮类化合物的波谱特征[J].天然产物研究与开发,2002,14(5):85-89.
Wang Y, Wang S S, Zhou D H, et al. Spectral characteristics of phyto-xanthenes [J]. Natural Product Research and Development, 2002, 14(5): 85-89. (in Chinese)
- [6] 邢 丞,徐 波,郭 维,等.1-羟基-2,3,5-三甲氧基呋喃酮对脂多糖致小鼠急性肺损伤的保护作用[J].中草药,2007,37(9): 1355-1359.
Xing C, Xu B, Guo W, et al. Protection of 1-hydroxy-2,3,5-trimethoxyxanthone on acute lung injury of mice induced by li-

- popolysaccharide [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2007, 37(9): 1355-1359. (in Chinese)
- [7] 戴 忠, 胡长平, 吴 铁, 等. 3,4,5,6-四羟基-酮对大鼠离体心肌缺血-再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(5): 532-535.
- Dai Z, Hu C P, Wu T, et al. Effects of 3,4,5,6-tetrahydroxyxanthone on myocardial ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2005, 10(5): 532-535. (in Chinese)
- [8] 王焕弟, 谭玉成, 白雪芳, 等. 藏药湿生扁蕾的抑菌作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 1901-1902.
- Wang H D, Tan Y C, Bai X F, et al. Studies of the antimicrobial activity of gentianopsis paludosa [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2006, 17(10): 1901-1902. (in Chinese)
- [9] Li J F, Lu G F, Zou Y Y. Demethylbellidifolin inhibits proliferation and activation of hepatic stellate cells [J]. Journal of Investigative Surgery, 2011, 24(4): 171-177.
- [10] Rivera D G, Balmaseda I H, León A A, et al. Anti-allergic properties of *Mangifera indica* L. extract (Vimang) and contribution of its glucosylxanthone mangiferin [J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2006, 58(3): 385-392.
- [11] Rao V S, Carvalho A C, Trevisan M T, et al. Mangiferin ameliorates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity and oxidative stress in ketamine model of schizophrenia [J]. Pharmacological Reports, 2012, 64(4): 848-856.
- [12] Azevedo C M, Afonso C M, Sousa D, et al. Multidimensional optimization of promising antitumor xanthone derivatives [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21(11): 2941-2959.
- [13] Teh S S, Ee G C, Mah S H, et al. Cytotoxicity and structure-activity relationships of xanthone derivatives from *Mesua baccariana*, *Mesua ferrea* and *Mesua congestiflora* towards nine human cancer cell lines [J]. Molecules, 2013, 18(2): 1985-1994.
- [14] Mahabusarakam W, Proudfoot J, Taylor W, et al. Inhibition of lipoprotein oxidation by prenylated xanthenes derived from mangostin [J]. Free Radical Research, 2000, 33(5): 643-659.
- [15] Szkaradek N, Rapacz A, Pytko K, et al. Synthesis and preliminary evaluation of pharmacological properties of some piperazine derivatives of xanthone [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21(2): 514-522.
- [16] Winter D K, Sloman D L, Porco J A J. Polycyclic xanthone natural products: Structure, biological activity and chemical synthesis [J]. Natural Product Reports, 2013, 30(3): 382-391.
- [17] Hu H, Liao H, Zhang J, et al. First identification of xanthone sulfonamides as potent acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase (ACAT) inhibitors [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(10): 3094-3097.
- [18] 唐 丽, 金振南, 门美佳, 等. 藏药藏茵陈的研究进展及开发利用 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2007, 16(2): 176-178.
- Tang L, Jin Z N, Men M J, et al. Recent progress and utilization of Tibetan medicine zangyinchen [J]. Journal of the Central University for Nationalities: Natural Sciences Edition, 2007, 16(2): 176-178. (in Chinese)
- [19] Du X G, Wang W, Zhang Q Y, et al. Identification of xanthenes from *Swertia punicea* using high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2012, 26(24): 2913-2923.
- [20] 王洪玲, 耿长安, 张雪梅, 等. 大籽獐牙菜化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3161-3164.
- Wang H L, Geng C A, Zhang X M, et al. Chemical constituents of *Swertia macrosperma* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2010, 35(23): 3161-3164. (in Chinese)
- [21] Suryawanshi S, Mehrotra N, Asthana R K, et al. Liquid chromatography/tandem mass spectrometric study and analysis of xanthone and secoiridoid glycoside composition of *Swertia chirata*, a potent antidiabetic [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2006, 20(24): 3761-3768.
- [22] 孙洪发, 胡伯林, 丁经业, 等. 川西獐牙菜甙类成分 [J]. 植物学报, 1991, 33(1): 31-37.
- Sun H F, Hu B L, Ding J Y, et al. The glucosides from *Swertia mussotii* Franch [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1991, 33(1): 31-37. (in Chinese)
- [23] 许旭东, 杨峻山. 毛獐牙菜中-酮化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(9): 657-659.
- Xu X D, Yang J S. Studies on chemical constituents of *Swertia pubescens* [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2005, 40(9): 657-659. (in Chinese)
- [24] Liu X, Liu Y, Chen J, et al. Simultaneous analysis of xanthone glycosides in *Halenia elliptica* by HPLC-DAD-ESI-MS [J]. Journal of Chromatographic Science, 2010, 48(1): 76-80.
- [25] 罗洲飞, 刘妮娜, 徐彦军, 等. 扁蕾不同部位的化学成分研究 [J]. 湖南农业科学, 2012(9): 99-102.
- Luo Z F, Liu N N, Xu Y J, et al. Chemical constituents of different parts of *Gentianopsis barbata* (Fröel.) Ma [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2012(9): 99-102. (in Chinese)
- [26] Qiao Y, Yuan Y, Cui B, et al. New xanthone glycosides from *Comastoma pedunculatum* [J]. Natural Product Chemistry, 2012, 78(14): 1591-1596.
- [27] Sanchez J F, Entwistle R, Hung J H, et al. Genome-based deletion analysis reveals the prenyl xanthone biosynthesis pathway in *Aspergillus nidulans* [J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(11): 4010-4017.
- [28] Schmidt W, Beerhues L. Alternative pathways of xanthone biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum* L. [J]. FEBS Letters, 1997, 420(2/3): 143-146.
- [29] Schmidt W, Peters S, Beerhues L. Xanthone 6-hydroxylase from cell cultures of *Centaurium erythraea* RAFN and *Hypericum androsaemum* L. [J]. Phytochemistry, 2000, 53(4): 427-431.
- [30] Nualkaew N, Morita H, Shimokawa Y, et al. Benzophenone sy-

- ynthase from *Garcinia mangostana* L. pericarps [J]. Phytochemistry, 2012, 77: 60-69.
- [31] Gaid M M, Sircar D, Müller A, et al. Cinnamate:CoA ligase initiates the biosynthesis of a benzoate-derived xanthone phytoalexin in *Hypericum calycinum* cell cultures [J]. Plant Physiology, 2012, 160(3): 1267-1280.
- [32] Peters S, Schmidt W, Beerhues L. Regioselective oxidative phenol couplings of 2,3',4,6-tetrahydroxybenzophenone in cell cultures of *Centaurium erythraea* RAFN and *Hypericum androsaemum* L. [J]. Planta, 1997, 204(1): 64-69.
- [33] Barillas W, Beerhues L. 3-Hydroxybenzoate:Coenzyme A ligase and 4-coumarate:Coenzyme A ligase from cultured cells of *Centaurium erythraea* [J]. Planta, 1997, 202(1): 112-116.
- [34] Wang C Z, Maier U H, Keil M, et al. Phenylalanine-independent biosynthesis of 1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone [J]. European Journal of Biochemistry, 2003, 270(14): 2950-2958.
- [35] Abd El-Mawla A M A, Beerhues L. Benzoic acid biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum* [J]. Planta, 2002, 214(5): 727-733.
- [36] Chantarasriwong O, Batova A, Chavasiri W, et al. Chemistry and biology of the caged garcinia xanthenes [J]. Chemistry, 2010, 16(33): 9944-9962.
- [37] Barillas W, Beerhues L. 3-Hydroxybenzoate:Coenzyme A ligase from cell cultures of *Centaurium erythraea*: Isolation and characterization [J]. Biological Chemistry, 2000, 381(2): 155-160.
- [38] Fujita M, Inoue T. Further studies on the biosynthesis of mangiferin in *Anemarrhena asphodeloides*: Hydroxylation of the shikimate-derived ring [J]. Phytochemistry, 1981, 20(9): 2183-2185.
- [39] Bennett G J, Lee H H. Xanthenes from guttiferæ [J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 967-998.
- [40] Beerhues L, Berger U. Xanthenes in cell suspension cultures of two *Centaurium species* [J]. Phytochemistry, 1994, 35(5): 1227-1231.
- [41] Beerhues L, Berger U. Differential accumulation of xanthenes in methyl-jasmonate and yeast-extract-treated cell cultures of *Centaurium erythraea* and *Centaurium littorale* [J]. Planta, 1995, 197(4): 608-612.
- [42] Beerhues L, Liu B. Biosynthesis of biphenyls and benzophenones: Evolution of benzoic acid-specific type III polyketide synthases in plants [J]. Phytochemistry, 2009, 70(15/16): 1719-1727.
- [43] Beerhues L. Benzophenone synthase from cultured cells of *Centaurium erythraea* [J]. FEBS Letters, 1996, 383(3): 264-266.
- [44] 马兰青, 师光禄, 叶和春, 等. 植物类型Ⅲ聚酮合酶超家族基因结构、功能及代谢产物 [J]. 生物工程学报, 2010, 26(11): 1482-1492.
- Ma L Q, Shi G L, Ye H C, et al. Plant-specific type III polyketide synthase superfamily: Gene structure, function and metabolites [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2010, 26(11): 1482-1492. (in Chinese)
- [45] Weng J K, Noel J P. Structure-function analyses of plant type III polyketide synthases [J]. Methods in Enzymology, 2012, 515: 317-335.
- [46] 杨继, 顾红雅. 查尔酮合酶超家族(chalcone synthase superfamily)基因重复和分化样式 [J]. 科学通报, 2006, 51(7): 745-749.
- Yang J, Gu H Y. Gene duplication and differentiation of chalcone synthase superfamily [J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(7): 745-749. (in Chinese)
- [47] 生书晶, 赵树进. 植物Ⅲ型聚酮合酶的分子机制与应用前景 [J]. 生物工程学报, 2009, 25(11): 1601-1607.
- Sheng S J, Zhao S J. A comprehensive overview of type III polyketide synthases from plants: Molecular mechanism and application perspective [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2009, 25(11): 1601-1607. (in Chinese)
- [48] Liu B, Falkenstein-Paul H, Schmidt W, et al. Benzophenone synthase and chalcone synthase from *Hypericum androsaemum* cell cultures: cDNA cloning, functional expression, and site-directed mutagenesis of two polyketide synthases [J]. The Plant Journal, 2003, 34(6): 847-855.
- [49] He M, Wang Y, Hua W P, et al. De novo sequencing of *Hypericum perforatum* transcriptome to identify potential genes involved in the biosynthesis of active metabolites [J]. Plos One, 2012, 7(7): e42081(1-10).
- [50] Huang L, Wang H, Ye H, et al. Differential expression of benzophenone synthase and chalcone synthase in *Hypericum sampsonii* [J]. Natural Product Communications, 2012, 7(12): 1615-1618.
- [51] 刘移民, 王翔朴. 细胞色素氧化酶 P450 研究新进展 [J]. 卫生毒理学杂志, 2000, 14(4): 243-246.
- Liu Y M, Wang X P. New research progress of cytochrome oxidase P450 [J]. Journal of Health Toxicology, 2000, 14(4): 243-246. (in Chinese)
- [52] Wang J, Liu Y, Cai Y, et al. Cloning and functional analysis of geraniol 10-hydroxylase, a cytochrome P450 from *Swertia mussotii* Franch [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2010, 74(8): 1583-1590.