

苯乙醇苷合成的研究进展

谢 峻¹, 刘 燕², 柯江英³, 张静怡¹, 杨靖茹¹, 刘红梅¹

1 马鞍山师范高等专科学校 食品工程系, 安徽 马鞍山 243041

2 马鞍山市食品药品检验中心, 安徽 马鞍山 243000

3 马鞍山天福康药业有限公司, 安徽 马鞍山 243000

摘 要: 苯乙醇苷 (PeGs) 是众多药材中的天然活性成分, 具有抗氧化、保肝、美白、神经保护等多方面的作用。然而, 药材中 PeGs 含量低且不稳定。近年来, 为获得富含 PeGs 的药材, PeGs 生物合成及代谢调控方面的研究被广泛开展。对 PeGs 在植物和微生物中生物合成与代谢调控研究及其化学全合成和半合成研究进行综述, 以期阐明 PeGs 的生物合成机制, 稳定并提高植物药材中 PeGs 的含量、提升药材品质, 综合利用微生物代谢工程法或化学合成法合成 PeGs 提供参考。

关键词: 苯乙醇苷; 苯丙素苷; 生物合成; 全合成; 毛蕊花糖苷; 松果菊苷

中图分类号: R284.3 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)20-5109-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.038

Advances in biosynthesis and chemical synthesis of phenylethanoid glycosides

XIE Jun¹, LIU Yan², KE Jiang-ying³, ZHANG Jing-yi¹, YANG Jing-ru¹, LIU Hong-mei¹

1. Department of Food Engineering, Maanshan Teacher's College, Maanshan 243041, China

2. Maanshan Food and Drug Inspection Center, Maanshan 243000, China

3. Maanshan Tianfukang Pharmaceutical Co., Ltd., Maanshan 243000, China

Abstract: Phenylethanoid glycosides (PeGs) are natural active ingredients of many plants at home and abroad. They possess a spectrum of beneficial activities, such as anti-oxidant, hepatoprotective, whitening, and neuroprotective. However, the content of PeGs in food or medicinal materials is low and unstable. During the past decade, studies on biosynthesis and metabolic regulation of PeGs have been extensively carried out. Here, the recent achievements in biosynthesis and metabolic regulation of PeGs in plants and microorganisms are reviewed, as well as in total synthesis and semi-synthesis of PeGs. Hopefully, this work done so far will provide reference for elucidating the biosynthesis mechanism of PeGs, stabilizing and improving the content of PeGs in herbal materials, improving the quality, and synthesizing PeGs by microbial metabolic engineering or chemical synthesis.

Key words: phenylethanoid glycosides; phenylpropanoid glycosides; biosynthesis; total synthesis; verbascoside; echinacoside

苯乙醇苷 (phenylethanoid glycosides, PeGs) 通常是指从自然界中分离得到的, 以 β -葡萄糖为母核, 与 α -羟基苯乙基苷化或同时再与苯丙烯酸酯化; 中心葡萄糖基上常连有乙酰基、咖啡酰基、阿魏酰基、香豆酰基、桂皮酰基、香草酰基或鼠李糖、阿拉伯糖、芹糖、木糖、葡萄糖等糖基的一系列化合物, 迄今已分离得到 300 余种^[1-2]。天然 PeGs 广泛存在于植物界, 已从 23 个科超过 200 个种中分离得到^[3], 如橄榄科 (Burseraceae)、菊科 (Compositae)、

木犀科 (Oleaceae)、列当科 (Orobanchaceae)、玄参科 (Scrophulariaceae)、马鞭草科 (Verbenaceae)、苦苣苔科 (Gesneriaceae)、唇形科 (Labiatae)、木通科 (Lardizabalaceae)、车前科 (Plantaginaceae) 等, 其中代表性的 PeGs 有毛蕊花糖苷 (verbascoside/acteoside/kusagin) 、松果菊苷 (echinacoside)、连翘酯苷 (forsythiaside)、米团花苷 (leucosceptoside)、角胡麻苷 (martynoside)、荷包花苷 (calceolarioside)、金石蚕苷 (poliumoside)、红景天苷 (salidroside)

收稿日期: 2019-05-14

基金项目: 安徽省高校优秀青年人才支持计划项目 (gxyqZD2019111); 安徽省高等学校自然科学研究项目 (KJ2019A1202); 省级质量工程教学研究项目 (2018jyxm0159)

作者简介: 谢 峻 (1981—), 男, 硕士生导师, 副教授, 博士, 从事食药生物技术与生化工程研究。

Tel: (0555)8215935 E-mail: xjljxhq@126.com

等。国内外众多食材（桂花 *Osmanthus fragrans* Lour.^[4]等）和药材（肉苁蓉 *Cistanches Herba*、紫株叶 *Callicarpae Formosanae Folium*、地黄 *Rehmanniae Radix*、红景天 *Rhodiola Crenulatae Radix et Etrhizoma*^[5]、松果菊属 *Echinacea spp.*^[6]、车前子 *Plantaginis Semen*^[7]等）的养身健体功效多归因于其所含有的 PeGs。部分 PeGs 结构母核见图 1，名称及取代基见表 1。

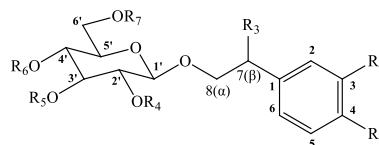


图 1 部分 PeGs 结构母核

Fig. 1 Chemical structure of partial PeGs

众多药理研究表明，PeGs 具有突出的抗氧化^[8]、保肝^[9]、美白^[10]、神经保护^[11]等生物活性，源

表 1 部分 PeGs 结构

Table 1 Chemical structure of partial PeGs

化合物	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
红景天苷 (salidroside)	OH	H	H	H	H	H	H
eutigoside A	OH	H	H	H	H	H	<i>p</i> -Cou
异毛蕊花糖苷 (isoacteoside)	OH	OH	H	H	Rha	H	Caf
kankanoside G	OH	H	H	H	Rha	H	Caf
毛蕊花糖苷 (acteoside)	OH	OH	H	H	Rha	Caf	H
顺式毛蕊花糖苷 (<i>cis</i> -acteoside)	OH	OH	H	H	Rha	<i>cis</i> -Caf	H
isosyringalide A 3'- α -rhamnopyranoside	OH	OH	H	H	Rha	<i>p</i> -Cou	H
syringalide A 3'- α -rhamnopyranoside	OH	H	H	H	Rha	Caf	H
osmanthuside B	OH	H	H	H	Rha	<i>p</i> -Cou	H
肉苁蓉苷 C (cistanoside C)	OH	OCH ₃	H	H	Rha	Caf	H
肉苁蓉苷 D (cistanoside D)	OH	OCH ₃	H	H	Rha	Fer	H
jionoside D	OCH ₃	OH	H	H	Rha	Caf	H
kankanoside I	H	H	H	H	Rha	Caf	Glc
松果菊苷 (echinacoside)	OH	OH	H	H	Rha	Caf	Glc
管花肉苁蓉苷 B ₁ (cistantubuloside B ₁)	OH	OH	H	H	Rha	<i>p</i> -Cou	Glc
管花肉苁蓉苷 B ₂ (cistantubuloside B ₂)	OH	OH	H	H	Rha	<i>cis-p</i> -Cou	Glc
wiedemanninoside C	OH	OH	H	H	Rha	Fer	Glc
三糖苯丙素苷 (arenarioside)	OH	OH	H	H	Rha	Caf	Xyl
管花肉苁蓉苷 A (cistantubuloside A)	OH	H	H	H	Rha	Caf	Glc
肉苁蓉苷 A (cistanoside A)	OH	OCH ₃	H	H	Rha	Caf	Glc
肉苁蓉苷 B (cistanoside B)	OH	OCH ₃	H	H	Rha	Fer	Glc
管花苷 B (tubuloside B)	OH	OH	H	Ac	Rha	H	Caf
2'-乙酰毛蕊花糖苷 (2'-acetylacteoside)	OH	OH	H	Ac	Rha	Caf	H
管花苷 E (tubuloside E)	OH	OH	H	Ac	Rha	<i>p</i> -Cou	H
salsaside E	OH	H	H	Ac	Rha	Caf	H
cistansinenside A	OCH ₃	OH	H	Ac	Rha	Caf	H
kankanoside H ₁	OH	OH	H	Ac	Rha	<i>p</i> -Cou	Glc
kankanoside H ₂	OH	OH	H	Ac	Rha	<i>cis-p</i> -Cou	Glc
管花苷 A (tubuloside A)	OH	OH	H	Ac	Rha	Caf	Glc
管花苷 C (tubuloside C)	OH	OH	H	Ac	TA-Rha	Caf	Glc
管花苷 D (tubuloside D)	OH	OH	H	Ac	TA-Rha	<i>p</i> -Cou	Glc
campneoside II	OH	OH	OH	H	Rha	Caf	H
管花肉苁蓉苷 C ₁ /C ₂ (cistantubuloside C ₁ /C ₂)	OH	OH	OH	H	Rha	Caf	Glc
isocampneoside I	OH	OH	OCH ₃	H	Rha	H	Caf
campneoside I	OH	OH	OCH ₃	H	Rha	Caf	H
kankanoside K ₁	OH	OH	OCH ₃	H	Rha	Caf	Glc
kankanoside K ₂	OH	OH	OCH ₃	H	Rha	Caf	Glc
kankanoside J ₁	OH	OH	OCH ₃	Ac	Rha	Caf	H
kankanoside J ₂	OH	OH	OCH ₃	Ac	Rha	Caf	H

Ac-acetyl Caf-caffeoyl Cou-coumaroyl Fer-feruloyl Glc- β -D-glucopyranosyl Rha- α -L-rhamnopyranosyl Xyl- β -D-xylopyranosyl
TA-Rha-2",3",4"-triacyl- α -L-rhamnopyranosyl

自于其芳香环上的甲氧基和羟基数量以及酰基结构^[12]。某些酰基苯乙醇苷 (APeGs) 活性不仅高于游离的咖啡酸、阿魏酸、香草酸、丁香酸、绿原酸、菊苣酸和洋蓟酸^[13]，而且较去酰基苯乙醇苷 (DAPeGs) 活性强 30 倍以上。然而，PeGs 的含量受其自身生物合成能力的高度调控，以及因种属、产地、栽培、采收条件等的不同，即使是同一物种 (或品种)，PeGs 的含量差异也极其显著，甚至达到 20 倍以上^[14]，以致药材品质难以保证。因此，揭开 PeGs 的生物合成机制，稳定并提高植物药材中 PeGs 含量、提升药材品质，综合利用微生物代谢工程法或化学合成法合成 PeGs，已成为当前研究的热点领域之一。

1 PeGs 的生物合成与代谢调控

近 10 年来，PeGs 大致的生物合成已基本取得共识，即由苯丙氨酸途径经苯丙烷代谢通路生成苯丙烯酸和由酪氨酸途径，经 3,4-二羟基苯乙醛代谢通路生成苯乙醇，随后在一系列酰基转移酶和葡萄糖基转移酶的作用下以 β -葡萄糖为母核，与 α -羟基苯乙基苷化或同时再与苯丙烯酸酯化，缩合生成 PeGs。目前，借助基因工程技术，在转基因植物中已能实现部分 PeGs 的代谢调控，甚至在微生物中也已获得结构较为简单的 PeGs 及其前体，如红景天苷、2-苯乙醇 (2-phenylethanol, 2-PE)、酪醇 (tyrosol) 和咖啡酸苯乙酯 (caffeic acid phenethyl ester, CAPE) 等。

1.1 植物代谢工程

1.1.1 前体饲喂研究 由于 PeGs 具有良好的生物学活性，为获得富含 PeGs 的药材，人们广泛开展了前体饲喂的研究。Liu 等^[15]通过给盐生肉苁蓉 *Cistanche salsa* (C. A. Mey.) G. Beck 的悬浮细胞外源添加酪氨酸 (tyrosine)、苯丙氨酸 (phenylalanine)、咖啡酸、黄瓜汁，可增加毛蕊花糖苷、松果菊苷和 2'-乙酰毛蕊花糖苷 3 种 PeGs 的积累量。Hu 等^[16]和 Cheng 等^[17]分别给肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Ma 外源饲喂酪氨酸、苯丙氨酸、椰子汁、酪蛋白水解物和脯氨酸，也可不同程度提高 PeGs 的积累量。闫晓慧^[18]发现在狭叶松果菊 *Echinacea angustifolia* (DC.) Hell. 根悬浮培养基中外源添加苯丙氨酸，亦有利于松果菊苷的积累。

1.1.2 同位素前体标记研究 毛蕊花糖苷是 PeGs 的典型代表。Ellis^[19]对欧丁香 *Syringa vulgaris* L. 和 Saimaru 等^[20]对橄榄 *Olea europaea* L. 的同位素标

记饲喂研究结果一致认为毛蕊花糖苷的生物合成是由酪氨酸经多巴胺 (dopamine) 途径/酪胺途径到 3,4-二羟基苯乙醛 (3,4-dihydroxy-phenylacetaldehyde, DHPA, 也即 3,4-dihydroxytyrosol) 和由苯丙氨酸经苯丙烷途径到咖啡酰基/阿魏酰基部分的共同作用 (图 2)。然而，他们在由酪氨酸到 DHPA 产生了分歧。Ellis^[19]认为，酪氨酸和酪胺是酪醇和 DHPA 的高效前体 (图 2，酪胺途径)，且单羟基化的酪胺远较双羟基化的 *L*-多巴 (*L*-dopa) 和多巴胺能更为高效地参与 PeGs 的生物合成；而 Saimaru 等^[20]认为酪氨酸是经酪氨酸羟化酶 (tyrosine 3-hydroxylase, TH) 催化生成 *L*-多巴，再经多巴/酪氨酸脱羧酶 (dopa/tyrosine decarboxylase, TyrDC) 脱羧生成多巴胺，多巴胺通过先氧化成相应的醛，再还原为醇 (图 2，多巴胺途径)，最后 β -糖基化与咖啡酰部分缩合才是 PeGs 生物合成的主要途径。

1.1.3 生物合成及代谢调控研究 由莽草酸初生代谢途径而来的分支酸分别衍生为酪氨酸和苯丙氨酸。TyrDC 和 PAL 分别催化酪氨酸和苯丙氨酸进入后续的苯丙素 (phenylpropanoid) 次生代谢。Hu 等^[21]用一种竞争性抑制剂氨基茛磷酸 (2-aminoindan-2-phosphonic acid, AIP) 特异性抑制肉苁蓉悬浮细胞 PAL 的活性后，发现 PeGs 含量显著降低。谢峻等^[22]则通过在地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 中过量表达 RgPAL1 基因，证实了 PAL 基因确实可以促进地黄中毛蕊花糖苷的富集。Ma 等^[23]从高山红景天 *Rhodiola sachalinensis* A. Bor 中分离了苯丙氨酸解氨酶基因 PALrs1，构建植物表达载体，使其置于双 35 S 启动子的驱动下，通过根癌农杆菌介导法转化回高山红景天，研究发现，过表达 PALrs1 可致苯丙烷途径中 4-香豆酸积累量提高 3.3 倍，而多巴胺/酪醇途径中酪醇含量下降 4.7 倍。Torrens-Spence 等^[24]通过茉莉酸诱导表达，比较了欧芹 *Petroselinum crispum* (Mill.) Hill 和黄唐松草 *Thalictrum flavum* L. 的 TyrDC 活性，认为欧芹 TyrDC 可直接催化酪氨酸生成 4-羟基苯乙醛 (4-hydroxyphenylacetaldehyde, 4-HPAA) 或可直接催化 *L*-多巴生成 DHPA。Landtag 等^[25]则把欧芹的 TyrDC 基因经农杆菌介导转入马铃薯中，发现该植物可溶性成分中包含了一种从未有过的 PeG，从而开启了马铃薯新的代谢途径。Gyorgy 等^[26]克隆并测序了红景天 *R. rosea* L. 中的酪氨酸脱羧酶基因 RrTyrDC，其通过 qRT-PCR 发现，红景天苷在红景

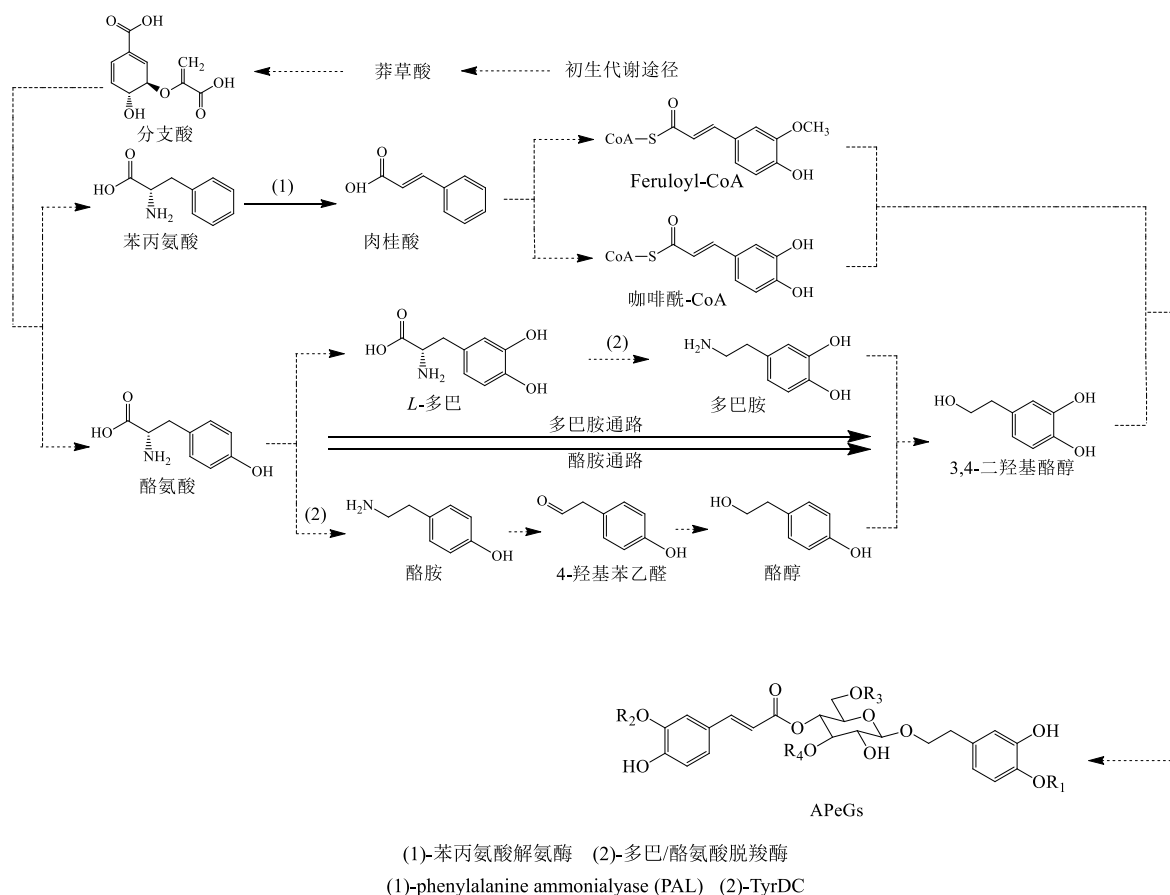


图 2 推测的 APeGs 生物合成途径

Fig. 2 Putative biosynthetic pathway of APeGs

天各个组织器官中的含量与 RrTyrDC 的组织表达模式一致, 并推测如果红景天苷在红景天中是原位合成, 那么 RrTyrDC 在红景天苷的生物合成中扮演着决定性的角色。随后, Zhang 等^[27]在研究红景天苷生物合成的过程中, 进一步验证了上述结论, 其通过过量表达高山红景天的 RsTyrDC 可导致转基因植株中红景天苷较对照组提高 2.7 倍, 而抑制 RsTyrDC 表达则红景天苷含量下降 4.1 倍。此外, Lan 等^[28]克隆了大花红景天 *R. crenulata* L. 的酪氨酸脱羧酶基因 RcTyrDC, 并转化回大花红景天, 实现了转基因植株中红景天苷的含量达到未转化植株的 3.47 倍, 这再一次印证了 TyrDC 对红景天苷的富集作用。王丰青等^[29]发现, 地黄毛状根若经水杨酸处理, 能够在短时间内提高 PAL、肉桂酸-4-羟化酶 C4H (*trans*-cinnamate 4-monooxygenase, C4H)、4-香豆酸-辅酶 A 连接酶 (4-coumarate-CoA ligase, 4CL)、TyrDC 等酶基因的表达, 从而促进毛蕊花糖苷的积累。谢峻等^[30]通过在红花钓钟柳 *Penstemon barbatus* (Cav.) Roth 中过量表达 RgPAL1 和

RgTyrDC 基因, 实现了同时提高多种 PeGs 含量的效果。由此看来, PAL 基因的过表达可能只能促进由苯丙氨酸经苯丙烷途径到咖啡/阿魏酰基部分的积累, 而羟基酪醇 (hydroxytyrosol) 部分的含量仍依赖于由酪氨酸经多巴胺/酪胺途径的生物合成。PAL 与 TyrDC 是连接 PeGs 初生代谢与次生代谢间的首要关键酶, 它们共同决定了分支酸而来的碳流走向。Sun 等^[31]通过转录组比较分析, 预测了多种连翘属 *Forsythia* spp. 植物中可能参与毛蕊花糖苷和连翘酯苷生物合成的酰基转移酶和葡萄糖基转移酶。Wang 等^[32]和周延清等^[33]通过转录组测序比较分析, 筛选出十几种可能参与地黄或地黄毛状根中毛蕊花糖苷生物合成的基因。刘合霞等^[34]通过对牛耳朵 *Primulina eburnea* (Hance) Y. Z. Wang 及黄花牛耳朵 *P. lutea* Yan Liu & Y. G. Wei 的叶片进行转录组测序, 获取了 2 种苦苣苔植物的转录本信息, 对差异表达基因进行 GO 及 KEGG 富集分析后认为, 2 种植物的基因表达谱相似, 与苯乙醇苷类产物代谢相关的通路有 3 条, 即苯丙氨酸/酪氨酸/色氨酸

生物合成、苯丙氨酸代谢及苯丙素生物合成途径, 相关的差异表达 unigene 序列多达 72 条。

然而, 实际上 PeGs 生物合成的复杂性还在于其中心葡萄糖基上, 由特异性的植物次生代谢产物葡萄糖基转移酶催化家族催化的多样化的糖基化修饰。红景天苷是一种中心葡萄糖基仅与 α -羟基苯乙基苷化, 未与苯丙烯酸酯化的 PeG。Ma 等^[35]选取了若干植物中以简单酚类化合物为苷元底物的 UDP-葡萄糖基转移酶氨基酸序列, 同源克隆了高山红景天中的 UDP-葡萄糖基转移酶 1 (uridine diphosphate dependent glucosyltransferase, UGT1) 基因, 并利用农杆菌介导法转化回高山红景天, 使 UGT1 超表达, 经 HPLC 测定, 转 UGT1 基因的高山红景天愈伤组织红景天苷含量大幅增加。Yu 等^[36]也通过选取若干与高山红景天亲缘关系相对较近且催化底物与酪醇结构 (简单酚类物质) 相似物种的葡萄糖基转移酶的氨基酸序列, 分析查找其保守区, 分别从愈伤组织中克隆了葡萄糖基转移酶基因 UGTC2 和从根中克隆了葡萄糖基转移酶基因 UGTR, 并一同将 Ma 等^[35]克隆的 UGT1 实现了原核表达, 经 HPLC 测定, 3 个重组酶 His-UGT1、His-UGTC2 和 His-UGTR 对酪醇催化的比活力分别达到 1 655.6、566.8、2 783.3 pkat/mg。在此基础上, Yu 等^[36]还利用发根农杆菌 ATCC15834 对高山红景天进行了遗传转化, 转 UGT1、UGTC2 和 UGTR 基因发根中红景天苷含量与野生型相比, 分别提高了 1.51、1.20、1.96 倍。

1.2 微生物代谢工程

在过去的几十年中, 已经积累了丰富的以微生物作为工业平台, 生产植物源性化学品的经验 (多酚、生物碱和萜类等)^[37]。通过调整相似的生化途径, 并引入或重新组装来自不同生物体或途径的酶来创造部分自然途径或完全人工途径。与植物中苯乙醇的生物合成途径相似, 微生物中苯乙醇也来自于葡萄糖经莽草酸途径生成苯丙氨酸和酪氨酸, 这就为借助代谢工程和合成生物学方法, 利用微生物作为强大的多功能细胞工厂, 生产 PeGs 提供了可能。2-苯乙醇、酪醇和羟基酪醇是合成 PeGs 的重要前体。因此, Bai 等^[38]在大肠杆菌中, 首先利用丙酮酸脱羧酶 ARO10 和内源性的乙醇脱氢酶将酪氨酸途径的中间产物 4-羟基苯丙酮酸转化为酪醇; 随后, 通过过量表达酪醇合成相关基因, 并消除竞争途径及反馈抑制来进一步富集酪醇; 最后, 将高山

红景天中的 UGT 基因 UGT73B6 导入重组菌株中。有趣的是, 该重组菌株不仅能够获得 0.19 mmol/L 的红景天苷, 还能同时产生 0.21 mmol/L 的淫羊藿次苷 D2 (icariside D2)。基于地衣芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis* ZSP01 中的糖基转移酶 UGTBL1 与高山红景天糖基转移酶 UGT73B6 的 PSPG 基序具有高度的相似性 (61.4%), Fan 等^[39]将 UGTBL1 转入大肠杆菌 *E. coli*, 结果在大肠杆菌中也能生成红景天苷和淫羊藿次苷 D2。由此说明, UGT73B6 和 UGTBL1 催化红景天苷的合成至少在大肠杆菌中不具有特异性, 即 UGT 既可以将葡萄糖连接到酚羟基上, 也可以将葡萄糖连接到醇羟基上。Chung 等^[40]从拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. 的 12 个 UGTs 中筛选出 3 个 UGTs (AtUGT73C5、AtUGT73C6 和 AtUGT85A1) 可以特异性催化合成红景天苷, 且 AtUGT85A1 的催化效率最高, 这较之前非特异性的 UGTs, 红景天苷的产率得到了明显提高。不仅如此, AtUGT84A1 还可将羟基酪醇转化为红景天苷^[41]。

2 苯乙醇苷的全合成

PeGs 复杂的结构和立体选择性激起了药物化学家迎接挑战的兴趣。PeGs 包含 1 个 2-苯乙基- β -D-葡萄糖苷核心单元, 以及 1 个可在 O-4 或 O-6 位酰化的肉桂酰部分。当然, 更复杂的 PeGs 还含有 2~3 个单糖单元通过糖苷键结合到核心糖单元。为使肉桂酰部分能够在这个葡萄糖苷核心单元上正确的位置组装, PeGs 的全合成常常采用保护/脱保护基团的策略。运用这种保护/脱保护策略^[42], 已合成了多种 PeGs, 如毛蕊花糖苷、松果菊苷、木通苯乙醇苷 A (calceolarioside A)、木通苯乙醇苷 B (calceolarioside B) 等。然而, 在保护/脱保护条件下, 由于肉桂酰和保护基团之间的不相容性, 毛蕊花糖苷、松果菊苷、plantamajoside 等葡萄糖苷核心单元上连接的葡萄糖、鼠李糖等将进一步使这些策略复杂化, 如当苄基醚保护基团被氢解去除时, 肉桂酰部分烯键发生还原。同样, 去除乙酰基和氯乙酰基保护基团可导致肉桂酰部分水解。到目前为止, 尚无含有 3 个糖单元的 PeGs 全合成的报道。Khong 等^[43-45]近年来开发了一系列无需保护/脱保护步骤, 更加方便、高效全合成制备 PeGs 的方法。如利用手性催化剂 4-吡咯烷基吡啶催化无保护的 2-苯基乙基- β -D-葡萄糖苷与肉桂酸酐直接在 O-4 位肉桂酰化。这种无需保护/脱保护且具有高度化学选择性和

区域选择性的方法,可显著减少合成步骤,提高总收率和原子经济性。

3 展望

近年来,PeGs的全合成和半合成研究皆取得了显著进步,除了尚不能实现核心糖单元上结合3个及以上单糖单元外,众多PeGs皆实现了化学全合成。化学全合成生产PeGs原料廉价易得、产物易分离,但合成路线长、副反应多、手性拆分繁琐、收率低、成本高。虽然半合成PeGs,合成路线较短、纯度高、收率高,但如何大量获得PeGs关键前体是亟待解决的问题。目前借助微生物发酵可以获得多种PeGs前体。微生物平台,如最广泛使用的大肠杆菌和酿酒酵母已被设计为多功能细胞工厂,用于生产各种复杂的天然产物,如植物化学品、多糖、多肽等。相对于植物代谢工程,微生物生产平台具有基因易于操作、工程菌生长速度快等优势。随着植物化学品生物合成途径的阐明和合成生物学策略的发展,PeGs工业化规模生产亦指日可待。特别是近年来,已利用微生物获得结构较为简单的PeGs及其前体,如红景天苷、2-苯乙醇、酪醇、咖啡酸苯乙酯等。不过,目前尚未实现利用微生物生产结构稍复杂的APeGs。利用微生物代谢工程生产APeGs,今后一段时期内,需要解决设计更精细的代谢网络、优化植物源性酶的密码子以及植物源酶的效率、提高异源酶的耐受性、构建促进细菌表达的酶嵌合体等一系列问题。

综合微生物代谢工程获取廉价的PeGs前体,再结合化学半合成制备PeGs,各取优势、扬长避短,不失为一种行之有效的办法。然而,不管怎样,明确PeGs详细的生物合成及代谢调控机制是开展一切工作的基础。

参考文献

- [1] Fu G M, Pang H H, Wong Y H. Naturally occurring phenylethanoid glycosides: Potential leads for new therapeutics [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(25): 2592-2613.
- [2] Xue Z Z, Yang B. Phenylethanoid glycosides: Research advances in their phytochemistry, pharmacological activity and pharmacokinetics [J]. *Molecules*, 2016, doi: 10.3390/molecules21080991.
- [3] Alipieva K, Korkina L, Orhan I E, et al. Verbascoside-A review of its occurrence, (bio) synthesis and pharmacological significance [J]. *Biotechnol Adv*, 2014, 32(6): 1065-1076.
- [4] Jiang Y R, Mao S Q, Huang W S, et al. Phenylethanoid glycoside profiles and antioxidant activities of *Osmanthus fragrans* Lour. flowers by UPLC/PDA/MS and simulated digestion model [J]. *J Agr Food Chem*, 2016, doi: 10.1021/acs.jafc.5b03474.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [6] Perry N B, Burgess E J, Glennie V. *Echinacea* standardization: Analytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species [J]. *J Agr Food Chem*, 2001, 49(4): 1702-1706.
- [7] Qi M, Xiong A, Geng F, et al. A novel strategy for target profiling analysis of bioactive phenylethanoid glycosides in *Plantago* medicinal plants using ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2012, 35(12): 1470-1478.
- [8] Miao J L, Wang W F, Yao S, et al. Antioxidative properties of martynoside: Pulse radiolysis and laser photolysis study [J]. *Free Radical Res*, 2003, 37(8): 829-833.
- [9] Morikawa T, Pan Y N, Ninomiya K, et al. Acylated phenylethanoid oligoglycosides with hepatoprotective activity from the desert plant *Cistanche tubulosa* [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2010, doi: 10.1016/j.bmc.2010.01.047.
- [10] 陆柏益, 孙启鸿, 熊丽娜, 等. 桂花苯乙醇苷提取物在制备美白化妆品中的应用: 中国, CN103767975A [P]. 2014-05-07.
- [11] Yang J H, Ju B W, Yan Y, et al. Neuroprotective effects of phenylethanoid glycosides in an *in vitro* model of Alzheimer's disease [J]. *Exp Ther Med*, 2017, doi: 10.3892/etm.2017.4254.
- [12] Heilmann J, Calis I, Kirmizibekmez H, et al. Radical scavenger activity of phenylethanoid glycosides in FMLP stimulated human polymorphonuclear leukocytes: Structure-activity relationships [J]. *Planta Med*, 2000, doi: 10.1055/s-2000-9566.
- [13] Pellati F, Benvenuti S, Magro L, et al. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2004, 35(7): 289-301.
- [14] Xu J, Wu J, Zhu L Y, et al. Simultaneous determination of iridoid glycosides, phenethylalcohol glycosides and furfural derivatives in *Rehmanniae Radix* by high performance liquid chromatography coupled with triple-quadrupole mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2012, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.006.
- [15] Liu J Y, Guo Z G, Zeng Z L. Improved accumulation of

- phenylethanoid glycosides by precursor feeding to suspension culture of *Cistanche salsa* [J]. *Biochem Eng J*, 2007, doi: 10.1016/j.bej.2006.09.002.
- [16] Hu G S, Jia J M, Kim D H. Effects of feeding tyrosine and phenylalanine on the accumulation of phenylethanoid glycosides to *Cistanche deserticola* cell suspension culture [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(5): 367-372.
- [17] Cheng X Y, Wei T, Guo B, *et al.* *Cistanche deserticola* cell suspension cultures: Phenylethanoid glycosides biosynthesis and antioxidant activity [J]. *Process Biochem*, 2005, doi: 10.1016/j.procbio.2005.03.012.
- [18] 闫晓慧. 狭叶松果菊组织培养、毛状根诱导及其松果菊苷和绿原酸积累的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- [19] Ellis B E. Production of hydroxyphenylethanol glycosides in suspension cultures of *Syringa vulgaris* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(9): 1941-1943.
- [20] Saimaru H, Orihara Y. Biosynthesis of acteoside in cultured cells of *Olea europaea* [J]. *J Nat Med-Tokyo*, 2010, doi: 10.1007/s11418-009-0383-z.
- [21] Hu G S, Hur Y J, Jia J M, *et al.* Effects of 2-aminoindan-2-phosphonic acid treatment on the accumulation of salidroside and four phenylethanoid glycosides in suspension cell culture of *Cistanche deserticola* [J]. *Plant Cell Rep*, 2011, doi: 10.1007/s00299-010-0997-3.
- [22] 谢峻, 崔平, 陈启厚. 转 *RgPAL1* 基因提高地黄中毛蕊花糖苷含量的方法: 中国, CN104357480B [P]. 2017-09-19.
- [23] Ma L Q, Gao D Y, Wang Y N, *et al.* Effects of overexpression of endogenous phenylalanine ammonia-lyase (*PALrs1*) on accumulation of salidroside in *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Plant Biol*, 2008, 10(3): 323-333.
- [24] Torrens-Spence M P, Gillaspay G, Zhao B Y, *et al.* Biochemical evaluation of a parsley tyrosine decarboxylase results in a novel 4-hydroxyphenylacetaldehyde synthase enzyme [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2012, doi: 10.1016/j.bbrc.2011.12.124.
- [25] Landtag J, Baumertb A, Degenkolbc T, *et al.* Accumulation of tyrosol glucoside in transgenic potato plants expressing a parsley tyrosine decarboxylase [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(7): 683-689.
- [26] Gyorgy Z, Jaakolla L, Neubauer P, *et al.* Isolation and genotype-dependent, organ-specific expression analysis of a *Rhodiola rosea* cDNA encoding tyrosine decarboxylase [J]. *J Plant Physiol*, 2009, doi: 10.1016/j.jplph.2009.03.016.
- [27] Zhang J X, Ma L Q, Yu H S, *et al.* A tyrosine decarboxylase catalyzes the initial reaction of the salidroside biosynthesis pathway in *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Plant Cell Rep*, 2011, 30(8): 1443-1453.
- [28] Lan X Z, Chang K, Zeng L J, *et al.* Engineering salidroside biosynthetic pathway in hairy root cultures of *Rhodiola crenulata* based on metabolic characterization of tyrosine decarboxylase [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e75459.
- [29] 王丰青, 索艳飞, 张重义, 等. 一种利用地黄毛状根生产毛蕊花糖苷的方法: 中国, CN106148453A [P]. 2016-11-23.
- [30] 谢峻, 汤宁, 谷燕, 等. 一种苯乙醇苷含量提高的转基因植株及生产方法: 中国, 201910048501.X [P]. 2019-04-26.
- [31] Sun L C, Rai A, Megha R, *et al.* Comparative transcriptome analyses of three medicinal *Forsythia* species and prediction of candidate genes involved in secondary metabolisms [J]. *J Nat Med-Tokyo*, 2018, doi: 10.1007/s11418-018-1218-6.
- [32] Wang F Q, Zhi J Y, Zhang Z Y, *et al.* Transcriptome analysis of salicylic acid treatment in *Rehmannia glutinosa* hairy roots using RNA-seq technique for identification of genes involved in acteoside biosynthesis [J]. *Front Plant Sci*, 2017, doi: 10.3389/fpls.2017.00787.
- [33] 周延清, 王向楠, 段红英, 等. 毛蕊花糖苷生物合成途径及其合成酶相关基因: 中国, CN106498009A [P]. 2017-03-15.
- [34] 刘合霞, 李博. 黄花牛耳朵及牛耳朵转录组分析及苯乙醇苷类化合物合成相关基因的挖掘 [J]. *中药材*, 2018, 41(12): 2509-2514.
- [35] Ma L Q, Liu B Y, Gao D Y, *et al.* Molecular cloning and overexpression of a novel UDP-glucosyltransferase elevating salidroside levels in *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26(7): 989-999.
- [36] Yu H S, Ma L Q, Zhang J X, *et al.* Characterization of glycosyltransferases responsible for salidroside biosynthesis in *Rhodiola sachalinensis* [J]. *Phytochemistry*, 2011, doi: 10.1016/j.phytochem.2011.03.020.
- [37] Wang J, Guleria S, Koffas M A G, *et al.* Microbial production, of value-added nutraceuticals [J]. *Curr Opin Biotech*, 2016, doi: 10.1039/c3ob42503g.
- [38] Bai Y F, Bi H P, Zhuang Y B, *et al.* Production of salidroside in metabolically engineered *Escherichia coli* [J]. *Sci Rep-UK*, 2014, doi: 10.1038/srep06640.
- [39] Fan B, Chen T Y, Zhang S, *et al.* Mining of efficient microbial UDPglycosyltransferases by motif evolution cross plant kingdom for application in biosynthesis of salidroside [J]. *Sci Rep-UK*, 2017, doi: 10.1038/s41598-

- 017-00568-z.
- [40] Chung D, Kim S Y, Ahn J H. Production of three phenylethanoids, tyrosol, hydroxytyrosol and salidroside, using plant genes expressing in *Escherichia coli* [J]. *Sci Rep-UK*, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-02042-2.
- [41] Choo H J, Kim E J, Kim S Y, *et al.* Microbial synthesis of hydroxytyrosol and hydroxysalidroside [J]. *Appl Biol Chem*, 2018, 61(3): 295-301.
- [42] Mulani S K, Guh J H, Mong K K T. A general synthetic strategy and the anti-proliferation properties on prostate cancer cell lines for natural phenylethanoid glycosides [J]. *Org Biomol Chem*, 2014, doi: 10.1039/c3ob42503g.
- [43] Khong D T, Judeh Z M A. Short synthesis of phenylpropanoid glycosides calceolarioside A and syringalide B [J]. *Synlett*, 2018, 29(17): 2218-2224.
- [44] Khong D T, Judeh Z M A. Short synthesis of phenylpropanoid glycosides calceolarioside-B and eutigoside-A [J]. *Tetrahedron Lett*, 2017, doi: 10.1016/j.tetlet.2016.11.116.
- [45] Khong D T, Judeh Z M A. Total synthesis of phenylpropanoid glycoside osmanthuside-B₆ facilitated by double isomerisation of glucose-rhamnose orthoesters [J]. *Org Biomol Chem*, 2017, doi: 10.1039/C7OB00198C.