

基于莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径和聚酮途径合成蒽醌类化合物研究进展

梁伟¹, 孙嘉辰⁴, 郭凤霞², 张学敏⁵, 徐波⁵, 陈垣^{1*}, 李霞^{3*}

1. 甘肃农业大学农学院 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃省干旱生境作物重点实验室, 甘肃省中药材规范化生产技术创新重点实验室, 甘肃省药用植物栽培育种工程研究中心, 甘肃 兰州 730070
2. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃 兰州 730070
3. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072
4. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134
5. 天津市现代中药资源研究企业重点实验室, 天津 300410

摘要: 蒽醌及其衍生物是植物体内十分重要的次级代谢产物, 具有光保护、提高植物抗病性等多种功能, 同时在医药、化工等领域也具有十分重要的应用。如何高效、快速地获得蒽醌类物质、提高植物体内蒽醌类物质的合成效率, 已经成为现代合成生物学的研究热点。然而蒽醌类物质合成途径较为复杂, 目前普遍认为在植物体内蒽醌类物质是通过莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径和聚酮途径形成。综述近年来在植物体内莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径和聚酮途径合成蒽醌母核结构的研究进展, 为研究植物体内蒽醌类代谢物的合成与调控提供一定的理论基础。

关键词: 蒽醌类物质; 生物合成途径; 莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径; 聚酮途径; 次生代谢产物

中图分类号: R282.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)07-1939-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.031

Research progress on synthesis of anthraquinones based on shikimic acid/*o*-succinylbenzoic acid pathway and polyketone pathway

LIANG Wei¹, SUN Jia-chen⁴, GUO Feng-xia², ZHANG Xue-min⁵, XU Bo⁵, CHEN Yuan¹, LI Xia³

1. Gansu Key Lab of Crop Genetic & Germplasm Enhancement, Gansu Key Lab of Ariland Crop Science, Gansu Key Lab of Standardization Production Technology Innovation for Chinese Medicinal Materials, Gansu Provincial Engineering Research Center for Medical Plant Cultivation and Breeding, College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China
2. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China
3. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China
4. School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China
5. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine Resources Research of Enterprises, Tianjin 300410, China

Abstract: Anthraquinone and its derivatives are very important secondary metabolites in plants. They have many functions such as photoprotection and improvement of plant disease resistance. They also have very important applications in the fields of medicine and chemical engineering. Efficiently and quickly obtaining anthraquinones and improving the synthesis efficiency of anthraquinones in plants have become one of the research focuses of modern synthetic biology. However, the synthetic pathway of anthraquinones is more complicated. At present, it is generally believed that anthraquinones are formed in plants by the shikimic acid/*o*-succinylbenzoic acid pathway and polyketone pathway. This article focuses on the recent research advances in the skeleton synthesis

收稿日期: 2019-12-06

基金项目: 国家重点研发课题 (2017YFD0201402); 国家中医药管理局中药标准化研究项目 (ZYBZH-Y-GS-11); 国家自然科学基金资助项目 (81803653); 天津市科技计划项目 (19YFZCSY00170); 天津市北辰区科技创新专项 (KJCX-CXY-2019-13); 大学生创新创业训练计划 (201910069007, 201910069102); 甘肃省现代农业中药材产业体系首席专家 (GARS-ZYC-1); 甘肃省科技创新券 (V20198TA0459)

作者简介: 梁伟 (1993—), 男, 博士研究生, 研究方向为药用植物资源与利用。E-mail: 825773675@qq.com

***通信作者** 陈垣, 教授, 博士生导师。Tel: (0931)7631761 E-mail: chenyan@gsau.edu.cn

李霞, 副教授, 博士生导师。Tel: (022)8740895 E-mail: lixia2008@tju.edu.cn

of anthraquinone via shikimic acid/*o*-succinylbenzoic acid pathway and polyketone pathway in plants, and provides a certain theoretical basis for studying the synthesis and regulation of anthraquinone metabolites in plants.

Key words: anthraquinones; biosynthetic pathway; shikimic acid/*o*-succinylbenzoic acid pathway; polyketone pathway; secondary metabolite

植物次生代谢产物是指不直接参与到植物生长、发育和繁殖过程中的有机化合物。但是次生代谢产物在植物体内分布广泛，并在植物的整个生命周期中起着十分重要的作用^[1]。研究表明很多次生代谢产物在植物生长期中扮演着重要的角色，如充当着植物与周围环境相互作用的介质^[2-4]、充当植物防御系统的重要组成部分^[5-6]。近年来，随着研究的不断深入，植物次生代谢产物在医药领域和膳食营养方面得到了广泛应用，所以对植物次生代谢产物的研究已经成为热点。

蒽醌及其衍生物是植物体内十分重要的次生代谢产物，在植物中具有多种功能，如光保护^[7]、提高植物抗病性^[8]等功能。研究发现蒽醌类物质的合成代谢在细菌、真菌、地衣和高等植物中均存在^[9-10]。高等植物中的蒽醌类物质主要分布在蓼科 (Polygonaceae)、豆科 (Leguminosae)、鼠李科 (Rhamnaceae)、茜草科 (Rubiaceae)、黄脂木科 (Xanthorrhoeaceae) 植物中^[11]，而且自然界植物体内的蒽醌不仅以简单的游离形态存在，还有相当一部分是以其衍生物的形式存在。很多蒽醌类代谢产物具有十分重要的药理活性，例如大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素 5 种蒽醌类物质是大黄主要的药效成分，具有抗菌、消炎^[12]、抗癌^[13]等功效。由于蒽醌类物质在医药和生物领域的重要作用，如何高效、快速地获得蒽醌类物质，提高植物蒽醌类物质的合成效率，已成为了生命科学研究热点方向。所以研究植物和微生物体内的蒽醌代谢机制，对蒽醌类物质的高效生产具有十分重要的意义。

研究发现蒽醌类物质的合成十分复杂，合成前体涉及多个代谢途径的产物。目前对蒽醌类成分的生物合成途径尚未完全阐明，但是普遍认为植物体内蒽醌类物质 (图 1) 生物合成主要来源于 2 条代谢途径：莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径 (shikimate/*o*-succinylbenzoic acid route) 和聚酮途径 (polyketide pathway)。莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径主要存在于茜草科植物体内，因此将该途径下产生的蒽醌也称之为茜草型蒽醌。经过该途径生物合成的蒽醌在 C

环中带有 1 个羟基化位点。聚酮途径则主要存在于一些真菌和高等植物的科属中，如豆科、蓼科、鼠李科植物中。该途径可以为生物提供包括蒽醌和萘醌在内的醌类物质，以及包括黄酮类在内的各种苯丙素类物质。通过聚酮途径生成的蒽醌，其 A 环与 C 环往往会表现出一定的羟基化特性，例如在鼠李科和蓼科植物中发现的大黄素与大黄酚就具有这种特性^[14]。目前聚酮途径所涉及的酶系统在微生物体内已经得到了广泛的验证，但在高等植物体内研究较少^[15]。本文对近年来蒽醌类物质的代谢途径研究进行了整理，将蒽醌类化合物生物合成所涉及的途径：莽草酸途径、三羧酸 (TCA) 循环、甲羟戊酸 (mevalonate, MVA)、甲基赤藓醇磷酸 (methyl erythritol phosphate, MEP) 途径、聚酮途径进行了整合梳理，为蒽醌类物质的生物合成代谢研究提供一定的理论基础。

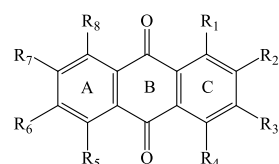


图 1 蒽醌类结构骨架

Fig. 1 Structural skeletons of anthraquinones

1 莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径

莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径合成蒽醌母核的前体来自于多种代谢途径。该合成途径主要涉及莽草酸途径、TCA 循环、MVA 途径和 MEP 途径。

通过该途径合成蒽醌母核的主要步骤：以莽草酸途径形成的异分支酸 (isochorismic acid, IC)、来自于 TCA 循环的 α -酮戊二酸 (α -ketoglutarate, AKG) 和硫胺二磷酸 (thiamine diphosphate, TPP) 为底物，在邻琥珀酰苯甲酸 (*o*-succinyl benzoic acid, OSB) 合成酶作用下与 TPP 生成 OSB，释放出 CO_2 和磷酸烯醇丙酮酸 (phosphoenolpyruvate, PEP)^[16-17]；然后 OSB 辅酶 A 连接酶 (OSB-CoA ligase) 将 OSB 的琥珀酰侧链激活，形成 OSB-CoA (CoA ester of OSB)；OSB-CoA 随后在 DHNA-CoA 合酶与 DHNA-CoA 硫酯酶 (DHNA-CoA thioesterase) 作用

下环化生成 1,4-二羟基-2-苯甲酸 (1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid, DHNA), 作为蒽醌母核的 A、B 环 [18-19]; DHNA 与二甲基烯丙基焦磷酸 (3,3-dimethylallyl diphosphate, DMAPP) 结合环化, 作为蒽醌母核的 C 环 [20], 最终形成蒽醌的母核结构

(图 2)。

莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径形成蒽醌母核的过程中 IC、AKG、DMAPP 为反应的进行提供物质基础, 所以这几种物质的供应对代谢途径的持续进行具有十分重要的作用 [21-23]。

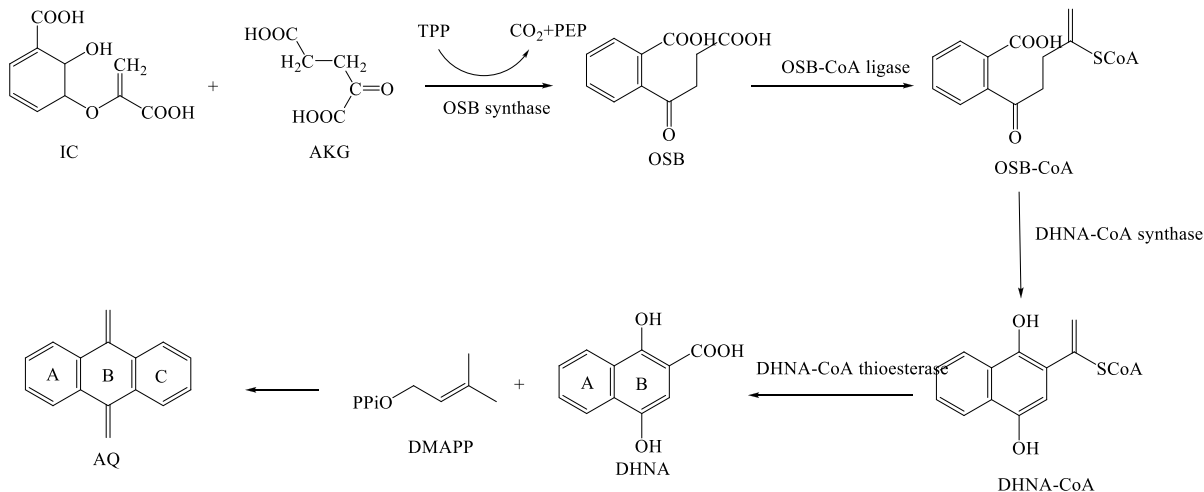


图 2 蒽醌类结构骨架合成步骤

Fig. 2 Structural skeletons of anthraquinones synthesis steps

1.1 莽草酸途径合成 IC

莽草酸途径在细菌、真菌、植物体内均有分布, 为芳香类物质的合成提供了前体物质, 目前在动物体内尚未发现 [24-25]。研究发现微生物可以通过莽草酸途径产生芳香族氨基酸作为蛋白质生物合成的物质基础, 如 *L*-苯丙氨酸 (*L*-Phe)、*L*-酪氨酸 (*L*-Tyr) 和 *L*-色氨酸 (*L*-Trp) 等 [26]; 在植物体内, 这些代谢产物不仅参与蛋白质的合成, 还是多种次生代谢物合成的前体物质 [27], 可以根据植物生长的需要进一步合成多种代谢产物, 这些代谢产物在植物生长和抗逆作用中具有十分重要的作用 [28-29]。其中 IC 就是通过该途径, 经由多个连续的酶促反应生成的 [30]。

莽草酸途径生成 IC 的主要反应步骤来自于糖酵解途径的 PEP 和来自磷酸戊糖途径的 *D*-赤藓糖-4-磷酸 (*D*-erythrose-4-phosphate, E₄P) 在 DAHP 合酶 (DAHP synthase) 的催化下羟醛缩合生成 3-脱氢-*D*-阿拉伯糖庚酮糖-7-磷酸 (3-deoxy-*D*-arabino-hexulose-7-phosphate, DAHP); DAHP 在 3-脱氢奎尼酸合成酶 (3-dehydroquinate synthase, DHQS) 作用下去磷酸、环化生成 3-脱氢奎尼酸 (3-dehydroquinate, DHQ), 此步骤为 TCA 循环的限速步骤。DHQ 可以进一步生成奎尼酸 (quinic acid), 或者在 3-脱氢奎尼酸脱水酶 (DHQ dehydratase) 的作用下脱水, 并生成 3-脱氢莽草酸 (3-

dehydroshikimic acid, DHS); 生成的 DHS 可以作为莽草酸途径的分支点从而进一步生成原儿茶素 (protocatechuic acid) 和没食子酸 (gallic acid); 或者 DHS 在莽草酸脱氢酶 (shikimate dehydrogenase, SDH) 作用下与还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 发生还原反应, 生成莽草酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADP⁺); 莽草酸在莽草酸激酶 (shikimate kinase enzyme, SK) 作用下消耗三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 生成莽草酸 3-磷酸 (shikimic acid 3-phosphate, S₃P); S₃P 与 PEP 在 5-烯醇丙酮莽草酸 3-磷酸合成酶 (5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase, EPSPS) 催化下缩合, 产生 5-烯醇丙酮莽草酸 3-磷酸 (5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate, EPSP); EPSP 在分支酸合酶 (chorismate synthase, CS) 作用下, 去磷酸形成分支酸 (chorismic acid, CHA); CHA 在 IC 合成酶 (isochorismate synthase, ICS) 作用下生成 IC [31-32], 为蒽醌的生物合成提供基础物质, 见图 3。

植物细胞在进行正常代谢时, 需要在初级代谢与次级代谢之间进行合理分配。由于次级代谢反应往往是从初级代谢反应中获取前体物质, 所以当植物初级代谢反应与次级代谢反应同时进行时, 就需要合理调控二者之间的关系, 以达到生产所需要的

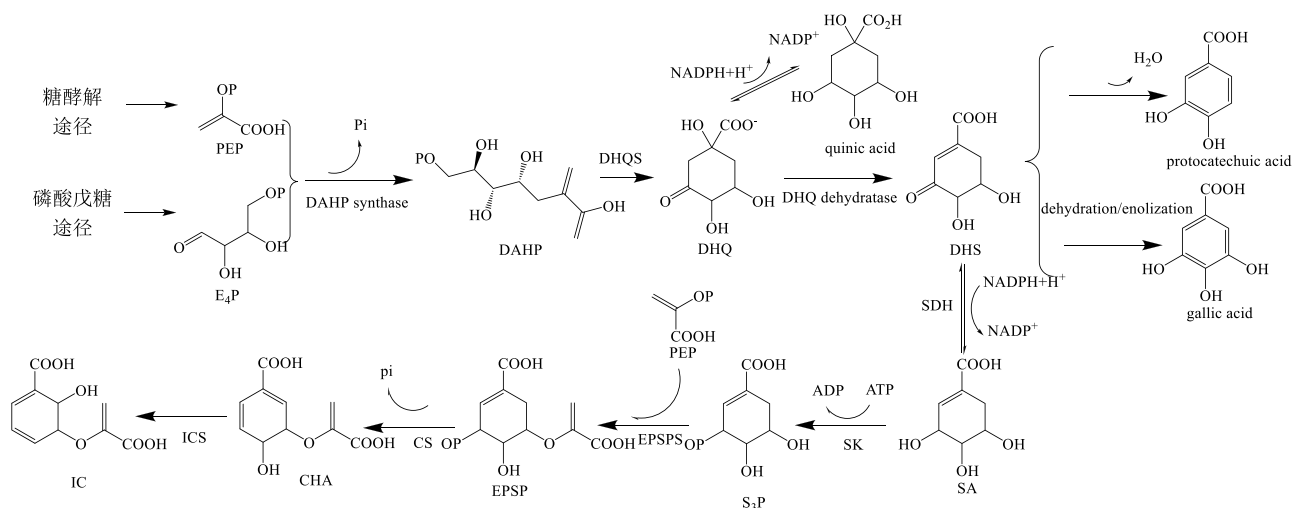


图 3 莽草酸代谢途径

Fig. 3 Metabolism pathway of shikimic acid pathway

目的。初级代谢与次级代谢之间的分支点往往是控制前体物质分配的关键位点。IC 是莽草酸途径的产物，不仅是多种次级代谢途径的起始物质，也是萜醌代谢合成中的重要底物^[33-34]。ICS 是催化 CHA 生成 IC 进入萜醌形成途径的关键酶，在萜醌合成调控中发挥重要作用。文献报道在巴戟天细胞培养液中萜醌的产生总是伴随着 ICS 活性的增加而增加，即使在分支酸浓度较低，不足以维持正常生长的极端条件下，萜醌积累速率与 ICS 活性之间仍然存在相关性^[21]。

1.2 TCA 途径生成 AKG

TCA 循环在动植物、微生物细胞中普遍存在。TCA 循环以乙酰辅酶 A (acetyl-CoA) 与草酰乙酸 (oxaloacetate acid, OAA) 缩合生成柠檬酸 (citrate acid, CA) 为起始，途径多个酶促反应，最后又生成 OAA。在连续的酶促反应中会生成多种中间产物，萜醌生物合成的原料物质 AKG 则来自于这一代谢途径。

TCA 循环以 OAA 为起始经过多步酶促反应生成 AKG，主要反应步骤如下：乙酰辅酶 A 与四碳的 OAA 发生缩合反应，生成 CA。此步反应由 CA 合酶 (citrate synthase, CS) 催化，该酶具有高度的底物特异性，仅催化乙酰辅酶 A 与 OAA 缩合生成 CA。此反应不可逆，ATP 是 CS 的变构抑制剂。CA 在乌头酸酶 (aconitase, CAN) 的催化作用下经过 2 步连续反应，生成异柠檬酸 (isocitrate acid, ICA)，催化反应的 CAN 主要分布于胞浆和线粒体之中，此步反应是可逆的，高浓度的 CA 可以促使反应向

生成 ICA 的方向移动。ICA 在 ICA 脱氢酶 (isocitrate dehydrogenase, IDH) 作用下，经中间体草酰琥珀酸 (oxalosuccinate acid) 氧化脱羧生成 AKG。此步反应不可逆，是整个 TCA 循环中的限速步骤。ADP 是 IDH 的激活剂，而 ATP、NADH 是该酶的抑制剂，而且 IDH 需要在 Mg²⁺ 或 Mn²⁺ 离子的辅助下才可以发挥活性。生成的 AKG 之后会作为萜醌母核结构的合成底物参与反应；或者在 AKG 脱氢酶复合体 (α -ketoglutarate dehydrogenase complex, α -KGDH) 的催化作用下，与辅酶 A 化合，生成琥珀酰辅酶 A (succinyl-CoA)，再经过之后的多步反应，重新生成 OAA (图 4)。

AKG 是莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径合成萜醌的重要物质基础，提高 AKG 的含量可以促进萜醌类物质的生物合成。Zenk 等^[22]通过对巴戟天细胞培养发现，提高培养液中 AKG 的浓度，可以明显促进萜醌类物质生物合成，证实了 AKG 在萜醌生物合成中的重要作用。TCA 途径中实现 AKG 的积累需要满足 2 个条件：一是提高乙酰辅酶 A 的含量，使其进入 TCA 循环，促进 AKG 的积累；二是阻止 α -KGDH 催化 AKG 进入之后的代谢途径^[35-36]，从而为萜醌合成提供充足的前体物质，促进萜醌代谢合成。 α -KGDH 抑制剂主要有过氧化氢 (H₂O₂)、羟基硫胺 (oxythiamine) 和次氯酸钠 (NaClO) 等。过氧化氢会在细胞内形成氧胁迫，从而抑制线粒体中 α -KGDH 的活性^[37]。次氯酸钠会与细胞内的氨基反应生成氯胺而降低 α -KGDH 活性^[38]。羟基硫胺则是作为硫胺素的结构类似物，与硫胺素形成竞争性

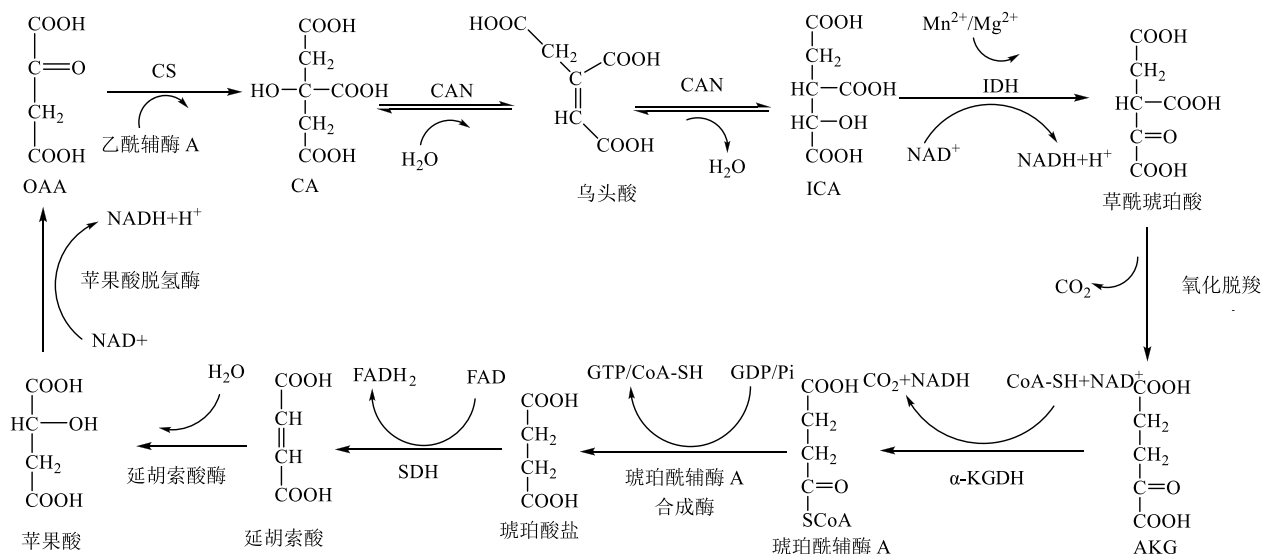


图 4 三羧酸循环合成 AKG

Fig. 4 AKG cycle synthesis by tricarboxylic acid

抑制从而降低 α -KGDH 活性^[39]。

1.3 异戊烯焦磷酸 (IPP) 和 DMAPP 的生物合成

IPP 和 DMAPP 是合成萜醌类化合物的重要前体物质。目前广泛认为生物体内 IPP 与 DMAPP 合成主要有 2 种途径,即 MVA 途径和 MEP 途径^[40-41],因此对这 2 条代谢途径分别进行论述。

1.3.1 MVA 途径 MVA 途径长期以来都被认为是萜类化合物生物合成的唯一途径^[42],于 1958 年首先在动物和酵母中发现,该途径主要在细胞质中进行。在 MVA 途径中,首先由 2 分子乙酰辅酶 A (丙酮酸脱羧的产物) 在乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶 (acetoacetyl-CoA thiolase) 催化下发生缩合生成乙酰乙酰辅酶 A (acetoacetyl-CoA)^[43]; 乙酰乙酰辅酶 A 与乙酰辅酶 A 在 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 合成酶 (HMG-CoA synthase) 作用下进一步缩合生成 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG-CoA)^[44]; HMG-CoA 在 HMG-CoA 还原酶 (HMG-CoA reductase) 作用下被 NADPH 还原为 MVA^[45]; MVA 在甲羟戊酸激酶 (mevalonic acid kinase, MVK) 催化下消耗 1 分子 ATP 生成 5-磷酸甲羟戊酸 (mevalonate-5-phosphate, MVA-P),再由磷酸甲羟戊酸激酶 (phosphomevalonate kinase, PMK) 催化消耗 1 分子 ATP 生成 5-焦磷酸甲羟戊酸 (mevalonate-5-diphosphate, MVADP)^[46-48]; MVADP 由 5-焦磷酸甲羟戊酸脱氢酶 (mevalonate diphosphate decarboxylase, MDD) 催化生成成为异戊二烯焦磷酸 (isopentenyl diphosphate, IPP); IPP

并不能直接和 NHNA 环化形成萜醌母核结构,需在异戊二烯焦磷酸异构酶 (isopentenyl diphosphate isomerase, IDI) 催化下生成 DMAPP,之后再与 DHNA 发生环化反应^[49],见图 5。

研究发现 MVK、HMG-CoA 还原酶是调控 MVA 的关键酶^[50-51],Anthony 等^[52]发现升高 MVK 的表达量可以提高异戊二烯类物质的含量。Narita 等^[51]发现抑制 HMG-CoA 还原酶活性后,会明显地抑制番茄果实的正常生长,但是当加入 MVA 后,植株又恢复正常生长,进一步说明 HMG-CoA 在 MVA 途径中的重要作用。

1.3.2 MEP 途径 IPP 与 DMAPP 除了通过 MVA 途径合成以外,还可以通过 MEP 途径合成。自 1993 年发现 MEP 途径以来,对该途径的研究已经取得了显著的进展。MEP 途径由多个连续的酶促反应以 D-甘油醛-3-磷酸和丙酮酸为底物,催化合成 IPP 和 DMAPP^[53]。

MEP 途径首先由 D-甘油醛-3-磷酸和丙酮酸在脱氧木酮糖磷酸合成酶 (1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, DXS) 作用下发生缩合反应,产生 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸 (1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate, DXP)^[54]; DXP 经 DXP 还原异构酶 (DXP reducto-isomerase, DXR) 还原异构化为 MEP,期间消耗 NADPH 产生 NADP⁺^[55]; MEP 和三磷酸胞苷 (cytidine 5'-triphosphate, CTP) 由 CDP-ME 合成酶 (CDP-ME synthetase) 催化,产生甲基赤藓糖醇胞苷二磷酸 (methylerythritol cytidyl diphosphate,

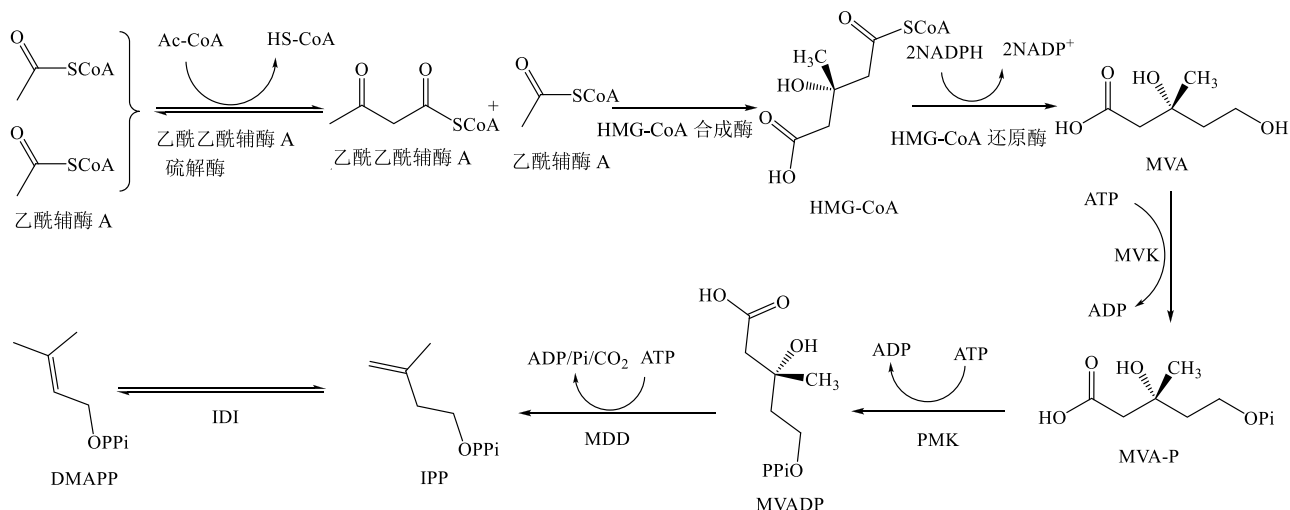


图 5 MVA 代谢途径

Fig. 5 Metabolism pathway of mevalonate

CDP-ME); CDP-ME 在 CDP-ME 激酶 (CDP-ME kinase) 催化下形成 4-二磷酸胞苷-2-*C*-甲基-*D*-赤藓糖醇-2-磷酸酯 (4-diphosphocytidyl-2-*C*-methyl-*D*-erythritol-2-phosphate, CDP-MEP); CDP-MEP 在 2-*C*-甲基-*D*-赤藓糖醇-2,4-环二磷酸合成酶 (MEcPP synthase) 催化下环化生成 2-*C*-甲基-*D*-赤藓糖醇-2,4-环二磷酸 (2-*C*-methyl-*D*-erythritol-2,4-cyclodiphosphate, MEcPP) [56-57]; MEcPP 在 MEcPP 还原酶作用下开环、脱水生成 4-羟基-3-甲基-丁烯基二磷酸 (4-hydroxy-3-methyl-butenyl-1-diphosphate, HMBPP) [58]; MEP 途径的最后一步由 HMBPP 还原酶 (HMBPP

reductase) 催化, 并将 HMBPP 转化为 IPP 和 DMAPP, 此步骤中即生成 IPP 也生成 DMAPP, 见图 6。所以与 MVA 途径不同, 并不需要 ID 来催化 DMAPP[59-60]。

有学者认为, 可以通过调控 MEP 途径来影响蒽醌的生物合成[23]。DXS 催化丙酮酸和甘油醛发生缩合反应生成 DXP, 此步骤是 MEP 途径的起始步骤, 具有十分重要的作用。Estevez 等[61]在拟南芥植株中控制 DXS 基因过表达, 发现相应的转基因植物中多种类异戊二烯终产物 (包括叶绿素、类胡萝卜素、生育酚和 ABA) 的含量均升高, 说明 DXS

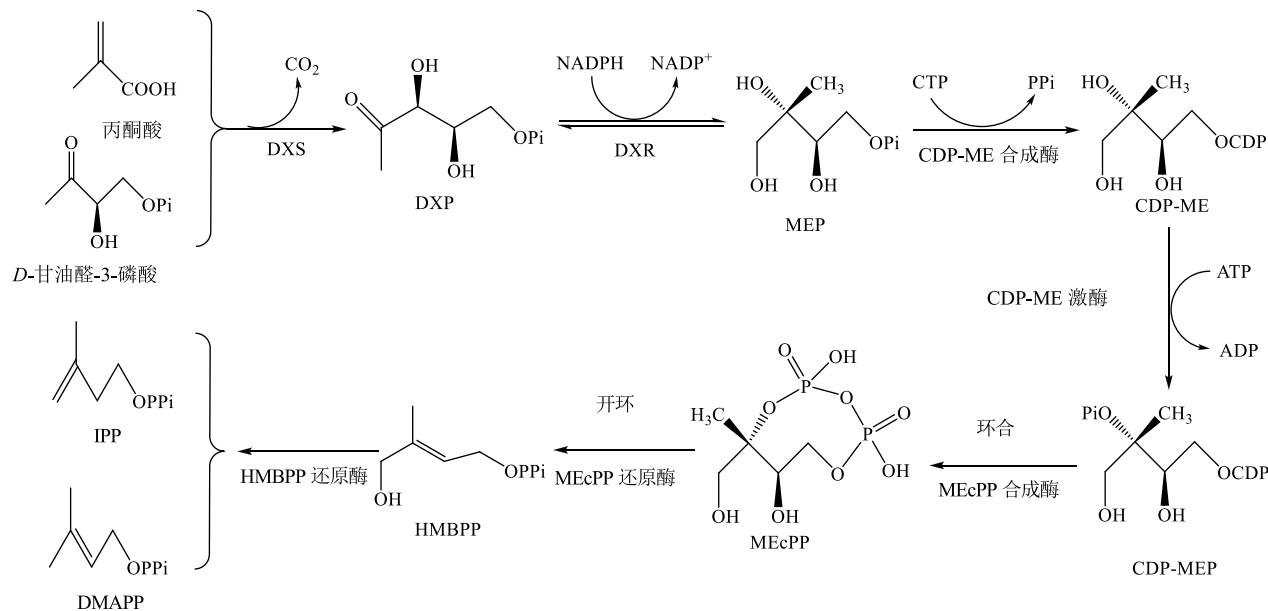


图 6 MEP 途径

Fig. 6 Methyl erythritol phosphate pathway

是 MEP 途径中关键的限速酶,具有调控 MEP 途径的重要作用。Quevedo 等^[62]通过培育过表达 DXS 基因的 *Morinda citrifolia* 细胞系,发现与对照细胞系相比,过表达 DXS 基因的细胞系蒽醌产量提高了约 24%,说明 DXS 对蒽醌的生物合成具有十分显著的影响。有实验表明在 MEP 途径中除了 DXS 外,DXR 和 HMBPP 还原酶在 IPP 和 DMAPP 合成中也具有限速作用。但是对这 2 种酶的调控研究还较少,需要通过进一步的研究来确定这 2 种酶对整

个 MEP 途径的影响能力和控制条件^[63]。所以目前 DXS 仍然是调控 MEP 途径最有效的位点。

2 聚酮途径 (polyketide pathway)

聚酮途径在植物体内扮演着十分重要的角色,同时也是植物合成蒽醌类物质的重要途径。但是聚酮途径合成蒽醌类物质的过程十分复杂,目前研究还未完全阐明反应的全部过程。目前得到广泛认可的聚酮途径合成蒽醌类物质的过程见图 7。首先乙酰辅酶 A 或丙二酰辅酶 A 为底物在聚酮合成酶 III (PKS

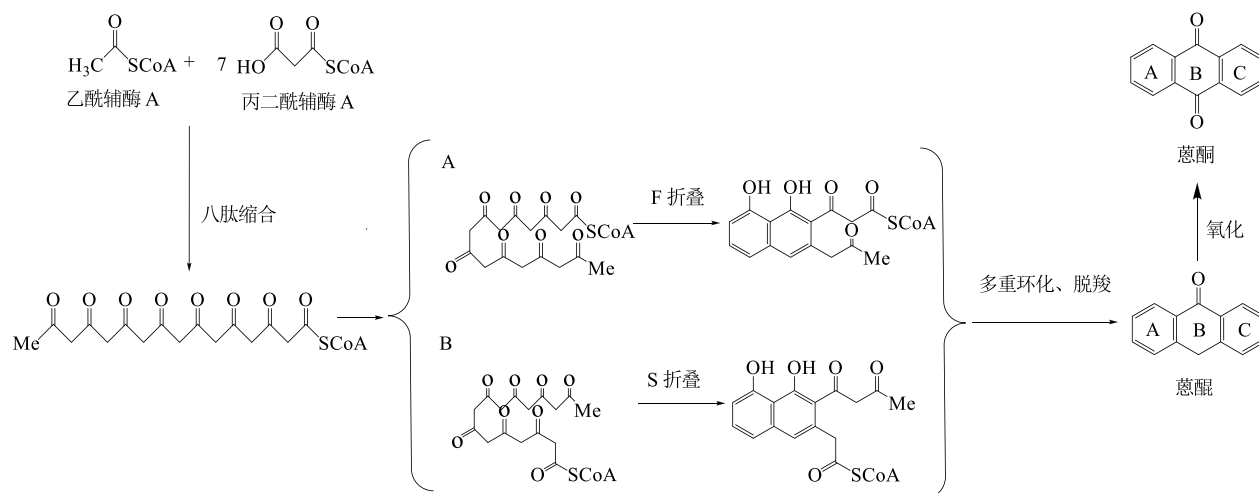


图 7 聚酮途径合成蒽醌

Fig. 7 Synthesis of structural skeletons of anthraquinones via polyketone pathway

III)作用下进行一系列的缩合反应并不断延长 C 链,最后形成聚酮链。研究人员推测生成的聚酮长链可能会经过 S 或 F 折叠和多重环化脱羧合生成蒽醌类物质的结构骨架。生成的蒽醌类物质结构骨架再进一步氧化最终形成蒽醌类物质的结构骨架结构^[64-68]。

2.1 PKS

2.1.1 PKS 的分类 聚酮途径是由 PKS 参与反应。PKS 分为 3 大类^[69]: PKS I、PKS II 和 PKS III。PKS I 是 1 类由多个结构域组成的巨型酶,多存在于真菌中,在细菌中也有广泛分布^[70-71],主要负责大环内酯与相关聚烯类物质的生物合成^[72],所有的酮基还原中间体均可以在 PKS I 中找到相关催化基团。PKS II 是由多个单功能酶组成的多酶复合体。PKS II 会与底物通过多次反应形成聚酮结构,然后经过酶促反应使生成的聚酮结构环化,从而形成多环芳族化合物。目前,在多种细菌属中均发现了 PKS II,以及其相应的代谢产物^[73]。PKS III 也称为查耳酮合成酶家族 (CHSs),不仅在细菌、真菌中广泛分布,而且在植物体内也大量存在。PKS III 在生物

体内主要参与具有生物活性的聚酮类次级代谢产物的合成,例如黄酮类物质、二苯乙烯类物质的生物合成^[74-76]。与 PKS I、PKS II 利用酰基载体蛋白,在多个活性位点催化反应不同,PKS III 仅在单个活性位点进行一系列脱羧,缩合和环化,最终生成目标产物^[77-78]。近年来随着研究的深入,多种植物型 PKS III 被陆续发现:如 CHS^[79]、二苯乙烯合酶^[80] (stilbene synthase, STS)、吡啶酮合酶^[81] (acridone synthase, ACS)、2-吡喃酮合酶^[82] (2-pyrone synthase, 2PS)、聚八酮合酶 (ctaketide synthase, OKS)^[83]等。

2.1.2 PKS III 酶的活性表达 PKS III 在酶促反应中的活性表达可以分为 2 个步骤:首先是在 PKS III 作用下催化底物经过多次缩合,生成线性聚酮化合物中间体;之后产生的聚酮化合物中间体通过分子内环化生成最终代谢产物^[84]。

PKS III 活性表达的第 1 步反应中,PKS III 的起始底物通常是酰基辅酶 A,既可以是链形酰基辅酶 A (如丙二酰基辅酶 A 和乙酰乙酰基辅酶 A),

也可以是环型酰基辅酶 A (如香豆酰-辅酶 A、苯甲酰-辅酶 A 及其衍生物)。目前已知的 PKS III 酶均可以使用丙二酰辅酶 A 作为缩合底物进行反应,除此之外部分 PKS III 酶还可以将其他物质作为缩合底物使用。如甲基丙二酰基辅酶 A、乙基丙二酰基辅酶 A、乙酰乙酰基-辅酶 A 等^[85]。PKS III 活性表达的第 2 步反应中,可以将 PKS III 催化聚酮化合物中间体环化的过程分为 4 种类型,即克莱森环化 (claisen cyclization)、醛醇环化 (aldol cyclization)、内酯化 (lactonization)、多重环化 (multiple cyclization)。

其中克莱森环化是指在 2 个脂或者 1 个脂 1 个羰基,在碱性条件下缩合成环的反应,如在苯异戊二酮合酶 (phlorisovalerophenone synthase, VPSs) 催化下异戊基辅酶 A 和异丁基辅酶 A 环化生成 phlorisovalerophenone 的反应^[86];醛醇环化是指具有 α 氢原子的醛基或酮基在一定条件下与羰基发生环化的反应,如 olivetol 合成酶 (OLS) 以己酰基-辅酶 A 为起始底物产生四酮中间体,并进一步将其转化为 olivetol 的反应过程^[87]。内酯化是指同一化合物的羟基和羧基发生分子内缩合环化得到最终产物的反应,如 CPKS5 催化下丁基-辅酶 A 与 2 个丙酰-辅酶 A 单元发生缩合反应,并进一步生成吡咯酮类产物^[88]。多重环化则是指反应底物通过多种成环方式,最终生成多环化合物的反应,如 octaketide 合酶 (OKSs) 催化 7 分子丙二酰辅酶 A 与乙酰辅酶 A 缩合,形成聚酮链,然后经过多重环化最终合成目标产物的过程就属于多重环化^[89]。

2.2 PKS III 酶的生理功能

近年来随着研究的深入发现 PKS III 酶在生物体内分布广泛,如在掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.^[90]、虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.^[91]、何首乌 *Fallopia multiflora* (Thunb.) Harald.^[92]、荞麦 *Fagopyrum esculentum* Moench.^[93] 中均发现了 CHSs, CHSs 还可以和查耳酮异构酶 (chalcone isomerase)、黄酮醇合酶 (flavonol synthase)、异黄酮合成酶 (isoflavone synthase)、聚酮还原酶 (polyketide reductase) 等多种酶共同参与植物体内多种化学物质的生物合成^[94]。不仅如此,PKS III 酶家族催化生成的聚酮化合物及其衍生物在植物体内也具有十分重要的作用,比如防止紫外线造成损伤、抵抗病原生物侵染食等功能^[95]。

部分生物中 CHSs 基因的表达通过光受体介导

机制调控,如 *Xanthoria parietina* L. 是一种分布广泛的地衣生物,有学者研究发现外界紫外线照射的强度变化会显著影响 CHSs 基因的表达,从而影响其蒽醌类物质的合成^[96]。Mariz-Ponte 等^[97]研究发现适当的紫外照射会促使番茄植株 CHS 和 FLS 等基因表达的上调,进而促进黄酮类、苯丙素类等芳香族化合物的积累。Feinbaum 等^[98]发现南芥中 CHSs 基因的表达受紫外照射的调控,适当增强紫外照射会显著增加 CHSs 的活性。

植物抗毒素作为植物抵抗微生物侵害的重要物质,在植物遭受病原体侵袭后,其含量在植物体内会显著增加。例大豆 *Glycine max* L. 在被核盘菌感染后,异黄酮、染料木黄酮和黄豆黄素含量会显著增加;高粱 *Sorghum bicolor* L. 接种炭疽杆菌后其木犀草素的含量会显著上升;这些黄酮类、异黄酮类植物抗毒素的合成与 PKS III 酶家族密切相关^[99-100]。有研究发现高浓度的蒽醌类物质含量可以有效降低致病菌的存活率。Martínez-Romero 等^[7]对不同处理的芦荟 *Aloe vera* L. 叶片接种真菌,结果发现紫外光照射后的芦荟叶片对真菌侵染具有更强的抵抗能力,这是由于长时间的紫外光照射使芦荟叶片中芦荟素含量升高所导致;还有研究发现大黄根茎富含蒽醌、酚酸类物质的提取液可以有效提高植物抗霜霉病菌侵染的能力^[8]。

3 结语与展望

蒽醌类物质在生物体内的合成过程十分复杂,整个过程涉及多条代谢途径的多种代谢产物。本文综述了蒽醌类物质合成的 2 条主要代谢途径,即莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径和聚酮途径。莽草酸/邻琥珀酰苯甲酸途径主要存在于茜草科植物中,该途径合成步骤涉及莽草酸途径、TCA 循环、MVA 途径和 MEP 途径。聚酮途径则主要存在于一些真菌和高等植物的科属中,如豆科、廖科、鼠李科植物,但是由于聚通途径在植物体内表达的复杂性,目前对聚酮途径合成蒽醌类化合物的具体过程还不明确,需要继续深入的研究。由于蒽醌类物质特殊的药理与生理活性,富含蒽醌类物质的生物在制药与化工领域被广泛使用。而且随着科学技术的发展,市场对蒽醌类物质的需求也在逐日递增,如何提高蒽醌类物质的生物合成效率是亟待解决的科学问题。但是目前针对生物体内蒽醌类物质合成与调控的研究还十分欠缺。尤其是对蒽醌类物质生物合成网络的构建,以及生物合成过程中关键酶及其基因

的分离、克隆和表达特征的研究还十分欠缺。之后的研究应以明确蒽醌类物质生物合成途径中调控因子为切入点, 以实现蒽醌类物质高效生产为目的, 为蒽醌类物质的开发和利用提供理论依据与科学指导。

参考文献

- [1] Verpoorte R, Memelink J. Engineering secondary metabolite production in plants [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2002, 13(2): 181-187.
- [2] Bains G, Kumar A S, Rudrappa T, *et al.* Native plant and microbial contributions to a negative plant-plant interaction [J]. *Plant Physiol*, 2009, 151(4): 2145-2151.
- [3] Gatehouse J A. Plant resistance towards insect herbivores: A dynamic interaction [J]. *New phytol*, 2002, 156(2): 145-169.
- [4] Harborne J B. Twenty-five years of chemical ecology [J]. *Nat Prod Rep*, 2001, 18(4): 361-379.
- [5] Bennett R N, Wallsgrove R M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms [J]. *New Phytol*, 1994, 127(4): 617-633.
- [6] Bartwal A, Mall R, Lohani P, *et al.* Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses [J]. *J Plant Growth Regul*, 2013, 32(1): 216-232.
- [7] Martínez-Romero D, Guillén F, Pérez-Aguilar H, *et al.* Is it possible to increase the aloin content of *Aloe vera* by the use of ultraviolet light? [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(9): 2165-2170.
- [8] Godard S, Slacanin I, Viret O, *et al.* Induction of defence mechanisms in grapevine leaves by emodin-and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(9): 827-837.
- [9] Dave H, Ledwani L. A review on anthraquinones isolated from *Cassia* species and their applications [J]. *Indian J Nat Prod Res*, 2012, 3(3): 291-319.
- [10] Ghimire G P, Koirala N, Pandey R P, *et al.* Modification of emodin and aloe-emodin by glycosylation in engineered *Escherichia coli* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2015, 31(4): 611-619.
- [11] Pandith S A, Dar R A, Lattoo S K, *et al.* Rheum australe, an endangered high-value medicinal herb of north western Himalayas: A review of its botany, ethnomedical uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *Phytochem Rev*, 2018, 17(3): 573-609.
- [12] Moon M K, Kang D G, Lee J K, *et al.* Vasodilatory and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of rhubarb via a NO-cGMP pathway [J]. *Life Sci*, 2006, 78(14): 1550-1557.
- [13] Huang Q, Lu G, Shen H M, *et al.* Anti-cancer properties of anthraquinones from rhubarb [J]. *Med Res Rev*, 2007, 27(5): 609-630.
- [14] Leistner E. A second pathway leading to anthraquinones in higher plants [J]. *Phytochemistry*, 1971, 10(12): 3015-3020.
- [15] Rohmer M. The discovery of a mevalonate-independent pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria, algae and higher plants [J]. *Nat Prod Rep*, 1999, 16(5): 565-574.
- [16] Lu X, Zhou R, Sharma I, *et al.* Stable analogues of OSB-AMP: Potent inhibitors of MenE, the *o*-succinylbenzoate-CoA synthetase from bacterial menaquinone biosynthesis [J]. *Chem Bio Chem*, 2012, 13(1): 129-136.
- [17] Heide L, Kolkman R, Arendt S, *et al.* Enzymic synthesis of *o*-succinylbenzoyl-CoA in cell-free extracts of anthraquinone producing *Galium mollugo* L. cell suspension cultures [J]. *Plant Cell Rep*, 1982, 1(4): 180-182.
- [18] Sieweke H J, Leistner E. *o*-Succinylbenzoate: Coenzyme A ligase from anthraquinone producing cell suspension cultures of *Galium mollugo* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(7): 2329-2335.
- [19] 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 Physiol*, 2012, 160(3): 1267-1280.
- [20] Widhalm J R, Rhodes D. Biosynthesis and molecular actions of specialized 1,4-naphthoquinone natural products produced by horticultural plants [J]. *Horticulture research*, 2016, 3(1): 1-17.
- [21] Stalman M, Koskamp A M, Luderer R, *et al.* Regulation of anthraquinone biosynthesis in cell cultures of *Morinda citrifolia* [J]. *J Plant Physiol*, 2003, 160(6): 607-614.
- [22] Zenk M H, El-Shagi H, Schulte U. Anthraquinone production by cell suspension cultures of *Morinda citrifolia* [J]. *Plant Med*, 1975(Suppl 1): 79-101.
- [23] Han Y S, Roytrakul S, Verberne M C, *et al.* Cloning of a cDNA encoding 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase from *Morinda citrifolia* and analysis of its expression in relation to anthraquinone accumulation [J]. *Plant Sci*, 164(6): 911-917.
- [24] Dewick P M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* [M]. New Jersey: Wiley, 1997.
- [25] Macheroux P, Schmid J, Amrhein N, *et al.* A unique reaction in a common pathway: Mechanism and function

- of chorismate synthase in the shikimate pathway [J]. *Planta*, 1999, 207(3): 325-334.
- [26] Weaver L M, Herrmann K M. Dynamics of the shikimate pathway in plants [J]. *Trend Plant Sci*, 1997, 2(9): 346-351.
- [27] Tzin V, Galili G. New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants [J]. *Mol Plant*, 2010, 3(6): 956-972.
- [28] Izhaki I. Emodin-a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants [J]. *New Phytol*, 2002, 155(2): 205-217.
- [29] Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human [J]. *J Med Plant Res*, 2011, 5(31): 6697-6703.
- [30] Santos-Sánchez N F, Salas-Coronado R, Hernández-Carlos B, *et al.* Shikimic acid pathway in biosynthesis of phenolic compounds [A] // *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds* [M/OL]. [2019-01-31]. <https://www.intechopen.com/books/plant-physiological-aspects-of-phenolic-compounds/shikimic-acid-pathway-in-biosynthesis-of-phenolic-compounds>.
- [31] Dempsey D M A, Vlot A C, Wildermuth M C, *et al.* Salicylic acid biosynthesis and metabolism [J]. *Arabidopsis Book*, 2011, doi: 10.1199/tab.0156.
- [32] Wildermuth M C, Dewdney J, Wu G, *et al.* Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence [J]. *Nature*, 2001, doi: 10.1038/35107108.
- [33] Haslam E. Aspects of the enzymology of the shikimate pathway [J]. *Chem Inform*, 1997, doi: org/10.1002/chin.199712322.
- [34] Jensen R A. The shikimate/arogenate pathway: Link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism [J]. *Physiol Plantarum*, 1986, 66(1): 164-168.
- [35] Liu L, Li Y, Zhu Y, *et al.* Redistribution of carbon flux in *Torulopsis glabrata* by altering vitamin and calcium level [J]. *Metab Eng*, 2007, 9(1): 21-29.
- [36] Zhang D, Liang N, Shi Z, *et al.* Enhancement of α -ketoglutarate production in *Torulopsis glabrata*: Redistribution of carbon flux from pyruvate to α -ketoglutarate [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2009, 14(2): 134-139.
- [37] Tretter L, Adam-Vizi V. Inhibition of krebs cycle enzymes by hydrogen peroxide: A key role of α -ketoglutarate dehydrogenase in limiting NADH production under oxidative stress [J]. *J Neurosci*, 20(24): 8972-8979.
- [38] Jeitner T M, Xu H, Gibson G E. Inhibition of the α -ketoglutarate dehydrogenase complex by the myeloperoxidase products, hypochlorous acid and mono-*N*-chloramine [J]. *J Neurochem*, 2005, 92(2): 302-310.
- [39] Strumilo S, Czygier M, Markiewicz J. Different extent of inhibition of pyruvate dehydrogenase and 2-oxoglutarate dehydrogenase both containing endogenous thiamine pyrophosphate, by some anticonzyme analogues [J]. *J Enzyme Inhib*, 1995, 10(1): 65-72.
- [40] Zebec Z, Wilkes J, Jervis A J, *et al.* Towards synthesis of monoterpenes and derivatives using synthetic biology [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2016, doi: 10.1016/j.cbpa.2016.06.002.
- [41] Lv X, Wang F, Zhou P, *et al.* Dual regulation of cytoplasmic and mitochondrial acetyl-CoA utilization for improved isoprene production in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Nat Commun*, 2016, 7(1): 1-12.
- [42] Bach T J. Some new aspects of isoprenoid biosynthesis in plants—A review [J]. *Lipids*, 1995, 30(3): 191-202.
- [43] Lynen F, Wessely L, Wieland O, *et al.* Zur β -oxydation der fettsäuren [J]. *Angew Chem*, 1952, 64(24): 687.
- [44] Ferguson J J, Rudney H. The biosynthesis of β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A in yeast I. Identification and purification of the hydroxymethylglutaryl coenzyme-condensing enzyme [J]. *J Biol Chem*, 1959, 234(5): 1072-1075.
- [45] Durr I, Rudney H. The reduction of β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A to mevalonic acid [J]. *J Biol Chem*, 1960, 235(9): 2572-2578.
- [46] Tchen T. Mevalonic kinase: Purification and properties [J]. *J Biol Chem*, 1958, 233(5): 1100-1103.
- [47] Durbecq V, Sainz G, Oudjama Y, *et al.* Crystal structure of isopentenyl diphosphate: Dimethylallyl diphosphate isomerase [J]. *EMBO J*, 2001, 20(7): 1530-1537.
- [48] Bazaes S, Beytía E, Jabalquinto A M, *et al.* Pig liver phosphomevalonate kinase. 1. Purification and properties [J]. *Biochemistry*, 1980, 19(11): 2300-2304.
- [49] Bloch K, Chaykin S, Phillips A, *et al.* Mevalonic acid pyrophosphate and isopentenylpyrophosphate [J]. *J Biol Chem*, 1959, 234(10): 2595-2604.
- [50] Anthony J R, Anthony L C, Nowroozi F, *et al.* Optimization of the mevalonate-based isoprenoid biosynthetic pathway in *Escherichia coli* for production of the anti-malarial drug precursor amorpha-4,11-diene [J]. *Metab Eng*, 2009, 11(1): 13-19.
- [51] Narita J O, Gruijssem W. Tomato hydroxymethylglutaryl-CoA reductase is required early in fruit development but not during ripening [J]. *Plant Cell*, 1989, 1(2): 181-190.
- [52] Anthony J R, Anthony L C, Nowroozi F, *et al.* Optimization of the mevalonate-based isoprenoid biosynthetic pathway in *Escherichia coli* for production

- of the anti-malarial drug precursor amorpha-4,11-diene [J]. *Metab Eng*, 2008, 11(1): 13-19.
- [53] Rodríguez-Concepción M, Boronat A. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics [J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(3): 1079-1089.
- [54] Xiang S, Usunow G, Lange G, *et al.* Crystal structure of 1-deoxy-*D*-xylulose 5-phosphate synthase, a crucial enzyme for isoprenoids biosynthesis [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(4): 2676-2682.
- [55] Hoeffler J F, Tritsch D, Grosdemange-Billiard C, *et al.* Isoprenoid biosynthesis via the methylerythritol phosphate pathway: Mechanistic investigations of the 1-deoxy-*D*-xylulose 5-phosphate reductoisomerase [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269(18): 4446-4457.
- [56] Gräwert T, Groll M, Rohdich F, *et al.* Biochemistry of the non-mevalonate isoprenoid pathway [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(23): 3797-3814.
- [57] Mander L, Liu H W. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology* [M]. Amsterdam: Elsevier, 2010.
- [58] Hecht S, Eisenreich W, Adam P, *et al.* Studies on the nonmevalonate pathway to terpenes: The role of the GcpE (IspG) protein [J]. *Proceed Nat Acad Sci*, 2001, 98(26): 14837-14842.
- [59] Wolff M, Seemann M, Bui B T S, *et al.* Isoprenoid biosynthesis via the methylerythritol phosphate pathway: The (*E*)-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase (LytB/IspH) from *Escherichia coli* is a [4Fe-4S] protein [J]. *FEBS Lett*, 2003, 541(1/3): 115-120.
- [60] Rohdich F, Hecht S, Gärtner K, *et al.* Studies on the nonmevalonate terpene biosynthetic pathway: Metabolic role of IspH (LytB) protein [J]. *Proceed Nat Acad Sci*, 2002, 99(3): 1158-1163.
- [61] Estevez J M, Cantero A, Reindl A, *et al.* 1-Deoxy-*D*-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants [J]. *J Biol Chem*, 276(25): 22901-22909.
- [62] Quevedo C, Perassolo M, Alechine E, *et al.* Increasing anthraquinone production by overexpression of 1-deoxy-*D*-xylulose-5-phosphate synthase in transgenic cell suspension cultures of *Morinda citrifolia* [J]. *Biotechnol Lett*, 2010, 32(7): 997-1003.
- [63] Cordoba E, Salmi M, Leon P. Unravelling the regulatory mechanisms that modulate the MEP pathway in higher plants [J]. *J Exper Bot*, 60(10): 2933-2943.
- [64] Abe I, Utsumi Y, Oguro S, *et al.* The first plant type III polyketide synthase that catalyzes formation of aromatic heptaketide [J]. *FEBS Lett*, 2004, 562(1/3): 171-176.
- [65] Kashiwada Y, Nonaka G, Nishioka I. Studies on rhubarb (*Rhei Rhizoma*). V. Isolation and characterization of chromone and chromanone derivatives [J]. *Chem Pharm Bull*, 1984, 32(9): 3493-3500.
- [66] Pillai P P, Nair A R. Hypericin biosynthesis in *Hypericum hookerianum* Wight and Arn: Investigation on biochemical pathways using metabolite inhibitors and suppression subtractive hybridization [J]. *Compt Rend Biol*, 2014, 337(10): 571-580.
- [67] Karppinen K, Hokkanen J, Mattila S, *et al.* Octaketide-producing type III polyketide synthase from *Hypericum perforatum* is expressed in dark glands accumulating hypericins [J]. *FEBS J*, 2008, 275(17): 4329-4342.
- [68] Bringmann G, Noll T F, Gulder T A M, *et al.* Different polyketide folding modes converge to an identical molecular architecture [J]. *Nat Chem Biol*, 2(8): 429-433.
- [69] Staunton J, Weissman K J. Polyketide biosynthesis: A millennium review [J]. *Nat Prod Rep*, 2001, 18(4): 380-416.
- [70] Fujii I, Yoshida N, Shimomaki S, *et al.* An iterative type I polyketide synthase PKS catalyzes synthesis of the decaketide alternanapyrone with regio-specific octamethylation [J]. *Chem Biol*, 2005, 12(12): 1301-1309.
- [71] Ma Y, Smith L H, Cox R J, *et al.* Catalytic relationships between type I and type II iterative polyketide synthases: The *Aspergillus parasiticus* norsolorinic acid synthase [J]. *Chem Biol Chem*, 2006, 7(12): 1951-1958.
- [72] Walsh C T. Polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: Modularity and versatility [J]. *Science*, 2004, 303(5665): 1805-1810.
- [73] Hertweck C, Luzhetskyy A, Rebets Y, *et al.* Type II polyketide synthases: Gaining a deeper insight into enzymatic teamwork [J]. *Nat Prod Rep*, 2007, 24(1): 162-190.
- [74] Austin M B, Noel J P. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases [J]. *Nat Prod Rep*, 2003, 20(1): 79-110.
- [75] Juvvadi P R, Seshime Y, Kitamoto K. Genomics reveals traces of fungal phenylpropanoid-flavonoid metabolic pathway in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* [J]. *J Microbiol*, 2005, 43(6): 475-486.
- [76] Li L, Aslam M, Rabbi F, *et al.* PpORS, an ancient type III polyketide synthase, is required for integrity of leaf cuticle and resistance to dehydration in the moss, *Physcomitrella patens* [J]. *Planta*, 2018, 247(2): 527-541.
- [77] Cane D E, Walsh C T, Khosla C. Harnessing the biosynthetic code: Combinations, permutations, and

- mutations [J]. *Science*, 1998, 282(5386): 63-68.
- [78] Tropf S, Kärcher B, Schröder G, *et al.* Reaction mechanisms of homodimeric plant polyketidesynthases (stilbene and chalcone synthase) [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(14): 7922-7928.
- [79] Jez J M, Austin M B, Ferrer J L, *et al.* Structural control of polyketide formation in plant-specific polyketide synthases [J]. *Chem Biol*, 2000, 7(12): 919-930.
- [80] Chong J, Poutaraud A, Hugueney P. Metabolism and roles of stilbenes in plants [J]. *Plant Sci*, 2009, 177(3): 143-155.
- [81] Lukačín R, Schreiner S, Matern U. Transformation of acridone synthase to chalcone synthase [J]. *FEBS Lett*, 2001, 508(3): 413-417.
- [82] Flores-Sanchez I J, Verpoorte R. Plant polyketide synthases: A fascinating group of enzymes [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(3): 167-174.
- [83] Abe I. Engineered biosynthesis of plant polyketides: Chain length control in novel type III polyketide synthases [J]. *ACS Sym Ser*, 2007, doi: 10.1021/bk-2007-0955.ch008.
- [84] Shimizu Y, Ogata H, Goto S. Type III polyketide synthases: Functional classification and phylogenomics [J]. *Chem Biol Chem*, 2017, 18(1): 50-65.
- [85] Wanibuchi K, Morita H, Noguchi H, *et al.* Enzymatic formation of an aromatic dodecaketide by engineered plant polyketide synthase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(7): 2083-2086.
- [86] Zuurbier K W M, Leser J, Berger T, *et al.* 4-hydroxy-2-pyrone formation by chalcone and stilbene synthase with nonphysiological substrates [J]. *Phytochemistry*, 49(7): 1945-1951.
- [87] Taura F, Tanaka S, Taguchi C, *et al.* Characterization of olivetol synthase, a polyketide synthase putatively involved in cannabinoid biosynthetic pathway [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(12): 2061-2066.
- [88] Hotti H, Seppänen-Laakso T, Arvas M, *et al.* Polyketide synthases from poison hemlock (*Conium maculatum* L.) [J]. *FEBS J*, 2015, 282(21): 4141-4156.
- [89] Mizuuchi Y, Shi S P, Wanibuchi K, *et al.* Novel type III polyketide synthases from *Aloe arborescens* [J]. *FEBS J*, 2009, 276(8): 2391-2401.
- [90] Abe I, Takahashi Y, Morita H, *et al.* Benzalacetone synthase: A novel polyketide synthase that plays a crucial role in the biosynthesis of phenylbutanones in *Rheum palmatum* [J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(11): 3354-3359.
- [91] Ma L Q, Pang X B, Shen H Y, *et al.* A novel type III polyketide synthase encoded by a three-intron gene from *Polygonum cuspidatum* [J]. *Planta*, 2009, doi: 10.1007/s00425-008-0845-7.
- [92] Sheng S J, Liu Z Y, Zhao W, *et al.* Molecular analysis of a type III polyketide synthase gene in *Fallopia multiflora* [J]. *Biologia*, 2010, 65(6): 939-946.
- [93] Li, X, Park N I, Xu H, *et al.* Differential expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of phenolic compounds in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(23): 12176-12181.
- [94] Abe I, Utsumi Y, Oguro S, *et al.* A plant type III polyketide synthase that produces pentaketide chromone [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(5): 1362-1363.
- [95] Harborne J B, Williams C A. Advances in flavonoid research since, 1992 [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(6): 481-504.
- [96] Gauslaa Y, Ustvedt E M. Is parietin a UV-B or a blue-light screening pigment in the lichen *Xanthoria parietina*? [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2003, 2(4): 424-432.
- [97] Mariz-Ponte N, Mendes R, Sario S, *et al.* Tomato plants use non-enzymatic antioxidant pathways to cope with moderate UV-A/B irradiation: A contribution to the use of UV-A/B in horticulture [J]. *J Plant Physiol*, 2018, doi: 10.1016/j.jplph.2017.11.013.
- [98] Feinbaum R, Ausubel F. Transcriptional regulation of the *Arabidopsis thaliana* chalcone synthase gene [J]. *Mol Cell Biol*, 1988, 8(5): 1985-1992.
- [99] Wegulo S N, Yang X B, Martinson C A, *et al.* Effects of wounding and inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum* on isoflavone concentrations in soybean [J]. *Canad J Plant Sci*, 2005, 85(4): 749-760.
- [100] Du Y, Chu H, Wang M, *et al.* Identification of flavone phytoalexins and a pathogen-inducible flavone synthase II gene (SbFNSII) in sorghum [J]. *J Exper Bot*, 2009, 61(4): 983-994.