

天麻素生物合成的研究进展

徐德宏^{1,2}, 崔培梧^{1,2}, 罗怀浩¹, 罗月芳¹, 江灵敏¹, 谭朝阳^{1,2}

1. 湖南中医药大学药学院 生物工程实验室, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学生物转化实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: 天麻素是我国名贵中药材天麻中的一种主要活性成分, 具有降血压、抗癫痫、抑制肿瘤、保护神经等多方面的药理活性。随着市场对天麻素需求的不断增长以及传统获取方法固有的问题, 导致急需新的方法来解决天麻素生产实际中面临的各项困难。生物合成法是一种有别于传统获取法的新方法, 已在天麻素获取上取得了较大进展和成果, 故现阶段有必要从天麻素生物合成途径、植物转化法和微生物转化法 3 个方面, 对天麻素生物合成进行系统地阐述, 从而为进一步改进和完善天麻素生产方法, 以满足人们对其不断增长的需求提供有价值的参考。

关键词: 天麻素; 生物合成; 植物转化; 微生物转化; 野生菌转化法; 工程菌转化法

中图分类号: R284.3 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)22-5877-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.027

Research progress on biosynthesis of gastrodin

XU De-hong^{1,2}, CUI Pei-wu^{1,2}, LUO Huai-hao¹, LUO Yue-fang¹, JIANG Ling-min¹, TAN Chao-yang^{1,2}

1. Laboratory of Biological Engineering, College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Laboratory of Biotransformation, College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Gastrodin is a major active ingredient in *Gastrodia elata*, which is one of the traditional rare medicinal herbs in China. It has lots of pharmacological activities, such as reducing blood pressure, anti-epileptic, anti-tumor, and protecting nerve, etc. With the increasing demand for gastrodin in the market and the inherent problems of traditional methods on obtaining gastrodin, new methods are urgently needed to solve various difficulties in the actual production of gastrodin. Biosynthesis is a new method instead of the traditional acquisition method, and has made great progress and achievements in gastrodin acquisition. Therefore, it is necessary to systematically review the biosynthesis of gastrodin from three aspects of biosynthetic pathway, plant transformation and microbial transformation in this paper, hoping to provide valuable reference for further improvement and perfection of gastrodin production method in the future to meet public increasing demand for gastrodin.

Key words: gastrodin; biosynthesis; plant transformation; microbial transformation; transformation of wild microorganisms; transformation of engineering microorganisms

天麻素又名天麻苷, 是天麻 *Gastrodia elata* Bl. 块茎中一种含量最高的有效单体成分, 其化学名为 4-羟甲基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷, 相对分子质量 286.27, 分子式 $C_{13}H_{18}O_7$, 为无色针状结晶, mp 154~156 °C, 易溶于醇类和水, 难溶于氯仿和乙醚, 经苦杏仁酶水解后得到 4-羟基苯甲醇 (也称对羟基苯甲醇) 和葡萄糖 2 种单体。天麻素具有多种药理活性, 可以增加中央及外周动脉血管顺应性, 降低外周血管阻力, 增加心脑血管血流量, 产生温和降

压作用, 而且对心肌细胞、脑组织均有保护作用^[1], 同时具有镇静、催眠、镇痛、增强免疫等作用, 在临床上广泛用于治疗心脑血管、微循环系统疾病, 对头痛眩晕、肢体麻木、小儿惊风、癫痫、抽搐、破伤风等病症疗效显著, 且无明显不良反应^[2]。

目前, 人们对以天麻素为主要药效成分的天麻需求量不断增长, 其年销售额达十几亿元, 由于其应用范围的进一步扩大, 年销售额预计还将不断增长^[3-4]。面对如此广阔的市场前景, 医药工作者

收稿日期: 2020-02-03

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (2019JJ50444); 湖南中医药大学生物工程重点学科资助项目 (校行科字[2018]3 号)

作者简介: 徐德宏, 讲师, 博士, 研究方向为中药活性物质的微生物代谢工程研究。Tel: (0731)88458225 E-mail: xudehong163@126.com

*通信作者 谭朝阳, 副教授, 博士, 研究方向为中药活性物质的微生物代谢工程研究。Tel: (0731)88458225 E-mail: tomtzy@163.com

们提出了许多获取天麻并提高天麻素产量的方法,其中以人工栽培提取法和化学合成法为主流,但它们也存在一定的问题。对于人工栽培提取法而言,该法虽然可以获得一定产量的天麻素,但要得到产量大、纯度高和价格低的天麻素依然存在较大难度,究其原因主要与 2 个方面相关:一是天麻在人工栽培过程中往往会出现产量减少、品质降低的现象^[5]。二是即使人工栽培获得了大量优质的天麻块茎原材料,但要从这些材料中提取并得到高纯度的天麻素绝非易事^[6]。对于化学合成法来说,它是目前我国获取天麻素的主要生产方法,也是一种较早研究的方法,于 20 世纪 80 年代初周俊院士等^[7]建立,但在实际生产过程中,由于此法需经历多步化学反应,并要大量使用红磷、溴等试剂,因而导致该法具有产量低、毒性大、成本高、环境不友好等缺点。为了克服该方法的缺陷,学者们分别从提高反应得率、减少反应步骤、降低试剂毒性等方面对天麻素化学合成法进行了有意义的改进^[8-10],但这些改进虽然对推动化学合成法合成天麻素有所帮助,但始终无法摆脱化学合成法先天具有的一些弊端,如反应试剂毒、反应步骤多、反应时间长、反应条件苛刻、反应副产物不易去除、反应三废不好处理等^[9],因而通过化学合成法生产天麻素不是一种制备天麻素的最优方法,目前实际生产中急需一种更加先进的方法来代替化学合成法。

生物合成法是当前获取天麻素的有较好应用前

景的第 3 种方法,本文主要对天麻素生物合成的方法进行一个系统的归纳和分析,期望为日后进一步改进和完善天麻素的生产方法和满足人们对其不断增长的需求提供有价值的参考。

1 生物合成途径

天麻素在结构上由 4-羟基苯甲醇和葡萄糖 2 部分组成,其中 4-羟基苯甲醇又是天麻细胞中一种主要的单体成分,故研究者们推测天麻素生物合成的最后一步必定涉及葡萄糖糖基化 4-羟基苯甲醇的过程。对于前体物质 4-羟基苯甲醇所涉及的生物合成途径目前还不是很确定,但根据芳香类化合物代谢相关过程推测^[11],4-羟基苯甲醇在天麻细胞内很可能由甲苯经两次单加氧酶作用后生成,见图 1,目前已陆续有相关研究结果开始证实此推测途径的正确性。如以 4-羟基苯甲醇或 4-羟基苯甲醛作为前体物质,部分植物或微生物细胞可将其糖基化生成天麻素。此外,Tsai 等^[12]利用第 2 代 RNA 测序技术比较了天麻从球茎发育到块茎时合成天麻素基因的差异表达情况,结果显示天麻幼嫩块茎中确实有比球茎显著高表达的单加氧酶和糖基转移酶基因,其中一条编码单加氧酶的 *unigene* 在幼嫩块茎中的表达量是球茎中的 2.4 倍,而另一条编码糖基转移酶的 *unigene* 则是球茎中的 3.2 倍。以上这些研究结果一方面有力证明了天麻素生物合成途径推测的正确性,另一方面也为人工异源构建天麻素生物合成途径奠定了理论基础。

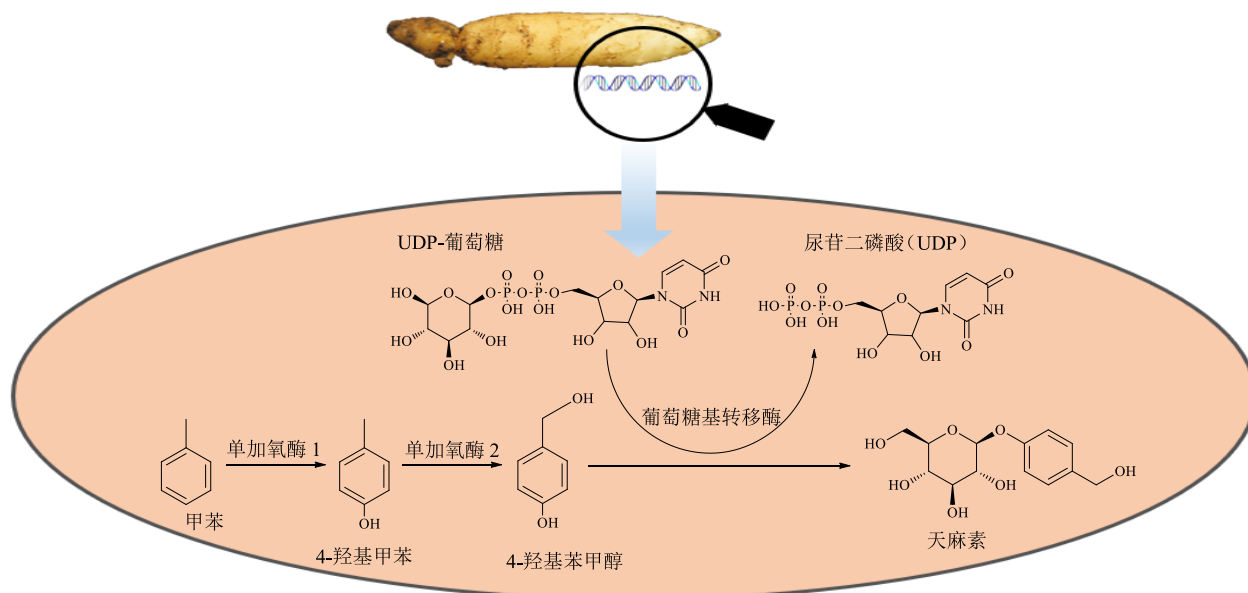


图 1 天麻中天麻素可能的生物合成途径

Fig. 1 Possible biosynthetic pathway of gastrodin in *Gastrodia elata*

2 植物转化法

植物是许多具有医药应用价值的天然活性产物的来源,它们通过自身细胞内复杂的次生代谢反应合成一些相同的天然活性物质,如红景天苷除红景天属植物可以合成外,女贞、小叶女贞、藏波罗花等也可以合成^[13-15]。正是从这一现象出发,研究者们尝试利用非天麻类植物合成天麻素(表 1)。蔡洁等^[16]对人参毛状根生物合成天麻素转化体系进行了探索,结果显示人参毛状根在 B₅ 培养液中培养 22 d 后,可将天麻素苷元(4-羟基苯甲醇)转化生成天麻素,转化率为 84.8%,合成的天麻素占人参毛状根干质量的 6.65%。龚加顺等^[17-18]分别利用两种不同的曼陀罗植物(白花曼陀罗和紫花曼陀罗)悬浮培养细胞进行了天麻素生物转化研究,实验结果表明两种曼陀罗细胞都能将前体物质 4-羟基苯甲醛先还原成 4-羟基苯甲醇,然后利用细胞内的糖基转移酶使其糖基化生成天麻素,其中在培养基中添加 0.1 mg/L 水杨酸和保持发酵罐罐压小于 1 kPa 时,

可有效促进紫花曼陀罗细胞对 4-羟基苯甲醛的糖基化效率。除了以曼陀罗悬浮细胞作为转化载体外,彭春秀等^[19]还利用曼陀罗毛状根进行了天麻素转化实验,结果显示由农杆菌诱发的曼陀罗毛状根能转化外源底物 4-羟基苯甲醇合成天麻素。本课题组也开展过天麻素植物转化的相关研究,其中利用植物水培法对小白菜是否能够利用 4-羟基苯甲醇产生和积累天麻素,以及 4-羟基苯甲醇对小白菜生长是否会造成影响进行了考察,所得结果证实小白菜能以浓度相关的方式将 4-羟基苯甲醇转化为天麻素,但随时间的推移天麻素积累量逐渐降低,而且水培营养液中添加 4-羟基苯甲醇会抑制小白菜根的生长并延缓或阻滞株高的增长,因而在含 4-羟基苯甲醇的水培液中不宜长时间培养小白菜^[20]。以上研究结果都充分证明,除天麻外还有部分植物也能利用相关前体物质合成天麻素,这就为今后拓宽天麻素的来源,并增加其产量提供了有效的途径。

表 1 植物转化法合成天麻素

Table 1 Synthesis of gastrodin by plant transformation

植物名	前体物质	培养方式	产量/产率	文献
人参 <i>Panax ginseng</i> C.A.Mey.	4-羟基苯甲醇	毛状根培养	6.65%	16
白花曼陀罗 <i>Datura stramonium</i> L.	4-羟基苯甲醛	悬浮细胞摇瓶培养	1.58 mg·mL ⁻¹	17
		气升式发酵罐发酵培养	0.736 mg·mL ⁻¹	
紫花曼陀罗 <i>Datura tatula</i> L.	4-羟基苯甲醛	气升式发酵罐发酵培养	0.716 mg·mL ⁻¹	18
紫花曼陀罗 <i>Datura tatula</i> L.	4-羟基苯甲醇	毛状根培养	—	19
小白菜 <i>Brassica chinensis</i> L.	4-羟基苯甲醇	植株体水培	0.38 mg·mL ⁻¹	20

3 微生物转化法

3.1 野生菌转化法

相关研究显示,天麻在生长过程中离不开野生微生物地协助,如天麻在种子萌发与无性繁殖 2 个阶段,分别要与紫萁小菇和蜜环菌进行共生才能正常萌发和生长^[21],由此研究者们开始从这些微生物中筛选合成天麻素的相关菌株(表 2),章海锋^[22]对天麻共生菌蜜环菌进行了筛选工作,并探索了有效的生物转化体系和合适的转化条件,结果显示一株命名为黄绿蜜环菌 ZJUQH 的菌株被筛选出来,该菌株在底物(4-羟基苯甲醇)质量浓度为 3 mg/mL,转化用细胞用量为 6.5 g/30 mL 转化液,聚山梨酯-80 1.5%,初始 pH 4.5,转化温度 23 ℃,转化时间 120 h 的条件下,天麻素的最大产量可达(5.65±0.45) mg/L。除关注天麻共生菌外,研究者们还不断探索

其他合成天麻素的微生物(表 2)。朱宏莉^[23]采用静息细胞法和分批培养法,结合薄层色谱法(TLC)和反相高效液相色谱法(RP-HPLC),从 10 株霉菌中筛选出 1 株能将 4-羟基苯甲醛转化成天麻素的根霉 LN-1,该菌在底物浓度为 2.3 mg/mL,转化用细胞用量为 12 g/120 mL 转化液,初始 pH 5.5,转化温度 28 ℃,转化时间 24 h 的条件下,天麻素得率可达 16%。此外,朱宏莉等^[24-25]还利用相同的筛选方法,从霉菌中获得了 1 株合成天麻素的华根霉 *Rhizopus chinensis* SAITO AS3.1165,并对此菌中糖基化 4-羟基苯甲醛生成天麻素的糖基转移酶进行了分离纯化。Fan 等^[26]对其他微生物也进行了筛选,获得了臭曲霉 *Aspergillus foetidus* ZU-G1 和圆弧青霉 *Penicillium cyclopium* AS 3.4513 2 种利用 4-羟基苯甲醇作为底物合成天麻素的菌株,其中臭曲霉的

表 2 野生菌转化法合成天麻素

Table 2 Synthesis of gastrodin by transformation of wild microorganisms

微生物名	前体物质	培养方式	产量/产率	文献
黄绿蜜环菌 ZJUQH <i>Armillaria luteo-virens</i> Sacc ZJUQH	4-羟基苯甲醇	静息细胞摇瓶培养	(5.65±0.45) mg·L ⁻¹	22
根霉 LN-1 <i>Rhizopus</i> LN-1	4-羟基苯甲醛	静息细胞摇瓶培养	16%	23
华根霉 <i>Rhizopus chinensis</i> SAITO AS3.116 5	4-羟基苯甲醛	静息细胞摇瓶培养	—	24
臭曲霉 <i>Aspergillus foetidus</i> ZU-G1	4-羟基苯甲醇	静息细胞摇瓶培养	36 mg·L ⁻¹	26
圆弧青霉 <i>Penicillium cyclopium</i> AS 3.451 3	4-羟基苯甲醇	静息细胞摇瓶培养	65 mg·L ⁻¹	26

最高转化产量为 36 mg/L, 而圆弧青霉则是 65 mg/L。以上研究结果说明, 除植物外某些微生物也具有合成天麻素的能力, 而且相较于植物细胞培养或植株栽培, 微生物发酵周期一般较短, 所用培养基材料简单, 发酵工艺易掌握, 因而野生菌转化法比植物转化法更适合天麻素的工业化大生产。

3.2 工程菌转化法

植物转化法和野生菌转化法与人工栽培提取法和化学合成法相比有许多优势, 如合成选择性强(位置选择性和立体选择性)、合成条件温和、合成速率快、合成副产物少、环境友好和后期处理简单等^[27-28], 但它们也有不足之处: 首先, 筛选出能转化前体物质生成天麻素的候选生物较难; 其次, 候选生物人工培养条件一般较苛刻; 最后, 作为前体物质的 4-羟基苯甲醇或 4-羟基苯甲醛一方面价格较贵, 另一方面它们本身就具有生物活性^[1,29], 在工业上难以大量获得, 如果把它们作为工业合成的原料, 这既不利于天麻素的规模化生产, 同时也会造成最终产品成本的提高, 因而当前利用生物合成法生产天麻素还需进一步的改进。

微生物代谢工程是生物合成法中一种既经济又高效的天然产物生产方法, 该法以基因工程技术为依托, 有目的地对微生物代谢途径进行精确的修饰、改造或扩展、构建新的代谢途径, 以改变微生物原有代谢特征, 并与微生物基因调控、代谢调控及生化工程相结合, 达到提高天然产物活性或产量之目

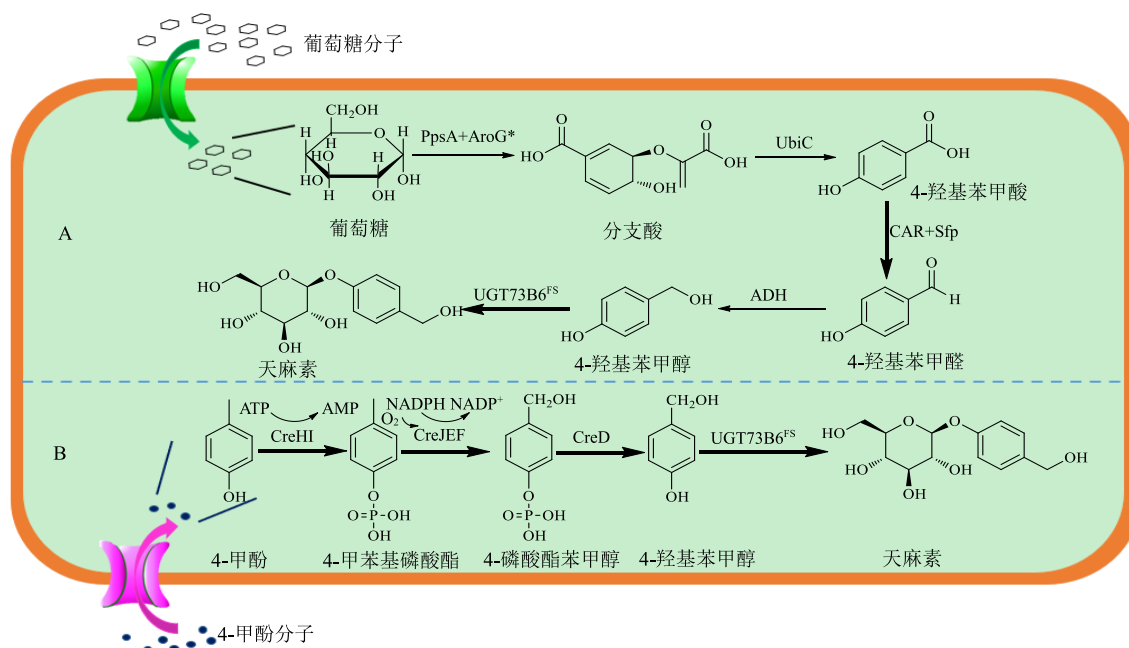
的^[30]。相比于上面提到的植物转化法和野生菌转化法, 微生物代谢工程合成天然产物具有自身的优势。首先, 此法用到的微生物(如大肠杆菌、酿酒酵母、枯草芽孢杆菌等)都是一些遗传背景了解相对清楚的工业微生物, 因而可以比较方便地对它们进行基因工程改造, 使它们能合成专一性很高的酶类用于天然产物的生产。其次, 微生物代谢工程在合成天然产物时, 使用的都是一些价格低廉可重复利用的原材料(如葡萄糖、无机盐等), 这就降低了天然产物合成对环境造成的污染和生产成本。最后, 构建好的工程微生物可以通过发酵方式得到快速扩增, 这一方面缩短了天然产物生成周期, 另一方面也有利于大规模工业化生产天然产物^[31]。

就天麻素而言, 目前已有 Bai 等^[32]和钟贝芬等^[33]课题组对其展开了微生物代谢工程研究, 见表 3 和图 2。其中 Bai 等^[32]将来源于诺卡氏菌的羧酸还原酶(carboxylic acid reductase, CAR)、枯草芽孢杆菌的 Sfp 型磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶(Sfp phosphopantetheinyl transferase, Sfp PPTase)和红景天植物的糖基转移酶(uridine diphosphate dependent glycosyltransferase, UGT) 73B6 导入大肠杆菌菌体内, 从头构建了一条天麻素生物合成的异源途径。在此基础上, 他们还通过其他一些技术手段推动菌体内代谢流朝天麻素生成方向流动, 如增强分支酸和 UDP-葡萄糖合成的相关代谢通路, 利用定向进化方法筛选更适合 4-羟基苯甲醇糖基化的 UGT73B6^{FS}

表 3 工程菌转化法合成天麻素

Table 3 Synthesis of gastrodin by transformation of engineering microorganisms

微生物名	引入基因	前体物质	发酵时间/h	培养方式	产量	文献
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	CAR、Sfp PPTase、 UGT73B6 ^{FS}	葡萄糖	48	摇瓶培养、生长在 LB、 合成在 M9Y	545 mg·L ⁻¹	32
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	cre HIJEDF 基因簇、 UGT73B6 ^{FS}	4-甲酚	48	摇瓶培养、生长在 LB、 合成在 M9Y	1.5 mmol·L ⁻¹ (429 mg·L ⁻¹)	33



A 途径为 Bai 等构建的从头合成途径, 其中细箭头代表大肠杆菌自身拥有的途径, 粗箭头代表外源导入途径; B 途径为钟贝芬等构建的以 4-甲酚为起始底物的合成途径, 粗箭头代表外源导入途径

Pathway A is a *de novo* synthetic pathway constructed by Bai et al., in which the thin arrow represents the pathway owned by *Escherichia coli* and the thick arrow represents the exogenous pathway; Pathway B is the synthetic pathway with *p*-cresol as the initial substrate constructed by Zhong et al., and the thick arrow represents the exogenous pathway

图 2 大肠杆菌菌体内构建的天麻素异源合成途径

Fig. 2 Heterologous synthetic pathway of gastrodin constructed in *Escherichia coli*

突变体, 优化工程菌发酵条件等。经过以上工程化改造, 大肠杆菌以葡萄糖为原料, 经 48 h 发酵培养后可产生天麻素 545 mg/L。钟贝芬等^[33]采用了有别于 Bai 等^[32]的代谢途径。首先, 他们将谷氨酸棒状杆菌中参与 4-甲酚降解相关的基因簇 (cresol degradation pathway gene cluster, cre) HIJEFD 和糖基转移酶基因 UGT73B6^{FS} 分别导入载体 pRSFDuet-1 和 pACYCDuet-1, 并转化大肠杆菌获得重组菌株 S1。然后, 在 S1 中诱导关键酶的表达, 并以 4-甲酚为原料进行生物转化。最后, 经合适的发酵条件培养 48 h 后, 在菌体内可生成天麻素 1.5 mmol/L (429 mg/L)。以上 2 项微生物代谢工程法合成天麻素的例子都充分证明, 向大肠杆菌菌体内引入异源的代谢途径用于天麻素合成是可行的, 而且大肠杆菌遗传背景清楚、培养条件简单、发酵周期适中, 因而比其他植物或野生微生物用于天麻素合成更为合适, 故此法是今后取代传统天麻素获取方法的一个非常有前景的途径。

4 结语及展望

天麻素作为天麻中主要的药效成分, 其多样的

药理活性已受到人们广泛地关注, 因而以其作为主要活性成分的医药保健产品被大量地开发利用^[34-35], 如天麻素注射液、天麻素胶囊、天麻素片等。由于市场对天麻素的需求不断增加, 以及传统获取方法先天便带有的一些无法克服的障碍与劣势, 导致人们迫切需要新的天麻素制备方法来解决生产实际中面临的各项问题。正是在这一背景下, 天麻素生物合成法逐渐步入了研究者的视野, 并由早期简单的添加前体物质进行生物转化, 逐渐发展到了现今运用微生物代谢工程法主动改造微生物, 使其具备合成甚至是从头合成天麻素的能力。虽然现阶段微生物代谢工程法在合成天麻素方面取得了一定的进展和成果, 但在攻克高效合成及高效利用等方面还需继续努力, 就已报道的利用大肠杆菌合成天麻素研究来说, 依然还有以下 4 个方面需要解决的问题。

首先, 在工程菌构建时, Bai 等^[32]课题组使用了编码 4-羟基苯甲醛合酶的 ADH 基因, 其表达产物主要功能是可逆地催化 4-羟基苯甲醇氧化生成 4-羟基苯甲醛, 故在实际应用时工程菌菌体内会出现 4-羟基苯甲醛及其糖基化的副产物, 从而导致目标

产物的产量受到影响,并对后续高纯度产物的分离纯化带来麻烦。

其次,2 个课题组在构建工程菌时都引入了来自红景天植物的糖基转移酶基因 UGT73B6,而该基因编码的酶用于大肠杆菌合成天麻素可能不太理想,究其原因有 3 个方面:(1)此酶专一性不强,Bai 等在研究中已提到该酶对 4-羟基苯甲醇的糖基化不仅可以发生在酚羟基上,还可发生在烃链羟基上,而且对类似物羟基酪醇(3,4-二羟基苯乙醇)也可进行糖基化;(2)此酶活性不高,Bai 等在研究中指出野生型的 UGT73B6 对底物的催化效率不高,还需通过定向进化手段对它进行改造,使其第 389 位的苯丙氨酸(F)变成丝氨酸(S),经此改造后酶(UGT73B6^{FS})的活性也只能提高 50%左右;(3)此酶可溶性表达可能不好,UGT73B6 来自真核生物,当利用含 T7 启动子的表达载体对其进行原核表达时,多以包涵体形式存在,这就会对该酶的活性产生严重影响,但 2 个课题组在实验中并没针对这一问题作出相应的解决方案,故今后在改进 UGT73B6 可溶性表达上值得进一步探讨。

再次,2 个课题组在对大肠杆菌进行改造时,都引入了较多的外源基因,这有可能打破菌体原有的代谢通量平衡,并极大增加菌体自身的代谢负担,但针对这一问题 2 个课题组都缺少对菌体内代谢通量进行平衡优化的调控研究。

最后,目前微生物代谢工程法合成天麻素所用到的底盘菌株都是大肠杆菌,其他一些对真核基因表达有较好效果的微生物,如酵母、枯草芽孢杆菌等还没有研究报道,因而日后的研究工作也可以尝试对其他底盘菌株进行改造,并与现在使用的大肠杆菌在合成天麻素优劣上进行比较。

综上所述,微生物代谢工程法将是今后生物合成天麻素的一项主流技术,并已在现今研究中奠定了良好的理论和实践基础,在此基础上针对不足之处进行改进和完善,就有可能提出天麻素生物合成的最优方案,实现天麻素大产量、高纯度和低价格获取,以满足市场和人们对天麻素需求的不断增长。

参考文献

- [1] 张志龙,郜玉钢,臧 埔,等.天麻素、对羟基苯甲醇对中枢神经系统作用机制的研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(2):312-320.
- [2] 陈贵生.天麻素药理作用研究进展[J].中国药物经济学,2015,10(S1):281-283.

- [3] 孙 英.贵州天麻销售突破 3 亿大关 [A] // 2016 第四届全国天麻会议暨中国(大方)天麻产业发展高峰论坛资料汇编 [C]. 毕节:中国菌物学会,2016.
- [4] 李啸浪,王 璐,卢博礼,等.贵州天麻产业发展现状及对策 [J]. 中国热带农业,2018(5):19-22.
- [5] 易思荣,肖 波,黄 娅,等.中药材天麻的现代栽培技术研究进展 [J]. 中国现代中药,2013,15(8):677-679.
- [6] 陈 琛,李新生,周建军,等.天麻素提取纯化及检测技术研究进展 [J]. 陕西理工学院学报:自然科学版,2013,29(3):69-74.
- [7] 周 俊,杨雁宾,杨崇仁.天麻的化学研究 II-天麻苷及其类似物的合成研究 [J]. 化学学报,1980,32(2):162-166.
- [8] 庞其捷,钟裕国.天麻素合成方法的改进 [J]. 医药工业,1984,15(3):3-4.
- [9] 戴晓畅,彭 啸,吴松福,等.天麻素及其类似酚性糖甙的化学合成工艺研究 [J]. 云南民族大学学报:自然科学版,2004,13(2):83-85.
- [10] Li Y W, Ma C L. Improved synthesis of gastrodin, A bioactive component of a traditional Chinese medicine [J]. *J Serb Chem Soc*, 2014, 79(10): 1205-1212.
- [11] Carmona M, Zamorro M T, Blazquez B, et al. Anaerobic catabolism of aromatic compounds: A genetic and genomic view [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2009, 73(1): 71-133.
- [12] Tsai C C, Wu K M, Chiang T Y, et al. Comparative transcriptome analysis of *Gastrodia elata* (Orchidaceae) in response to fungus symbiosis to identify gastrodin biosynthesis-related genes [J]. *BMC Genom*, 2016, 17(1): 212-228.
- [13] 谢光波,田 进,吴 娟,等.藏波罗花中红景天苷的含量测定 [J]. 中国医药导报,2011,8(30):58-59.
- [14] 程 斌,周爱珍,凌庆枝.浙产女贞子中红景天苷含量动态变化及区域差异性研究 [J]. 中国中医药信息杂志,2016,23(4):95-97.
- [15] 谭朝阳,于 静,徐德宏,等.前体喷施对小叶女贞叶中红景天苷含量累积的影响 [J]. 中药材,2016,39(1):67-69.
- [16] 蔡 洁,丁家宜,华亚男,等.人参毛状根生物合成天麻素转化体系的建立 [J]. 植物资源与环境学报,2005,14(2):29-31.
- [17] 龚加顺,马维鹏,普俊学,等.白花曼陀罗悬浮培养细胞转化对羟基苯甲醛生成天麻素 [J]. 药学学报,2006,41(10):963-966.
- [18] 龚加顺,马维鹏,普俊学,等.紫花曼陀罗悬浮培养细胞转化对羟基苯甲醛生产天麻素 [J]. 生物工程学报,2006,22(5):800-804.
- [19] 彭春秀,张 梅,刘庆丰,等.曼陀罗毛状根的诱导及

- 其悬浮培养合成天麻素初探 [J]. 云南农业大学学报, 2008, 23(4): 492-497.
- [20] 易怀锬, 江灵敏, 何彦, 等. 对羟基苯甲醇对小白菜天麻素积累和生长的影响 [J]. 浙江农业科学, 2018, 59(12): 2302-2305.
- [21] 张宏杰, 李新生, 周建军. 天麻研究进展 [J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25(1): 17-20.
- [22] 章海锋. 黄绿密环菌生物转化合成天麻素的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [23] 朱宏莉. 微生物转化法合成天麻素等天然活性成分的研究 [D]. 西安: 西北大学, 2007.
- [24] 朱宏莉, 宋纪蓉, 黄建新, 等. 微生物转化法合成天麻素 [J]. 药学学报, 2006, 41(11): 1074-1077.
- [25] Zhu H, Dai P, Zhang W, *et al.* Enzymic synthesis of gastrodin through microbial transformation and purification of gastrodin biosynthesis enzyme [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(10): 1680-1684.
- [26] Fan L, Dong Y, Xu T, *et al.* Gastrodin production from *p*-2-hydroxybenzyl alcohol through biotransformation by cultured cells of *Aspergillus foetidus* and *Penicillium cyclopium* [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 170(1): 138-148.
- [27] Hidalgo D, Sanchez R, Lalaleo L, *et al.* Biotechnological production of pharmaceuticals and biopharmaceuticals in plant cell and organ cultures [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(30): 3577-3596.
- [28] 马逢时, 刘家水, 谈永进. 微生物转化技术在中药资源开发中的应用研究 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(8): 174-177.
- [29] 祝洪艳, 张荻, 周立梅, 等. 天麻苷元药理作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(2): 114-117.
- [30] 郝伟丽, 刘景芝, 赵宝华. 微生物代谢工程原理与应用 [J]. 生物技术通报, 2007(5): 18-23.
- [31] Marienhagen J, Bott M. Metabolic engineering of microorganisms for the synthesis of plant natural products [J]. *J Biotechnol*, 2013, 163(2): 166-178.
- [32] Bai Y, Yin H, Bi H, *et al.* De novo biosynthesis of gastrodin in *Escherichia coli* [J]. *Metab Eng*, 2016, 35: 138-147.
- [33] 钟贝芬, 杜磊, 李众. 基于细胞色素 P450 单加氧酶介导的 4-甲酚氧化降解途径的天麻素生物合成 [J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2018, 41(4): 33-40.
- [34] 钦富华, 蔡雁, 计竹娃. 天麻素制剂的研究概况 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(7): 32-35.
- [35] 夏冰. 保健食品中天麻素和总天麻素含量测定的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2017.