



植物苯丙素类天然产物生物合成研究进展

李凯薇^{1,2}, 庄以彬^{2,3,4}, 唐俊^{2,4}, 范晓光¹, 毕慧萍^{2,3,4*}, 刘涛^{2,3,4*}

1. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457

2. 中国科学院天津工业生物技术研究所, 天津 300308

3. 中国科学院天津工业生物技术研究所低碳合成工程生物学重点实验室, 天津 300308

4. 国家合成生物技术创新中心, 天津 300308

* 联系人, E-mail: bi_hp@tib.cas.cn; liu_t@tib.cas.cn

收稿日期: 2024-02-05; 接受日期: 2024-05-14; 网络版发表日期: 2024-11-25

国家重点研发计划(批准号: 2019YFA0905703)、国家自然科学基金(批准号: 31970065)和天津市合成生物技术创新能力提升行动项目(批准号: TSBICIP-CXRC-056)资助

摘要 苯丙素类是植物天然产物中的重要类型, 具有多种生理活性, 在营养保健、医药、化妆品等领域有广阔的应用前景. 然而, 植物中大部分苯丙素类天然产物生物合成途径尚未解析清楚, 成为制约其研究与应用的瓶颈. 近年来, 基因组、转录组、蛋白组、代谢组等多组学技术的快速发展为解析植物次生代谢途径创造良好条件. 解析苯丙素类天然产物生物合成机制将为植物中目标化合物的合成调控、异源高效合成提供关键基因资源. 本文综述植物苯丙素类天然产物(不包括黄酮)生物合成方面的最新研究进展, 重点包括一些有代表性的化合物如苯甲醛、水杨酸、菊苣酸、紫草素、香豆素, 以及红景天苷、毛蕊花糖苷等, 展望多组学分析等技术在植物苯丙素类天然产物合成途径解析方面的应用, 以及微生物合成苯丙素类天然产物的工业应用前景, 以期对苯丙素类天然产物的途径解析及微生物异源合成提供参考.

关键词 植物天然产物, 苯丙素类, 生物合成

苯丙素是具有C6-C3芳香核骨架的一类天然化合物的统称, 它包括苯丙烯类、苯丙醇、苯丙酸及其缩酯、香豆素、木脂素及木质素等^[1,2], 广义上还包括黄酮类化合物. 苯丙素类化合物广泛存在于高等植物中, 是植物经由莽草酸通路合成, 具有多种生理活性, 如抗肿瘤^[3-5]、抗菌消炎^[6]、抗氧化^[7-9]、抗病毒^[10]等. 苯丙素类化合物不仅与植物生长发育相关, 也是药物、营养化学品、香料、生物材料等高附加值化学品的重要来源^[11]. 苯丙素类天然产物往往在植物的特定组织

部位以及特定的生长阶段积累. 受外界生长环境的影响, 其在植物中含量不稳定, 且植物中结构类似物多、分离纯化困难, 制约苯丙素类天然产物的进一步开发利用. 解析植物苯丙素类天然产物生物合成机制, 一方面为利用植物代谢工程提高目标化合物产量奠定基础, 另一方面也为在微生物中重构合成途径实现高效可控异源生产提供基因元件. 近年来, 基因组、转录组、蛋白组、代谢组等多组学技术的快速发展为解析植物次生代谢途径提供良好条件. 本文将综述植物

引用格式: 李凯薇, 庄以彬, 唐俊, 等. 植物苯丙素类天然产物生物合成研究进展. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 647-660

Li K W, Zhuang Y B, Tang J, et al. Research progress on the biosynthesis of plant phenylpropanoids (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 647-660, doi: 10.1360/SSV-2024-0029

中苯丙素类天然产物(不包括黄酮)^[12,13]生物合成方面的最新研究进展,重点包括代表性的化合物如苯甲醛、水杨酸、菊苣酸、紫草素、香豆素,以及红景天苷、毛蕊花糖苷等,以期对苯丙素类天然产物的途径解析提供参考。

1 典型苯丙素类天然产物的生物合成

1.1 苯甲醛的生物合成

苯甲醛,俗称安息香醛,是许多植物芳香气味的主要成分。苯甲醛是医药、染料、香料和树脂工业的重要原料,全球市场规模高达20亿元。工业上苯甲醛主要通过甲苯氯化水解、甲苯液相氧化等方法生产^[14,15]。

据推测,植物中苯甲醛的生物合成以苯丙氨酸为前体,多种可能途径并存。研究人员解析矮牵牛中一条通过辅酶A依赖的 β 氧化机理合成苯甲醛的途径。在细胞质中苯丙氨酸经苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)催化脱氨生成肉桂酸;肉桂酸进入过氧化物酶体,经肉桂酰辅酶A连接酶(cinnamate-CoA ligase, CNL)催化生成肉桂酰辅酶A;随后在肉桂酰辅酶A水解/脱氢酶(cinnamoyl-CoA hydratase/dehydrogenase, CHD)和3-酮脂酰辅酶A硫解酶(3-ketoacyl

thiolase, KAT)的催化下,发生 β 氧化,生成苯甲酰辅酶A;苯甲酰辅酶A经苯甲醛合成酶(benzaldehyde synthase, BS)催化加氢还原生成苯甲醛(图1, Route I)。2009年Moerkercke等人^[16]从矮牵牛(*Petunia hybrida*)中鉴定一个定位于过氧化物酶体的3-酮脂酰辅酶A硫解酶——PhKAT,并通过基因沉默抑制PhKAT表达确定其在苯甲醛生物合成中的作用。2012年Colquhoun等人^[17]从矮牵牛中克隆一个酰基辅酶A连接酶(acyl-activating enzyme, AAE)PhAAE。他们推测PhAAE可能负责在矮牵牛过氧化物酶体中催化肉桂酸生成肉桂酰辅酶A,但没有体外实验证明该酶具有肉桂酸连接酶活性。同年另一项研究从矮牵牛中发现一个定位于过氧化物酶体的辅酶A连接酶——PhCNL,并通过体外实验确定其可以催化肉桂酸生成肉桂酰辅酶A^[18]。2022年矮牵牛中催化肉桂酰辅酶A水解脱氢的双功能酶PhCHD被成功解析出来^[19]。PhCHD的催化需要 NAD^+ 的协助,同时镁离子可以提高其对肉桂酰辅酶A的催化效率。2022年Huang等人^[20]在矮牵牛中鉴定一个苯甲醛还原酶PhBS。不同于其他酰基辅酶A还原酶,PhBS是一个由PhBS α 和PhBS β 组成的异源二聚体。单独的PhBS α 和PhBS β 都不具有催化活性,只有形成二聚体才具有催化活性。PhBS高度特异性识别苯甲酰辅酶A,对其他酰基辅酶A的催化活性很差。

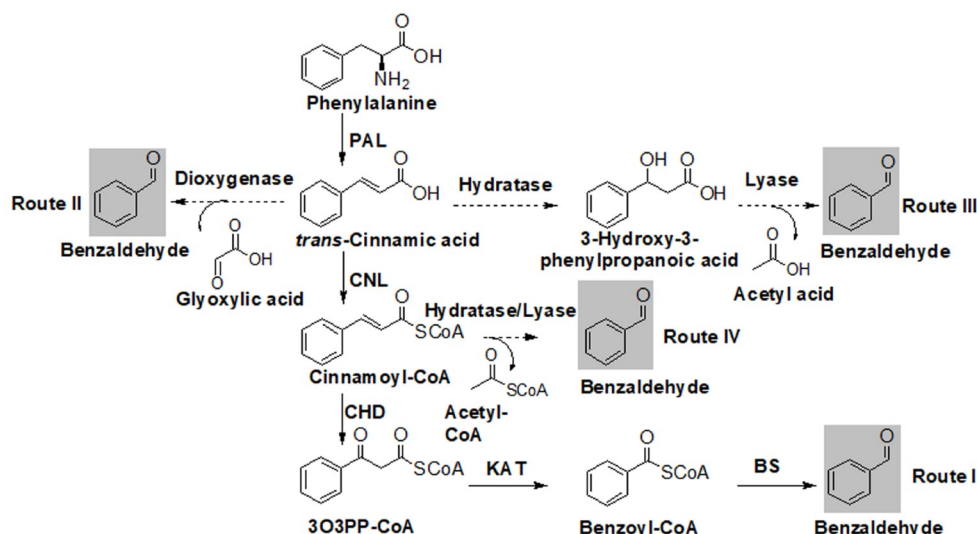


图1 植物中苯甲醛生物合成途径^[16-22]。实心箭头表示催化反应和对应基因已经确认,虚线箭头表示催化反应已确认但未确认对应的基因。CHD: 肉桂酰辅酶A水合/脱氢酶; 3O3PP-CoA: 3-氧代-3-苯基丙酰辅酶A

Figure 1 Biosynthetic pathways of benzaldehyde in plants^[16-22]. Solid arrows indicate that the catalytic reaction has been elucidated and the corresponding gene has been identified, dashed arrows indicate that the catalytic reaction has been elucidated but the corresponding gene has not been identified. CHD: cinnamoyl-CoA hydratase/dehydrogenase; 3O3PP-CoA: 3-oxo-3-phenylpropanoyl-CoA

除 β 氧化途径, 植物还可能通过其他非 β 氧化途径生成苯甲醛. 如在细胞质中直接氧化裂解肉桂酸生成苯甲醛和乙醛酸(图1, Route II)^[21], 或者先将肉桂酸水解生成3-羟基苯丙酸, 再裂解生成苯甲醛和乙酸(图1, Route III)^[22]. 在过氧化物酶体中可能也存在直接催化肉桂酰辅酶A氧化裂解生成苯甲醛的途径(图1, Route IV)^[23]. 但是, 这些途径还需要进一步证实, 相应的双加氧酶(dioxygenase; 图1, Route II)、水合酶(hydratase)以及裂合酶(lyase)(图1, Route III和Route IV)等还有待鉴定.

1.2 水杨酸的生物合成

水杨酸是一种重要的植物激素, 广泛存在于杨柳科植物中, 对植物的系统或局部防御反应有一定的调节作用. 此外, 据报道水杨酸还能够调节光合作用、呼吸作用、营养生长、种子萌发、开花、衰老等多种过程, 从而影响植物的生长发育^[24-27]. 乙酰水杨酸(阿司匹林)一直是治疗各种医学病症的重要药物^[28], 广泛应用于控制发热和疼痛, 以及治疗心血管疾病^[28-30]和皮肤病如痤疮、水泡和瘙痒^[31].

目前研究认为植物中可能存在两种水杨酸合成途径: 异分支酸合酶(isochorismate synthase, ICS)途径(主要部分)和PAL途径^[32,33](图2). 在ICS途径中, 在叶绿体中异分支酸合酶(ICS)首先将分支酸转化为异分支酸^[33], 随后异分支酸通过MATE(multidrug and toxin extrusion)转运蛋白从叶绿体进入细胞质, 经氨基转移酶催化生成异分支酸-9-谷氨酸(isochorismate-9-glutamate, ICS-Glu). ICS-Glu不稳定, 推测可自发或经酰基转移酶催化分解生成水杨酸. 该途径中已鉴定的酶包括: MATE转运蛋白, EDS5(enhanced disease susceptibility 5), 它能够将异分支酸从叶绿体转运到细胞质^[33]; PBS3(avrPphB susceptible 3)编码的氨基转移酶, 负责催化L-谷氨酸与异分支酸生成ICS-Glu^[32]; EPS1(enhanced Pseudomonas susceptibility 1)是BAHD酰基转移酶家族蛋白, 具有ICS-Glu裂解酶活性, 可以加速ICS-Glu分解产生水杨酸^[33,34].

除ICS途径外, 推测植物在细胞质中利用PAL途径也能合成少部分水杨酸. 有同位素示踪实验表明在烟草中苯丙氨酸可以经肉桂酸或苯甲酸转化为水杨酸^[35]. 但也有同位素示踪实验发现在拟南芥中苯丙氨酸不能生成水杨酸, 而是合成其同分异构体对羟基苯

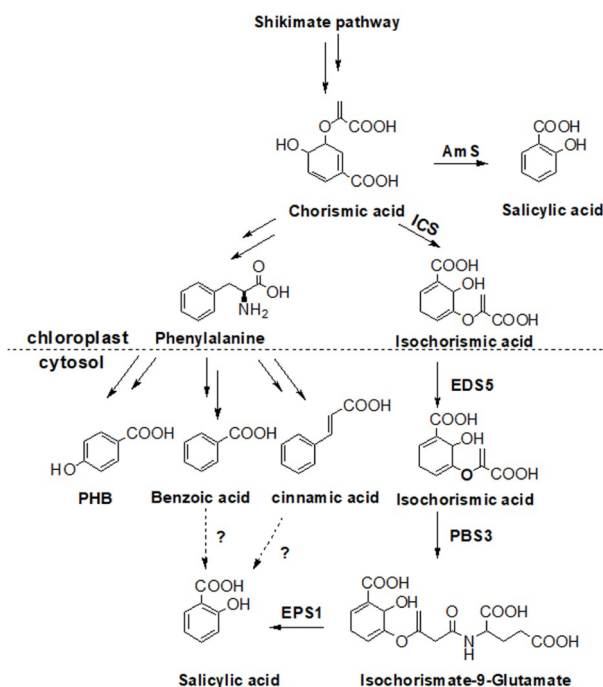


图2 水杨酸生物合成途径^[32-38]. 实心箭头表示基因功能已经确认, 虚线箭头表示推测反应

Figure 2 Biosynthetic pathway of salicylic acid^[32-38]. Solid arrows indicate that the gene function has been confirmed, and dashed arrows indicate a speculative reaction

甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid, PHB)^[36]. PAL途径合成水杨酸的相关酶还有待进一步鉴定.

微生物中也报道一条水杨酸合成途径, 嗜甲基拟无枝酸菌(*Amiclotopsis methanolica*)的水杨酸合成酶(salicylic acid synthase, AmS)可以直接利用分支酸生成水杨酸^[37]. 本实验室前期在改良的大肠杆菌MG1655-U7中过表达AmS, 同时引入来源于塞格尼氏杆菌(*Segniliparus rotundus*)的羧酸还原酶(carboxylic acid reductase, CAR)和来源于毛果杨(*Populus trichocarpa*)的葡萄糖基转移酶(glucosyltransferase, UGT71L1), 成功实现水杨苷的微生物合成^[38].

1.3 菊苣酸的生物合成

紫锥菊是一种原产于北美洲的药用植物, 现在已成为世界范围内广泛使用的植物药之一. 菊苣酸, 又称二咖啡酰酒石酸, 是紫锥菊的主要活性成分之一, 含量最高可达干重的4%. 菊苣酸具有多种生物活性, 包括抑制HIV整合酶、抗炎、抗氧化、抗病毒、抑制肥胖、抗肿瘤等^[39-41]. 2019年紫锥菊相关产品在美国

销售额达1.2亿美元, 受新冠肺炎大流行的影响, 其产品总销售额在2020年激增^[42]。

咖啡酸和酒石酸是菊苣酸的合成前体。1996年Hohlfeld等人^[43]从木贼科植物问荆(*Equisetum arvense*)中分离到可以催化生成单咖啡酰酒石酸、双咖啡酰酒石酸、咖啡酰分支酸及咖啡酰奎宁酸(绿原酸)的酶, 但未能确定编码基因。2014年Sullivan等人^[44]报道多年生花生叶片中存在酰基转移酶可以催化香豆酰辅酶A、咖啡酰辅酶A和阿魏酰辅酶A和酒石酸生成对应的酯, 但未鉴定相关基因。2021年紫锥菊中菊苣酸的生物合成途径得到完全解析^[45]。植物中已知的两大酰基转移酶家族BAHD和serine arboxypeptidase-like(SCPL)参与菊苣酸的生物合成。在细胞质中, 两个BAHD家族酰基转移酶EpHTT和EpHQT以咖啡酰辅酶A为供体, 分别和酒石酸或奎宁酸反应生成咖啡酰酒石酸或绿原酸。咖啡酰酒石酸或绿原酸随后进入液泡, 并被SCPL家族酰基转移酶EpCAS催化, 生成菊苣酸(图3)。前期已鉴

定的SCPL类酰基转移酶均采用1-*O*- β -葡萄糖苷作为酰基供体^[46], 而EpCAS则以绿原酸作为酰基供体, 这一发现丰富对于SCPL家族酰基转移酶的认知。

1.4 紫草素的生物合成

紫草素是紫草科植物根部富含的红色萘醌类化合物的统称。在结构上, 紫草素及其衍生物具有5,8-二羟基-1,4-萘醌结构母核和异己烯侧链, 区别在于萘环侧链上的羟基数目、酯基位置的不同^[47]。根据旋光性的不同, 紫草素类化合物可以分为左旋紫草素(阿卡宁, *S*型, *alkannin*)与右旋紫草素(紫草素, *R*型, *shikonin*)两种旋光异构体。紫草素具有极高的药用价值, 以紫草素为主要成分的紫草油和紫草膏可用于治疗烧伤、烫伤、湿疹等皮肤问题, 在亚洲及欧洲国家广泛应用^[48,49]。紫草素被誉为“天然红色素之王”, 是常用的五种天然植物红色素中性能最好的一种, 已被联合国食品添加剂法典委员会列入食品、化妆品添加剂, 并且被广泛应

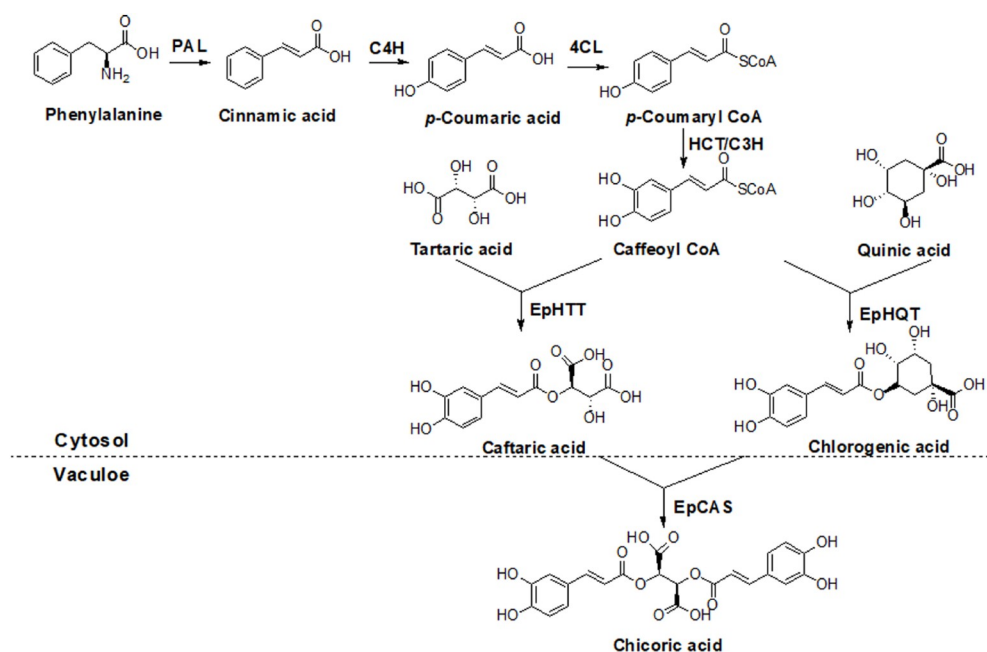


图3 菊苣酸生物合成途径^[45]。BAHD酰基转移酶定位于胞质, SCPL酰基转移酶定位于液泡。C4H: 肉桂酰4-羟化酶; 4CL: 4-香豆酰辅酶A连接酶; C3H: 香豆酰3-羟化酶; HCT: 羟基肉桂酰辅酶A: 奎宁酸/莽草酸羟基肉桂酰基转移酶; EpHTT: 紫锥菊羟基肉桂酰辅酶A: 酒石酸羟基肉桂酰基转移酶; EpHQT: 紫锥菊羟基肉桂酰辅酶A: 奎宁酸羟基肉桂酰基转移酶; EpCAS: 紫锥菊菊苣酸合酶

Figure 3 Biosynthetic pathway of chicory acid^[45]. BAHD acyltransferases located in the cytoplasm, while SCPL acyltransferase located in the vacuole. C4H: cinnamate-4-hydroxylase; 4CL: 4-coumarate: CoA ligase; C3H: coumarate 3-hydroxylase; HCT: hydroxycinnamoyl-Coenzyme A: quinate/shikimate hydroxycinnamoyl transferase; EpHTT: hydroxycinnamoyl-CoA: tartaric acid hydroxycinnamoyl transferase from *Echinacea purpurea*; EpHQT: hydroxycinnamoyl-Coenzyme A: quinate hydroxycinnamoyl transferase from *Echinacea purpurea*; EpCAS: chicoric acid synthase from *Echinacea purpurea*

用于印染行业^[50]。目前, 紫草素类化合物主要来源于植物提取, 由于无节制采挖, 野生资源破坏严重, 人工种植难度较大, 导致紫草资源日益减少。解析紫草素生物合成途径, 利用合成生物学技术构建细胞工厂, 对摆脱植物资源依赖、减少环境破坏具有重要意义。

紫草素在植物中的合成以3-香叶基-对羟基苯甲酸(3-geranyl-*p*-hydroxybenzoic acid, GBA)为节点, 分为上游分支部分和下游核心部分^[47,51](图4)。焦磷酸香叶酯(geranyl pyrophosphate, GPP)和对羟基苯甲酸PHB是紫草素生物合成的前体, 它们经对羟基苯甲酸香叶基转移酶(*p*-hydroxybenzoate geranyltransferase, PGT)催化下生成GBA。GBA再经过氧化等一系列酶促反应, 在内质网中生成紫草素及其衍生物。生成的紫草素及其衍生物通过胞外分泌作用被运输到原生质体外的细胞壁中^[52]。目前, GPP和PHB的合成机制已经比较清晰, 催化GBA形成的关键酶PGT在紫草中已被鉴定^[53-55]。

近年来, 随着组学和合成生物学技术的发展, 下游合成途径的部分关键基因已被陆续鉴定。利用软紫草愈伤细胞的转录组基因表达差异分析, 发现CYP76B74催化香叶基对苯二酚(geranylhydroquinone, GHQ)3''位的羟基化生成GHQ-3''-OH^[56](图4)。此

外, 来源车前叶蓝莓的EpGHQH1以及硬紫草中的CYP76B100也被证实在催化GHQ香叶基C-3''位置的羟基化, 而CYP76B101则催化C-3''位发生多步氧化反应, 生成GHQ-3''-OH, GHQ-3''-CHO和GHQ-3''-COOH三个产物^[57,58], 为萘醌环形成机制解析提供参考(图4)。本实验室还发现可立体催化去氧紫草素生成紫草素及其对映体阿卡宁的P450酶新亚家族CYP82AR, 揭示紫草素最后一步催化过程^[59](图4)。蛋白质组学研究发现两种BAHD酰基转移酶LeSAT1和LeAAT1参与紫草素后修饰, 介导紫草素及对映体特异性酰基化, 形成乙酰紫草宁/阿卡宁、异丁酰紫草宁/阿卡宁和异戊酰紫草宁/阿卡宁^[60]。在多种紫草科植物中发现LeSAT1和LeAAT1同工酶, 这些酰基转移酶也可能参与紫草素短链酰基衍生物的生物合成^[61]。目前, 紫草素生物合成途径中由GBA到GHQ的脱羧羟化酶, 以及催化1,4-萘醌环形成的关键酶仍待挖掘。这些基因的克隆鉴定将为紫草素生物合成途径的进一步解析提供重要的线索。

1.5 香豆素的生物合成

香豆素, 别名邻氧萘酮, 是以苯并 α -吡喃酮为基本母核结构的一类化合物, 具有多种药理活性, 如抗癌、

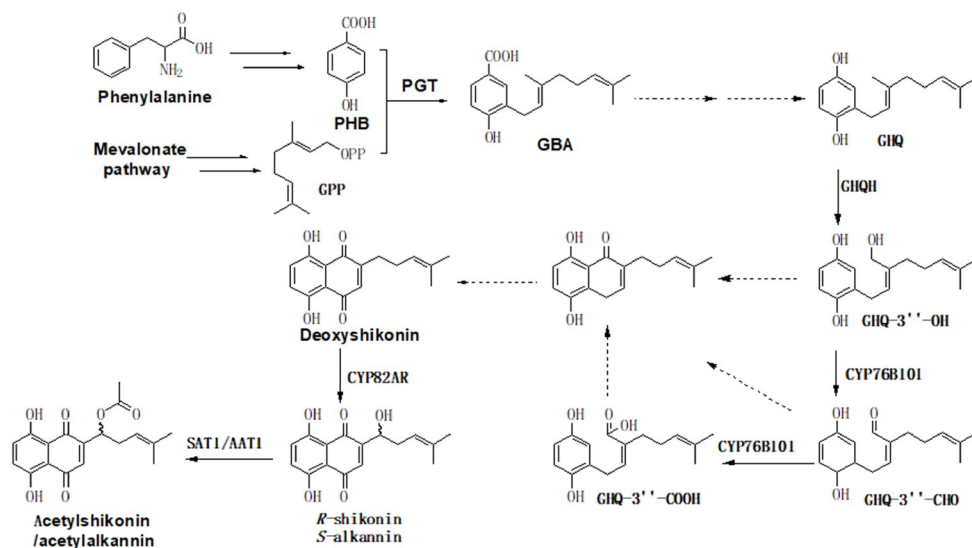


图4 推测的紫草素生物合成途径^[47,51]。实线箭头表示基因功能已经确认, 虚线箭头表示推测反应。GPP: 香叶基焦磷酸; PHB: 对羟基苯甲酸; GHQH: 香叶基对苯二酚3''羟化酶; GHQ-3''-OH: 3''-羟基-香叶基对苯二酚; GHQ-3''-CHO: 3''-醛基-香叶基对苯二酚; GHQ-3''-COOH: 3''-羧基-香叶基对苯二酚

Figure 4 Speculated biosynthetic pathway of shikonin^[47,51]. Solid arrows indicate that the gene function has been confirmed, and dashed arrows indicate a speculative reaction. GPP: geranylpyrophosphate, PHB: *p*-hydroxybenzoate acid, GHQH: geranylhydroquinone 3''-hydroxylase; GHQ-3''-OH: 3''-hydroxy-geranylhydroquinone; GHQ-3''-CHO: 3''-aldehyde-geranylhydroquinone; GHQ-3''-COOH: 3''-carboxyl-geranylhydroquinone

抗氧化、成骨、心脏保护、抗菌、抗寄生虫、抗高血糖、神经保护和抗血小板, 应用于医药、化妆品及农业领域。根据母核上的取代基及其位置的不同, 可以将香豆素分为简单香豆素, 呋喃香豆素和吡喃香豆素等。简单香豆素只在苯环上具有取代基, 鉴于苯环上的C6位电负荷性较高, 含氧取代基多出现在C6位。呋喃香豆素的呋喃环是由母核的C7位羟基和C6或C8位异戊烯基缩合而形成含氧的五元杂环。吡喃香豆素的吡喃环则是由母核的C7位羟基和C6或C8位异戊烯基缩合形成含氧的六元杂环吡喃环。根据呋喃/吡喃环与母体联合位置的不同分为线性与角型香豆素, C7位羟基与C6位异戊烯基缩合形成线性呋喃/吡喃香豆素, 而C7位羟基与C8位异戊烯基缩合则形成角型呋喃/吡喃香豆素^[62]。

植物中香豆素的生物合成始于苯丙氨酸。PAL催化苯丙氨酸转化为肉桂酸, 肉桂酸-4-羟化酶(cinnamate-4-hydroxylase, C4H)催化肉桂酸生成对香豆酸, 随后由4-香豆酸辅酶A连接酶(4-coumarate:辅酶A ligase, 4CL)催化生成香豆酰辅酶A。香豆酰辅酶A 2'羟化酶将香豆酰辅酶A转化为2,4-二羟基肉桂酰辅酶A, 自发内酯化, 形成伞形酮。此外, 香豆酸3位羟化生成咖啡酸, 进一步甲基化修饰后生成阿魏酸, 咖啡酸和阿魏酸在辅酶A连接酶作用下生成咖啡酰或阿魏酰辅酶A。咖啡酰或阿魏酰辅酶A可以2'羟化后自发内酯化生成对应的香豆素中间体七叶亭或东莨菪内酯^[63,64]。2019年Vanholme等人^[65]从拟南芥中筛选到一个香豆素合酶(coumarin synthase, COSY)可以催化2,4-二羟基肉桂酰辅酶A等生成伞形酮等简单香豆素类化合物, 对该类化合物的生物合成途径进行完善(图5)。

伞形酮通过异戊烯基不同位置的取代形成线性或角型香豆素前体。2021年Villard等人^[66]从桑科无花果树中鉴定一个氧化酶CYP76F112, 以6位异戊烯基化修饰的伞形酮(去甲基软木花椒素)为底物催化合成线性呋喃香豆素异紫花前胡内酯(图5)。2023年中国药科大学孔令义教授团队^[67]利用代谢组-转录组联合分析、系统进化分析、共表达分析等策略从白花前胡中挖掘并表征三条异戊烯基转移酶及两种新型环化酶, 阐明线型和角型呋喃/吡喃香豆素基本母核的生物合成机制(图5)。他们首先表征三条异戊烯基转移酶PpPT1-3, 以伞形酮为底物, PpPT1为6-异戊烯基转移酶, 只生成线性产物去甲基软木花椒素; PpPT2为8-异

戊烯基转移酶, 主要生成角型产物欧芹酚, 线性产物只有约1%; PpPT3主要生成线性产物, 同时对角型产物显示出约20%的活性。在此基础上, 通过基因共表达分析、真核体系异源表达并验证候选氧化酶功能, 成功鉴定两个新颖的CYP450环化酶PpDC(CYP736A360)与PpOC(CYP736A360)。PpDC催化线性前体关环生成相应的线性呋喃/吡喃香豆素, 而PpOC则催化角型前体关环生成相应的角型呋喃/吡喃香豆素。

2022年本实验室通过转录组测序、异源表达及体外酶活表征从蛇床中鉴定两个香豆素甲基转移酶CmOMT1和CmOMT2。CmOMT1催化欧芹酚甲基化生成蛇床子素, CmOMT2则对花椒毒酚显示出底物偏好性和较高的催化效率。同时CmOMT1和CmOMT2也能有效地催化佛手酚或8-羟基佛手柑内酯生成佛手柑或异茴芹内酯, 暗示CmOMTs可能参与线性呋喃香豆素合成过程中的多步甲基化修饰^[68](图5)。2022年Wu等人^[69]报道白花草木樨(*Melilotus albus*)染色体水平基因组组装结果, 并结合基因组学、混合群体分组分析法(bulked segregant analysis)、转录组学、代谢组学和生物化学, 鉴定一个有助于香豆素生物合成的 β -糖苷酶(β -glucosidase, BGLU)基因簇。2023年Duan等人^[70]在白花草木樨中鉴定一个转录因子MabHLH11, 与转录因子MaMYB4互作并能增强东莨菪苷的合成。

1.6 红景天苷的生物合成

红景天是传统藏药, 在中国及亚洲、欧洲等其他国家具有悠久药用历史。红景天苷是红景天主要活性成分之一, 主要存在于红景天植物的根茎中, 具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗衰老等多种生理活性, 广泛应用于医药及营养保健品行业^[71]。目前红景天苷主要来源于植物提取, 但红景天野生植物资源匮乏, 人工种植困难, 限制其研究与应用。

早期推测在红景天中, 红景天苷元酪醇由酪氨酸依次通过脱羧、氧化脱氨基和醛还原反应产生, 分别由酪氨酸脱羧酶(tyrosine decarboxylase, TyDC)、单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)和4-羟基苯乙醛还原酶(4-hydroxyphenylacetaldehyde synthase, 4HPAR)催化。然后酪醇在其8-羟基基团处被区域特异性尿苷二磷酸-糖基转移酶(UDP-glycosyltransferases, UGT)葡萄糖基化产生红景天苷(图6)。Lan等人^[72]通过茉莉酸甲酯MeJA处理大花红景天毛状根培养物, 诱导

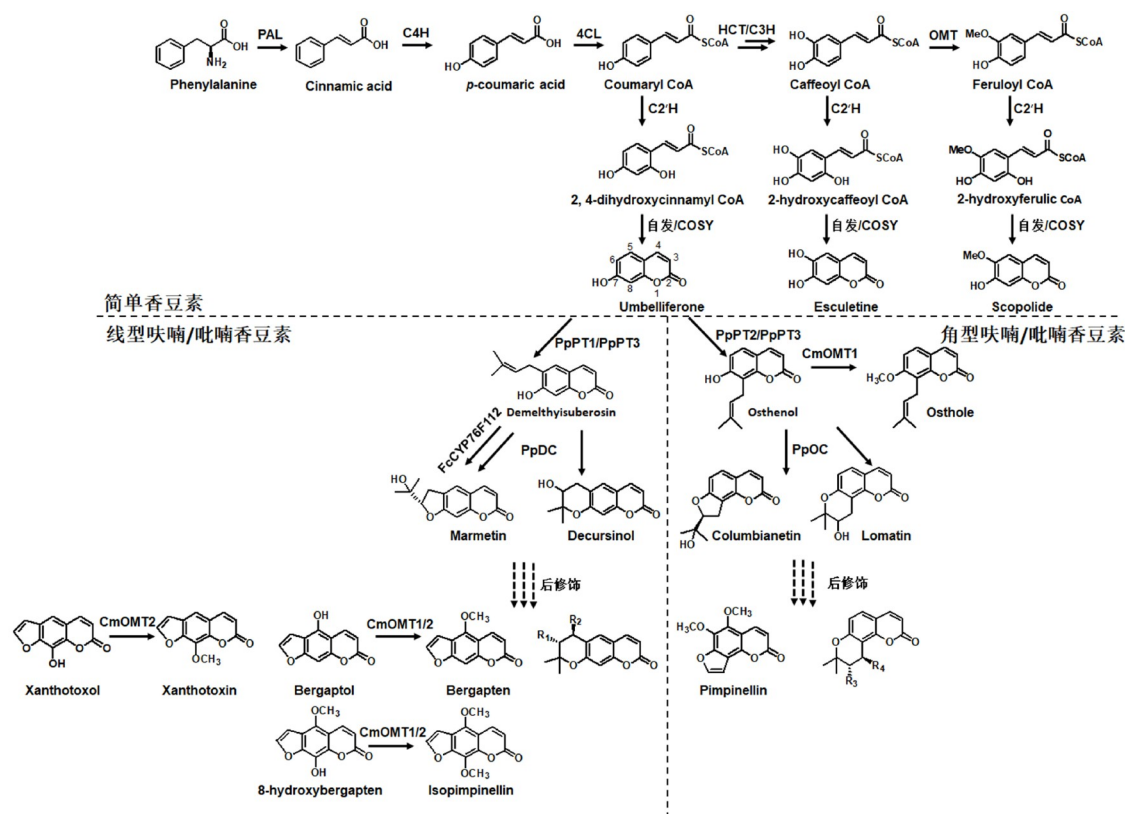


图5 香豆素类生物合成途径^[65-68]。左侧所示线型呋喃/吡喃香豆素合成途径, 右侧所示角型呋喃/吡喃香豆素合成途径。OMT: *O*-甲基转移酶; C2'H: 香豆酰辅酶A 2'-羟化酶; PpPT1: 伞形酮6-异戊烯基转移酶; PpPT2: 伞形酮8-异戊烯基转移酶; PpPT3: 伞形酮6/8-异戊烯基转移酶; PpDC: 去甲基软木花椒素环化酶; PpOC: 欧芹酚环化酶; CmOMT1/2: 蛇床*O*-甲基转移酶1/2; R1~R4 代表不同取代基团

Figure 5 Biosynthetic pathway of coumarins^[65-68]. The linear furan/pyran coumarin synthesis pathway shown in the left, and the angular furan/pyran coumarin synthesis pathway shown in the right. OMT: *O*-methyltransferase; C2'H: *p*-coumaroyl CoA 2'-hydroxylase; PpPT1: umbelliferone 6-prenyltransferase (U6PT); PpPT2: umbelliferone 8-prenyltransferase (U8PT); PpPT3: umbelliferone 6/8-prenyltransferase (U6,8PT); PpDC: demethylsuberosin cyclase; PpOC: osthenol cyclase; CmOMT1/2: *O*-methyltransferase 1/2 from *Cnidium monnieri*; R1~R4 represent different substituent groups

RcTyDC基因表达, 提高酪胺、酪醇和红景天苷的产量。Zhang等人^[73]在红景天中发现一个酪氨酸脱羧酶RsTyrDC, 过表达该基因提高酪醇和红景天苷的含量; 当抑制该基因表达时, 酪醇和红景天苷的含量降低。但是迄今为止, 该推测途径中只有来源于大花红景天的酪氨酸脱羧酶基因RcTyDC, 被重组表达和实验验证^[71]。

2018年美国麻省理工学院翁经科研究团队^[74]解析玫瑰红景天中的红景天苷合成通路。该团队鉴定一个磷酸吡哆醛依赖型4-羟基苯乙醛合酶(4-hydroxy-phenylacetaldehyde synthase, 4HPAAS), 该酶可以催化酪氨酸直接转化为4-羟基苯乙醛, 然后经4HPAR还原生成酪醇。该团队同时鉴定几个具有区域选择性的

UGTs, 分别催化酪醇8-羟基或4-羟基糖基化生成红景天苷或淫羊藿次苷D2(图6)。酪醇也可以通过酿酒酵母的埃里希途径(Ehrlich pathway)以酪氨酸为底物依次经由氨基转移酶、丙酮酸脱羧酶和醇脱氢酶的催化生成。2014年本实验室在大肠杆菌中引入来自酿酒酵母的丙酮酸脱羧酶ARO10和高山红景天的糖基转移酶UGT73B6, 首次实现红景天苷的从头合成^[75]。目前红景天苷在大肠杆菌及酿酒酵母等异源宿主中已实现高效合成^[75,76]。

1.7 毛蕊花糖苷的生物合成

毛蕊花糖苷又名麦角甾苷, 其结构由咖啡酸、羟基酪醇、葡萄糖以及C3位修饰的鼠李糖组成, 具有抗

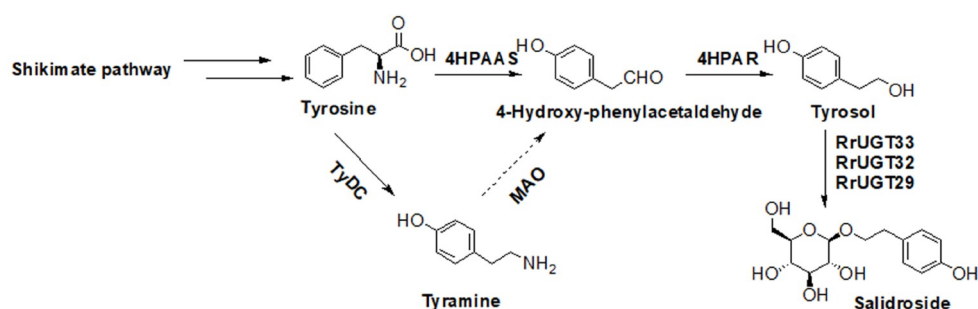


图6 红景天苷的生物合成途径^[74]. 实线箭头表示基因功能已经确认, 虚线箭头表示推测反应. RrUGTs: 葡萄糖基转移酶

Figure 6 Biosynthetic pathway of salidroside^[74]. Solid arrows indicate that the gene function has been confirmed, and dashed arrows indicate a speculative reaction. RrUGTs: glucosyltransferase from *Rhodiola rosea*

炎、抗菌、抑制HIV-1逆转录酶、抗肿瘤和抗氧化等作用, 对神经系统损伤修复、消化系统调节、免疫系统调节等具有重要作用, 是苯乙醇苷类(phenylethanols, PhGs)中的明星分子, 在新药开发领域具有巨大潜力和经济价值^[77]. 目前毛蕊花糖苷主要来源于肉苁蓉和地黄等植物提取. 但天然药用植物资源有限, 种植周期长, 毛蕊花糖苷含量较低、提取工艺复杂, 大大限制毛蕊花糖苷的研发和应用. 相继有研发团队实现毛蕊花糖苷的化学合成^[78-81], 但化学合成需要同时涉及糖基和咖啡酸基团的保护和脱保护等, 路线较长, 效率低, 不适合工业生产.

毛蕊花糖苷的生物合成一直是研究领域的热点. 毛蕊花糖苷的生物合成砌块包括羟基酪醇和UDP-葡萄糖、咖啡酸和UDP-鼠李糖. 前期同位素示踪实验表明苯丙氨酸依次转化为肉桂酸、对香豆酸、咖啡酸, 进而形成咖啡酰基团; 而酪氨酸通过“酪胺/多巴胺途径”形成羟基酪醇基团^[82,83]. 植物中咖啡酰辅酶A的生物合成起始于苯丙氨酸^[84,85]: 苯丙氨酸在PAL作用下生成肉桂酸, 在CYP73A亚家族的细胞色素P450家族单加氧酶C4H作用下生成对香豆酸, 4CL催化香豆酸生成香豆酰辅酶A, 随后BAHD酰基转移酶家族的对香豆酰基: 莽草酰基转移酶(hydroxycinnamoyl-CoA: quinate/shikimate hydroxycinnamoyl transferase, HCT)催化对香豆酰基和莽草酸缩合, 形成对香豆酰莽草酸, CYP98A亚家族P450氧化酶(coumarate 3-hydroxylase, C3H)催化苯环的间位羟化形成咖啡酰莽草酸, 最后再次通过HCT催化的逆反应, 以咖啡酰莽草酸和辅酶A为底物, 形成咖啡酰辅酶A和莽草酸^[86,87].

2021年本实验室选择含有丰富PhGs的植物粗壮女贞为研究对象, 通过差异表达、进化树分析和生化

反应等研究毛蕊花糖苷的糖基化过程. 葡萄糖基转移酶UGT85AF8可以催化酪醇生成红景天苷; 鼠李糖基转移酶UGT79G7可以催化桂叶苷A生成桂叶苷B; 并且在多种植物中发现UGT79G7的同源基因, 体外酶活测试发现这些同源基因催化活性相同, 表明UGT79G7及其同源基因负责的糖基化反应在植物PhGs的合成过程中发挥重要作用; 鼠李糖基转移酶UGT79A19能够进一步催化桂叶苷B生成紫荆女贞苷B(图7). 这些酶的功能鉴定不仅为PhGs生物合成解析提供参考, 而且为PhGs微生物重组合成提供功能元件^[88]. 该研究首次从分子水平和酶学水平报道复杂PhGs天然产物的生物合成.

2023年本实验室对芝麻、红花钓钟柳等产生毛蕊花糖苷的植物进行转录组测序, 结合上文的粗壮女贞和文献报道的地黄转录组数据, 经过差异表达分析、共表达分析及体外酶促反应验证, 筛选到一组在这些物种中保守地参与毛蕊花糖苷生物合成的BAHD酰基转移酶SiAT1/PbAT1/LrAT1/RgAT1(hydroxycinnamoyl-CoA: salidroside hydroxycinnamoyltransferase, SHCT), 可以红景天苷和香豆酰辅酶A为底物生成桂叶苷A^[89]; 一组CYP450 98A家族基因SiCYP98A20/PbCY-P98A192/LrCYP98A194/RgCYP98A193/OeCY-P98A167(osmanthuside B 3,3'-hydroxylase, OBH), 可以催化桂叶苷B结构中对香豆酰和酪醇基团的羟化反应, 连续两步氧化反应将桂叶苷B转化成毛蕊花糖苷^[89](图7). 进一步在大肠杆菌中创建前体红景天苷、对香豆酸的人工合成通路, 引入本研究发现的鼠李糖基转移酶、酰基转移酶SHCTs、N-末端修饰羟化酶OBH突变体2C3-CYP98A20Δ27, 并在发酵培养基中添加5-氨基乙酰丙酸, 最终在大肠杆菌中合成2.32 mg/L毛蕊

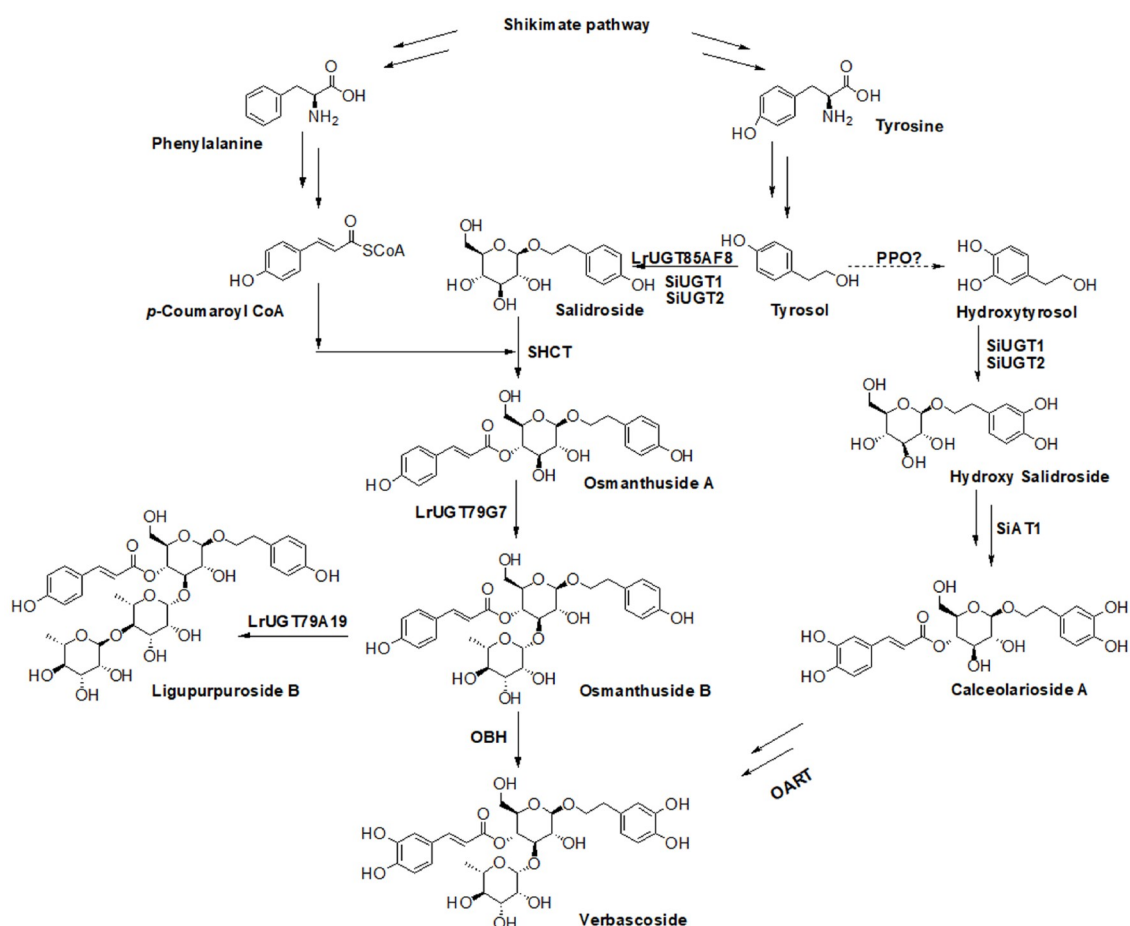


图 7 毛蕊花糖苷生物合成途径^[88-90]. SHCT: 羟基肉桂酰辅酶A: 羟基肉桂酰基转移酶; OBH: 桂叶苷B 3,3'-羟化酶; SiUGTs \LrUGT85AF8: 葡萄糖基转移酶; LrUGT79G7/LrUGT79A19/OART: 鼠李糖基转移酶; PPO: 多酚氧化酶; SiAT1: 酰基转移酶

Figure 7 Biosynthetic pathway of verbascoside^[88-90]. SHCT: hydroxycinnamoyl-CoA: salidroside hydroxycinnamoyltransferase; OBH: osmanthuside B 3,3'-hydroxylase; SiUGTs \LrUGT85AF8: glucosyltransferases; LrUGT79G7/LrUGT79A19/OART: rhamnosyltransferase; PPO: polyphenol oxidase; SiAT1: acyltransferases

花糖苷^[89]. 该研究是复杂PhGs生物合成的重要进展, 为微生物合成毛蕊花糖苷等中药活性成分奠定基础.

2023年5月日本理化研究所团队^[90]从芝麻培养细胞中筛选到2个葡萄糖基转移酶SiUGT1(UGT85AF10), SiUGT2(UGT85AF11)和一个酰基转移酶SiAT1, 通过体外生化实验表征发现糖基转移酶催化酪醇以及羟基酪醇, 分别生成红景天苷及羟基红景天苷; 酰基转移酶能催化羟基红景天苷以及咖啡酰辅酶A生成木通苯乙醇苷A.

2 展望

苯丙素类是植物天然产物中的重要类型, 具有多

种生理活性, 在营养保健、医药、化妆品等领域有广阔的应用前景. 然而, 植物中绝大部分苯丙素类天然产物其合成途径迄今尚不清楚. 解析苯丙素类天然产物生物合成机制将为植物中目标化合物的合成调控, 异源高效合成提供关键基因资源与可行途径. 本文综述苯甲醛、水杨酸、菊苣酸、紫草素、香豆素、红景天苷、毛蕊花糖苷等部分代表性植物苯丙素类天然产物的生物合成研究最新进展.

随着组学技术的快速发展, 可以预测越来越多的具有重要价值的植物苯丙素类天然产物的合成机制将得到解析. 由于植物基因组庞大、候选基因众多, 基因组学、转录组学、代谢组学、蛋白质组学等多组学结合分析将广泛应用于植物活性成分生物合成途径的解

析及候选基因的筛选. 随着技术的发展, 如高通量自动化的基因克隆与功能验证、计算机模拟和人工智能辅助的功能预测及虚拟筛选等技术的开发与应用将大大推动植物天然产物合成途径解析的研究.

红景天苷、天麻素等多个苯丙素类天然产物已经实现高效微生物合成, 具备替代植物提取的潜力,

进入产业化实施阶段. 研究者相信不久的将来, 在植物学、化学、酶学、合成生物学、计算生物学等各个领域的努力下, 会有更多的苯丙素类天然化合物途径得到解析, 实现高效微生物制造达到工业生产水平, 部分替代中药活性成分等天然产物的植物提取和化学合成.

参考文献

- 1 Zhou R H. Plant Chemotaxono (in Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1985 [周荣汉. 药用植物化学分类学. 上海: 上海科学技术出版社, 1985]
- 2 Yao X S. Natural Pharmaceutical Chemistry (in Chinese). Beijing: People's Medical Publishing House, 1995 [姚新生. 天然药物化学. 北京: 人民卫生出版社, 1995]
- 3 Pennacchio M, Alexander E, Syah Y M, et al. The effect of verbascoside on cyclic 3',5'-adenosine monophosphate levels in isolated rat heart. *Eur J Pharmacol*, 1996, 305: 169–171
- 4 Ji L, Zheng Y, Zhou H, et al. Differentiation of human gastric adenocarcinoma cell line MGc80-3 induced by verbascoside. *Planta Med*, 1997, 63: 499–502
- 5 Inoue M, Sakuma Z, Ogihara Y, et al. Induction of apoptotic cell death in HL-60 cells by acteoside, a phenylpropanoid glycoside. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21: 81–83
- 6 Rao Y K, Lien H M, Lin Y H, et al. Antibacterial activities of Anisomeles indica constituents and their inhibition effect on *Helicobacter pylori*-induced inflammation in human gastric epithelial cells. *Food Chem*, 2012, 132: 780–787
- 7 He Z D, Lau K M, But P P H, et al. Antioxidative glycosides from the leaves of *Ligustrum robustum*. *J Nat Prod*, 2003, 66: 851–854
- 8 Suo M, Ohta T, Takano F, et al. Bioactive phenylpropanoid glycosides from *tabebuia avellanedae*. *Molecules*, 2013, 18: 7336–7345
- 9 Leporini L, Menghini L, Foddai M, et al. Antioxidant and antiproliferative activity of *Stachys glutinosa* L. ethanol extract. *Nat Product Res*, 2015, 29: 899–907
- 10 Kernan M R, Amarquaye A, Chen J L, et al. Antiviral phenylpropanoid glycosides from the medicinal plant *Markhamia lutea*. *J Nat Prod*, 1998, 61: 564–570
- 11 Zhu Z, Chen R, Zhang L. Simple phenylpropanoids: recent advances in biological activities, biosynthetic pathways, and microbial production. *Nat Prod Rep*, 2024, 41: 6–24
- 12 Li X J, Bao A K. Advances in biosynthesis and metabolic engineering of isoflavones (in Chinese). *Plant Phys J*, 2023, 59: 2241–2254 [李笑佳, 包爱科. 异黄酮的生物合成及代谢工程研究进展. 植物生理学报, 2023, 59: 2241–2254]
- 13 Zhu S M, Zheng M M, Tian T, et al. Research progress on plant secondary metabolism and regulation (in Chinese). *Plant Phys J*, 2023, 59: 2188–2216 [朱三明, 郑敏敏, 田恬, 等. 植物次生代谢途径与调控研究进展. 植物生理学报, 2023, 59: 2188–2216]
- 14 Yadav G D, Haldavanekar B V. Mechanistic and kinetic investigation of liquid-liquid phase transfer catalyzed oxidation of benzyl chloride to benzaldehyde. *J Phys Chem A*, 1997, 101: 36–48
- 15 Héberger K, Németh A, Cotarca L, et al. Principal component analysis of data on the catalytic oxidation of toluene. *Appl Catal A Gen*, 1994, 119: L7–L12
- 16 Moerkercke A V, Schauvinhold I, Pichersky E, et al. A plant thiolase involved in benzoic acid biosynthesis and volatile benzenoid production. *Plant J*, 2009, 60: 292–302
- 17 Colquhoun T A, Marciniak D M, Wedde A E, et al. A peroxisomally localized acyl-activating enzyme is required for volatile benzenoid formation in a *Petunia×hybrida* cv. 'Mitchell Diploid' flower. *J Exp Bot*, 2012, 63: 4821–4833
- 18 Klempien A, Kaminaga Y, Qualley A, et al. Contribution of CoA ligases to benzenoid biosynthesis in petunia flowers. *Plant Cell*, 2012, 24: 2015–2030
- 19 Qualley A V, Widhalm J R, Adebisi F, et al. Completion of the core β -oxidative pathway of benzoic acid biosynthesis in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 16383–16388

- 20 Huang X Q, Li R, Fu J, et al. A peroxisomal heterodimeric enzyme is involved in benzaldehyde synthesis in plants. *Nat Commun*, 2022, 13: 1352
- 21 Negishi O, Negishi Y. Phenylpropanoid 2,3-dioxygenase involved in the cleavage of the ferulic acid side chain to form vanillin and glyoxylic acid in *Vanilla planifolia*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2017, 81: 1732–1740
- 22 Saini S S, Teotia D, Gaid M, et al. A new enzymatic activity from elicitor-treated pear cell cultures converting *trans*-cinnamic acid to benzaldehyde. *Physiol Plantarum*, 2019, 167: 64–74
- 23 Abd El-Mawla A, Beerhues L. Benzoic acid biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum*. *Planta*, 2002, 214: 727–733
- 24 Rivas-San Vicente M, Plasencia J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *J Exp Bot*, 2011, 62: 3321–3338
- 25 Pasternak T, Groot E P, Kazantsev F V, et al. Salicylic acid affects root meristem patterning via auxin distribution in a concentration-dependent manner. *Plant Physiol*, 2019, 180: 1725–1739
- 26 Lee S, Kim S, Park C. Salicylic acid promotes seed germination under high salinity by modulating antioxidant activity in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 2010, 188: 626–637
- 27 van Butselaar T, Van den Ackerveken G. Salicylic acid steers the growth-immunity tradeoff. *Trends Plant Sci*, 2020, 25: 566–576
- 28 Weissmann G. Aspirin. *Sci Am*, 1991, 264: 84–90
- 29 Cuzick J, Thorat M A, Bosetti C, et al. Estimates of benefits and harms of prophylactic use of aspirin in the general population. *Ann Oncol*, 2015, 26: 47–57
- 30 Dachineni R, Kumar D R, Callegari E, et al. Salicylic acid metabolites and derivatives inhibit CDK activity: novel insights into aspirin's chemopreventive effects against colorectal cancer. *Int J Oncol*, 2017, 51: 1661–1673
- 31 Arif T. Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review. *CCID*, 2015, 8: 455–461
- 32 Torrens-Spence M P, Bobokalonova A, Carballo V, et al. PBS3 and EPS1 complete salicylic acid biosynthesis from isochorismate in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2019, 12: 1577–1586
- 33 Rekhter D, Lüdke D, Ding Y, et al. Isochorismate-derived biosynthesis of the plant stress hormone salicylic acid. *Science*, 2019, 365: 498–502
- 34 Ding P, Ding Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone. *Trends Plant Sci*, 2020, 25: 549–565
- 35 Ribnicky D M, Shulaev V, Raskin I. Intermediates of salicylic acid biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol*, 1998, 118: 565–572
- 36 Wu J, Zhu W, Zhao Q. Salicylic acid biosynthesis is not from phenylalanine in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 2023, 65: 881–887
- 37 Xie F, Dai S, Shen J, et al. A new salicylate synthase AmS is identified for siderophores biosynthesis in *Amycolatopsis methanolica* 239T. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99: 5895–5905
- 38 Zhang M, Liu C, Xi D, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for high-level production of salicin. *ACS Omega*, 2022, 7: 33147–33155
- 39 Clifford M N, Jaganath I B, Ludwig I A, et al. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Nat Prod Rep*, 2017, 34: 1391–1421
- 40 Robinson Jr W E, Reinecke M G, Abdel-Malek S, et al. Inhibitors of HIV-1 replication that inhibit HIV integrase.. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 6326–6331
- 41 Peng Y, Sun Q, Park Y. The bioactive effects of chicoric acid as a functional food ingredient. *J Med Food*, 2019, 22: 645–652
- 42 Smith T, May G, Eckl V, et al. US sales of herbal supplements increase by 8.6% in 2019. *HerbalGram*, 2020, 127: 54–69
- 43 Hohlfeld M, Veit M, Strack D. Hydroxycinnamoyltransferases involved in the accumulation of caffeic acid esters in gametophytes and sporophytes of *equisetum arvense*. *Plant Physiol*, 1996, 111: 1153–1159
- 44 Sullivan M L. Perennial peanut (*Arachis glabrata* Benth.) leaves contain hydroxycinnamoyl-CoA: tartaric acid hydroxycinnamoyl transferase activity and accumulate hydroxycinnamoyl-tartaric acid esters. *Planta*, 2014, 239: 1091–1100
- 45 Fu R, Zhang P, Jin G, et al. Versatility in acyltransferase activity completes chicoric acid biosynthesis in purple coneflower. *Nat Commun*, 2021, 12: 1563
- 46 Bontpart T, Cheynier V, Ageorges A, et al. BAHD or SCPL acyltransferase? What a dilemma for acylation in the world of plant phenolic compounds. *New Phytol*, 2015, 208: 695–707
- 47 Yadav S, Sharma A, Nayik G A, et al. Review of shikonin and derivatives: isolation, chemistry, biosynthesis, pharmacology and toxicology. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 905755
- 48 Liao M, Wu L F, Jing H L. Reviews on natural quinones and their bioactivities of medicinal Zicao (in Chinese). *Nat Prod Res Dev*, 2020, 32: 694–707 [廖梅, 吴凌凤, 姜宏梁. 药用紫草醌类化合物及其药理活性研究进展. *天然产物研究与开发*, 2020, 32: 694–707]
- 49 Ding Y F, Li X L, Liu G B, et al. Quality control of arnebia euchroma in Zizhu ointment (in Chinese). *Chin J Inform Tradit Chin Med*, 2015, 22:

- 77–80 [丁叶芳, 李西林, 柳国斌, 等. 紫朱软膏中紫草的质量控制. 中药研究与开发, 2015, 22: 77–80]
- 50 Liu H L, Liu Y, Wang X F. Research progress of shikonin as a natural pigment in textile printing and dyeing field (in Chinese). *Knitting Ind*, 2018, 10: 41–44 [刘海灵, 刘媛, 王香凤. 天然紫草素在纺织印染领域的研究进展. 印染技术, 2018, 10: 41–44]
- 51 Lin H, Wang X, He C, et al. Progress on biosynthesis and function of the natural products of Zi Cao as a traditional Chinese medicinal herb. *Hereditas*, 2021, 43: 459–472
- 52 Takanashi K, Nakagawa Y, Aburaya S, et al. Comparative proteomic analysis of *Lithospermum erythrorhizon* reveals regulation of a variety of metabolic enzymes leading to comprehensive understanding of the shikonin biosynthetic pathway. *Plant Cell Physiol*, 2019, 60: 19–28
- 53 Mühlenweg A, Melzer M, Li S M, et al. 4-Hydroxybenzoate 3-geranyltransferase from *Lithospermum erythrorhizon*: purification of a plant membrane-bound prenyltransferase. *Planta*, 1998, 205: 407–413
- 54 Auber R P, Suttiyut T, McCoy R M, et al. Hybrid de novo genome assembly of red gromwell (*Lithospermum erythrorhizon*) reveals evolutionary insight into shikonin biosynthesis. *Hortic Res*, 2020, 7: 82
- 55 Wang S, Shi L, Wang R, et al. Characterization of *Arnebia euchroma* PGT homologs involved in the biosynthesis of shikonin. *Plant Physiol Biochem*, 2023, 196: 587–595
- 56 Wang S, Wang R, Liu T, et al. CYP76B74 catalyzes the 3''-hydroxylation of geranylhydroquinone in shikonin biosynthesis. *Plant Physiol*, 2019, 179: 402–414
- 57 Fu J, Lu G, Yang M, et al. Cloning and functional analysis of *EpGHQHI* in shikonin production of *Echium plantagineum*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2021, 144: 533–543
- 58 Song W, Zhuang Y, Liu T. Potential role of two cytochrome P450s obtained from *Lithospermum erythrorhizon* in catalyzing the oxidation of geranylhydroquinone during Shikonin biosynthesis. *Phytochemistry*, 2020, 175: 112375
- 59 Song W, Zhuang Y, Liu T. CYP82AR subfamily proteins catalyze C-1' hydroxylations of deoxyshikonin in the biosynthesis of shikonin and alkannin. *Org Lett*, 2021, 23: 2455–2459
- 60 Oshikiri H, Watanabe B, Yamamoto H, et al. Two BAHD acyltransferases catalyze the last step in the Shikonin/alkannin biosynthetic pathway. *Plant Physiol*, 2020, 184: 753–761
- 61 Oshikiri H, Li H, Manabe M, et al. Comparative analysis of shikonin and alkannin acyltransferases reveals their functional conservation in boraginaceae. *Plant Cell Physiol*, 2024, 65: 362–371
- 62 Wang R X, Song J, Sun B, et al. Research progress of function and biosynthesis of coumarins (in Chinese). *China Biotechnol*, 2022, 42: 79–90 [王荣香, 宋佳, 孙博, 等. 香豆素类化合物功能及生物合成研究进展. 中国生物工程杂志, 2022, 42: 79–90]
- 63 Zhao Y, Jian X, Wu J, et al. Elucidation of the biosynthesis pathway and heterologous construction of a sustainable route for producing umbelliferone. *J Biol Eng*, 2019, 13: 44
- 64 Rodrigues J L, Rodrigues L R. Biosynthesis and heterologous production of furanocoumarins: perspectives and current challenges. *Nat Prod Rep*, 2021, 38: 869–879
- 65 Vanholme R, Sundin L, Seetso K C, et al. COSY catalyses trans-cis isomerization and lactonization in the biosynthesis of coumarins. *Nat Plants*, 2019, 5: 1066–1075
- 66 Villard C, Munakata R, Kitajima S, et al. A new P450 involved in the furanocoumarin pathway underlies a recent case of convergent evolution. *New Phytol*, 2021, 231: 1923–1939
- 67 Zhao Y, He Y, Han L, et al. Two types of coumarins-specific enzymes complete the last missing steps in pyran- and furanocoumarins biosynthesis. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14: 869–880
- 68 Zhang Y, Bai P, Zhuang Y, et al. Two *O*-methyltransferases mediate multiple methylation steps in the biosynthesis of coumarins in *Cnidium monnieri*. *J Nat Prod*, 2022, 85: 2116–2121
- 69 Wu F, Duan Z, Xu P, et al. Genome and systems biology of *Melilotus albus* provides insights into coumarins biosynthesis. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20: 592–609
- 70 Duan Z, Wang S, Zhang Z, et al. The MabHLH11 transcription factor interacting with MaMYB4 acts additively in increasing plant scopolin biosynthesis. *Crop J*, 2023, 11: 1675–1685
- 71 Ma L Q, Liu C M, Yu H S, et al. Salidroside biosynthesis pathway: the initial reaction and glycosylation of tyrosol (in Chinese). *Chin J Biotechnol*, 2012, 28: 282–294 [马兰青, 柳春梅, 于寒松, 等. 红景天甙生物合成途径: 酪醇合成的起始反应及其糖基化. 生物工程学报, 2012, 28: 282–294]

- 72 Lan X, Chang K, Zeng L, et al. Engineering salidroside biosynthetic pathway in hairy root cultures of *rhodiola crenulata* based on metabolic characterization of tyrosine decarboxylase. *PLoS ONE*, 2013, 8: e75459
- 73 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*. *Plant Cell Rep*, 2011, 30: 1443–1453
- 74 Torrens-Spence M P, Pluskal T, Li F S, et al. Complete pathway elucidation and heterologous reconstitution of *rhodiola* salidroside biosynthesis. *Mol Plant*, 2018, 11: 205–217
- 75 Bai Y, Bi H, Zhuang Y, et al. Production of salidroside in metabolically engineered *Escherichia coli*. *Sci Rep*, 2014, 4: 6640
- 76 Bi H P, Liu X N, Li Q Y, et al. Advances in microbial synthesis of plant natural products (in Chinese). *Chin J Biotechnol*, 2022, 38: 4263–4282 [毕慧萍, 刘晓楠, 李清艳, 等. 植物天然产物微生物重组合成研究进展. *生物工程学报*, 2022, 38: 4263–4282]
- 77 Tian X Y, Li M X, Lin T, et al. A review on the structure and pharmacological activity of phenylethanoid glycosides. *Eur J Med Chem*, 2021, 209: 112563
- 78 Duynstee H I, de Koning M C, Ovaa H, et al. Synthesis of verbascoside: a dihydroxyphenylethyl glycoside with diverse bioactivity. *Eur J Org Chem*, 1999, 10: 2623–2632
- 79 Kawada T, Asano R, Hayashida S, et al. Total synthesis of the phenylpropanoid glycoside, acteoside. *J Org Chem*, 1999, 64: 9268–9271
- 80 Zhang X, Yang Y, Wang F, et al. An approach to the synthesis of electron-rich and hindered esters and its application to the synthesis of acteoside. *Org Lett*, 2021, 23: 9210–9215
- 81 Hu Z F, Xu P, Yu B. A new approach to the synthesis of acteoside (in Chinese). *Chin J Org Chem*, 2020, 40: 3439–3445 [胡志飞, 徐鹏, 俞飏. 一条合成毛蕊花苷的新路线. *有机化学*, 2020, 40: 3439–445]
- 82 Alipieva K, Korkina L, Orhan I E, et al. Verbascoside—a review of its occurrence, (bio)synthesis and pharmacological significance. *Biotechnol Adv*, 2014, 32: 1065–1076
- 83 Zhai J Y, Cheng X, Sun Z M, et al. Current advances in biosynthesis of acteoside (in Chinese). *China Biotechnol*, 2021, 41: 94–104 [翟君叶, 成旭, 孙泽敏, 等. 毛蕊花糖苷的生物合成研究进展. *中国生物工程杂志*, 2021, 41: 94–104]
- 84 Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol*, 2001, 126: 485–493
- 85 Vanholme R, de Meester B, Ralph J, et al. Lignin biosynthesis and its integration into metabolism. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, 56: 230–239
- 86 Hoffmann L, Maury S, Martz F, et al. Purification, cloning, and properties of an acyltransferase controlling shikimate and quinate ester intermediates in phenylpropanoid metabolism. *J Biol Chem*, 2003, 278: 95–103
- 87 Schoch G, Goepfert S, Morant M, et al. CYP98A3 from *Arabidopsis thaliana* is a 3'-hydroxylase of phenolic esters, a missing link in the phenylpropanoid pathway. *J Biol Chem*, 2001, 276: 36566–36574
- 88 Yang Y, Wu Y, Zhuang Y, et al. Discovery of glycosyltransferases involved in the biosynthesis of ligupurpurosides B. *Org Lett*, 2021, 23: 7851–7854
- 89 Yang Y, Xi D, Wu Y, et al. Complete biosynthesis of the phenylethanoid glycoside verbascoside. *Plant Commun*, 2023, 4: 100592
- 90 Fuji Y, Uchida K, Akashi T, et al. Molecular identification of UDP-sugar-dependent glycosyltransferase and acyltransferase involved in the phenylethanoid glycoside biosynthesis induced by methyl jasmonate in *Sesamum indicum* L. *Plant Cell Physiol*, 2023, 64: 716–728

Research progress on the biosynthesis of plant phenylpropanoids

LI KaiWei^{1,2}, ZHUANG YiBin^{2,3,4}, TANG Jun^{2,4}, FAN XiaoGuang¹, BI HuiPing^{2,3,4*} & LIU Tao^{2,3,4*}

¹ College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

² Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

³ Key Laboratory of Engineering Biology for Low-carbon Manufacturing, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

⁴ National Center of Technology Innovation for Synthetic Biology, Tianjin 300308, China

* Corresponding authors, E-mail: bi_hp@tib.cas.cn; liu_t@tib.cas.cn

Phenylpropanoids are important natural plant products with various physiological activities and have broad prospects for application in fields such as nutrition, healthcare, medicine, and cosmetics. However, the biosynthetic pathways of most of the phenylpropanoid natural plant products have not been fully elucidated, which is restricting research on them and their applications. The rapid development of multiomics technologies, such as genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics, has facilitated the elucidation of plant secondary metabolite biosynthetic pathways. Elucidation of the biosynthetic mechanisms of plant phenylpropanoids will reveal key gene elements and enable the design of feasible ways for metabolic engineering and heterologous synthesis of target compounds. This article reviews the latest research progress in the biosynthesis of plant phenylpropanoids (excluding flavonoids), with a focus on some typical phenylpropanoids compounds, such as benzaldehyde, salicylic acid, chicoric acid, shikonin, coumarin, salidroside and verbascoside. Moreover, the review includes the application of multiomics analysis and other technologies in biosynthetic pathway analysis of plant phenylpropanoids, as well as the industrial application prospects of microbial synthesis of valuable phenylpropanoids. This review will provide a reference for elucidating biosynthetic pathways and heterologous synthesis of plant phenylpropanoids.

plant natural products, phenylpropanoids, biosynthesis

doi: [10.1360/SSV-2024-0029](https://doi.org/10.1360/SSV-2024-0029)