

评述与展望

Reviews and Progress

植物黄酮葡萄糖苷酸衍生物生物合成与调控分子机理

刘毅[✉], 杨生超[✉], 陈军文[✉], 张广辉[✉]

云南农业大学, 云南省优势中药材规范化种植工程研究中心, 昆明, 650201

✉通讯作者: zgh73107310@163.com; ✉作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 13 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0013

收稿日期: 2012 年 03 月 05 日

接受日期: 2012 年 03 月 29 日

发表日期: 2012 年 04 月 27 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

刘毅等, 2012, 植物黄酮葡萄糖苷酸衍生物生物合成与调控分子机理, 分子植物育种(online) Vol.10 No.13 pp.1097-1103 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0013)

引用格式(英文):

Liu et al., 2012, Molecular Mechanism of Biosynthesis and Regulation of Flavone Glucuronide Derivatives in Plants, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.13 pp.1097-1103 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0013)

摘要 植物黄酮葡萄糖苷酸衍生物黄芩苷和野黄芩苷(灯盏乙素)等是药用植物黄芩(*Scutellaria baicalensis*)、灯盏花(*Erigeron breviscapus*)等的主要功能成分, 专一地存在于马鞭草科、唇形科、玄参科和车前草科(同属于唇形目)以及菊科等植物体内, 具有重要的药用价值。近年来, 相关研究集中于唇形目植物黄酮葡萄糖苷酸衍生物合成途径中关键酶基因的克隆、功能与表达分析。类黄酮 7-O-葡萄糖醛酸转移酶(flavonoid 7-O-glucuronosyltransferase, F7GAT)催化黄酮与 UDPGA (UDP-葡萄糖醛酸, UDP-glucuronic acid)合成黄酮葡萄糖苷酸衍生物。最新研究发现, 唇形目植物 F7GAT 糖供体特异性的形成是由于单个氨基酸残基的改变所引起的。菊科植物, 如灯盏花含有与唇形目植物完全不同的黄酮葡萄糖苷酸衍生物, 说明二者存在不同生物合成与调控机制。同时, 黄芩和灯盏花等的主要成分均为 6-羟基黄酮葡萄糖苷酸衍生物, 目前对于黄酮 6 位羟化的分子机理尚缺乏了解。本文论述了不同植物黄酮葡萄糖苷酸衍生物的种类、分布、可能的生物合成途径与调控机理, 以期利用生物技术途径调控黄酮葡萄糖苷酸衍生物的生物合成以及相关植物分子育种提供理论依据。

关键词 黄酮葡萄糖苷酸衍生物; 生物合成与调控

Molecular Mechanism of Biosynthesis and Regulation of Flavone Glucuronide Derivatives in Plants

Liu Yi[✉], Yang Shengchao[✉], Chen Junwen[✉], Zhang Guanghui[✉]

Yunnan Agricultural University, Yunnan Research Center on Good Agricultural Practice for Dominant Chinese Medicinal Materials, Kunming, 650201

✉Corresponding author: zgh73107310@163.com; ✉ Authors

Abstract Plant flavone 7-O-glucuronide derivatives, such as baicalin and scutellarin, are the major bioactive constituents of Chinese medicinal herbs of *Scutellaria baicalensis* and *Erigeron breviscapus*. They exclusively exist in plants of Lamiales including Verbenaceae, Lamiaceae, Scrophulariaceae and Plantaginaceae, and a few species of Compositae like *Erigeron breviscapus*. They have great value for medicine. Recently, more and more studies have focused on the cloning, functional and expression analysis of genes which encode the enzymes involved in the biosynthesis pathway of flavone 7-O-glucuronides in Lamiales. Flavonoid 7-O-glucuronosyltransferase (F7GAT) catalyzes flavones and UDPGA (UDP-glucuronic acid) producing flavone 7-O-glucuronide. Most recent study revealed that the substitution of single amino acid was sufficient to convert the sugar donor specificity of the Lamiales F7GATs from UDPGA to UDP-glucose. The flavone 7-O-glucuronides in plants of Compositae like *Erigeron breviscapus* are totally different from that in Lamiales. This indicates there are different molecular mechanisms of biosynthesis and regulation of flavone 7-O-glucuronides between them. Further more, baicalin and scutellarin, the major bioactive constituents of *Scutellaria baicalensis* and *Erigeron breviscapus*, are both belong to 6-oxygenated flavone 7-O-glucuronides, and the hydroxylation in 6-position of flavone is still not clear. In this research, the different kinds of flavone 7-O-glucuronides in plants and their distributions, the mechanism of biosynthesis and regulation are reviewed, and this would provide theoretical basis for the potential ways to regulate their biosynthesis and the related plants breeding.

Keywords Plant Flavone 7-O-glucuronide derivatives; Biosynthesis and regulation

研究背景

植物次生代谢物巨大的结构多样性被认为是植物化学适应特殊小生境的结果, 因为植物利用次生代谢物对抗病原物并用于固氮、吸引传粉者等作用中(Gershenson and Dudareva, 2007; Mac ís et al., 2007)。特定的植物世系通过获得生物合成酶的新功能产生特殊的次生代谢物, 从而增加对环境的适应性。类黄酮是一大类来自苯丙烷代谢途径的植物次生代谢物, 通常由糖基转移酶(UDP-sugar: glycosyltransferase, UGT)催化与一个或多个糖基形成糖苷。糖基转移酶是一个超基因家族, 根据其所转移的UDP-糖供体, 糖基化反应可以分为葡糖基化(UDP-葡萄糖)、鼠李糖基化(UDP-鼠李糖)和葡糖苷酸化(UDP-葡萄糖醛酸, UDP-glucuronic acid, UDPGA) (Ross et al., 2001; Lim et al., 2004)。通常葡萄糖是自然存在的类黄酮糖苷的最常见糖基。但是, 一些特殊的植物世系具有其特征性的类黄酮, 并与独特的糖基结合, 形成其特殊的代谢产物。

黄酮 7-O-葡糖苷酸是一类特殊的类黄酮 7-O-葡糖苷酸, 通常与类黄酮 7-O-葡萄糖苷一起存在于唇形目, 包括马鞭草科(*Verbenaceae*)、唇形科(*Lamiaceae*)、玄参科(*Scrophulariaceae*)、车前草科(*Plantaginaceae*)和以及少数菊科(*Compositae*)植物如灯盏花(*Erigeron breviscapus*)等体内。黄酮 7-O-葡糖苷酸的存在有明显的种特异性, 即不同种类植物体内黄酮 7-O-葡糖苷酸种类不同, 其优势种类也不同。如黄芩及其近缘种的优势种类是黄芩苷, 而灯盏花等的优势种类是野黄芩苷(灯盏乙素), 其它多数植物仅含有少量黄酮 7-O-葡糖苷酸。

黄酮 7-O-葡糖苷酸是一些药用植物的主要功能成分。如黄芩苷和灯盏乙素分别是药用植物黄芩(*Scutellaria baicalensis*)和灯盏花的主要功能成分, 具有重要的药用价值。黄芩素有强烈的抗诱变和清除自由基的功能(Wozniak et al., 2004), 能够抗多种肿瘤, 而且抗血管生成(Liu et al., 2003)。灯盏花素(灯盏乙素与少量灯盏甲素的混合物)能够有效地扩张血管, 增加血流, 改善微循环, 降低血粘度, 预防血小板凝聚(Yang et al., 2003; 李丽等, 2006, 中草药, 37(8): I9-I11)。

植物黄酮的生物合成途径已经非常清楚(Martens and Mithöfer, 2005), 但目前对黄酮 7-O-

葡糖苷酸的生物合成尚缺乏了解, 如黄酮的羟化、甲基化和葡糖苷酸化等。类黄酮 7-O-葡萄糖醛酸转移酶(flavonoid 7-O-glucurono-syltransferase, F7GAT)催化黄酮与 UDPGA (UDP-葡萄糖醛酸, UDP-glucuronic acid)合成黄酮葡糖苷酸。唇形目植物F7GAT糖供体特异性(即其糖供体是UDPGA, 而不是UDP-葡萄糖)是由于单个氨基酸残基的改变所引起的(Noguchi et al., 2009)。但其它植物如灯盏花等的F7GAT的糖供体特异性的形成是否也是如此尚不清楚。值得注意的是, 黄芩和灯盏花等的主要成分均为6-羟基黄酮葡糖苷酸衍生物, 目前对于黄酮6位羟化的分子机理尚未见报道。本文综述了植物黄酮7-O-葡糖苷酸衍生物的种类、存在、分布, 提出了完整的生物途径及其可能的调控机理, 以期对黄芩、灯盏花等药用植物育种提供理论借鉴。

1 植物其葡糖苷酸衍生物的种类与分布

高等植物体内存在三条途径黄酮生物合成途径, 分别合成白杨素、芹菜素和木犀草素3种基本黄酮, 然后通过羟化、甲基化和葡糖苷酸化形成3种类型黄酮葡糖苷酸衍生物, 即I型, 来自白杨素, 白杨素7-O-葡糖苷酸、黄芩苷、汉黄芩苷、去甲汉黄芩素7-O-葡糖苷酸和千层纸素A7-O-葡糖苷酸; II型来自芹菜素, 包括芹菜素7-O-葡糖苷酸(灯盏甲素)、泽兰黄酮7-O-葡糖苷酸和灯盏乙素(野黄芩素7-O-葡糖苷酸); III型来自木犀草素, 包括木犀草素7-O-葡糖苷酸、6-羟基木犀草素7-O-葡糖苷酸和金圣草黄素7-O-葡糖苷酸(图1)。

按照所含黄酮葡糖苷酸的优势种类, 可将植物分为3类: 第1类植物的优势种类是I型黄酮葡糖苷酸如黄芩、棱茎黄芩(*Scutellaria scandens*)等(Tomimori et al., 1985; Takino et al., 1987; Miyaichi et al., 1988; 周锡钦等, 2009); 第2类植物的优势种类是II型黄酮葡糖苷酸, 如半枝莲(*S. barbatae*) (Qiao et al., 2011)、美洲黄芩(*S. lateriflora*)、灯盏花和多舌飞蓬(*E. multiradiatus*) (Zhang et al., 2008); 第3类植物同时含有高含量的I型和II型黄酮葡糖苷酸, 如黄芩属*S. tomentosa*和*S. wrightii*, 含有高含量的灯盏乙素和黄芩苷。其他一些植物, 如野甘草(*Scoparia dulcis*) (Subramanian and Nair, 1973)、长管大青(*Clerodendrum indicum*)和欠愉大青(*C. infortunatum*) (Kawasaki et al., 1988)、*Plantago hakusanensis*、金鱼草(*Antirrhinum majus*) (Harborne,

1963; Asen et al., 1972)、紫苏(Yoshida et al., 1993; Yamazaki et al., 2003)、玄参科苦玄参(*Picria fel-terrae*) (Huang et al., 1999)等也含有黄酮葡萄糖苷酸, 主要是 II 型和 III 型, 但其含量均很低。

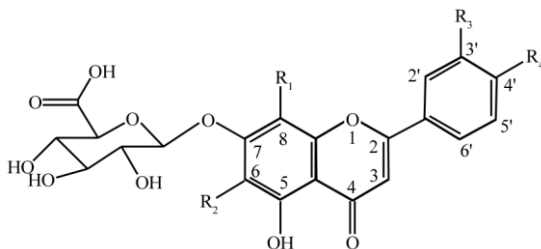


图 1 植物黄酮葡萄糖苷酸衍生物分子结构

Figure 1 The molecular structure of Plant flavone glucuronide derivatives

注: 灯盏乙素(野黄芩素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸): R₁=H, R₂=OH, R₃=H, R₄=H; 黄芩苷(黄芩素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸): R₁=H, R₂=OH, R₃=H, R₄=OH; 汉黄芩苷(汉黄芩素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸): R₁=OCH₃, R₂=H, R₃=H, R₄=H; 白杨素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=H, R₂=H, R₃=H, R₄=H; 芹菜素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=H, R₂=H, R₃=H, R₄=OH; 木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=H, R₂=H, R₃=OH, R₄=OH; 6-羟基木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=OH, R₂=H, R₃=OH, R₄=OH; 泽兰黄酮 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=H, R₂=H, R₃=H, R₄=H; 千层纸素 A 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=OH; 去甲汉黄芩素 7-O-β-D-葡萄糖苷酸: R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=H

Note: scutellarin (scutellarein 7-O-β-D-glucuronide): R₁=H, R₂=OH, R₃=H, R₄=H; Baicalin (baicalein 7-O-β-D-glucuronide): R₁=H, R₂=OH, R₃=H, R₄=OH; Oroxylin A (wogonin 7-O-β-D-glucuronide): R₁=OCH₃, R₂=H, R₃=H, R₄=H; Chrysin 7-O-β-D-glucuronide: R₁=H, R₂=H, R₃=H, R₄=H; Apigenin 7-O-β-D-glucuronide: R₁=H, R₂=H, R₃=H, R₄=OH; Luteolin 7-O-β-D-glucuronide: R₁=H, R₂=H, R₃=OH, R₄=OH; 6-hydrolyuteolin 7-O-β-D-glucuronide: R₁=OH, R₂=H, R₃=OH, R₄=OH; Hispidulin 7-O-β-D-glucuronide: R₁=H, R₂=H, R₃=H, R₄=H; Oroxylin A 7-O-β-D-glucuronide: R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=OH; Norwogonin 7-O-β-D-glucuronide: R₁=H, R₂=OCH₃, R₃=H, R₄=H

值得特别关注的是, 3 种类型的黄酮葡萄糖苷酸在植物体内的分布不同。I 型黄酮葡萄糖苷酸主要存在于植物根中, 而 II 型黄酮葡萄糖苷酸主要分布于植物地上部分。黄芩根中主要含 I 型黄酮葡萄糖苷酸, 含量依次是黄芩苷>千层纸素 7-O-葡萄糖苷酸>汉黄芩苷, 主要分布在根的上部和主根, 然后是侧根和茎的下部, 叶片和花中含量很低(Tani et al., 1985; Xu et al., 2010), *S. tomentosa* 和 *S. wrightii* 黄芩苷的分布也是如此(Nurul et al., 2011)。灯盏花、*S. tomentosa* 和 *S. wrightii* 的灯盏乙素含量分布依次是叶片、花、茎和根(牟兰, 2011)。

综上所述, 植物黄酮葡萄糖苷酸的存在与分布有明显的物种特异性, 表现在不同植物种类所含的黄酮葡萄糖苷酸组成不同, 优势种类也不同, 在植物体内的分布也不同, 说明不同种类植物存在不同的生物合成途径与调控机理。

2 植物葡萄糖苷酸衍生物的生物合成途径

植物黄酮生物合成发生在花色苷/原花色苷途径的一个分支点上, 黄烷酮是其直接前体, 但是 3 种基本黄烷酮的分支点不同。白杨素的分支点发生在肉桂酸, 4CL 催化其合成肉桂酰-CoA, 然后在 CHS, CHI 和 FS II 催化下合成白杨素, 由此合成 I 型黄酮葡萄糖苷酸(A 路线); 芹菜素的分支点发生在柚皮素, FS II 催化其合成芹菜素, 由此合成 II 型黄酮葡萄糖苷酸(B 路线); 木犀草素的合成有 3 条途径合成木犀草素, 由此合成 III 型黄酮葡萄糖苷酸(C 路线), 第 1 条途径起点在对香豆酸, C3H 催化其形成咖啡酸, 4CL 催化咖啡酸合成咖啡酰-CoA; 第 2 条途径是 4CL 催化对香豆酸合成对香豆酰-CoA, C3H 再催化其合成咖啡酰-CoA。这两条途径形成的咖啡酰-CoA 在 CHS, CHI 和 FS II 的作用下合成木犀草素; 第 3 条途径是 F3'H 催化柚皮素合成圣草酚, FS II 再催化其合成木犀草素(图 2)。

尽管植物体内也存在 III 型黄酮葡萄糖苷酸, 但其含量很低。尚未有报道某种植物有高含量的 III 型黄酮葡萄糖苷酸。如灯盏花含有高含量的木犀草素(Chu et al., 2005), 但木犀草素 7-O-葡萄糖苷酸、6-羟基木犀草素 7-O-葡萄糖苷酸含量很低, 所以 C 路线在植物体内所占比例很低(图 2 用虚线表示)。因此植物体内优势黄酮葡萄糖苷酸的积累存在 3 种方式, 即第 1 类植物通过 A 路线合成 I 型黄酮葡萄糖苷酸, 主要发生在植物地下部分; 第 2 类植物通过 B 路线合成 II 型黄酮葡萄糖苷酸, 主要发生在植物地上部分; 第 3 类植物通过 A 和 B 两条路线合成 I 型和 II 型黄酮葡萄糖苷酸。

3 黄酮葡萄糖苷酸生物合成关键酶及其基因的调控

苯丙烷类代谢是植物许多次生物质, 包括类黄酮、木质素和香豆素等生物合成途径的共同起始部分(Dixon and Paiva, 1995)。PAL 催化其第一部反应, 而且是其限速反应。药用植物黄芪(*Astragalus membranaceus*)的主要类黄酮成分是槲皮素, 黄芪黄化幼苗的 PAL 基因的表达显著受到 UV 辐射、机械

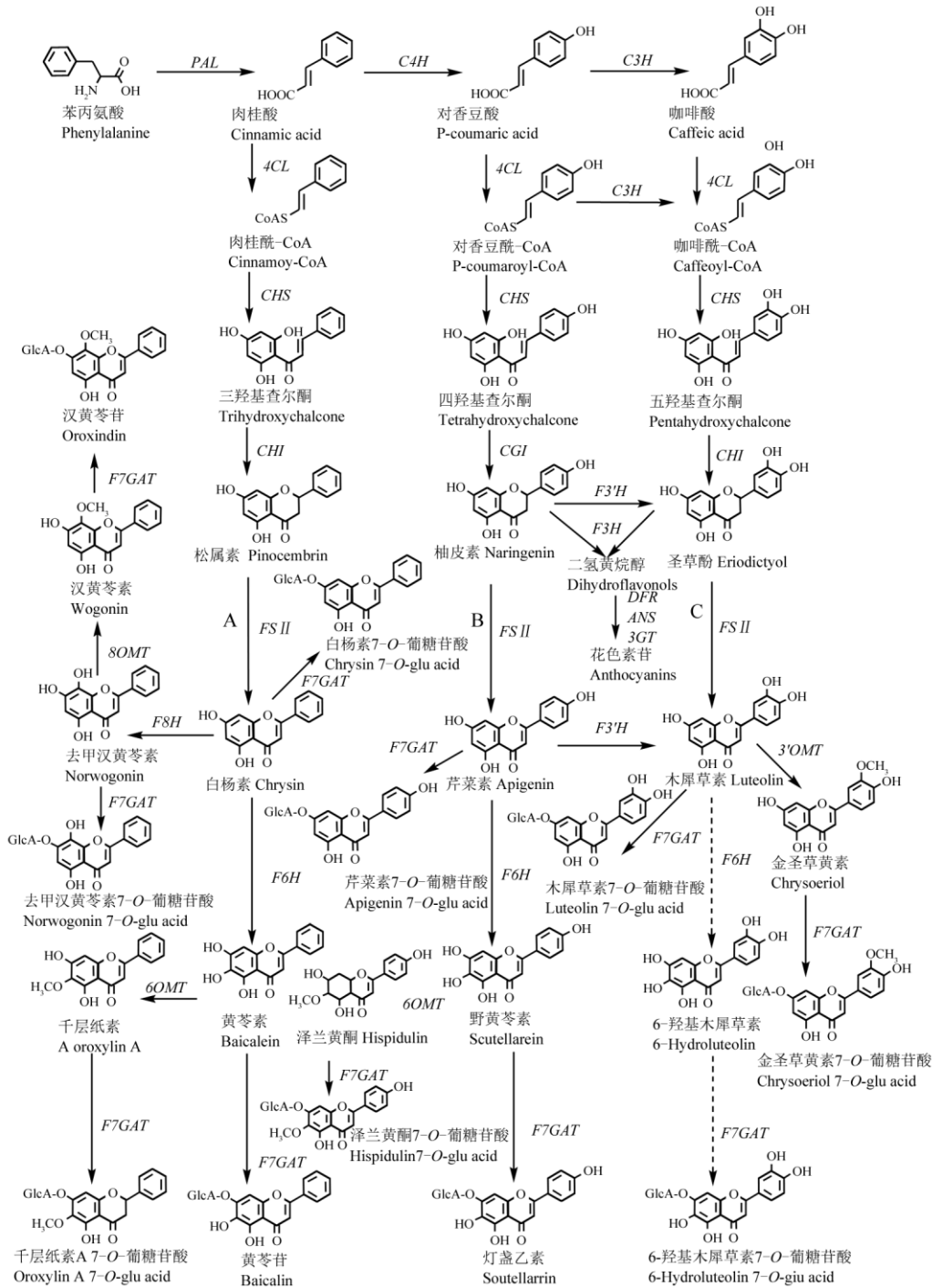


图 2 植物黄酮及其葡萄糖苷酸衍生物的生物合成途径

Figure 2 The biosynthetic pathway of flavones and their glucuronide derivatives

PAL, 苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase); C4H, 肉桂酸 4-羟化酶(cinnamate 4-hydroxylase); 4CL, 4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4-coumarate:CoA ligase); CHS, 查尔酮合成酶(chalcone synthase); CHI, 查尔酮异构酶(chalcone isomerase); F3H, 黄酮 3-羟化酶(flavone 3-hydroxylase); DFR, 二氢黄酮醇 4-还原酶基因(dihydroflavonol 4-reductase); ANS, 花色苷合成酶(anthocyanidin synthase); 3GT, anthocyanin 3-O-glucosyltransferase; F3'H, 类黄酮 3'羟化酶(flavonoid 3'hydroxylase); C3H, 对香豆酸 3-羟化酶(4-coumarate 3-hydroxylase); FS II, 黄酮合成酶(flavone synthase II); F6H, 黄酮 6-羟化酶(flavone 6-hydroxylase); F7GAT, 类黄酮 7-O-葡萄糖醛酸转移酶(flavonoid 7-O-glucuronosyltransferase); F8H, 黄酮 8-羟化酶(flavone 8-hydroxylase); 8OMT, 8-O-甲基转移酶(8-O-methyltransferase); 6OMT, 6-O-甲基转移酶(6-O-methyltransferase); 3'-OMT, 3'-O-甲基转移酶(3'O-methyltransferase)

损伤和白光的诱导,在烟草中表达会提高 PAL 酶的活性,增加槲皮素含量(Liu et al., 2006)。与黄芪不同,黄芩含有 3 个 PAL 基因(分别是 *SbPAL1*, *SbPAL2* 和 *SbPAL3*),其中 *SbPAL1* 转录水平在茎中最高,*SbPAL2* 在叶片中转录水平最高,*SbPAL3* 则在根中转录水平最高(Xu et al., 2010)。黄芩叶片悬浮培养细胞培养基中加入诱导子(茉莉酸甲酯)可以提高 PAL、*C4H* 和 *4CL* 基因的表达水平,并且能够促进黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的生物合成。

CHS 和 CHI 催化合成植物黄酮的直接前体物质黄烷酮,包括松属素、柚皮素和圣草酚。黄芩发根主要含有 I 型黄酮葡萄糖苷酸,因此推测其 CHS 酶的底物主要是肉桂酰-CoA,而不是对香豆酰-CoA,但后来的研究表明 CHS 酶对肉桂酰-CoA 和对香豆酰-CoA 有几乎相同的催化活性。这就表明决定黄芩合成 I 型黄酮葡萄糖苷酸的关键反应发生在 CHS 酶以前的上游。黄芩发根中 *CHS* 基因的表达不受到环境胁迫,如 UV 辐射、机械伤害和酵母的诱导,这与其他植物的 CHS 表达完全不同(Zhou et al., 2003),同时也与黄芩悬浮培养细胞(来自叶片)中 *CHS* 基因的表达不同,后者受到诱导子(茉莉酸甲酯)可以提高 PAL、*C4H*、*4CL* 和 *CHS* 基因的表达水平,并且能够促进黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的生物合成。

黄酮合成酶(flavone synthase, FS)催化在黄烷酮的 C2 和 C3 之间引入双键合成黄酮,是植物黄酮生物合成的第一步反应(图 2)。高等植物进化出两种完全独立的酶系统催化黄烷酮合成黄酮,即黄酮合成酶 I (FS I) 和 黄酮合成酶 II (FS II)。FS I 是一种 2-酮戊二酸/Fe²⁺ 依赖的单加氧酶,仅存在于伞形科(Apiaceae)植物体内;FS II 是一种 NADPH 和分子氧依赖的细胞色素 P-450 单加氧酶,广泛存在于伞形科以外的其他植物体内(Heller et al., 1993)。FS II 属于植物细胞色素 P450 蛋白的一个超基因家族, CYP93B。FS II 的活性很早就得到证实(Stotz et al., 1981),并已克隆多种植物 FS II 基因 cDNA 全长,酵母细胞中表达的重组蛋白都能够将黄烷酮转变为相应的黄酮(Martens and Forkmann, 1999)。但是上述研究多集中于花器官或花色苷相关黄酮的合成,对于植物营养器官黄酮合成酶的研究则少有报道。药用植物高含量的黄酮葡萄糖苷酸主要在植物根或叶中积累,说明其黄酮合成酶基因表达有不同的时空表达模式,对环境因素的反应也可能不同。遗

憾的是,药用植物黄酮葡萄糖苷酸生物合成研究,仍仅局限于少数苯丙烷代谢和类黄酮代谢途径少数酶基因的克隆与表达研究,如查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)。

植物类黄酮的种类多样性是来自与其骨架结合的化学基团的种类与位置。黄酮最多的羟化位点是 3, 5, 7, 3' 和 4' (Grotewold, 2006),其中 4'-OH 来自苯丙烷代谢途径中的香豆酸的 4-OH; 3'-OH 来自类黄酮 3'羟化酶(flavonoid 3'-hydroxylase)。5 和或 7 位是在类黄酮骨架合成时,由 CHS 所催化形成的(Schröder et al., 1997)。但是药用植物黄芩、灯盏花等的主要黄酮均为 6-OH 黄酮及其葡萄糖苷酸衍生物,如黄芩素、黄芩苷、野黄芩素和灯盏乙素等,说明这些植物体内存在特殊的黄酮 6-羟化酶(flavone 6-hydroxylase, F6H),其催化芹菜素合成野黄芩素或者是白杨素合成黄芩素(图 2)。需要说明的是,尽管灯盏花含有大量的木犀草素,6-羟基木犀草素的含量却非常低,说明灯盏花 F6H 对木犀草素缺乏催化活性。黄芩 *Sb* UBGAT (UDP-葡萄糖醛酸:黄芩素 7-O-葡萄糖醛酸转移酶, UDP-glucuronate:baicalein 7-O-glucuronosyltransferase)催化黄酮合成黄酮葡萄糖苷酸,其特异性地葡萄糖苷酸化邻位有取代基的黄酮(如黄芩素和野黄芩素)的 7-OH,而邻位没有取代基的黄酮(如芹菜素等)则不能作为底物(Nagashima et al., 2000),因此黄酮 6-OH 的形成对 7-OH 的葡萄糖苷酸化也有重要意义。

目前,已经报道的植物类黄酮 6-羟化酶有两种,分别催化黄酮醇和黄烷酮产生 6-OH。自然界植物只有少数种类的 6-OH 的黄酮醇(Wollenwerber and Diets, 1981),黄酮醇 6-羟化酶最早从一种金腰属植物(*Chrysosplenium americanum*)中得到纯化,专一地催化部分甲基化的黄酮醇的 6 位羟化,是一种 2-酮戊二酸依赖的二甲氧酶(2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, ODD),其 cDNA 已经得到克隆(Anzellotti et al., 2000)。另一种类黄酮 6-羟化酶克隆自大豆(*Glycine max* L.),是一种 P-450 单甲氧酶,其酵母表达重组蛋白 CYP71D9 对黄烷酮活性最高,而对黄酮芹菜素和木犀草素有较低的催化活性。这些研究为研究黄酮 6-OH 的合成提供理论基础,但目前仍缺乏对黄酮 6 位与其它位点羟化分子机理的了解。

类黄酮 7-O-葡萄糖醛酸转移酶(flavonoid 7-O-glucuronosyltransferase, F7GAT)催化黄酮与

UDPGA (UDP-葡萄糖醛酸, UDP-glucuronic acid)合成黄酮葡萄糖苷酸(图2)。由于黄酮葡萄糖苷酸在唇形目植物, 因此植物 F7GAT 的研究主要集中于唇形目植物。最早得到纯化的 F7GAT 是黄芩的 SbUBGAT, 其 cDNA 也得到了克隆(GenBank: AB042277.1)。最新研究克隆了唇形目光紫黄芩(*Scutellaria laeteviolacea*)、紫苏(*P. frutescens*)、金鱼草(*Antirrhinum majus*)和芝麻(*Sesamum indicum*)等的 F7GAT 基因(Noguchi, et al., 2009)。这些植物(包括黄芩) F7GAT 的底物特异性, 即其糖基供体是 UDPGA 而不是 UDP-葡萄糖, 是因为单个氨基酸残基(Arg 取代 Trp)改变所引起的, 这是黄酮葡萄糖苷酸形成的分子基础。但是, 除唇形目外, 其他植物的 F7GAT 尚没有研究, 其他植物 F7GAT 的底物特异性形成的分子机理是否也是如此需要深入的研究。

作者贡献

刘毅完成文献检索及论文初稿的写作; 杨生超是本项目的负责人; 张广辉, 陈军文指导论文写作与修改。

致谢

本研究由国家自然科学基金(8130499)资助。

参考文献

- Asen S., Norris K.H., and Stewart R.N., 1972, Copigment of aurone and flavone from petals of *Antirrhinum majus*, *Phytochemistry*, 11(9): 2739-2741 [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86505-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86505-X)
- Chu Q.C., Wu T., Fu L., and Ye J.N., 2005, Simultaneous determination of active ingredients in *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz. by capillary electrophoresis with electrochemical detection, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(3): 535-541 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2004.11.018>
- Dixon R.A., and Paiva N.L., 1995, Stress-induced phenylpropanoid metabolism, *Plant Cell*, 7(7): 1085-1097 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.7.7.1085> <http://dx.doi.org/10.2307/3870059>
- Gershenzon J., and Dudareva N., 2007, The function of terpene natural products in the natural world, *Nat. Chem. Biol.*, 3(7): 408-414 <http://dx.doi.org/10.1038/nchembio.2007.5>
- Harborne J.B., 1963, Plant polyphenols. X. Flavone and aurone glycosides of *antirrhinum*, *Phytochemistry*, 2(4): 327-334 [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84856-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84856-6)
- Heller W., and Forkmann G., 1993, Biosynthesis of flavonoids, In: Harborne J.B.(ed.), *The flavonoids: Advances in research since 1986*, Chapman and Hall, London, pp. 499-535
- Huang Y., De Bruyne T., Apers S., Ma Y.L., Claeys M., Pieters L., and Vlietinck A., 1999, Flavonoid glucuronides from

- Picria fel-terrae*, *Phytochemistry*, 52(8): 1701-1703 [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00242-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00242-3)
- Kawasaki M., Hayashi T., Arisawa M., Morita N., and Berganza L.H., 1988, 8-Hydroxytricetin 7-glucuronide, a β -glucuronidase inhibitor from *Scoparia dulcis*, *Phytochemistry*, 27(11): 3709-3711 [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80811-2](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(88)80811-2)
- Lim E.K., Ashford D.A., Hou B., Jackson R.G., and Bowles D.J., 2004, Arabidopsis glycosyltransferases as biocatalysts in fermentation for regioselective synthesis of diverse quercetin glucosides, *Biotechnol. Bioeng.*, 87(5): 623-631 <http://dx.doi.org/10.1002/bit.20154>
- Liu J.J., Huang T.S., Cheng W.F., and Lu F.J., 2003, Baicalein and baicalin are potent inhibitors of angiogenesis: inhibition of endothelial cell proliferation, migration and differentiation, *Int. J. Cancer*, 106(4): 559-565 <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.11267>
- Liu R., Xu S., Li J., Hu Y., and Lin Z., 2006, Expression profile of a PAL gene from *Astragalus membranaceus* var *Mongholicus* and its crucial role in flux into flavonoid biosynthesis, *Plant Cell Rep.*, 25(7): 705-710 <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-005-0072-7>
- Mac ís F.A., Galindo J.L., and Galindo J.C., 2007, Evolution and current status of ecological phytochemistry, *Phytochemistry*, 68(22-24): 2917-2936 <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.10.010>
- Martens S., and Forkmann G., 1999, Cloning and expression of flavone synthase II from *Gerbera* hybrids, *Plant J.*, 20(5): 611-618 <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00636.x>
- Martens S., and Mithöfer A., 2005, Flavones and flavone synthases, *Phytochemistry*, 66(20): 2399-2407 <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.07.013>
- Miyaichi Y., Imoto Y., Tomimori T., and Namba T., 1988, Studies on the nepalese crude drugs. IX. On the flavonoid constituents of the root of *Scutellaria scandens* Buch.-Ham.ex D.Don, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 36(7): 2371-2376 <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.36.2371>
- Moy L., 2011, Cloning of chalcone synthase gene in *Erigeron breviscapus* and relation between its expression and Scutellarin content, Thesis for M.S., Yunnan Agriculture University, Supervisor: Yang S.C., pp.1-49 (牟兰, 2011, 灯盏花查尔酮合成酶基因克隆及其表达与灯盏乙素含量关系研究, 硕士学位论文, 云南农业大学, 导师: 杨生超, pp.1-49)
- Nagashima S., Hirotsu M., and Yoshikawa T., 2000, Purification and characterization of UDP-glucuronate:baicalein 7-O-glucuronosyltransferase from *Scutellaria baicalensis* Georgi. cell suspension cultures, *Phytochemistry*, 53(5): 533-538 [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00593-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00593-2)
- Noguchi A., Horikawa M., Fukui Y., Fukuchi-Mizutani M., Iuchi-Okada A., Ishiguro M., Kiso Y., Nakayama T., and Ono E., 2009, Local differentiation of sugar donor

- specificity of flavonoid glycosyltransferase in Lamiales, *Plant Cell*, 21(5): 1556-1572 <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.108.063826>
- Qiao S., Shi R., Liu M., Zhang C., Yang W., Shi X.W., Jiang X.J., Wang C.Y., and Wang Q., 2011, Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in *Herba Scutellariae barbatae* and its confused plants by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Food Chem.*, 129(3): 1297-1304 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.064>
- Ross J., Li Y., Lim E.K., and Bowles D.J., 2001, Higher plant glycosyltransferases, *Genome Biol.*, 2(2): Reviews3004
- Schröder J., 1997, A family of plant-specific polyketide synthases: facts and predictions, *Trends in Plant Science.*, 2(10): 373-378 [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)87121-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(97)87121-X)
- Grotewold E., 2006, The science of flavonoids, In: Stobiecki M., and Kachlicki P.(eds), isolation and identification of flavonoids, Springer, New York, USA, pp.47-69 http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2_2
- Stotz G., and Forkmann G., 1981, Oxidation of flavanones to flavones with flower extracts of *Antirrhinum majus* (snapdragon), *Zeitschrift für Naturforschung*, 36C: 737-741
- Subramanian S.S., and Nair A.G.R., 1973, Scutellarin and hispidulin 7-*O*-glucuronide from the leaves of *Clerodendrum indicum* and *Clerodendron infortunatum*, *Phytochemistry*, 12(5): 1195 [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(73\)85054-X](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(73)85054-X)
- Takino Y., Miyahara T., Arichi E., Arichi S., Hayashi T., and Karikura M., 1987, Determination of some flavonoids in *Scutellariae radix* by high-performance liquid chromatography, *Chem. Pharm. Bull.*, 35(8): 3494-3497
- Tani T., Katsuki T., Kubo M., and Arichi S., 1985, Histochemistry. VII. Flavones in *Scutellarias radix*, *Chem. Pharm. Bull.*, 33(1): 4894-4900 <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.33.4894>
- Tomimori T., Jin H., Miyaichi Y., Toyofuku S., and Namba T., 1985, Studies on the constituents of *Scutellaria* Species. VI. On the flavonoid constituents of the root of *Scutellaria baicalensis* Georgi (5), Quantitative analysis of flavonoids in *Scutellaria* roots by high-performance liquid chromatography, *Yakugaku Zasshi*, 105(2): 148-155
- Wollenwerber E., and Diets V.H., 1981, Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants, *Phytochemistry*, 20(5): 869-932 [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)83001-4](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(81)83001-4)
- Wozniak D., Lamer-Zarawska E., and Matkowski A., 2004, Antimutagenic and antiradical properties of flavones from the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Nahrung*, 48(1): 9-12
- Xu H., Park N.I., Li X.H., Kim Y.K., Lee S.Y., and Park S.U., 2010, Molecular cloning and characterization of phenylalanine ammonia-lyase, cinnamate 4-hydroxylase and genes involved in flavone biosynthesis in *Scutellaria baicalensis*, *Bioresource Technology*, 101(24): 9715-9722 <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.083>
- Yamazaki M., Nakajima J., Yamanashi M., Sugiyama M., Makita Y., Springob K., Awazuhara M., and Saito K., 2003, Metabolomics and differential gene expression in anthocyanin chemo-varietal forms of *Perilla frutescens*. *Phytochemistry*, 62(6): 987-995 [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00721-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00721-5)
- Yang X.F., He W., Lu W.H., and Zeng F.D., 2003, Effects of scutellarin on liver function after brain ischemia/reperfusion in rats, *Acta Pharmacol. Sin.*, 24(11): 1118-1124
- Yoshida K., Kameda K., and Kondo T., 1993, Digulucuronoflavones from purple leaves of *Perilla ocimoides*, *Phytochemistry*, 33(4): 917-919 [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85304-A](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(93)85304-A)
- Zhang Z.F., Sun W.X., Luo P., Wu L.P., Ye L.M., and Zhang H., 2008, Simultaneous determination of five main active constituents of *Erigeron multiradiatus* by HPLC-DAD-MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 48(3): 980-985 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2008.06.010>
- Zhou X.Q., Liang H., Lu X.H., Cai S.Q., Wang B., and Zhao Y.Y., 2009, Flavonoids from *Scutellaria baicalensis* and their bioactivities, *Beijing Daxue Xuebao (Journal of Peking University (Health Sciences))*, 41(5): 578-584 (周锡钦, 梁鸿, 路新华, 蔡少青, 王邠, 赵玉英, 2009, 中药黄芩主要黄酮类成分及其生物活性研究, *北京大学学报(医学版)*, 41(5): 578-584)
- Zhou Y., Magashima S., Hirotani M., Suzuki H., and Yoshikawa T., 2003, Expression of the chalcone synthase gene in *Scutellaria baicalensis* hairy root cultures was unusually reduced by environmental stresses, *Plant Biotechnology*, 20(3): 207-214 <http://dx.doi.org/10.5511/plantbiotechnology.20.207>