

• 天然产物生物合成途径的解析 •

巩婷 中国医学科学院药物研究所副研究员、硕士生导师。研究方向为微生物活性天然产物的发现、天然药物的生物合成及生物催化。先后主持国家自然科学基金及教育部新教师基金等项目,并作为科研骨干参与多项国家级科研项目的工作。目前在国内外学术期刊上累计发表学术论文 50 余篇,参与编写专著 4 部。



朱平 中国医学科学院药物研究所研究员、博士生导师、生物合成室主任,兼任国家卫生健康委天然药物生物合成重点实验室主任,天然药物活性物质与功能国家重点实验室副主任,中国菌物学会副理事长,中国中药协会药用菌物专业委员会主任委员,《菌物学报》《药学学报》等杂志编委。先后承担多项国家级科研项目,在国内外期刊上累计发表学术论文 100 余篇,累计授权 8 项中国专利和 9 项国际专利,参编 5 部著作,获得 2011 年度中国药学会科学技术三等奖 1 项。



杜松烷型倍半萜天然产物的研究进展

姜龙瑜, 温艳华, 彭雨, 陈天娇, 陈晶晶, 杨金玲, 巩婷, 朱平

中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室 & 国家卫生健康委员会天然药物生物合成重点实验室, 北京 100050

姜龙瑜, 温艳华, 彭雨, 等. 杜松烷型倍半萜天然产物的研究进展. 生物工程学报, 2021, 37(6): 1952-1967.

Jiang LY, Wen YH, Peng Y, et al. Advances in biosynthesis of cadinane sesquiterpenes. Chin J Biotech, 2021, 37(6): 1952-1967.

摘要: 杜松烷型倍半萜是一类双环倍半萜, 立体化学复杂, 具有广泛药理活性, 如抗菌、抗炎、降糖等。迄今为止, 已从多种植物和微生物中分离鉴定出具有不同结构及生物活性的杜松烷型化合物, 相关杜松烷型倍半萜合

Received: February 25, 2021; **Accepted:** March 27, 2021

Supported by: National Mega-project for Innovative Drugs (No. 2018ZX09711001-008-001), CAMS Innovation Fund for Medical Sciences (No. CIFMS-2017-I2M-4-004), Disciplines Construction Project of Synthetic Biology (No. 201920100801).

Corresponding authors: Ting Gong. Tel: +86-10-63165199; Fax: +86-10-63165197; E-mail: gongting@imm.ac.cn
Ping Zhu. Tel: +86-10-63165197; Fax: +86-10-63037757; E-mail: zhuping@imm.ac.cn

重大新药创制科技重大专项平台建设 (No. 2018ZX09711001-008-001), 中国医学科学院医学与健康科技创新工程协同创新项目 (No. CIFMS-2017-I2M-4-004), 清华 211-合成生物学学科建设 (No. 201920100801) 资助。

酶的研究也取得较大进展。本文按 5 种结构类型对近 4 年 (2017–2020 年) 文献发表的结构新颖的 124 个杜松烷型化合物进行整理, 并对其药理活性进行归纳总结, 同时介绍了代表性杜松烷型化合物生物合成途径的解析概况, 归纳了该类天然产物生物合成过程中关键杜松烷型倍半萜合酶的研究进展, 并讨论了该类天然产物的研究前景和目前面临的一些问题。

关键词: 杜松烷型倍半萜, 结构类型, 药理活性, 生物合成, 倍半萜合酶

Advances in biosynthesis of cadinane sesquiterpenes

Longyu Jiang, Yanhua Wen, Yu Peng, Tianjiao Chen, Jingjing Chen, Jinling Yang, Ting Gong, and Ping Zhu

State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines & Key Laboratory of Biosynthesis of Natural Products of the National Health Commission, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: Cadinanes are a class of bicyclic sesquiterpenes with complex stereochemistry and broad pharmacological activities, such as antibacterial, anti-inflammatory, and hypoglycemic activities. To date, structurally diverse and bioactive cadinane sesquiterpenes have been isolated and identified from a variety of plants and microorganisms. Moreover, deeper understandings on cadinane sesquiterpene synthases have been made. This article categorized the 124 new cadinanes which were published in the literatures in the past four years (2017–2020) into five structural types, and presented their pharmacological activities. We also illustrated the elucidation of the biosynthetic pathways for typical cadinanes, summarized the research progress on cadinane sesquiterpene synthases. Finally, current challenges and future prospects were proposed and discussed.

Keywords: cadinane sesquiterpenes, structure type, pharmacological activities, biosynthesis, sesquiterpene synthase

杜松烷型倍半萜属于双环倍半萜, 基本骨架如图 1 所示, 是由法尼基焦磷酸 (Farnesyl diphosphate, FPP) 为前体, 经倍半萜合酶 (Sesquiterpene synthase, STS) 催化而产生。基本骨架再经过一系列后修饰酶 (氧化还原酶等) 的作用, 形成结构复杂多样的产物^[1]。同时, 该类天然产物具有广泛的药理活性, 如抗菌^[2]、抗炎^[3]、

降糖^[4]以及抗肿瘤^[5]等。抗疟药物青蒿素 (Artemisinin) 和避孕药棉酚 (Gossypol) 等均属于分离自植物中的该类产品, 对于它们的研究工作自发现至今从未间断, 研究领域也在逐渐拓宽^[6–9]。

经文献调研, 仅针对杜松烷型倍半萜类天然产物的综述并不多见, Braulio M. Fraga 在 1985 年到 2013 年间, 先后发表了 30 篇涵盖杜松烷型倍

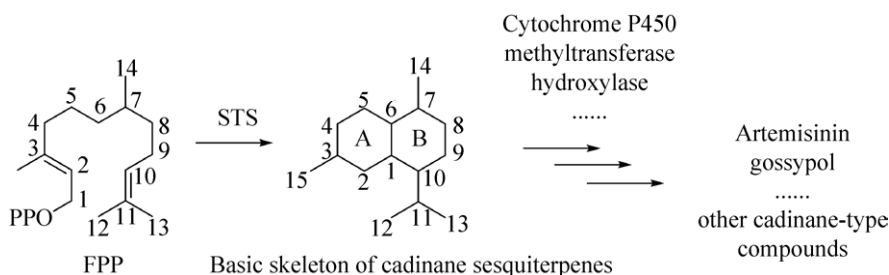


图 1 杜松烷型倍半萜类天然产物生物合成途径示意图

Fig.1 Schematic diagram of biosynthetic pathway of cadinane sesquiterpenes.

半萜天然产物的分离提取、结构鉴定、化学合成及微生物转化的综述^[10-39]。Tian 等^[40]在 2016 年对木棉植物中检测到的杜松烷型化合物及其生物合成途径进行了综述。本文则对近 4 年(2017–2020 年)来获得的结构新颖的杜松烷型倍半萜天然产物的化学结构(124 个化合物)及药理活性进行归纳,旨在为后续该类产物的基础研究及应用开发奠定基础。同时,介绍了两个代表性杜松烷型化合物(青蒿素和棉酚)生物合成途径解析的概况。最后重点对不同构型的杜松烷型倍半萜骨架合成酶的研究现状进行总结,可为该类产物的生物合成研究提供思路及方向。

1 杜松烷型倍半萜类化合物新结构

从近 4 年的文献分析,已发表的杜松烷型化合物主要来源于植物(83/124),少数来源于真菌(32/124)和细菌(5/124),还有极少数来源于动物(4/124),见表 1。本文根据化合物取代基以及氧化还原程度的不同,将结构分为 5 大类,分别为:简单杜松醇类、芳环杜松烷类、杜松烷内酯/内酰胺类、杜松醛酮酸类以及复杂杜松烷衍生物。该部分将对化合物的结构特点及来源进行详细介绍。

1.1 简单杜松醇类

该类结构的骨架大多为反式并环、2,3-位双键取代。通常在 C-7 位发生羟基取代,陆续有 C-6、C-10、C-15 等位羟基取代的报道,且少数羟基还会发生酰化(15)。因各位置羟基取代构型的不同,形成了结构多样的杜松醇同分异构体。近 4 年来,研究人员从多种植物的挥发油、微生物培养物以及海洋大型藻类中分离得到了 25 个该类化合物(1–25),见图 2。

1.2 芳环杜松烷类

芳环杜松烷类化合物是近年来报道的新杜松烷型化合物中数量最多的一类,多在杜松烷碳骨架发生还原反应,两环均被还原至苯环较多见,

A 环被还原的化合物多于 B 环被还原的化合物。近 4 年来,研究人员主要从菊科(Compositae)、木兰科(Magnoliaceae)等多种植物中分离鉴定 36 个该类化合物(26–61),见图 3。

1.3 杜松烷内酯/内酰胺类

杜松烷内酯/内酰胺类新化合物的异丙基侧链末位甲基氧化为羧基后,多与邻位的羟基或氨基形成五元不饱和内酯环或内酰胺环,少数内酯环被还原、脱水形成呋喃环。其中,从高山八角枫 *Alangium alpinum* 中分离得到的 thespesilactam (72) 和 alangiulactam (73) 结构较特殊,14 位甲基氧化为羧基后,与 C-5 位氨基形成内酰胺环。近年来从没药树脂 *Resina Commiphora*、甘菊 *Mikania micrantha*、温郁金 *Curcuma wenyujin* 等多种植物以及真菌 *Trichoderma virens* RR-dl-6-8 中分离鉴定了 18 个该类化合物(62–79)。见图 4。

1.4 杜松醛酮酸类

杜松醛酮酸类化合物的骨架大多数含有 α 、 β -不饱和酮片段,部分末端甲基氧化为醛基、羰基或羧基等(80–109)。其中,从青蒿 *Artemisia annua* L. 中分离得到的 arteannoide D (97) 和 arteannoide E (98) 发生氧化重排反应而形成新颖的[5.6]结构。有些化合物中还含有异氰基等基团,对化合物活性产生一定的影响。另外,有极少数化合物如 phacadinane E (99)、curcumane C (100) 等甲基发生氧化后 A 环发生断裂,从而形成一种不寻常的杜松烷骨架,见图 5。

1.5 复杂杜松烷衍生物

复杂杜松烷衍生物包括杜松醇倍半萜氧苷(110–117)、杜松烷型倍半萜二聚体(123–124)及杜松烷与间苯三酚等芳香族片段形成的异二聚体(118–122)。其中化合物 arteannoide A (123) 是一种罕见的杜松烷型倍半萜二聚体,具有 6,8-二氧杂环[3.2.1]辛烷-7-一环体系。近 4 年来从菊科(Compositae)、木兰科(Magnoliaceae)等多种植物中分离得到了 15 个该类化合物(110–124),见图 6。

表 1 杜松烷型化合物的来源

Table 1 Sources of cadinane compounds

Compounds	Origin	Reference
1	<i>Microporus affinis</i> HFG829	[41]
2–8	<i>Ganoderma capense</i>	[42]
9	<i>Mikania micrantha</i>	[43]
10	<i>Porphyra yezoensis</i>	[44]
11–12	<i>Trichaptum pargamentum</i>	[45]
13–15	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	[46]
16–18	<i>Montagnula donacina</i>	[47]
19–20	<i>Trichoderma asperellum</i> A-YMD-9-2	[48]
21–22	<i>Paecilomyces</i> sp. TE-540	[49]
23–25	<i>Streptomyces</i> sp.	[50]
26–28	<i>Trichoderma virens</i> QA-8	[51]
29	<i>Anthemis nobilis</i>	[52]
30–32	<i>Croton dichogamus</i>	[53]
33	<i>Curcuma wenyujin</i>	[4]
34	<i>Resina commiphora</i>	[54]
35–43	<i>Heterotheca inuloides</i>	[55]
44–45	<i>Heterotheca inuloides</i>	[56]
46–51	<i>Alangium alpinum</i>	[57]
52–57	<i>Santalum album</i>	[58]
58–60	<i>Trichoderma</i> sp. SM16	[59]
61	<i>Trichoderma virens</i> RR-dl-6-8	[60]
62–65	<i>Mikania micrantha</i>	[43]
66	<i>Curcuma wenyujin</i>	[4]
67–70	<i>Resina commiphora</i>	[54]
71	<i>Resina commiphora</i>	[5]
72–73	<i>Alangium alpinum</i>	[57]
74–77	<i>Commiphora myrrha</i>	[61]
78–79	<i>Trichoderma virens</i> RR-dl-6-8	[60]
80	<i>Kadsura heteroclita</i>	[62]
81–83	<i>Trichoderma virens</i> QA-8	[51]
84–87	<i>Pulidielultulula</i> , <i>Phyllidia coelestis</i> , <i>Acanthella cavernosa</i>	[63]
88	<i>Ganoderma capense</i>	[42]
89–91	<i>Heterotheca inuloides</i>	[55]
92	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	[46]
93–94	<i>Leptosphaerulina chartarum</i> sp. 3608	[64]
95	<i>Panus conchatus</i>	[65]
96	<i>Trichoderma virens</i> Y13-3	[66]
97–98	<i>Artemisia annua</i>	[3]
99	<i>Chloranthus anhuiensis</i>	[67]
100	<i>Curcuma longa</i>	[68]
101	<i>Commiphora myrrha</i>	[61]
102–104	<i>Trichoderma</i> sp. SM16	[59]
105–109	<i>Trichoderma virens</i> RR-dl-6-8	[60]
110	<i>Abelmoschus sagittifolius</i>	[69]
111	<i>Tinospora sinensis</i>	[70]
112–116	<i>Cornus officinalis</i>	[71]
117	<i>Torilis japonica</i>	[72]
118	<i>Cleistochlamys kirkii</i>	[73]
119–120	<i>Eucalyptus robusta</i>	[2]
121–123	<i>Artemisia annua</i>	[3]
124	<i>Heterotheca inuloides</i>	[55]

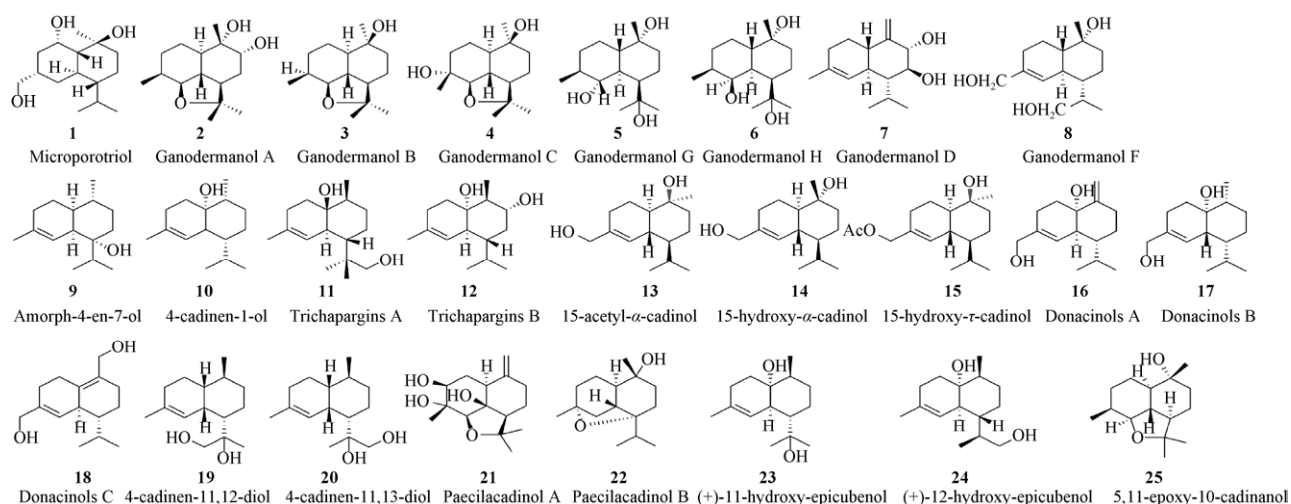


图 2 简单杜松醇类化合物结构 (1-25)

Fig. 2 Structures of simple cadinol (1-25).

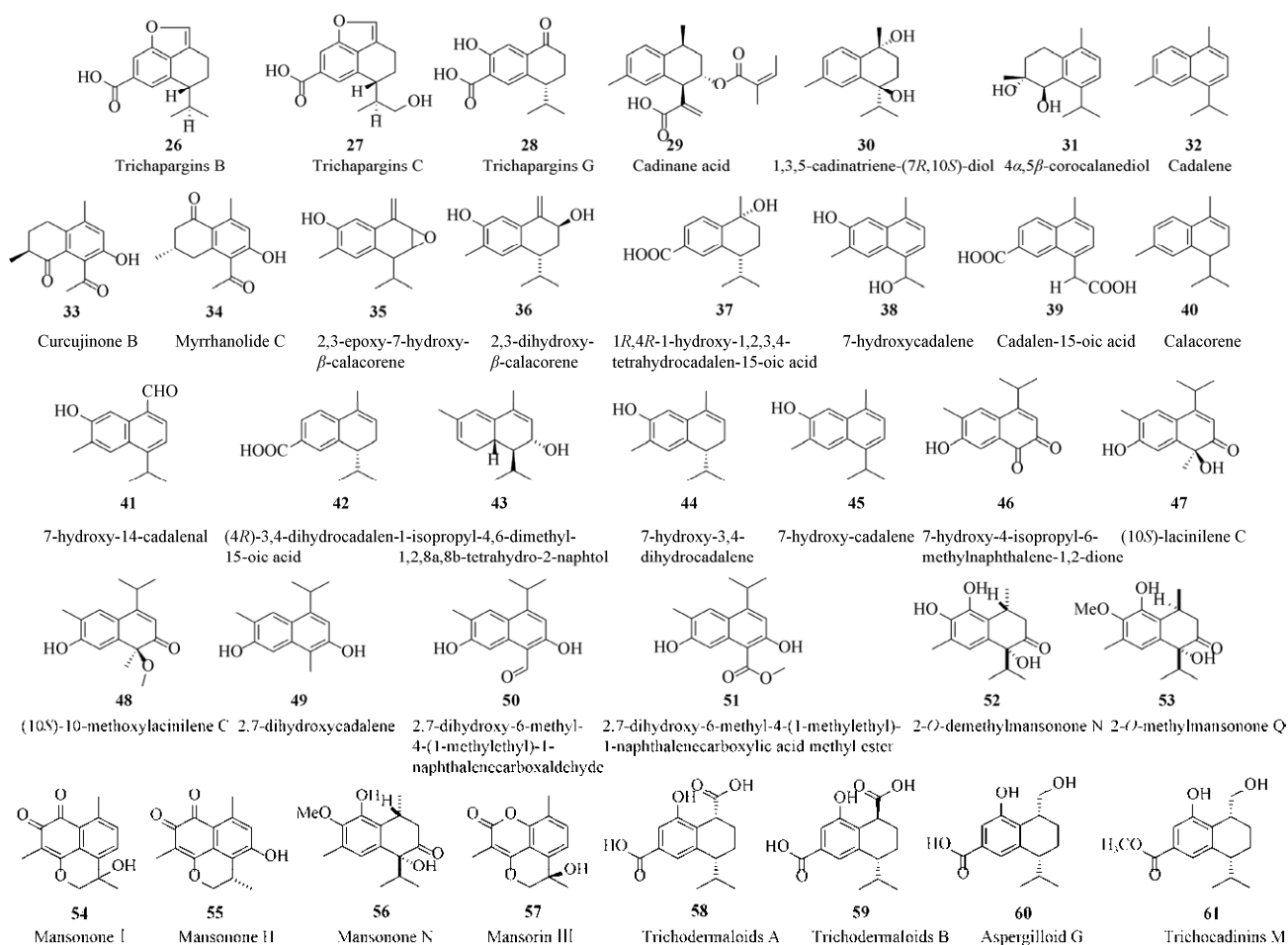


图 3 骨架高度还原的新型杜松烷化合物结构 (26-61)

Fig. 3 Structures of novel aromatic cadinanes with highly reduced skeleton (26-61).

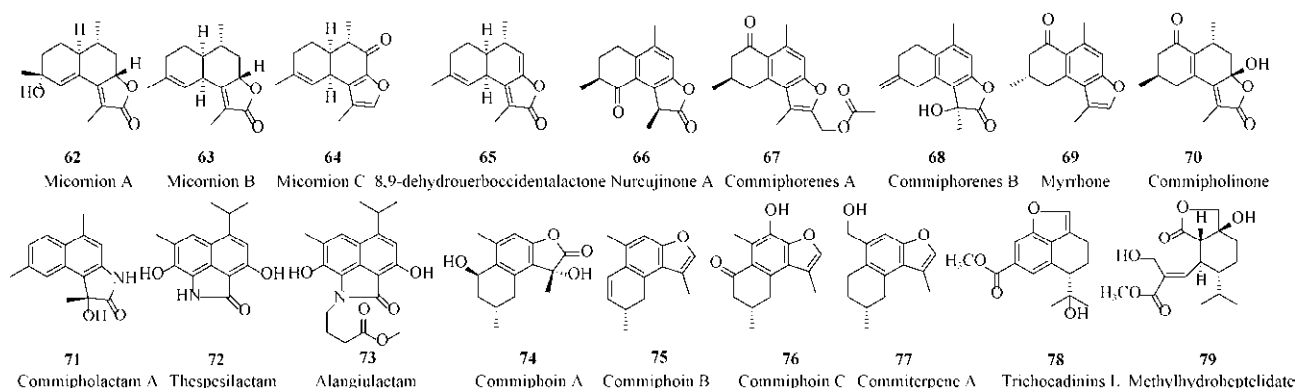


图4 杜松烷内酯/内酰胺类化合物结构 (62-79)

Fig. 4 Structures of cadinane lactones/lactams (62-79).

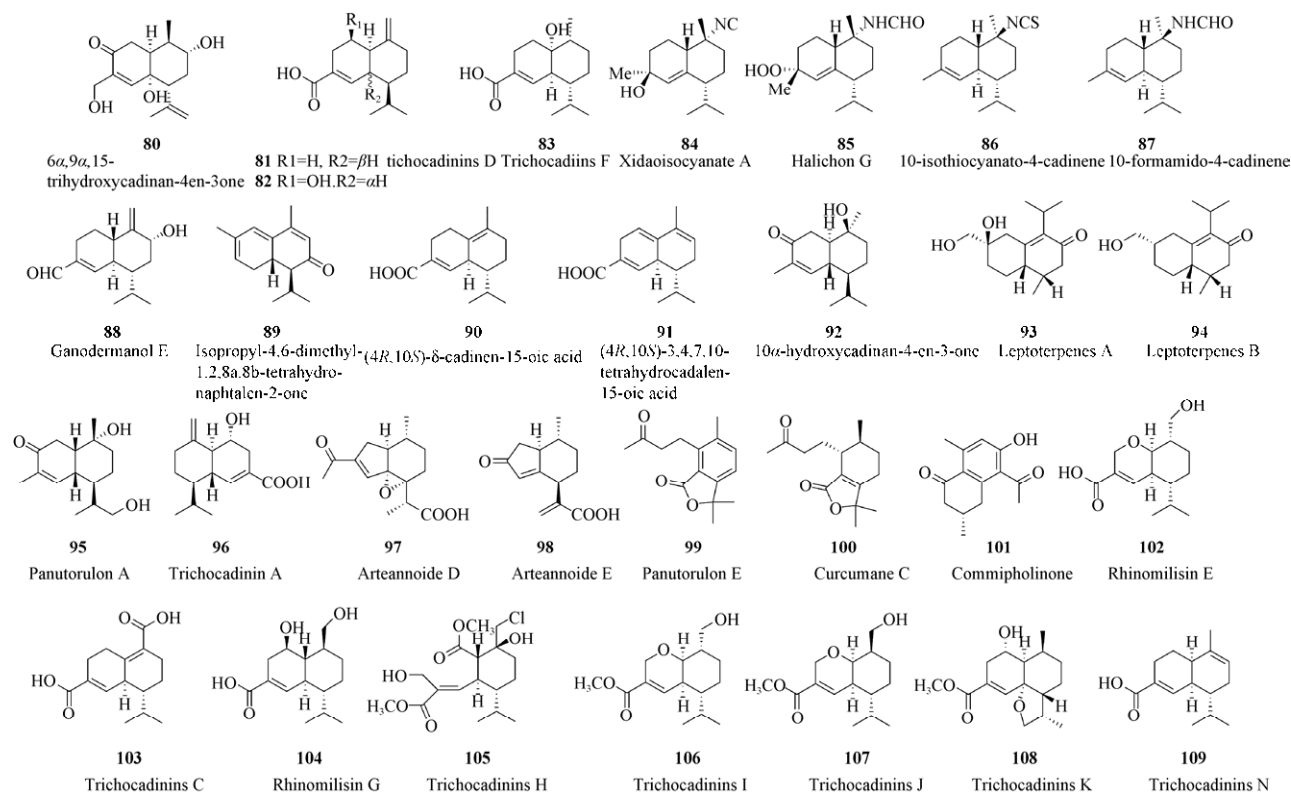


图5 杜松醛酮酸类化合物结构 (80-109)

Fig. 5 Structures of cadinane aldehyde ketone acids (80-109).

2 杜松烷型化合物药理活性

2.1 抗菌活性

杜松烷型倍半萜类化合物具有较强的抗菌活

性,例如存在于多种植物精油中的 α -cadinol 对桦褶孔菌狭褶变种 *Lenzites betulina*、变色栓菌 *Trametes versicolor* 和硫磺菌 *Laetiporus sulphureus* 的总平均抑菌浓度为 0.10 mmol/L^[74]。Chang 等研

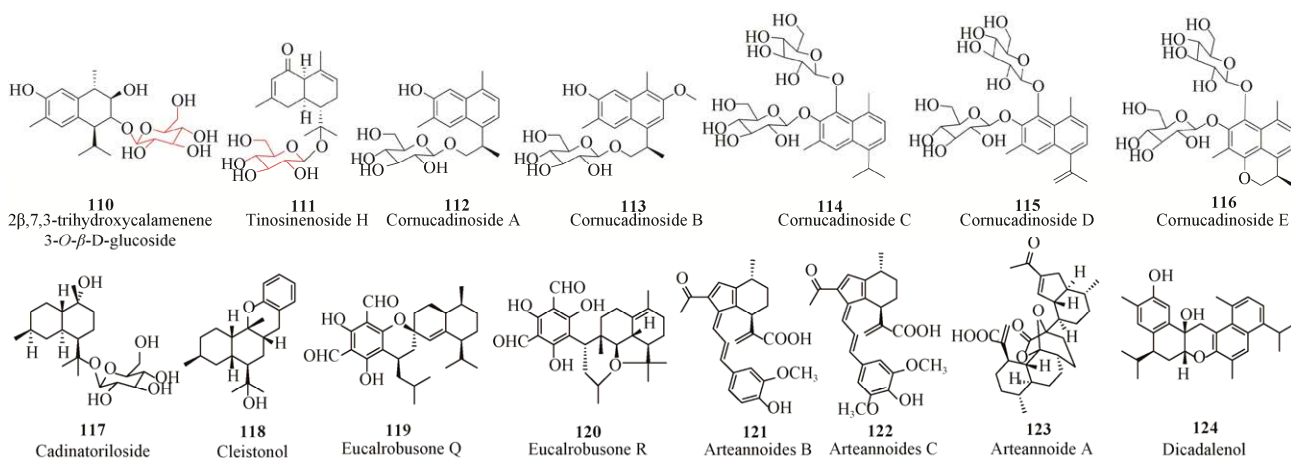


图6 复杂杜松烷衍生物结构 (110–124)

Fig. 6 Structures of complex cadinane derivatives (110–124).

究了杜松醇骨架结构的并环方式、C-7 位羟基的构型与抗菌活性的关系。其中，双环并环方式对抗菌活性影响最大， α -cadinol 和 τ -cadinol 为反式并环，可完全抑制真菌的菌丝生长。 τ -muurolol 为顺式并环，抗菌活性则降低^[75]。化合物 trichocadinins B–G (26–27、81–83、28) 均对尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium* 具有抗菌活性，最低抑菌浓度 (MIC) 在 1–64 $\mu\text{g/mL}$ 范围内。其中化合物 trichocadinins B–D (26、27、81) 具有广谱的抗菌活性，trichocadinins B (26) 在 C-13 处缺乏醇功能基，抗菌活性强于 trichocadinins C (27)。含有苯并呋喃部分的 trichocadinins B (26) 和 C (27) 与 trichocadinins D–G (81–83、28) 相比抗菌活性更强^[51]；化合物 7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene (44) 和 7-hydroxy-cadalene (45) 具有较强的抗幽门螺杆菌活性，MIC 值分别为 1.95 $\mu\text{g/mL}$ 和 3.91 $\mu\text{g/mL}$ 。与槲皮素不同，这两种物质有效抑制幽门螺杆菌生长的机制并不涉及强毒因子脲酶，这为开发可用于治疗幽门螺杆菌感染的创新药物提供了研究基础^[76]。

2.2 抗炎活性

一些杜松烷型倍半萜类化合物具有抗炎活性，如化合物 arteannoides B (121) 和 arteannoides C

(122) 能抑制脂多糖 (LPS) 诱导的原代 264.7 巨噬细胞中一氧化氮 (NO) 的产生，从而表现出抗炎活性， IC_{50} 值分别为 4.50 $\mu\text{mol/L}$ 和 2.90 $\mu\text{mol/L}$ ^[3]；7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene (44) 和 7-hydroxy-cadalene (45) 除具有抗菌作用外，还具有抗 NF- κ B 活性，其中 7-hydroxy-cadalene (45) 的活性最强， IC_{50} 值 (16.5 \pm 2.2) $\mu\text{mol/L}$ 。另外，7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene (44) 也能通过激活抗氧化剂 Nrf2 途径表现抗炎活性^[56]；Zhu 等从丰肉结海绵 *Gelliodes carnosus* 相关真菌中分离得到的 hypocreaterpenes A 和 B 以及一个已知的杜松烷型化合物 1R,6R,7R,10S-10-hydroxy-4(5)-cadinen-3-one 均对 LPS 处理的 RAW264.7 细胞产生 NO 有抑制作用。其中化合物 1R,6R,7R,10S-10-hydroxy-4(5)-cadinen-3-one 在 1 $\mu\text{mol/L}$ 时表现出中等的抗炎活性，平均最大抑制率 (E_{max}) 为 10.22%^[77]。

2.3 降糖活性

化合物 curcujinone A (66) 和 curcujinone B (33) 能够增加 HepG2 细胞葡萄糖消耗，在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时葡萄糖消耗增加 45%，具有较好的抗糖尿病活性^[4]；化合物 cornucadinol A–E (112–116) 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 α -葡萄糖苷酶具有显著的抑

制活性。与临床上用于控制血糖水平的阳性对照阿卡波糖相比,除 cornucadinoside C (**114**) 外,都表现出与阳性对照相似的效果,尤其是 cornucadinoside E (**116**) 比阿卡波糖更有效^[71]。

2.4 其他活性

以经典抗肿瘤药物紫杉醇为阳性对照,化合物 2 β ,7,3-trihydroxycalamenene 3-*O*- β -D-glucoside (**110**) 对 HeLa 和 HepG2 人癌细胞株具有中度的细胞毒活性,IC₅₀ 值分别为 12.88 μ mol/L 和 18.15 μ mol/L^[69]; 化合物 curcumane C (**100**) 能够增加人脐静脉内皮细胞中 NO 的含量,对 KCl 引起的大鼠主动脉环收缩表现出明显的舒张作用,同时对苯肾上腺素引起的大鼠主动脉环收缩也有舒张作用。通过比较 curcumane C 对内皮完整 (E+) 和内皮剥脱 (E-) 的大鼠主动脉环的舒张作用,发现 curcumane C 对 E+ 的松弛作用明显强于 E-, E+ 和 E- 的 E_{max} 值分别为 76.70% 和 41.44%^[68]。

3 杜松烷型倍半萜化合物生物合成研究

随着生物技术手段的进步,代表性杜松烷型倍半萜化合物(如青蒿素和棉酚)的生物合成途径已被基本阐明,其合成生物学领域也取得突破性进展^[6-9,78]。然而,大多杜松烷型倍半萜产物的

生物合成研究仍停留在对其关键酶杜松烷型倍半萜合酶的研究上。该部分在简单介绍两个代表杜松烷型倍半萜化合物(青蒿素和棉酚)的生物合成途径解析概况后,重点对该类倍半萜合酶的研究进展进行归纳总结。

3.1 青蒿素和棉酚的生物合成途径解析

青蒿素的生物合成途径^[6,78]可以概括为:(1) FPP 在紫穗槐-4,11-二烯合酶 (ADS) 的催化下,通过 1,6-和 1,10-环化生成关键中间体紫穗槐-4,11-二烯;(2) 各种后修饰酶如紫穗槐二烯 C-12 氧化酶 (CYP71AV1)、P450 还原酶 (CPR1)、细胞色素 b5 (CYB5)、醇脱氢酶 (ADH1)、醛脱氢酶 (ALDH1) 以及双键还原酶 (DBR2) 等,对紫穗槐-4,11-二烯进行氧化、羟化、脱氢和还原,产生青蒿醇、青蒿醛、青蒿酸和二氢青蒿酸等重要的中间体;(3) 二氢青蒿酸经过一个过氧化物中间体,最终形成青蒿素(图 7)。

棉酚的生物合成途径是在 DCS 催化 FPP 生成 δ -杜松烯的基础上,经过 P450 单加氧酶、双加氧酶、醇脱氢酶等后修饰酶的催化,生成带有 α 、 β -不饱和羰基的中间体,继而再通过芳构化最终偶联形成化合物棉酚^[8-9],见图 8。

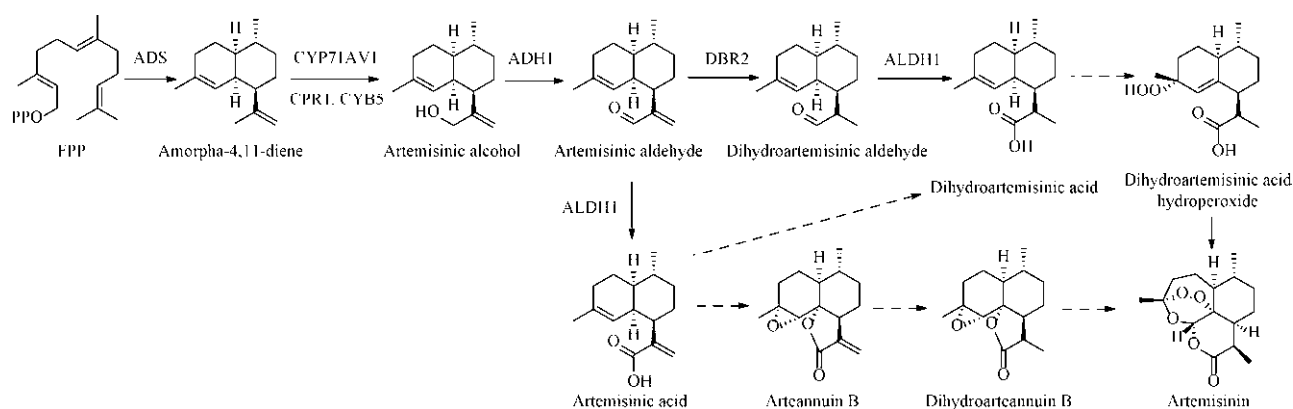


图 7 青蒿素生物合成途径示意图^[78]

Fig. 7 Schematic diagram of artemisinin biosynthesis pathway^[78].

3.2 杜松烷型倍半萜类合酶研究进展

图 9 和表 2 总结了近年来发现的杜松烷型倍半萜合酶的名称及其催化产物,并标识了其来源。

从表 2 可见,对植物和真菌来源的杜松烷型倍半萜合酶的研究最多,并且真菌来源中绝大多数为担子菌。

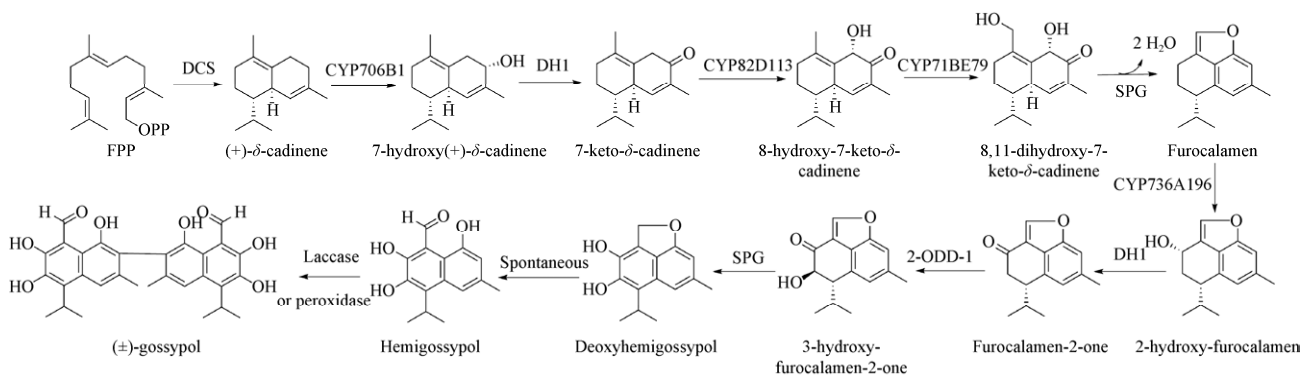


图 8 棉酚生物合成途径示意图^[8]

Fig. 8 Schematic diagram of gossypol biosynthesis pathway^[8].

表 2 杜松烷型倍半萜合酶名称、来源及其主要产物

Table 2 Names, origins and main products of cadinane sesquiterpene synthases

Classification	Name (Genbank number)	Origin	Main product	Reference
Plant	LaCADS (JX401282)	<i>Lavandula angustifolia</i>	τ -cadinol	[83]
	Cdn1-C4 (AF270425)	<i>Gossypium arboreum</i>	(+)- δ -cadinene	[84]
	Cad1-A (Y18484)	<i>Gossypium arboreum</i>	(+)- δ -cadinene	[85]
	Cad1-C3	<i>Gossypium arboreum</i> L.	(+)- δ -cadinene	[86]
	ZmTPS7	Maize (<i>Zea mays</i>)	τ -cadinol	[87]
	PnCO/CDS (KU953958)	Black pepper (<i>Piper nigrum</i>)	δ -cadinol	[88]
	CAD1	<i>Gossypium arboreum</i>	δ -cadinene	[89]
	CDN1-C1	<i>Gossypium arboreum</i>	δ -cadinene	[90]
	HaCS (DQ016668)	<i>Helianthus annuus</i> L.	δ -cadinene	[91]
	SasesquiTPS1	<i>Santalum album</i> L.	γ -muurolene	[92]
	ADS	<i>Artemisia annua</i> L.	amorpha-4,11-diene	[93]
Fungi (basidiomycetes)	BvCS (KU668561)	<i>Boreostereum vibrans</i>	δ -cadinol	[94]
	Cop3 (EAU88892)	<i>Coprinus cinereus</i>	α -muurolene	[95]
	Cop4 (EAU85540)	<i>Coprinus cinereus</i>	δ -cadinene	[95]
	Omp1	<i>Omphalotus olearius</i>	α -muurolene	[96]
	Omp4	<i>Omphalotus olearius</i>	δ -cadinene	[96]
	Omp5a and Omp5b	<i>Omphalotus olearius</i>	γ -cadinene	[96]
	Stehi1 128017	<i>Stereum hirsutum</i>	δ -cadinene	[97]
	GME3634 (KX281943)	<i>Lignosus rhinocerotis</i>	α -cadinol	[98]
	GME3638 (KX281944)	<i>Lignosus rhinocerotis</i>	(+)-torreyol (δ -cadinol)	[98]
	AcTPS5	<i>Antodia cinnamomea</i>	τ -cadinol	[99]
Fungi (ascomycetes)	Hyp2 (AHY23921)	<i>Hypoxylon</i> sp. E7406B	δ -cadinene	[100]
Bacteria	SSCG_02150	<i>Streptomyces clavuligerus</i>	(-)- δ -cadinene	[101]
	SSCG_03688	<i>Streptomyces clavuligerus</i>	(+)- τ -muurolol	[101]
	YP_003124367	<i>Chitinophaga pinensis</i> DSM 2588	γ -cadinene	[102]
	RoseRS_3509	<i>Roseiflexus</i> sp. RS-1	τ -muurolol	[103]
	Rcas_0622	<i>Roseiflexus castenholzii</i> DSM 13941	τ -muurolol	[103]

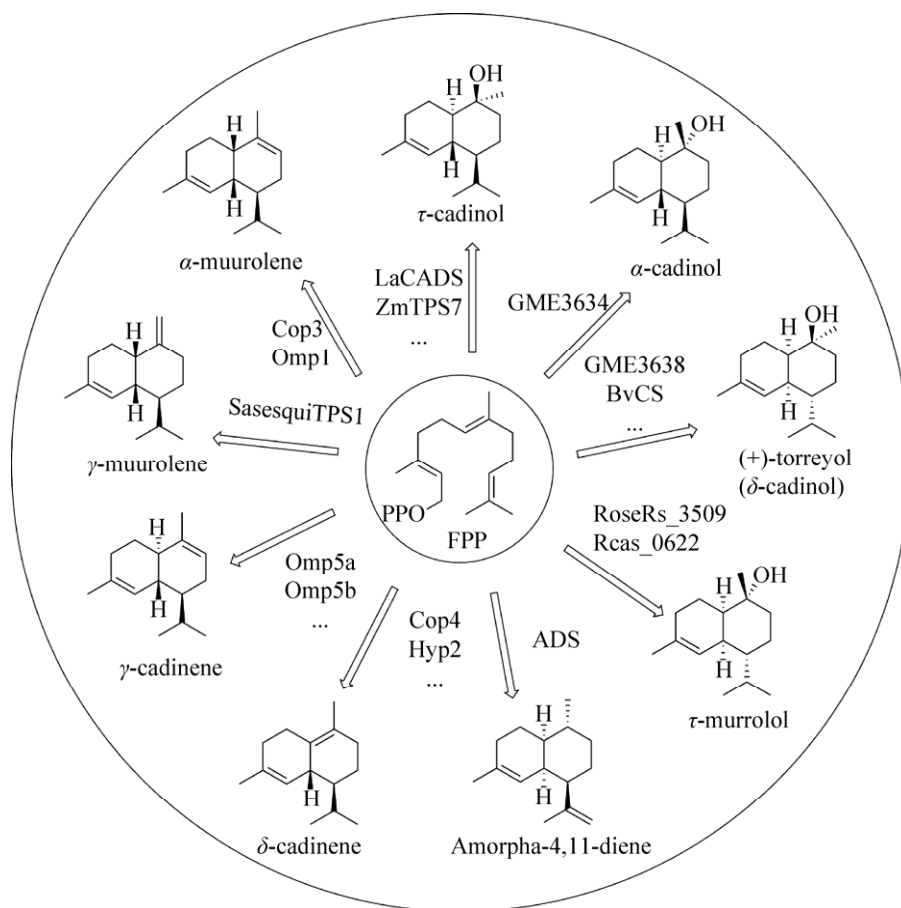


图9 杜松烷型倍半萜合酶主要产物示意图

Fig. 9 Schematic diagram of major products of cadinane sesquiterpene synthases.

近年来对杜松烷型倍半萜合酶的研究已不局限于杜松烷型倍半萜合酶的挖掘、表征及酶功能的验证,而是扩展到新颖或已知杜松烷型倍半萜合酶的结构与功能的关系以及催化机制研究。该节将从酶催化机制及关键氨基酸的定点突变对活性的影响两个方面对杜松烷型倍半萜合酶的研究进展进行总结。

3.2.1 杜松烷型倍半萜合酶的催化机制

杜松烷型倍半萜合酶催化底物 FPP 形成最终产物的反应机理并未阐明,以 δ -杜松烯合酶 (DCS) 催化生成 δ -杜松烯为例 (图 10),目前存在 3 种具有理论和证据支持的催化机理: (1) FPP 离子化和异构化生成 (3*R*)-橙花苷二磷酸 ((3*R*)-NDP), 后者经 C2-C3 键旋转、1,10-环化、1,3-氢迁移以

及 1,6-环化等一系列反应生成杜松烯阳离子; (2) FPP 生成 (3*R*)-NDP, 后者经 C2-C3 键旋转、1,6-环化、1,3-氢迁移、1,10-环化、1,5-氢迁移等反应生成杜松烯阳离子; (3) FPP 直接进行 1,10-环化生成瞬态反,反-吉马烯阳离子,后者经 1,3-氢迁移以及去质子反应生成吉马烯 D, 吉马烯 D 通过质子转移和构象变化进行 1,6-环化以生成杜松烯阳离子。以上 3 种途径生成的杜松烯阳离子去质子,最终生成 δ -杜松烯^[79-82]。

3.2.2 杜松烷型倍半萜合酶氨基酸定点突变对酶活性的影响

对杜松烷型倍半萜合酶的研究以 DCS 最为深入,DCS 特异性较高,仅能催化 FPP 产生 (+)- δ -杜松烯一种产物^[80]。与其他 I 型萜类环化酶相同,

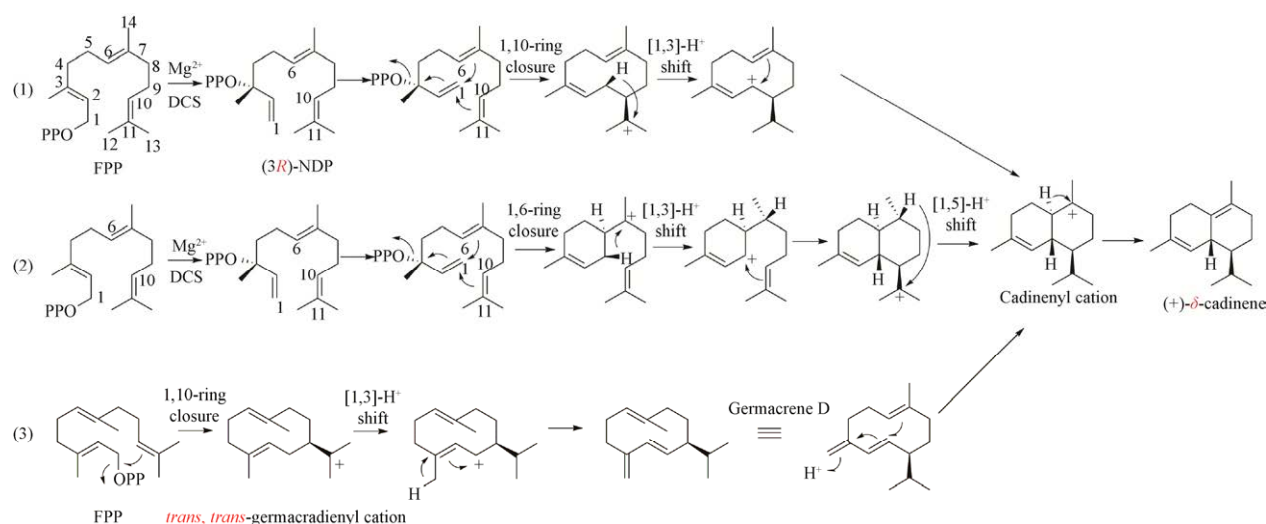


图 10 DCS 催化反应机理^[79-82]

Fig. 10 Catalytic reaction mechanisms of DCS^[79-82].

DCS 的 D 螺旋上含有一个天冬氨酸富集的 DDTYD 基序, 用于结合 Mg²⁺ A 和 Mg²⁺ C, 不同的是, H 螺旋上用于结合 Mg²⁺ B 的 NSE/DTE 基序在 DCS 中被 DDVAE 基序取代。Gennadios 等^[9]对 D₃₀₇DTYD₃₁₁ 和 D₄₅₁DVAE₄₅₅ 基序的突变研究表明, 保守基序对于金属离子的结合和酶的催化活性具有重要作用。

关键氨基酸的突变会影响 DCS 的产物特异性^[80-81,104]。通过 G 螺旋的 N₄₀₃ 和 L₄₀₅ 定点饱和突变, 发现突变株 N403P/L405H 的主产物从 (+)-δ-杜松烯变成吉马烯 D-4-醇; 对位于 N₄₀₃ 和 L₄₀₅ 对侧, 空间上更接近底物异戊二烯链的 W₂₇₉ 进行定点突变, 突变体 W279A 的催化产物中吉马烯 D-4-醇的含量高达 90%; N 端多肽片段 (NTS) 截短后, 随着截短长度的增加, 产物中吉马烯 D-4-醇的比例增加。以上结果中吉马烯 D-4-醇的产量均增加, 说明 G 螺旋、W₂₇₉ 以及 NTS 在保护底物碳正离子免受外部溶剂的影响方面起着重要作用, 其特定变化可以改变产物的特异性。

4 讨论与展望

杜松烷型倍半萜类天然产物在自然界中分布

广泛, 通过对近 4 年来新颖杜松烷型化合物结构的归纳可发现: 该类产物因双环并环方式的不同 (1,6-顺反、1,6-顺顺), 可生成构型各异的杜松烷骨架; 不同数量、不同构型羟基的取代则产生更多的同分或立体异构体; 官能团的氧化及还原、其他结构片段的引入、骨架的二聚或多聚均增加了杜松烷型倍半萜类天然产物的结构多样性。随着对天然来源倍半萜类化合物研究的不断深入, 更多复杂的杜松烷型倍半萜类产物亟待发现, 且对不同构型该类产物的鉴定也需要引起学者的重视。

杜松烷型倍半萜类天然产物除了结构复杂多样外, 还具有多种多样的药理活性, 如 7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene (44) 与阳性药槲皮素的作用机制不同, 具有较强的抗幽门螺杆菌活性; cornucadinose E (116) 表现出比阿卡波糖更优的降糖活性; 不同构型羟基取代的杜松醇则表现出不同强度的抗真菌活性。随着人们对该类化合物的不断探索, 对其药理活性的研究也更加广泛, 值得注意的是, 化合物结构的多样性对药理活性有较大影响, 对该类产物构效关系的研究亟待加强及完善。

杜松烷型倍半萜合酶来源广泛, 其结构与功能的研究也取得了较大进展, 尤其以植物来源的 δ -杜松烯合酶的研究最为透彻。但是, 其他杜松烷型倍半萜合酶还有待深入研究, 尤其是对不同构型杜松烷型倍半萜合酶生成机制的关注度不够, 没有意识到非对映异构体可能是由不同环化机制而生成。因此, 杜松烷型倍半萜合酶的研究仍任重而道远, 只有更全面、更系统地分析该类酶结构与功能的关联性, 才能不断完善人们对该类倍半萜合酶催化机理的认识, 才有利于通过合成生物学方法产生正确立体构型的杜松烷型倍半萜产物, 以用于新药研发。

REFERENCES

- [1] 王飞生, 文媛, 龙高峰. 香根草杜松烷型倍半萜成分分析. 安徽农业科学, 2009, 37(12): 5636-5638.
Wang FS, Wen Y, Long GF. Analysis on cadinane sesquiterpenoid composition in *Vetiveria zizanioides*. J Anhui Agric Sci, 2009, 37(12): 5636-5638 (in Chinese).
- [2] Shang ZC, Han C, Xu JL, et al. Twelve formyl phloroglucinol meroterpenoids from the leaves of *Eucalyptus robusta*. Phytochemistry, 2019, 163: 111-117.
- [3] Qin DP, Pan DB, Xiao W, et al. Dimeric cadinane sesquiterpenoid derivatives from *Artemisia annua*. Org Lett, 2018, 20(2): 453-456.
- [4] Zhou CX, Zhang LS, Chen FF, et al. Terpenoids from *Curcuma wenyujin* increased glucose consumption on HepG2 cells. Fitoterapia, 2017, 121: 141-145.
- [5] Zhu SS, Qin DP, Wang SX, et al. Commipholactam A, a cytotoxic sesquiterpenoidal lactam from *Resina commiphora*. Fitoterapia, 2019, 134: 382-388.
- [6] Paddon CJ, Westfall PJ, Pitera DJ, et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. Nature, 2013, 496(7446): 528-532.
- [7] Czechowski T, Weathers PJ, Brodelius PE, et al. Editorial: artemisinin-from traditional Chinese medicine to artemisinin combination therapies; four decades of research on the biochemistry, physiology, and breeding of *Artemisia annua*. Front Plant Sci, 2020, 11: 594565.
- [8] Huang JQ, Fang X, Tian X, et al. Aromatization of natural products by a specialized detoxification enzyme. Nat Chem Biol, 2020, 16(3): 250-256.
- [9] Gennadios HA, Gonzalez V, Di Costanzo L, et al. Crystal structure of (+)- δ -cadinene synthase from *Gossypium arboreum* and evolutionary divergence of metal binding motifs for catalysis. Biochemistry, 2009, 48(26): 6175-6183.
- [10] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2013, 30(9): 1226-1254.
- [11] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2012, 29(11): 1334-1366.
- [12] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2011, 28(9): 1580-1610.
- [13] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2010, 27(11): 1681-1708.
- [14] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2009, 26(9): 1125-1155.
- [15] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2008, 25(6): 1180-1209.
- [16] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2007, 24(6): 1350-1381.
- [17] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2006, 23(6): 943-972.
- [18] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2005, 22(4): 465-486.
- [19] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2004, 21(5): 669-693.
- [20] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2003, 20(4): 392-413.
- [21] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2002, 19(5): 650-672.
- [22] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2001, 18(6): 650-673.
- [23] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 2000, 17(5): 483-504.
- [24] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 1999, 16(6): 711-730.
- [25] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. Nat Prod Rep, 1999, 16(1): 21-38.

- [26] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1998, 15(1): 73-92.
- [27] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1997, 14(2): 145-162.
- [28] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1996, 13(4): 307-326.
- [29] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1995, 12(3): 303-320.
- [30] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1994, 11(5): 533-554.
- [31] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1993, 10(4): 397-419.
- [32] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1992, 9(6): 557-580.
- [33] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1992, 9(3): 217-241.
- [34] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1990, 7(6): 515-537.
- [35] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1990, 7(1): 61-84.
- [36] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1988, 5(5): 497-521.
- [37] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1987, 4(5): 473-498.
- [38] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1986, 3(3): 273-296.
- [39] Fraga BM. Natural sesquiterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1985, 2(2): 147-161.
- [40] Tian X, Ruan JX, Huang JQ, et al. Gossypol: phytoalexin of cotton. *Sci China Life Sci*, 2016, 59(2): 122-129.
- [41] Zhao ZZ, Liu JK, Chen HP. Microporotriol, a new cadinane-type sesquiterpenoid from the cultures of the wood-decay fungus *Microporus affinis* HFG829. *Nat Prod Res*, 2020, 34(15): 2194-2201.
- [42] Tan Z, Zhao JL, Liu JM, et al. Sesquiterpenoids from the cultured mycelia of *Ganoderma capense*. *Fitoterapia*, 2017, 118: 73-79.
- [43] Zhang Y, Zeng YM, Xu YK, et al. New cadinane sesquiterpenoids from *Mikania micrantha*. *Nat Prod Res*, 2020, 34(19): 2729-2736.
- [44] Sun YY, Xing JZ, Zhang JS, et al. Sesquiterpenoids with antialgal activity against the common red tide microalgae from marine macroalga *Porphyra yezoensis*. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2018, 25(8): 7844-7859.
- [45] Tang B, Du X, Long HN, et al. Two new cadinane-type sesquiterpenes from cultures of the basidiomycete *Trichaptum pargamenum*. *Nat Prod Res*, 2017, 31(20): 2454-2458.
- [46] Dibwe DF, Sun S, Ueda JY, et al. Discovery of potential antiausterity agents from the Japanese cypress *Chamaecyparis obtusa*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(21): 4898-4903.
- [47] Zhao ZZ, Zhao K, Chen HP, et al. Terpenoids from the mushroom-associated fungus *Montagnula donacina*. *Phytochemistry*, 2018, 147: 21-29.
- [48] Song YP, Miao FP, Liang XR, et al. Harziane and cadinane terpenoids from the alga-endophytic fungus *Trichoderma asperellum* A-YMD-9-2. *Phytochem Lett*, 2019, 32: 38-41.
- [49] Xu K, Zhou Q, Li XQ, et al. Cadinane- and drimane-type sesquiterpenoids produced by *Paecilomyces* sp. TE-540, an endophyte from *Nicotiana tabacum* L., are acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Chem*, 2020, 104: 104252.
- [50] Ding L, Görls H, Hertweck C. Plant-like cadinane sesquiterpenes from an actinobacterial mangrove endophyte. *Magn Reson Chem*, 2021, 59(1): 34-42.
- [51] Shi XS, Meng LH, Li XM, et al. Trichocadinins B-G: antimicrobial cadinane sesquiterpenes from *Trichoderma virens* QA-8, an endophytic fungus obtained from the medicinal plant *Artemisia argyi*. *J Nat Prod*, 2019, 82(9): 2470-2476.
- [52] De Mieri M, Monteleone G, Ismajili I, et al. Antiprotozoal activity-based profiling of a dichloromethane extract from *Anthemis nobilis* flowers. *J Nat Prod*, 2017, 80(2): 459-470.
- [53] Aldhafer A, Langat M, Ndunda B, et al. Diterpenoids from the roots of *Croton dichogamus* Pax. *Phytochemistry*, 2017, 144: 1-8.
- [54] Hu BY, Qin DP, Wang SX, et al. Novel terpenoids with potent cytotoxic activities from *Resina commiphora*. *Molecules*, 2018, 23(12): E3239.

- [55] Rodríguez-Chávez JL, Egas V, Linares E, et al. Mexican *Arnica* (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. *J Ethnopharmacol*, 2017, 195: 39-63.
- [56] Egas V, Millán E, Collado JA, et al. Effect of natural and semi-synthetic cadinanes from *Heterotheca inuloides* on NF- κ B, Nrf2 and STAT3 signaling pathways and evaluation of their *in vitro* cytotoxicity in human cancer cell lines. *Bioorg Med Chem*, 2017, 25(12): 3135-3147.
- [57] Ren J, Xie YG, Guo YG, et al. Unusual metal complex of cadinane sesquiterpene alkaloid and new neolignan glycosides from *Alangium alpinum*. *Fitoterapia*, 2018, 125: 18-23.
- [58] Sato T, Arai MA, Yixizhuoma, et al. Cadinane sesquiterpenoids isolated from *Santalum album* using a screening program for Wnt signal inhibitory activity. *J Nat Med*, 2020, 74(2): 476-481.
- [59] Cui J, Shang RY, Sun M, et al. Trichodermaloids A-C, cadinane sesquiterpenes from a marine sponge symbiotic *Trichoderma* sp. SM16 fungus. *Chem Biodivers*, 2020, 17(4): e2000036.
- [60] Song YP, Shi XS, Wang BG, et al. Cadinane and carotane derivatives from the marine algicolous fungus *Trichoderma virens* RR-dl-6-8. *Fitoterapia*, 2020, 146: 104715.
- [61] Yu YF, Liu YH, Chen XH, et al. Cadinane-type sesquiterpenes from the resinous exudates of *Commiphora myrrha* and their anti-Alzheimer's disease bioactivities. *Fitoterapia*, 2020, 142: 104536.
- [62] Cao L, Shehla N, Tasneem S, et al. New cadinane sesquiterpenes from the stems of *Kadsura heteroclita*. *Molecules*, 2019, 24(9): 1664.
- [63] Wu QH, Chen WT, Li SW, et al. Cytotoxic nitrogenous terpenoids from two South China sea nudibranchs *Phyllidiella pustulosa*, *Phyllidia coelestis*, and their sponge-prey *Acanthella cavernosa*. *Mar Drugs*, 2019, 17(1): 56.
- [64] Zhang P, Li J, Lang J, et al. Two new sesquiterpenes derivatives from marine fungus *Leptosphaerulina Chartarum* sp. 3608. *Nat Prod Res*, 2018, 32(19): 2297-2303.
- [65] Ding JH, Li ZH, Feng T, et al. A new cadinane sesquiterpenoid from cultures of the Basidiomycete *Panus conchatus*. *Nat Prod Res*, 2018, 32(19): 2333-2337.
- [66] Shi ZZ, Fang ST, Miao FP, et al. Trichocarotins A-H and trichocadinin A, nine sesquiterpenes from the marine-alga-epiphytic fungus *Trichoderma virens*. *Bioorg Chem*, 2018, 81: 319-325.
- [67] Xu J, Zhu HL, Zhang J, et al. Sesquiterpenoids from *Chloranthus anhuiensis* with neuroprotective effects in PC12 cells. *J Nat Prod*, 2018, 81(6): 1391-1398.
- [68] Qiao MM, Liu F, Liu Y, et al. Curcumane C and (\pm)-curcumane D, an unusual seco-cadinane sesquiterpenoid and a pair of unusual nor-bisabolane enantiomers with significant vasorelaxant activity from *Curcuma longa*. *Bioorg Chem*, 2019, 92: 103275.
- [69] Chen DL, Li G, Liu YY, et al. A new cadinane sesquiterpenoid glucoside with cytotoxicity from *Abelmoschus sagittifolius*. *Nat Prod Res*, 2019, 33(12): 1699-1704.
- [70] Jiang H, Zhang GJ, Liao HB, et al. New terpenoid and phenylpropanoid glycosides from *Tinospora sinensis*. *Fitoterapia*, 2018, 131: 127-133.
- [71] He J, Xu JK, Pan XG, et al. Unusual cadinane-type sesquiterpene glycosides with α -glucosidase inhibitory activities from the fruit of *Cornus officinalis* Sieb. et Zuuc. *Bioorg Chem*, 2019, 82: 1-5.
- [72] Song DH, Jo YH, Ahn JH, et al. Sesquiterpenes from fruits of *Torilis japonica* with inhibitory activity on melanin synthesis in B16 cells. *J Nat Med*, 2018, 72(1): 155-160.
- [73] Nyandoro SS, Maeda G, Munissi JJE, et al. A new benzopyranyl cadinane sesquiterpene and other antiplasmodial and cytotoxic metabolites from *Cleistochlamys kirkii*. *Molecules*, 2019, 24(15): 2746.
- [74] Wu CL, Chien SC, Wang SY, et al. Structure-activity relationships of cadinane-type sesquiterpene derivatives against wood-decay fungi. *Holzforschung*, 2005, 59(6): 620-627.
- [75] Chang ST, Wang SY, Wu CL, et al. Comparison of

- the antifungal activity of cadinane skeletal sesquiterpenoids from *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. *Holzforschung*, 2000, 54(3): 241-245.
- [76] Egas V, Salazar-Cervantes G, Romero I, et al. Anti-*Helicobacter pylori* metabolites from *Heterotheca inuloides* (Mexican *Arnica*). *Fitoterapia*, 2018, 127: 314-321.
- [77] Zhu H, Hua XX, Gong T, et al. Hypocreaterpenes A and B, cadinane-type sesquiterpenes from a marine-derived fungus, *Hypocrea* sp. *Phytochem Lett*, 2013, 6(3): 392-396.
- [78] 方欣, 卢山, 于宗霞, 等. 青蒿素的生物合成研究. *科技导报*, 2015, 33(20): 31-35.
Fang X, Lu S, Yu ZX, et al. Study on the biosynthesis of artemisinin. *Sci Technol Rev*, 2015, 33(20): 31-35 (in Chinese).
- [79] Faraldos JA, Miller DJ, González V, et al. A 1, 6-ring closure mechanism for (+)- δ -cadinene synthase? *J Am Chem Soc*, 2012, 134(13): 5900-5908.
- [80] González V, Grundy DJ, Faraldos JA, et al. The amino-terminal segment in the β -domain of δ -cadinene synthase is essential for catalysis. *Org Biomol Chem*, 2016, 14(31): 7451-7454.
- [81] Loizzi M, González V, Miller DJ, et al. Nucleophilic water capture or proton loss: single amino acid switch converts δ -cadinene synthase into germacradien-4-ol synthase. *Chembiochem*, 2018, 19(1): 100-105.
- [82] Loizzi M, Miller DJ, Allemann RK. Silent catalytic promiscuity in the high-fidelity terpene cyclase δ -cadinene synthase. *Org Biomol Chem*, 2019, 17(5): 1206-1214.
- [83] Jullien F, Moja S, Bony A, et al. Isolation and functional characterization of a τ -cadinol synthase, a new sesquiterpene synthase from *Lavandula angustifolia*. *Plant Mol Biol*, 2014, 84(1/2): 227-241.
- [84] Townsend BJ, Poole A, Blake CJ, et al. Antisense suppression of a (+)- δ -cadinene synthase gene in cotton prevents the induction of this defense response gene during bacterial blight infection but not its constitutive expression. *Plant Physiol*, 2005, 138(1): 516-528.
- [85] Chen XY, Wang MS, Chen Y, et al. Cloning and heterologous expression of a second (+)- δ -cadinene synthase from *Gossypium arboreum*. *J Nat Prod*, 1996, 59(10): 944-951.
- [86] Tan XP, Liang WQ, Liu CJ, et al. Expression pattern of (+)- δ -cadinene synthase genes and biosynthesis of sesquiterpene aldehydes in plants of *Gossypium arboreum* L. *Planta*, 2000, 210(4): 644-651.
- [87] Ren F, Mao HJ, Liang J, et al. Functional characterization of ZmTPS7 reveals a maize τ -cadinol synthase involved in stress response. *Planta*, 2016, 244(5): 1065-1074.
- [88] Jin Z, Kwon M, Lee AR, et al. Molecular cloning and functional characterization of three terpene synthases from unripe fruit of black pepper (*Piper nigrum*). *Arch Biochem Biophys*, 2018, 638: 35-40.
- [89] Xu YH, Wang JW, Wang S, et al. Characterization of GaWRKY1, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)- δ -cadinene synthase-A. *Plant Physiol*, 2004, 135(1): 507-515.
- [90] Benedict CR, Lu JL, Pettigrew DW, et al. The cyclization of farnesyl diphosphate and nerolidyl diphosphate by a purified recombinant δ -cadinene synthase. *Plant Physiol*, 2001, 125(4): 1754-1765.
- [91] Göpfert JC, Macnevin G, Ro DK, et al. Identification, functional characterization and developmental regulation of sesquiterpene synthases from sunflower capitulate glandular trichomes. *BMC Plant Biol*, 2009, 9: 86.
- [92] Jones CG, Keeling CI, Ghisalberti EL, et al. Isolation of cDNAs and functional characterisation of two multi-product terpene synthase enzymes from sandalwood, *Santalum album* L. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 477(1): 121-130.
- [93] Bouwmeester HJ, Wallaart TE, Janssen MHA, et al. *Amorpha*-4, 11-diene synthase catalyses the first probable step in artemisinin biosynthesis. *Phytochemistry*, 1999, 52(5): 843-854.
- [94] Zhou H, Yang YL, Zeng J, et al. Identification and characterization of a δ -cadinol synthase potentially involved in the formation of boreovibrins in

- Boreostereum vibrans* of basidiomycota. Nat Prod Bioprospecting, 2016, 6(3): 167-171.
- [95] Agger S, Lopez-Gallego F, Schmidt-Dannert C. Diversity of sesquiterpene synthases in the basidiomycete *Coprinus cinereus*. Mol Microbiol, 2009, 72(5): 1181-1195.
- [96] Wawrzyn GT, Quin MB, Choudhary S, et al. Draft genome of *Omphalotus olearius* provides a predictive framework for sesquiterpenoid natural product biosynthesis in Basidiomycota. Chem Biol, 2012, 19(6): 772-783.
- [97] Quin MB, Flynn CM, Wawrzyn GT, et al. Mushroom hunting by using bioinformatics: application of a predictive framework facilitates the selective identification of sesquiterpene synthases in basidiomycota. Chembiochem, 2013, 14(18): 2480-2491.
- [98] Yap HY, Muria-Gonzalez MJ, Kong BH, et al. Heterologous expression of cytotoxic sesquiterpenoids from the medicinal mushroom *Lignosus rhinocerotis* in yeast. Microb Cell Fact, 2017, 16(1): 103.
- [99] Lin YL, Ma LT, Lee YR, et al. Differential gene expression network in terpenoid synthesis of *Antrodia cinnamomea* in mycelia and fruiting bodies. J Agric Food Chem, 2017, 65(9): 1874-1886.
- [100] Shaw JJ, Berbasova T, Sasaki T, et al. Identification of a fungal 1, 8-cineole synthase from *Hypoxylon* sp. with specificity determinants in common with the plant synthases. J Biol Chem, 2015, 290(13): 8511-8526.
- [101] Hu Y, Chou WK, Hopson R, et al. Genome mining in *Streptomyces clavuligerus*: expression and biochemical characterization of two new cryptic sesquiterpene synthases. Chem Biol, 2011, 18(1): 32-37.
- [102] Rabe P, Dickschat JS. Rapid chemical characterization of bacterial terpene synthases. Angew Chem Int Ed Engl, 2013, 52(6): 1810-1812.
- [103] Styles MQ, Nesbitt EA, Marr S, et al. Characterization of the first naturally thermostable terpene synthases and development of strategies to improve thermostability in this family of enzymes. Febs J, 2017, 284(11): 1700-1711.
- [104] Yoshikuni Y, Martin VJJ, Ferrin TE, et al. Engineering cotton (+)- δ -cadinene synthase to an altered function: germacrene D-4-ol synthase. Chem Biol, 2006, 13(1): 91-98.

(本文责编 陈宏宇)