

# 藜芦中甾体生物碱的研究进展

王丹<sup>1,2</sup>, 于志晶<sup>2</sup>, 蔡勤安<sup>2</sup>, 李虎林<sup>1\*</sup>, 马瑞<sup>2\*</sup>

(1. 延边大学农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 吉林省农业科学院生物技术研究所/吉林省农业生物技术重点实验室, 长春 130033)

**摘要:** 甾体生物碱是藜芦植物体内的一类次生代谢物质, 主要分布在藜芦的根、茎、叶中, 具有抗肿瘤、降血压、镇痛消炎等多种生理功能。目前, 甾体生物碱的分离纯化、药理功能、生物合成以及转录调控等研究一直是研究热点。本文主要论述藜芦甾体生物碱的药理功能、甾体生物碱合成途径的分子生物学研究, 为以后藜芦甾体生物碱生物合成途径、药理作用等研究奠定基础。

**关键词:** 藜芦; 甾体生物碱; 药理作用; 生物合成途径

中图分类号: S567

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)01-0151-05

## Research Progress of Steroidal Alkaloids in *Veratrum nigrum*

WANG Dan<sup>1,2</sup>, YU Zhijing<sup>2</sup>, CAI Qin'an<sup>2</sup>, LI Hulin<sup>1\*</sup>, MA Rui<sup>2\*</sup>

(1. College of Agronomy, Yanbian University, Yanji 133002; 2. Institute of Agricultural Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences/Jilin Provincial Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Changchun 130033, China)

**Abstract:** Steroidal alkaloids are secondary metabolites in *Veratrum nigrum*. They are mainly distributed in the roots, stems and leaves of *V. nigrum*, which have many physiological functions such as anti-tumor, lowering blood pressure and analgesic anti-inflammatory. At present, steroidal alkaloids extraction, pharmacological function, biosynthesis and transcriptional regulation have been the research focus. This paper mainly discusses the pharmacological function of steroidal alkaloids in *V. nigrum* and the molecular biology research of steroidal alkaloid synthesis pathway, which lays a certain foundation for the research of *V. nigrum* steroidal alkaloids in biosynthesis pathway and pharmacological action.

**Key words:** *Veratrum nigrum*; Steroidal alkaloids; Pharmacological action; Biosynthetic pathway

藜芦(*Veratrum nigrum* L.)主要分布在我国东北等北方地区, 属百合科多年生草本植物, 是我国著名的传统中药<sup>[1-2]</sup>。从藜芦中已提取出甾体生物碱、黄酮等多种化合物, 研究发现, 甾体生物碱是藜芦中主要有效的活性成分<sup>[3]</sup>。目前, 已经从藜芦中分离出环巴胺、藜芦胺、介藜芦碱等 100 多种甾体类生物碱。在传统中药中, 藜芦可用于高血压、中风、黄疸、癫痫以及慢性疟疾等疾病的治疗<sup>[4-5]</sup>。藜芦生物碱对许多农业害虫具有触杀作用<sup>[6]</sup>。藜芦生物碱具有广泛的生理活性, 它的生物合成已成为国内外研究热点。本文主要从

藜芦甾体生物碱含量分布、药理作用、合成途径以及合成过程中的关键酶等几个方面进行论述, 为藜芦药效成分的研发和生产提供参考。

## 1 藜芦中生物碱的分布和含量

Augustin 等<sup>[7]</sup>利用 LC-MS/MS 测定藜芦中甾体生物碱谱, 发现在根茎中环巴胺有显著的积累, 其次是根和鳞茎, 且地下器官中甾体生物碱的积累量约为地上部分的 20 倍, 并推测藜芦中甾体生物碱合成发生在植物的地下器官中。Turner 等<sup>[8]</sup>研究发现不同采集地点藜芦中生物碱的含量有所差异, 即使相同的采集地点, 不同植株之间生物碱的含量也有较大差异, 但是总体上根和根茎中生物碱的浓度和多样性都明显高于叶。生物碱的含量也具有季节波动性, 5 月份根和根茎中环巴胺的含量最低, 为(5.20±1.02) mg/g; 7 月份达到最高为(11.01±1.02) mg/g; 根和根茎中藜芦碱浓度的

收稿日期: 2019-12-03

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2017ZY029)

作者简介: 王丹(1993-), 女, 副教授, 硕士, 主要从事植物生物技术研究。

通讯作者: 李虎林, 男, 博士, 教授, E-mail: lhlsym@ybu.edu.cn

马瑞, 男, 博士, 研究员, E-mail: ruimaa@126.com

波动与环巴胺相似,5月份含量较低为(6.16±1.03)mg/g,7月份含量最高为(15.35±2.86)mg/g。Ma等<sup>[9]</sup>采用添加4 mg/L毒秀啉(picloram)的改良MS培养基诱导胚性愈伤组织,从再生植株中提取一些代谢产物,经检测为环巴胺和藜芦胺,该体外系统将为藜芦细胞代谢工程在生物技术生产具有重要药用价值的次生代谢产物奠定基础。

## 2 甾体生物碱的生理活性

藜芦中甾体生物碱类成分结构复杂、种类多样,近年来国内外学者对其活性进行广泛研究,结果表明,藜芦生物碱具有抗血栓、降血压、抗炎镇痛以及抗肿瘤等作用。

### 2.1 抗血栓作用

Song等<sup>[10]</sup>采用大鼠血栓形成模型,并通过各种兴奋剂诱导凝血参数和血小板聚集,探讨光藜芦总生物碱(VpA)抗血栓作用机制,发现VpA能通过抑制血小板的聚集,从而达到抗血栓的作用。吕莉等<sup>[11]</sup>从乌苏里藜芦中提取出生物碱单体计米丁,分成5个剂量组给大鼠进行舌下静脉注射,并观察计米丁对大鼠体内和体外血小板聚集的抑制效果,结果发现大鼠静脉注射计米丁后呈剂量依赖性血流阻塞时间延长,计米丁对大鼠体内外血小板抑制作用与计米丁的剂量呈正相关。宋其玲<sup>[12]</sup>从藜芦植物中提取出总生物碱以及6种单一生物碱,并探讨对兔的血小板凝集的影响,结果表明藜芦总生物碱和其中5种单一生物碱能明显降低血栓湿质和血小板聚集率,而藜芦总生物碱中抑制血栓形成的主要成分为藜芦酰基棋盘花胺。

### 2.2 降血压作用

20世纪50年代已发现藜芦植物中含有降血压的活性物质<sup>[13]</sup>。赵瑜等<sup>[14]</sup>研究表明,原藜芦碱A能使大鼠的高压、低压和平均动脉压显著下降,并明显使心率减慢。原藜芦碱A能降低血压并对心血管系统疾病具有一定治疗作用。李伟等<sup>[15]</sup>证实生物碱的降血压作用部位并不发生在中枢部位也不阻断交感神经节,并且与M胆碱、肾上腺素 $\beta$ 及组胺的受体无相关性,即其为非中枢性降压。Wang等<sup>[16]</sup>以自发性高血压大鼠(SHR)为实验对象,研究黑藜芦总生物碱(VTA)和藜芦胺的降压作用,结果表明,单次口服藜芦胺(1.0~4.0 mg/kg)能明显的降低血压和心率,单次服用VTA(1.0~4.0 mg/kg)后血压和心率也显著降低。

### 2.3 抗炎镇痛作用

大理藜芦的根和根茎在传统中药中可用于减

轻疼痛、创伤性损伤以及炎症等,是云南白药的有效成分之一。Li等<sup>[17]</sup>以大理藜芦中总生物碱为研究对象,采用多步色谱法分离得到3种新型藜芦生物碱veratralines 1-3及5种已知类似物。分别采用卡拉胶诱导小鼠足部水肿来评价其抗炎活性和采用醋酸扭体法测定小鼠镇痛活性。结果表明,8种生物碱都具有镇痛作用,除化合物8,其余化合物都具有抗炎作用,其中生物碱3、5、7对角叉菜胶引起的足肿胀均有明显抑制作用。此外,Li等<sup>[18]</sup>又从大理藜芦的根和根茎中分离出7种新的藜芦胺类生物碱,结果显示7种化合物都具有镇痛活性,其中生物碱1、4比镇痛药哌替啶具有更强的镇痛作用。介藜芦碱是藜芦中一种典型的甾体生物碱,Dumlu等<sup>[19]</sup>从藜芦中分离出介藜芦碱,并研究其消炎活性,结果表明,介藜芦碱对卡拉胶诱导小鼠足部水肿具有50.4%~73.5%的抗炎作用。

### 2.4 抗肿瘤作用

环巴胺是20世纪90年代从藜芦植物中提取出的一种甾体类生物碱,可以作为一种新型抑制剂抑制Hedgehog信号通路<sup>[20]</sup>。代恩勇等<sup>[21]</sup>研究环巴胺对大肠癌Caco-2细胞的促凋亡效应并在蛋白水平阐明其作用机制,结果表明,环巴胺通过阻断Hedgehog通路,从而抑制大肠癌Caco-2细胞增殖,同时可明显改变Caco-2细胞线粒体蛋白表达,其差异与凋亡关系密切。杜建红等<sup>[22]</sup>通过研究环巴胺对人肺细胞癌的增殖、迁移的影响和作用机制,发现环巴胺组培养的细胞增殖能力和迁移率均小于对照组,同时检测到Hedgehog通路中相关蛋白Shh、Ptch1的表达量也低于对照组,表明环巴胺通过抑制Hedgehog通路而抑制肺癌细胞增殖和迁移。Almawash等<sup>[23]</sup>探讨环巴胺和多烯紫杉醇能否作为聚合药物协同抑制小鼠胰腺肿瘤,研究表明与单一药物相比,环巴胺与多烯紫杉醇联合使用,对胰腺癌细胞的杀伤力及体内肿瘤抑制作用更强。

## 3 甾体生物碱合成途径

甾体生物碱作为藜芦中重要的次级代谢产物,具有重要的生物学活性和药理作用,虽然众多研究人员参与藜芦甾体生物碱的合成途径解析,但是参与甾体生物碱合成的各种酶还未被完全解析,尤其是下游合成途径。藜芦甾体生物碱整个合成途径可分为三个阶段:第一阶段为上游至2,3-氧化鲨烯的合成;第二阶段胆固醇合成阶段;第三阶段甾体生物碱合成阶段<sup>[24]</sup>。

### 3.1 上游至 2,3-氧化鲨烯的合成

异戊烯焦磷酸是植物萜类生物合成途径中一个重要的中间产物,所有的萜类以及甾醇类化合物都是以异戊烯焦磷酸作为前体物质<sup>[25]</sup>。在高等植物体内异戊烯焦磷酸主要通过甲羟戊酸途径产生,在一系列酶的作用下生成甾类化合物,甾类化合物再经过酶的催化反应合成甾体生物碱<sup>[26]</sup>。MVA 途径的具体步骤为:(1)由乙酰辅酶 A 乙酰基转移酶(AACT)催化,在可逆反应中将两分子的乙酰辅酶 A 聚合形成乙酰乙酰辅酶 A;(2)3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶(HMGS)将乙酰乙酰辅酶 A 转化为 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A(HMG-CoA);(3)HMG-CoA 被 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶还原酶(HMGR)还原为甲羟戊酸(MVA);(4)甲羟戊酸激酶(MK)和磷酸甲羟戊酸激酶(PMK)两种激酶的连续催化反应中,MVA 被磷酸化为焦磷酸甲羟戊酸(MVAPP);(5)异戊二烯焦磷酸(IPP)生物合成的最后一步是由 2-磷酸甲羟戊酸脱羧酶(MVD)催化 MVAPP 脱羧生成 IPP;(6)IPP 与二甲基烯丙焦磷酸酯在香叶基二磷酸合成酶(GPS)的催化下生成法尼基焦磷酸(FPP);(7)FPP 在角鲨烯合酶(SQS)和角鲨烯环氧酶的作用下生成 2,3-化环鲨烯<sup>[27]</sup>。

### 3.2 胆固醇的合成

胆固醇被认为是甾类生物碱和非含氮甾体皂苷生物合成的共同前体物质。百合科和茄科植物的早期研究已经提出胆固醇转化为植物提取物中的代谢物,这些植物提取物包括多甘露醇、多甘露醇酮、藜芦碱等,这些分子物质都是环巴胺合成的中间体<sup>[28]</sup>。Amqvist 等<sup>[29]</sup>利用转基因马铃薯超表达大豆甾醇甲基转移酶(GmSMT1)cDNA 研究甾醇生物碱的合成,结果表明转基因马铃薯中 GmSMT1 的超表达可以增加甾体生物碱的生成而使游离胆固醇的含量减少,它们支持胆固醇作为甾体生物碱生物合成的前体的观点。Pettersson 等<sup>[30]</sup>通过氘(D)原子示踪法和质谱技术证实胆固醇是马铃薯糖苷生物碱合成的特定的前体物质。

在植物体内和动物体内甾醇是由不同的前体物质经过不同途径进行生物合成。在动物体内,2,3-氧化角鲨烯在羊毛甾醇合成酶(LAS)作用下合成羊毛甾醇作为胆固醇的前体物质,而在植物体内甾醇(胆固醇和 C-24 植物甾醇)则是在环阿屯醇合酶(CAS)的催化下生成环阿屯醇作为前体物质<sup>[31]</sup>。Sonawane 等<sup>[32]</sup>为了研究 CAS 在胆固醇合成过程中的作用,利用病毒诱导 CAS 沉默,实验表明

CAS 沉默的番茄叶子和绿色果实组织中  $\alpha$ -番茄碱含量明显降低,相反 CAS 在酵母菌株中高表达则会诱导产生 2,3-氧化角鲨烯从而导致环阿屯醇的积累<sup>[33]</sup>。这些结果证实 CAS 编码的环阿屯醇合酶为番茄胆固醇和植物甾醇合成提供共同的前体物质。在环阿屯醇到胆固醇合成过程中,在马铃薯和番茄中发现两种参与合成的基因,它们一个编码甾醇侧链还原酶(SSR2),催化环阿屯醇转化为环木菠萝烷醇,此步骤是植物体内胆固醇生物合成的第一个反应;另一个编码甾醇 C-5(6)去饱和酶(C5-SD),催化胆固醇后期的合成<sup>[32]</sup>。Sawai 等<sup>[34]</sup>从马铃薯中鉴定出 SSR2,并采用体外酶活性测定法测定出 SSR2 可以将环阿屯醇还原为环木菠萝烷醇。Cárdenas 等<sup>[35]</sup>利用病毒诱导基因沉默对 C5-SD 基因进行功能鉴定,结果显示 C5-SD 沉默的叶子中胆甾-7-烯醇含量增多而胆固醇和  $\alpha$ -番茄碱的含量显著减少,这也直接证实 C5-SD 在胆固醇通路中催化胆甾-7-烯醇转化为 7-脱氢胆固醇。

### 3.3 甾体生物碱的合成

目前,从分子生物学的角度研究藜芦甾体生物碱的生物合成研究较少。Augustin 等<sup>[7]</sup>通过转录组数据分析以及代谢物质谱分析发现与环巴胺合成相关的四种酶,其中 CYP90B27 为 22-C 甾体羟化酶,该酶催化胆固醇在 22-C 的 R 位上添加一个羟基形成 22(R)-羟基胆固醇。CYP94N1 注释为脂肪酸羟化酶,经鉴定该酶催化 22(R)-羟基胆固醇的 26-C 位上发生羟基化形成 22,26-羟基胆固醇;此外,该酶还氧化 C-26 羟基为醛基,形成 22-羟基胆固醇-26-醛。GABAT1 为氨基丁酸转氨酶,经 LC-MS/MS 检测,该酶以  $\gamma$ -氨基丁酸为氨基供体,将氮原子引入 22-羟基胆固醇-26-羰基的 26 位上的羰基上形成 22-羟基-26-氨基胆固醇。CYP90G1 为 22-C 甾体羟化酶,该酶可将 22-羟基-26-氨基胆固醇中的 22-C 上的羟基氧化为酮基,生成 22-酮基-26-氨基胆固醇,其氧化能力远高于 CYP90B27。而 22-酮基-26-氨基胆固醇是通过自发环化作用还是借助酶催化形成中间体藜芦嗪需要进一步验证。CYP90B27 和 CYP90G1 酶与 CYP90B1s 酶相似,而 CYP90B1s 酶是参与初级油菜素类激素代谢的酶,这可能在一定程度上表明藜芦甾体生物碱的生物合成进化是从油菜素类激素途径衍生而来。

## 4 展 望

经过多年研究,甾体生物碱的生物合成途径

已有初步的认识。但甾体生物碱的生物合成途径研究也主要集中在合成的前期阶段,如甲羟戊酸途径、5-磷酸脱氧木酮糖途径以及胆固醇的合成途径研究。而从前体物质胆固醇转化甾体生物碱的途径并未完全清楚,合成途径中缺乏中间代谢产物,参与代谢物质合成过程中的关键酶的数量较少。因此,对这些酶的作用机制还需进一步探讨。

植物的药用活性成分主要是通过植物的次生代谢途径产生,而转录因子可以通过对代谢途径中的关键酶进行调控,从而调节次生代谢物的合成<sup>[36]</sup>。目前已发现多种转录因子参与植物生物碱的合成调控,如ERF、bHLH、WRKY<sup>[37]</sup>。在茄科植物中发现一种参与甾体糖苷生物碱合成调控的转录因子GAME9,经鉴定是一种AP2/ERF转录因子。可以直接或间接与SIMYC2转录因子联合作用激活HMGR1、GAME4、C5-SD的启动子,提高酶基因的表达水平<sup>[35]</sup>。通过转录组测序在贝母中发现bHLH、AP2、MYB等转录因子,并推测转录因子有可能参与贝母甾体生物碱的合成调控<sup>[38]</sup>。目前,藜芦中生物碱生物合成过程的转录调控研究甚少,可将藜芦甾体生物碱生物合成的调控机制与苯丙烷、萜类生物合成的调控机制进行比较,有助于阐明藜芦生物碱演化过程和调控机制。

转录组测序(RNA-Seq)是一种高效获取转录组信息的传统分子生物学研究方法,目前广泛应用于各种传统药用植物中<sup>[39-40]</sup>。可通过对转录组数据分析,挖掘参与甾体生物碱合成的关键酶基因,为藜芦甾体生物碱的生物合成与含量调控研究提供分子基础。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Christov V, Mikhova B, Ivanova A, et al. Steroidal alkaloids of *Veratrum lobelianum* Bernh. and *Veratrum nigrum* L. [J]. Zeitschrift für Naturforschung C, 2010, 65(3-4): 195-200.
- [ 2 ] 李沙沙. 毛穗藜芦地上部分化学成分及藜芦生物碱药代动力学研究[D]. 开封: 河南大学, 2016.
- [ 3 ] 姜姣姣, 闫慧娇, 文蕾, 等. 高速逆流色谱技术分离纯化藜芦中甾体类生物碱[J]. 中国现代中药, 2017, 19(5): 648-651.
- [ 4 ] Zheng B, Wang C, Song W, et al. Pharmacokinetics and enterohepatic circulation of jervine, an antitumor steroidal alkaloid from *Veratrum nigrum* in rats[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2019.
- [ 5 ] Li W, Wang L, Zhao D, et al. Steroidal alkaloids from *Veratrum nigrum*[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2012, 48(5): 919-920.
- [ 6 ] 王冬梅, 戴爱梅, 刘新兰, 等. 藜芦碱对棉蚜防治效果分析[J]. 新疆农业科学, 2019, 56(1): 46-51.
- [ 7 ] Augustin M M, Ruzicka D R, Shukla A K, et al. Elucidating steroidal alkaloid biosynthesis in *Veratrum californicum*: production of verazine in Sf9 cells[J]. The Plant Journal, 2015, 82(6): 991-1003.
- [ 8 ] Turner M W, Rossi M, Campfield V, et al. Steroidal alkaloid variation in *Veratrum californicum* as determined by modern methods of analytical analysis[J]. Fitoterapia, 2019, 137: 104281.
- [ 9 ] Ma R, Ritala A, Oksman-Caldentey K M, et al. Development of in vitro techniques for the important medicinal plant *Veratrum californicum* [J]. Planta medica, 2006, 72(12): 1142-1148.
- [ 10 ] Song Q, Wang S, Zhao W. Total steroidal alkaloids from *Veratrum patulum* L. Inhibit platelet aggregation, thrombi formation and decrease bleeding time in rats[J]. Journal of ethnopharmacology, 2012, 141(1): 183-186.
- [ 11 ] 吕莉, 潘平, 韩国柱, 等. 乌苏里藜芦生物碱单体计米丁的抗动脉血栓作用[J]. 大连医科大学学报, 2011, 33(4): 317-320.
- [ 12 ] 宋其玲. 光脉藜芦与乌苏里藜芦生物碱抗血栓研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2015.
- [ 13 ] 李国栋. 藜芦生物碱降压作用及其作用机制的实验研究[D]. 延吉: 延边大学, 2007.
- [ 14 ] 赵瑜, 姜华, 奚桂林, 等. 原藜芦碱A对大鼠心血管系统和呼吸系统的影响[J]. 药学实践杂志, 2010, 28(5): 348-351.
- [ 15 ] 李伟, 陆艳娟, 王量清, 等. 黑藜芦生物碱的降压作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(1): 97-99.
- [ 16 ] Wang L, Li W, Liu Y. Hypotensive effect and toxicology of total alkaloids and veratramine from roots and rhizomes of *Veratrum nigrum* L. in spontaneously hypertensive rats [J]. Die Pharmazie—An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, 63(8): 606-610.
- [ 17 ] Li Q, Yang K X, Zhao Y L, et al. Potent anti-inflammatory and analgesic steroidal alkaloids from *Veratrum taliense* [J]. Journal of ethnopharmacology, 2016, 179: 274-279.
- [ 18 ] Li Q, Zhao Y L, Long C B, et al. Seven new veratramine-type alkaloids with potent analgesic effect from *Veratrum taliense* [J]. Journal of ethnopharmacology, 2019: 112-137.
- [ 19 ] Dumlu F A, Aydin T, Odabasoglu F, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of jervine, a steroidal alkaloid from rhizomes of *Veratrum album* [J]. Phytomedicine, 2019, 55: 191-199.
- [ 20 ] 张浩远, 张亚芬, 郝语晨, 等. Hedgehog信号通路及抑制剂在乳腺癌中的研究进展[J]. 中国医药, 2019, 14(3): 460-463.
- [ 21 ] 代恩勇, 张桂珍, 卢振霞, 等. 环巴胺诱导大肠癌Caco-2细胞凋亡效应和线粒体蛋白质组学研究[J]. 吉林大学学报(医学版), 2011, 37(3): 407-412.
- [ 22 ] 杜建红, 范春水, 张虹. 环巴胺对人肺癌细胞增殖、侵袭、迁移的影响及作用机制[J]. 山东医药, 2018, 58(24): 50-52.
- [ 23 ] Almawash S A, Mondal G, Mahato R I. Coadministration of polymeric conjugates of docetaxel and cyclopamine synergistically inhibits orthotopic pancreatic cancer growth and metastasis [J]. Pharmaceutical research, 2018, 35(1): 17.
- [ 24 ] 梁沁. 盾叶薯蓣转录组数据库构建及薯蓣皂苷合成相关基因挖掘[D]. 武汉: 中国科学院大学(中国科学院武汉植物园), 2018.
- [ 25 ] Liao P, Hemmerlin A, Bach T J, et al. The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production [J]. Bio-

- technology advances, 2016, 34(5): 697-713.
- [26] 孙立影,于志晶,马 瑞,等.植物次生代谢物研究进展[J].吉林农业科学,2009,34(4):4-10.
- [27] Vranová E, Coman D, Grussem W. Network analysis of the MVA and MEP pathways for isoprenoid synthesis [J]. Annual review of plant biology, 2013, 64: 665-700.
- [28] Chandler C M, McDougal O M. Medicinal history of North American veratrum[J]. Phytochemistry reviews, 2014, 13(3): 671-694.
- [29] Arnqvist L, Dutta P C, Jonsson L, et al. Reduction of cholesterol and glycoalkaloid levels in transgenic potato plants by overexpression of a type 1 sterol methyltransferase cDNA [J]. Plant Physiology, 2003, 131(4): 1792-1799.
- [30] Petersson E V, Nahar N, Dahlin P, et al. Conversion of exogenous cholesterol into glycoalkaloids in potato shoots, using two methods for sterol solubilisation [J]. PloS ONE, 2013, 8(12): e82955.
- [31] Itkin M, Heinig U, Tzfadia O, et al. Biosynthesis of antinutritional alkaloids in solanaceous crops is mediated by clustered genes [J]. Science, 2013,341(6142):175-179.
- [32] Sonawane P D, Pollier J, Panda S, et al. Plant cholesterol biosynthetic pathway overlaps with phytosterol metabolism[J]. Nature plants, 2017, 3(1): 16205.
- [33] Moses T, Pollier J, Almagro L, et al. Combinatorial biosynthesis of sapogenins and saponins in *Saccharomyces cerevisiae* using a C-16 $\alpha$  hydroxylase from *Bupleurum falcatum*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(4): 1634-1639.
- [34] Sawai S, Ohyama K, Yasumoto S, et al. Sterol side chain reductase 2 is a key enzyme in the biosynthesis of cholesterol, the common precursor of toxic steroidal glycoalkaloids in potato[J]. The Plant Cell, 2014, 26(9): 3763-3774.
- [35] Cárdenas P D, Sonawane P D, Pollier J, et al. GAME9 regulates the biosynthesis of steroidal alkaloids and upstream isoprenoids in the plant mevalonate pathway [J]. Nature communications, 2016, 7: 10654.
- [36] 于志晶,李淑芳,马 瑞,等.植物代谢工程研究进展[J].吉林农业科学,2010,35(4):13-18,21.
- [37] 吴素瑞,高 珂,刘 璇,等.AP2/ERF转录因子调控药用植物活性成分生物合成的研究进展[J].中草药,2016,47(9):1605-1613.
- [38] Eshaghi M, Shiran B, Fallahi H, et al. Identification of genes involved in steroid alkaloid biosynthesis in *Fritillaria imperialis* via de novo transcriptomics[J]. Genomics, 2018.
- [39] Yu H, Guo W, Yang D, et al. Transcriptional profiles of SmWRKY family genes and their putative roles in the biosynthesis of tanshinone and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza*[J]. International journal of molecular sciences, 2018, 19(6): 1593.
- [40] Sun J, Manmathan H, Sun C, et al. Examining the transcriptional response of overexpressing anthranilate synthase in the hairy roots of an important medicinal plant *Catharanthus roseus* by RNA-seq[J]. BMC plant biology, 2016, 16(1): 108.

(责任编辑:王 昱)

(上接第144页)

- [6] 申进文,王瑞瑞,许春平.秀珍菇多糖的硫酸化及其生物活性研究[J].河南农业科学,2014,43(7):102-106.
- [7] 陶 艺,王天琛,金 方,等.菌糠二次利用栽培秀珍菇实验研究[J].陕西农业科学,2014,60(12):11-12,18.
- [8] 田景花,胡宝华,李 明,等.杏鲍菇高产高效栽培料配方研究[J].北方园艺,2013(6):155-158.
- [9] 刘瑞璧.养猪场沼渣栽培杏鲍菇配方对比试验[J].食用菌,2012(5):21-22.
- [10] 李善仁,陈济琛,胡开辉,等.大豆肽的研究进展[J].中国粮油学报,2009(7):142-147.
- [11] 张连慧,贺 寅,刘新旗.大豆肽制备研究进展及其在食品中的应用[J].食品工业科技,2012,33(24):423-425,429.
- [12] 杨玉娟,姚怡莎,秦玉昌,等.豆粕与发酵豆粕中主要抗营养因子调查分析[J].中国农业科学,2016,49(3):573-580.
- [13] 陈生良.麸皮含量对杏鲍菇产量的影响[J].浙江农业科学,2006(3):275-276.
- [14] 中国食用菌商务网.科技进步让食用菌栽培新型原料得到不断开发[J].中国食用菌,2014,33(3):58.
- [15] 韩建东,宫志远,姚 强,等.金针菇菌渣栽培秀珍菇的营养成分分析[J].中国食用菌,2013,32(6):30-31,35.
- [16] 谢春芹,贾 君,谢正林,等.金针菇菌渣栽培秀珍菇试验[J].北方园艺,2012(9):170-172.
- [17] 田忠科,邢秀龙.玉米芯和废棉牛粪栽培双孢蘑菇高产技术[J].食用菌,2018(3):53-54,56.
- [18] 李保华,高春燕,王朝江.棉柴屑栽培姬菇鸡腿菇试验[J].食用菌,2010(6):32-33.
- [19] 李守勉,王胜男,李 明,等.莠麦秸秆营养成分测定及双孢菇栽培试验[J].北方园艺,2014(15):146-149.
- [20] 范海茹,许 斌,高雅鑫,等.酶解豆粕制备鲜味肽外切酶筛选与工艺优化[J].东北农业科学,2020,45(2):111-115.
- [21] 赵贵兴,陈 霞,孙子重.大豆水解蛋白的特性及其在食品中的应用[J].中国食品工业,2006(11):50-51.

(责任编辑:刘洪霞)