

环化酶抑制剂在提高番茄红素产量中的应用

陈鑫¹, 张洪发¹, 高娜², 吴愚¹, 胥欣茹¹, 王俊晓¹, 赵越超¹, 王燕龙^{*1}

(1. 济宁医学院 山东省出生缺陷研究与转化协同创新中心, 山东 济宁 272013; 2. 艾美科健(中国)生物医药有限公司, 山东 济宁 272073)

摘要: 番茄红素是一类重要的天然红色色素, 具有很强的抗炎、抗癌、抗氧化能力, 目前已经广泛应用于食品、保健品、医疗等行业。在番茄红素生成过程中, 环化酶抑制剂可以阻断番茄红素环化为 β -胡萝卜素, 从而大幅提高番茄红素产量。近年来环化酶抑制剂在细菌、酵母、霉菌、藻类及高等植物中均得到广泛应用。作者综述了环化酶抑制剂的种类及其对不同生物番茄红素产量的影响, 并对其未来的应用前景和研究方向进行了展望。

关键词: 环化酶抑制剂; 胺类化合物; 含氮杂环化合物; 番茄红素; 类胡萝卜素

中图分类号: Q 819.7 文章编号: 1673-1689(2021)06-0025-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.06.004

Applications of Cyclase Inhibitors in Increasing Lycopene Production

CHEN Xin¹, ZHANG Hongfa¹, GAO Na², WU Yu¹, XU Xinru¹,
WANG Junxiao¹, ZHAO Yuechao¹, WANG Yanlong^{*1}

(1. Jining Medical University, Collaborative Innovation Center for Birth Defect Research and Transformation of Shandong Province, Jining 272013, China; 2. Amicogen (China) Biopharm Co., Ltd., Jining 272073, China)

Abstract: Lycopene is an important natural red pigment with strong anti-inflammatory, anti-cancer, and anti-oxidation activities. It has been widely used in food, health products, medical and other industries. In the process of lycopene fermentation, a cyclase inhibitor can block the cyclization of lycopene to β -carotene, thereby greatly increasing the lycopene production. In recent years, the widespread application of cyclase inhibitors in bacteria, yeast, mold, algae and higher plants has been achieved. This article reviews the types of cyclase inhibitors and their effects on lycopene production in different organisms. The application prospect and research direction of cyclase inhibitors are also prospected.

Keywords: cyclase inhibitor, amines, nitrogen-containing heterocyclic compound, lycopene, carotenoid

番茄红素是类胡萝卜素的一种, 是由 11 个碳氢共轭双键和 2 个碳氢非共轭双键所构成的脂溶性直链高度不饱和的聚烯烃类化合物, 具有抗癌、抗肥胖、提高免疫力和保护心血管的作用^[1-4], 其猝灭单线态氧的能力是 β -胡萝卜素的 2 倍多、维生素 E

的 100 倍^[5]; 并且可以被动物(包括人类^[6])摄取后用作维生素 A 前体, 因此被广泛用作食品成分、营养增补剂和补充剂^[7], 被世界卫生组织(WHO)、食品添加剂联合专家委员会(JECFA)和联合国粮食及农业组织(FAO)评定为 A 类营养素^[8]。近年来, 随着经济

收稿日期: 2020-02-06

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目(2019WS359); 济宁医学院国家自然科学基金培育项目(JYP2019KJ21); 济宁医学院大学生创新训练计划项目(201910443014)。

* 通信作者: 王燕龙(1988—), 女, 博士, 讲师, 主要从事食品添加剂、抗氧化剂的产量提高与功能机制相关研究。E-mail: wangyanlong0000@126.com

发展水平的逐步提升,我国医药和保健品行业发展迅猛,对番茄红素的需求逐步增加,怎样提高其产量并降低生产成本受到国内外广泛重视。

番茄红素的生产方法主要有3种:天然提取、化学合成和生物合成。天然提取法是目前番茄红素最主要的生产方法,主要从橙色水果的果实、果皮及藻类中提取,具有产量大、纯度高、安全无毒等优点。化学合成法按照其核心双键形成方式的不同,主要有醛-矾法^[9]、Witting 反应法^[10]等,但是由于其原料昂贵、产出率低、反应条件复杂、副产物种类繁多且分离困难以及中间残留产物具有毒性和致癌性等因素使其安全性难以达到食品级要求,故而受到很大限制。生物合成法包括酶法和发酵法,主要利用代谢产番茄红素的生物作为生物反应器进行生产,具有周期短、成本低、纯度及安全性能高、易于基因改造并且不存在与作物生长争地等优势,是未来发展的主要方向。目前在细菌、真菌、藻类及高等植物中均有生产番茄红素的报道。

生物合成番茄红素的途径主要有2种,甲羟戊酸(MVA)途径和甲基赤藓糖-4-磷酸(MEP)途径。MVA 途径主要存在于真核生物、古细菌和高等植物细胞的胞液和内质网中,而在细菌、绿藻和植物质体中还存在 MEP 途径^[11-12]。2种途径都会生成法尼基焦磷酸,然后进入类胡萝卜素代谢支路:首先经八氢番茄红素合成酶催化生成八氢番茄红素,然后在八氢番茄红素脱氢酶作用下形成番茄红素,再经番茄红素环化酶催化为 β -胡萝卜素、 γ -胡萝卜素、叶黄素、玉米黄素、新黄素等类胡萝卜素^[13-14]。添加氟康唑和酮康唑等麦角固醇合成抑制剂也可以阻断类胡萝卜素代谢支路上游的麦角固醇合成支路,以提高番茄红素的产量^[15]。但是与生成番茄红素直接相关的靶酶主要为八氢番茄红素脱氢酶和番茄红素环化酶。八氢番茄红素脱氢酶主要作为农作物除草剂的靶点使用^[16],而番茄红素环化酶抑制剂可以用于提高番茄红素的产量,并取得了良好的效果。为此,作者对环化酶抑制剂的种类及其在不同生物生成番茄红素中的应用进行了综述。

1 环化酶抑制剂的种类

1.1 胺类化合物

胺类环化酶抑制剂主要有伯胺化合物异丙胺、二异丙胺、二甲基乙醇胺、二甲基丙醇胺等仲胺及

衍生物^[14],三甲胺、三乙胺、三丙胺、三丁胺、2-(4-硫代氯苯基)-三乙胺盐酸盐(CPTA)、2-(3,4-二氯苯氧基)-三乙基胺(DCPTA)等叔胺及衍生物,2-(4-甲基苯氧基)三乙胺盐酸盐(MPTA)、二甲基苯乙胺等芳香胺^[17-19]。

1.2 含氮杂环类化合物

含氮杂环类环化酶抑制剂主要有咪唑、2-甲基咪唑、2-异丙基咪唑、肌酐等五元杂环化合物及衍生物^[20-21],吡啶、 α -甲基吡啶、二甲基吡啶、2-氨基-6-甲基吡啶、哌啶、嘧啶、烟酸、异烟肼、吗啉、N-甲基吗啉等六元杂环化合物及衍生物^[22-23],以及稠杂环化合物尼古丁、胡椒基丁醚、烟草水提取物等^[24-25]。

Madhour 等发现尼古丁可以促进红酵母中番茄红素的积累^[21]。对咪唑、吡啶、尼古丁、三乙胺提高三孢布拉氏霉的番茄红素产量的效果进行比较,尼古丁的抑制效果最强,其次是三乙胺、咪唑和吡啶^[26]。王常玲对咪唑、异烟肼、吡啶这3种含氮杂环化合物的阻断效果进行分析,认为咪唑的效果优于异烟肼和吡啶^[22]。在植物类胡萝卜素代谢过程中,二苯胺、尼古丁、N,N-二乙基-N-(2-十一碳炔基)胺等均可抑制番茄红素的环化过程并诱导番茄红素积累。其中 MPTA、CPTA 等三乙胺衍生物诱导番茄红素的积累量最高,应用最为广泛^[17]。环化酶抑制剂种类繁多而且复杂,其优劣将直接决定产物番茄红素的浓度、纯度和产品安全性,因此选择高效而又安全的环化酶抑制剂成为现在研究领域中的一个难点。

2 环化酶抑制剂在不同生物中的应用

2.1 霉菌

三孢布拉氏霉为毛霉目,布拉霉菌属的一种丝状好氧接合真菌,接合发酵后可以产生大量类胡萝卜素^[27]。三孢布拉氏霉生长迅速、易于培养、类胡萝卜素产量高、产物没有毒性,是工业化生产食品级番茄红素的重要微生物。三孢布拉氏霉生产的番茄红素于2005年获得美国食品和药物管理局批准,2006年获得欧盟批准在市场销售^[23]。

为了进一步提高三孢布拉氏霉的番茄红素产量,胺类和含氮杂环类化合物均得到了广泛应用。Choudhari 等对咪唑、吡啶、三乙胺、哌啶和烟酸等环化酶抑制剂在三孢布拉氏霉中的作用进行评价,发现哌啶的作用效果尤为显著,进一步补充维生素 A

乙酸酯后,番茄红素质量浓度提高了 7.76 倍,达到 775 mg/L^[28]。也有研究者通过比较咪唑、尼古丁、N-甲基吗琳、吡啶和哌啶的阻断效果,得出尼古丁效果最佳(番茄红素积累量提高了 112.89 倍)^[29]。进一步对 3 种吡啶衍生物 2,6-二甲基吡啶、2,5-二甲基吡啶、2-氨基-6-甲基吡啶^[30]和 3 种咪唑衍生物 α -甲基吡啶、2-甲基咪唑、2-异丙基咪唑^[31-32]的作用效果进行比较,2-氨基-6-甲基吡啶和 2-异丙基咪唑的效果最佳,10 g/L 的 2-氨基-6-甲基吡啶使番茄红素产量高达 692 mg/L, β -胡萝卜素显著下降(65.69 mg/L),0.3 g/L 的 2-异丙基咪唑基本可以完全抑制番茄红素环化,使番茄红素比例高达 96%^[33]。作者所在课题组前期应用三丙胺、三乙胺、三丁胺、三甲胺、二异丙胺和异丙胺 6 种环化酶抑制剂处理三孢布拉氏霉,发现三丙胺阻断效果最佳,番茄红素含量可提高 315.8 倍,其比例从 1.7% 提高到 90.1%,总类胡萝卜素含量也提高了 5.9 倍,并且 5 种叔胺化合物均可以促进类胡萝卜素生成^[14]。环化酶抑制剂 CPTA^[34]和 MPTA^[35]也具有促进类胡萝卜素生成的作用。可见,叔胺类化合物及其衍生物除了具有环化酶抑制剂的作用外,还可以提高总类胡萝卜素产量。因此,在三孢布拉氏霉中,胺类化合物的作用效果优于含氮杂环类化合物。此外,环化酶抑制剂通常对三孢布拉氏霉具有一定的毒性。例如过早和过量添加 MPTA 会影响菌体正常生长而降低番茄红素的产量^[35]。有研究者^[36-37]发现当添加咪唑的时间过晚(>40 h)时,大部分番茄红素已在环化酶的催化下发生环化反应,番茄红素产量也会相对下降。

粗糙脉孢霉俗称红色面包霉,主要用于生产纤维素酶,其代谢过程中也可以产生类胡萝卜素,环化酶抑制剂结合其他助剂可以提高番茄红素产量。在粗糙脉孢霉中使用的环化酶抑制剂主要为含氮杂环类化合物,例如 2-异丙基咪唑结合柠檬酸、香叶醇、酮康唑等助剂使番茄红素产量提高 77.7%^[38]。不同添加量和不同添加时间对番茄红素产量有较大影响,而对菌丝和孢子生物量却没有太大影响,在发酵 60 h 后添加 100 mg/L 烟草水提物(有效成分为尼古丁)可以使菌丝和孢子的番茄红素产量达到最高(分别为 0.65 mg/L 和 4.37 mg/L,为对照的 114%和 112%)^[39]。但是也有研究者认为发酵早期(0~24 h)添加尼古丁会抑制粗糙脉孢菌的生长,进

而降低番茄红素产量,最适宜的添加时间为发酵 40 h,可使番茄红素产量提高 2.38 倍(57.31 μ g/g)^[40]。

2.2 酵母

红酵母可以发酵生产番茄红素,其生长周期较短、发酵控制容易、营养要求简单、更易规模化生产,因此也具有良好的工业应用前景,但是产量比三孢布拉氏霉低^[41]。在红酵母中多采用添加含氮杂环类化合物并结合多种助剂的方式提高其番茄红素产量。例如,杨建明等^[23]发现 N-甲基吗琳、烟叶水提取物、咪唑和吡啶都可以促进红酵母生成番茄红素,前 2 种阻断剂阻断效果更好,番茄红素产量最高(11.79 mg/L),但是发酵早期添加阻断剂会使生物量下降,发酵后期添加会降低阻断效果,得出最佳加入时间为中期(28 h)。王海兵等^[42]从 5 株红酵母中筛得一株类胡萝卜素产量较高的黏红酵母,发酵 24 h 后加入 2.5 mL/L 尼古丁和 4 mg/L MVA 激酶激活剂青霉素,发酵至 36 h 时添加过氧化氢 1.2 mL/L,60 h 时添加麦角固醇合成抑制剂酮康唑 400 mg/L,最终使番茄红素累积质量浓度达到 176.97 mg/L,为对照的 43.2 倍,并且也发现发酵早期加入尼古丁对细胞生长不利。廉博等^[43]发现在培养 48 h 后添加尼古丁(2.5 mL/L)和过氧化氢(1.6 mL/L),可以使黏红酵母生物量提高的同时也提高番茄红素的产量(87.71 mg/L)。

除红酵母外,用于生产虾青素的红法夫酵母在代谢过程中也可以产生番茄红素,并且已有研究通过添加环化酶抑制剂提高其类胡萝卜素产量。有研究者^[44]采用尼古丁阻断突变株番茄红素的环化使番茄红素升高至 0.129 mg/g。李思敏^[45]则采用 N-甲基吗琳、异烟肼及诱导剂筛选类胡萝卜素高产的红法夫酵母菌株。此外胺类化合物也得到应用,并被证实具有提高总类胡萝卜素含量的作用。有研究者采用胡椒基丁醚和三乙胺共同处理红法夫酵母,使番茄红素和总类胡萝卜素产量均得到提高^[24]。

2.3 藻类

小球藻、杜氏盐藻、杜氏巴氏藻、雨生红球藻、莱茵衣藻等多数单细胞藻类植物均可以生产番茄红素。在藻类植物中应用较多的环化酶抑制剂为含氮杂环化合物尼古丁^[46-48]。例如用尼古丁处理小球藻,当添加浓度为 2 mmol/L 时细胞生长开始受到抑制,虽然 5 mmol/L 时番茄红素产量最高(提高 80%),但是叶黄素的生成受到抑制,而叶黄素在光

系统 II 中起着重要作用,进而导致细胞浓度显著下降,叶绿体被红色囊泡取代^[46]。在雨生红球藻中,0.05 mmol/L 尼古丁即可抑制其生长,在最适浓度 0.02 mmol/L 条件下可使番茄红素质量浓度达到最高 0.68 mg/L^[47]。因此,高浓度尼古丁会影响叶绿体的生成,对光合自养的藻类细胞生长不利。

也有研究认为胺类化合物在藻类中的效果更为显著。李一萌对咪唑、哌啶、三乙胺、吡啶、肌酐、烟酸、胡椒基丁醚等 7 种阻断剂进行不同浓度梯度阻断实验,发现三乙胺在巴氏杜氏藻中具有最佳的阻断效果^[29];最佳浓度的三乙胺处理 3 d 得到的番茄红素所占比例最大,但是细胞生长受到显著抑制。在不同生长阶段(迟缓期、对数期前期、对数期中期、对数期后期、稳定期)添加三乙胺,结果显示最适添加时间为对数期中期^[49],可见抑制剂的添加时间对番茄红素产量至关重要。此外,也有研究者比较了 MPTA、CPTA、NDUA 及其衍生物在莱茵衣藻中的作用效果,发现 CPTA 处理后得到的番茄红素产量最高,并且随着添加浓度的升高,代表细胞生长程度的叶黄素、叶绿素 a、叶绿素 b 均受到抑制^[18]。

2.4 高等植物

橙色水果的果实和果皮中含有大量番茄红素、 β -胡萝卜素、玉米黄素等类胡萝卜素成分,应用番茄红素环化酶抑制剂处理可以明显提高其番茄红素的产量。陶俊等^[50]用 MPTA 处理柑橘可使果皮颜色由淡黄色转变为红色,并发现 MPTA 不仅能够阻断番茄红素环化,还促进了前体物质葡萄糖向番茄红素的转化。CPTA 可以使甜橙^[51]和柑橘^[52]积累番茄红素,对类胡萝卜素代谢途径相关基因转录水平分析表明 CPTA 也具有促进类胡萝卜素生成的作用。

在拟南芥、大麦、油菜、棉花、水仙等高等植物中也有环化酶抑制剂的应用。有研究者早在 1999 年即发现 CPTA 可以显著抑制黄水仙中番茄红素环化为 β -胡萝卜素和玉米黄质^[53]。有报道表明以 10 μ mol/L CPTA 处理拟南芥籽苗后无 β -胡萝卜素产生,但是仍有少量叶黄素和 δ -胡萝卜素存在;而 50 μ mol/L CPTA 可以完全阻断番茄红素的环化^[54]。在大麦中也有应用 CPTA 促进番茄红素累积的报道^[55]。有研究者采用 MPTA 抑制油菜中 β -胡萝卜素环化,降低 β -胡萝卜素和叶黄素的含量,提高番茄红素的含量^[19]。在棉花籽苗中用 MPTA 处理,可以使叶黄素含量降低 88%, β -胡萝卜素的生成完全被

抑制,总类胡萝卜素提高 18 倍(主要是番茄红素及其前体)^[56]。可见,在高等植物中应用较为广泛的环化酶抑制剂为胺类化合物 CPTA 和 MPTA,它们除了具有抑制番茄红素环化作用外,还具有促进类胡萝卜素生成的作用。另外在高等植物中鲜有环化酶抑制剂抑制植株生长的报道。

此外,环化酶抑制剂在产类胡萝卜素的细菌中也得到了应用。在迪茨氏菌中,环化酶抑制剂可以抑制番茄红素环化为角黄素。Nasrabadi 等对咪唑、尼古丁、哌啶、吡啶和三乙胺等 5 种抑制剂的环化酶阻断效果进行了分析,发现尼古丁效果最佳,而且在最佳浓度下不会抑制细胞生长^[57]。Howes 等发现,在海洋分枝杆菌中也可以采用尼古抑制番茄红素环化^[58]。

3 展望

番茄红素因其良好的理化性质具有广阔的消费市场前景,其工业生产方法也由天然提取和化学合成逐渐发展为生物合成。目前市场所售番茄红素产品多为海外进口,我国番茄红素产业面临严峻的海外竞争,其工业产量增长面临瓶颈。怎样提高番茄红素产量、降低成本仍为目前亟待解决的问题。环化酶抑制剂可以直接作用于番茄红素环化酶,阻断番茄红素的环化。因此,在番茄红素生成过程中,合理添加环化酶抑制剂可以大大提高番茄红素的产量。

作者综述了环化酶抑制剂的种类及其在不同生物中的应用。从番茄红素产量方面考虑,在三孢布拉氏霉和高等植物中胺类抑制剂的作用效果更显著,尤其是叔胺化合物三丙胺及其衍生物 CPTA 和 MPTA,因为它们除了具有环化酶抑制剂的作用外还可以促进总类胡萝卜素的生成;在粗糙脉孢霉、酵母和细菌中应用较多的为含氮杂环类抑制剂或结合多种助剂的方式,这可能是由于环化酶抑制剂通常具有一定的细胞毒性,毒性过高会抑制细胞生长进而降低番茄红素产量,而含氮杂环类化合物的毒性普遍低于胺类化合物;在单细胞的藻类植物中 2 类抑制剂均得到广泛应用,因为藻类植物除了进行光合自养培养外也可以进行异养培养,高毒性的抑制剂虽然会抑制叶绿体的生成,但是异养培养可以避免叶绿体缺失的影响^[46]。

为了减弱抑制剂毒性对细胞生长的影响,在番

茄红素生产之前首先需要控制抑制剂的添加浓度和添加时间。Liang 等发现对数期中期为最适添加时间,可能因为细胞在迟缓期、对数期前期生长活跃,环化酶抑制剂的加入会使生长环境变化较大,此时添加会导致菌体生长缓慢甚至出现部分细胞死亡等现象。若添加过晚,由于大部分番茄红素已在环化酶的催化下发生环化反应,致使番茄红素产量降低^[49]。

此外,环化酶抑制剂大多对动物具有毒性(见表1),如果产物萃取不当产品中容易有化学物质残留,使得番茄红素难以达到食品级标准。为此,王红

波制定了环化酶抑制剂的评价标准,认为优良的环化酶抑制剂应具备以下特征:抑制效果好、用量少、水溶性好、性质稳定、能上调番茄红素的合成代谢流、可降解等。综合评估,得出最佳的抑制剂为 2-异丙基咪唑^[59]。2-异丙基咪唑易溶于水,难溶于油脂,能够通过水提方法从番茄红素中分离。而吡啶、哌啶、尼古丁、三乙胺和番茄红素都是脂溶性的,难以从番茄红素样品中完全分离。另外胺类化合物的作用效果尤为显著,因此研究胺类化合物的作用机制,寻找其作用靶点,进而选择更有效、更安全的环化酶抑制剂或将成为未来的研究方向。

表 1 常用环化酶抑制剂的毒性

Table 1 Toxicity of commonly used cyclase inhibitors

化合物名称	CAS 号	分子式	类别	毒性
异丙胺	75-31-0	C ₃ H ₉ N	胺类	820(ro); 2 200(mo)
二异丙胺	108-18-9	C ₆ H ₁₅ N	胺类	770(ro); 2 120(mo)
二甲基乙醇胺	108-01-0	C ₄ H ₁₁ NO	胺类	2 000(ro); 1 080(rip); 234(mip)
三甲胺	75-50-3	C ₃ H ₉ N	胺类	500(ro); 946(mip)
三乙胺	121-44-8	C ₆ H ₁₅ N	胺类	460(ro); 546(mo); 405(mip)
三丙胺	102-69-2	C ₉ H ₂₁ N	胺类	96(ro)
三丁胺	102-82-9	C ₁₂ H ₂₇ N	胺类	114(ro); 114(mo)
CPTA	13663-07-5	C ₁₂ H ₁₈ ClNS.ClH	胺类	100(mip)
MPTA	2759-98-0	C ₁₃ H ₂₁ NO ₂	胺类	—
二苯胺	122-39-4	C ₁₂ H ₁₁ N	胺类	2 000(ro); 1 750(mo)
咪唑	288-32-4	C ₃ H ₄ N ₂	含氮杂环类	220(ro); 880(mo); 300(mip)
2-甲基咪唑	693-98-1	C ₄ H ₆ N ₂	含氮杂环类	1 400(mo); 480(mip)
2-异丙基咪唑	36947-68-9	C ₆ H ₁₀ N ₂	含氮杂环类	—
肌酐	60-27-5	C ₄ H ₇ N ₃ O	含氮杂环类	—
吡啶	110-86-1	C ₅ H ₅ N	含氮杂环类	891(ro); 1 500(mo)
α-甲基吡啶	109-06-8	C ₆ H ₇ N	含氮杂环类	790(ro); 674(mo); 200(rip); 529(mip)
2,5-二甲基吡啶	589-93-5	C ₇ H ₉ N	含氮杂环类	800(ro); 670(mo)
2,6-二甲基吡啶	108-48-5	C ₇ H ₉ N	含氮杂环类	400(ro)
2-氨基-6-甲基吡啶	1824-81-3	C ₆ H ₈ N ₂	含氮杂环类	100(ro);
哌啶	110-89-4	C ₅ H ₁₁ N	含氮杂环类	400(ro); 30(mo); 50(mip)
嘧啶	289-95-2	C ₄ H ₄ N ₂	含氮杂环类	3 310(mip)
烟酸	59-67-6	C ₆ H ₅ NO ₂	含氮杂环类	7 000(ro); 3 720(mo); 730(rip); 358(mip)
异烟肼	54-85-3	C ₆ H ₇ N ₃ O	含氮杂环类	1 250(ro); 133(mo); 335(rip); 100(mip)
吗啉	110-91-8	C ₄ H ₉ NO	含氮杂环类	1 450(ro); 525(mo)
N-甲基吗啉	109-02-4	C ₅ H ₁₁ NO	含氮杂环类	1 960(ro); 1 970(mo)
尼古丁	54-11-5	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	含氮杂环类	50(ro); 3.34(mo); 14.56(rip); 5.9(mip)
胡椒基丁醚	51-03-6	C ₁₉ H ₃₀ O ₅	含氮杂环类	6 150(ro); 2 600(mo)

注:ro 为大鼠(口服,LD50,mg/kg);mo 为小鼠(口服,LD50,mg/kg);rip 为小鼠(腹腔注射,LD50,mg/kg);mip 为小鼠(腹腔注射,LD50,mg/kg);“—”表示暂无数据;参考网址:<http://www.drugfuture.com/toxic/search.aspx>; <http://www.drugfuture.com/chemdata/>。

参考文献:

- [1] ZHANG X K, NIE M Y, CHEN J, et al. Multicopy integrants of crt genes and co-expression of AMP deaminase improve lycopene production in *Yarrowia lipolytica*[J]. **Journal of Biotechnology**, 2019, 289:46-54.
- [2] DUFOSSÉ L. Red colorants from filamentous fungi: are they ready for the food industry? [J]. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2018, 69:156-161.
- [3] ZHU R, WEI J, LIU H, et al. Lycopene attenuates body weight gain through induction of browning *via* regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in high-fat diet-induced obese mice[J]. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 2020, 78: 1-13.
- [4] 刘蕊, 朱希强. 番茄红素的生理保健功能及应用研究进展[J]. 食品与药品, 2013, 15(5):364-366.
- [5] DI-MASCIO P, KAISER S, SIES H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher[J]. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 1989, 274(2): 532-538.
- [6] SIES H, STAHL W. Lycopene: antioxidant and biological effects and its bioavailability in the human[J]. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 1998, 218(2): 121-124.
- [7] RODRIGUEZ-CONCEPCION M, AVALOS J, BONET M L, et al. A global perspective on carotenoids: metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health[J]. **Progress in Lipid Research**, 2018, 70: 62-93.
- [8] 吴军林, 吴清平, 张菊梅, 等. 番茄红素的微生物合成及发酵生产研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(19):336-340.
- [9] GUHA S K, KOO S. Sulfone coupling and double-elimination strategy for carotenoid synthesis[J]. **The Journal of Organic Chemistry**, 2005, 70(23):9662-9665.
- [10] 李卓才. 番茄红素化学合成的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [11] 修宇. MPTA 在番茄红素生物合成过程中的作用机理研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2008.
- [12] 陈习平, 谢丽萍, 张琪, 等. 利用 MEP 途径过表达提高 β -胡萝卜素产量[J]. 中国医药工业杂志, 2014, 45(10):929-933.
- [13] RODRÍGUEZ-SÁIZ M, PAZ B, DE-LA-FUENTE J L, et al. *Blakeslea trispora* genes for carotene biosynthesis[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2004, 70(9):5589-5594.
- [14] WANG Y, CHEN X, HONG X, et al. Cyclase inhibitor tripropylamine significantly enhanced lycopene accumulation in *Blakeslea trispora*[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2016, 122(5):570-576.
- [15] 汤锋, 周娟, 杨建明, 等. 麦角固醇合成抑制剂对促进红酵母累积番茄红素的研究[J]. 药物生物技术, 2009, 16(1):64-67.
- [16] 张姗姗, 付颖, 叶非. 农药中色素合成抑制剂的研究和应用进展[J]. 植物保护, 2011, 37(3):23-28.
- [17] 王永. 柑橘果实类胡萝卜素代谢及番茄红素环化酶重组蛋白的表达鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [18] FEDTKE C, DEPKA B, SCHALLNER O, et al. Mode of action of new diethylamines in lycopene cyclase inhibition and in photosystem II turnover[J]. **Pest Management Science**, 2001, 57(3):278-282.
- [19] PHILLIP D M, YOUNG A J. Preferential inhibition of the lycopene ϵ -cyclase by the substituted triethylamine compound MPTA in higher plants[J]. **Journal of Plant Physiology**, 2006, 163(4):383-391.
- [20] WANG J F, LIU X J, LIU R S, et al. Optimization of the mated fermentation process for the production of lycopene by *Blakeslea trispora* NRRL 2895(+) and NRRL 2896(-)[J]. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2012, 35(4):553-564.
- [21] MADHOUR A, ANKE H, MUCCI A, et al. Biosynthesis of the xanthophyll plectanixanthin as a stress response in the red yeast *Dioszegia* (Tremellales, Heterobasidiomycetes, Fungi)[J]. **Phytochemistry**, 2005, 66(22):2617-2626.
- [22] 王常玲. 产番茄红素菌株的选育及代谢调控的初步研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [23] 杨建明, 杨安全, 许激扬. 效应物促进红酵母累积番茄红素的工艺研究[J]. 药物生物技术, 2008(3):204-207.
- [24] AN G H, CHO M H, JOHNSON E A. Monocyclic carotenoid biosynthetic pathway in the yeast *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*)[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 1999, 88(2):189-193.
- [25] 李一萌. 基因工程菌发酵与杜氏藻环化酶的阻遏产番茄红素的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [26] 马晓晶. *Blakeslea trispora* 发酵制备番茄红素的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2013.
- [27] WANG Y, PANG J, ZHENG Y, et al. Genetic manipulation of the bifunctional gene, *carRA*, to enhance lycopene content in *Blakeslea trispora*[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2017, 119:27-33.
- [28] CHOUDHARI S M, ANANTHANARAYAN, SINGHAL R S. Use of metabolic stimulators and inhibitors for enhanced production of beta-carotene and lycopene by *Blakeslea trispora* NRRL 2895 and 2896[J]. **Bioresource Technology**, 2008, 99(8):3166-3173.
- [29] 徐娜, 郑珩, 许激扬. 环化酶抑制剂对三孢布拉霉产生番茄红素的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2006(6):372-375.
- [30] 王见冬, 王永生, 袁其朋, 等. 吡啶类化合物对三孢布拉氏霉菌代谢途径的影响[J]. 现代化工, 2003(Suppl.1):202-204.

- [31] MEHTA B J, CERDÁ-OLMEDO E. Lycopene cyclization in *Blakeslea trispora*[J]. **Mycoscience**, 1999, 40(3):307-310.
- [32] MANTZOURIDOU F T, NAZIRI E. Scale translation from shaken to diffused bubble aerated systems for lycopene production by *Blakeslea trispora* under stimulated conditions[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2017, 101(5):1845-1856.
- [33] WANG H, HE F, LU M, et al. High-quality lycopene overaccumulation *via* inhibition of γ -carotene and ergosterol biosyntheses in *Blakeslea trispora*[J]. **Journal of Functional Foods**, 2014, 7(1):435-442.
- [34] HSU W J, YOKOYAMA H, COGGINS C W. Carotenoid biosynthesis in *Blakeslea trispora*[J]. **Phytochemistry**, 1972, 11(10):2985-2990.
- [35] 朱艳. 发酵法生产番茄红素及其萃取分离的研究[D]. 北京:北京化工大学, 2005.
- [36] 刘蕊. 番茄红素高产菌株选育及发酵优化研究[D]. 济南:山东大学, 2013.
- [37] 王常玲. 产番茄红素菌株的选育及代谢调控的初步研究[D]. 无锡:江南大学, 2009.
- [38] 李陈陈. 粗糙脉孢菌固体发酵产番茄红素发酵条件优化及抗氧化活性研究[D]. 南昌:南昌大学, 2017.
- [39] 欧明花. 粗糙脉孢菌高产番茄红素促进剂的筛选、优化及抗氧化活性的研究[D]. 南昌:南昌大学, 2016.
- [40] 耿英龙. 基于 *Neurospora crassa* 发酵番茄红素的代谢调控及抗氧化活性的研究[D]. 南昌:南昌大学, 2015.
- [41] 王岁楼, 张平之. 利用红酵母发酵生产 β -胡萝卜素的研究进展[J]. **微生物学杂志**, 2000(2):41-43.
- [42] 王海兵. 高产番茄红素红酵母的筛选及其发酵、提取条件的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2011.
- [43] 廉博. 红酵母发酵糖蜜合成番茄红素的工艺及提取分离条件研究[D]. 广州:华南理工大学, 2013.
- [44] CHUMPOLKULWONG N, KAKIZONO T, NAGAI S, et al. Increased astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* mutants isolated as resistant to diphenylamine[J]. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, 1997, 83(5):429-434.
- [45] 李思敏. 法夫酵母中虾青素合成的代谢调控[D]. 武汉:华中科技大学, 2009.
- [46] ISHIKAWA E, ABE H. Lycopene accumulation and cyclic carotenoid deficiency in heterotrophic *Chlorella* treated with nicotine [J]. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2004, 31(12):585-589.
- [47] FAZELI M R, TOFIGHI H, MADADKAR-SOBHANI A, et al. Nicotine inhibition of lycopene cyclase enhances accumulation of carotenoid intermediates by *Dunaliella salina* CCAP 19/18[J]. **European Journal of Phycology**, 2009, 44(2):215-220.
- [48] VIDHYAVATHI R, SARADA R, RAVISHANKAR G A. Expression of carotenogenic genes and carotenoid production in *Haematococcus pluvialis* under the influence of carotenoid and fatty acid synthesis inhibitors[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2009, 45(2):88-93.
- [49] LIANG M H, HAO Y F, LI Y M, et al. Inhibiting lycopene cyclases to accumulate lycopene in high β -carotene-accumulating *Dunaliella bardawil*[J]. **Food and Bioprocess Technology**, 2016, 9(6):1002-1009.
- [50] 陶俊, 张上隆, 张良诚, 等. MPTA 对柑橘果皮类胡萝卜素形成的影响[J]. **植物生理与分子生物学学报**, 2002, 28(1):46-50.
- [51] LU P, WANG S, GRIERSON D, et al. Transcriptomic changes triggered by carotenoid biosynthesis inhibitors and role of *Citrus sinensis phosphate transporter 4;2(CsPHT4;2)* in enhancing carotenoid accumulation[J]. **Planta**, 2019, 249(1):257-270.
- [52] 高慧君. 利用柑橘愈伤组织研究植物类胡萝卜素积累的调控机理[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.
- [53] AL-BABILI S, HARTUNG W, KLEINIG H, et al. CPTA modulates levels of carotenogenic proteins and their mRNAs and affects carotenoid and ABA content as well as chromoplast structure in *Narcissus pseudonarcissus* flowers[J]. **Plant Biology**, 1999, 1(6):607-612.
- [54] NORMAN J M V, SIEBURTH L E. Dissecting the biosynthetic pathway for the bypass1 root-derived signal[J]. **The Plant Journal**, 2007, 49(4):619-628.
- [55] ROCCA N L, RASCIO N, OSTER U, et al. Inhibition of lycopene cyclase results in accumulation of chlorophyll precursors[J]. **Planta**, 2007, 225(4):1019-1029.
- [56] LIU J, PUCKHABER L S. The induction of lycopene in germinating cottonseed with 2-(4-methylphenoxy) triethylamine(MPTA) [J]. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, 2011, 6(1):1-6.
- [57] NASRABADI M R N, RAZAVI S H. High levels lycopene accumulation by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 using lycopene cyclase inhibitors in a fed-batch process[J]. **Food Science and Biotechnology**, 2010, 19(4):899-906.
- [58] HOWES C D, BATRA P P. Accumulation of lycopene and inhibition of cyclic carotenoids in *Mycobacterium* in the presence of nicotine[J]. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1970, 222(1):174-179.
- [59] 王红波. 类胡萝卜素高产菌株高效筛选及合成代谢调控研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2014.