

10-羟基-2-癸烯酸功能与合成方法研究进展

方轲, 汪俊卿^{*}, 徐子婷, 苏静, 王瑞明

(齐鲁工业大学(山东省科学院)生物工程学院, 生物基材料与绿色造纸国家重点实验室,
山东济南 250353)

摘要: 蜂王浆是年轻工蜂上颚腺的浓稠的乳白色分泌物, 作为一种天然的蜂产品, 被广泛应用于食品和保健品等各个领域。10-羟基-2-癸烯酸(10-hydroxy-2-decenoic Acid, 10-HDA)是蜂王浆中所特有的一种中链不饱和脂肪酸, 具有抗菌、抗炎、抗肿瘤、降低血糖、血脂和抗辐射等多种活性功能。利用物理吸附或有机溶剂处理, 可以在蜂王浆中有效提取出10-HDA成分, 此外, 还可以利用8-羟基辛醛、1,8-辛二醇等物质, 通过各种化学反应合成10-HDA。近年来, 也出现了使用微生物生产10-HDA的方式, 这种方法因其成本低、污染小的特性, 迅速成为了研究热点。通过归纳总结10-HDA的理化性质、生理活性及生产10-HDA的各种方法, 简要阐述了不同的生产方式的优缺点, 并对其中存在的问题进行讨论和展望, 旨在为10-HDA的深入研究提供借鉴与参考。

关键词: 10-羟基-2-癸烯酸; 理化性质; 生理活性; 提取方法; 合成方法

文章编号: 1673-9078(2024)07-305-312

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.7.0823

Advances in the Function and Synthesis Methods of 10-Hydroxy-2-decenoic Acid

FANG Ke, WANG Junqing^{*}, XU Ziting, SU Jing, WANG Ruiming

(School of Biological Engineering, State Key Laboratory of Bio Based Materials and Green Papermaking, Qilu
University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250353, China)

Abstract: Royal jelly is a thick, milky white secretion from the palatine glands of young worker bees. As a natural bee product, it finds wide application in various fields, including food and health care products. One of the unique components of royal jelly is 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA), a medium-chain unsaturated fatty acid. 10-HDA possesses several active functions, such as antibacterial, anti-inflammatory, anti-tumor, blood sugar regulation, blood lipid control, and anti-radiation properties. The extraction of 10-HDA from royal jelly can be efficiently achieved through physical adsorption or organic solvent treatment. Additionally, 10-HDA can be synthesized by various chemical reactions using substances such as 8-hydroxyoctanal and 1,8-octanediol. In recent years, utilizing microorganisms for 10-HDA production has gained significant attention owing to its low cost and low pollution characteristics. This method has become a research hotspot. This article provides a summary of the physicochemical properties, physiological active functions, and different methods of 10-HDA

引文格式:

方轲,汪俊卿,徐子婷,等.10-羟基-2-癸烯酸功能与合成方法研究进展[J].现代食品科技,2024,40(7):305-312.

FANG Ke, WANG Junqing, XU Ziting, et al. Advances in the function and synthesis methods of 10-hydroxy-2-decenoic acid [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 305-312.

收稿日期: 2023-07-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31171727); 国家自然科学基金青年基金(31201281); 山东省自然科学基金(No.ZR2017ZB0208)

作者简介: 方轲(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 微生物酶工程, E-mail: 326886051@qq.com

通讯作者: 汪俊卿(1988-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 微生物酶工程, E-mail: wjqtt.6082@163.com

production. Furthermore, it briefly discusses the advantages and disadvantages of these production methods and highlights the existing problems and prospects to offer valuable reference and information for further in-depth research on 10-HDA.

Key words: 10-hydroxy-2-decenoic acid; physical and chemical properties; physiological activity; extraction methods; synthesis methods

近年来,人们更加注重健康的生活方式,越来越多的天然产品进入人们的视线,饮食在预防和治疗疾病中的重要性已受到大家认可和接受。功能食品市场正以每年15%~20%的速度迅速增长,蜂王浆作为一种天然的蜂产品,其对维护身体健康有很大功效。目前,蜂王浆已经成为所有蜂产品中最有吸引力的功能性食品之一,在许多国家已经成为商业化产品,不仅应用在食品领域,更多是用于日化品行业当中。

在1921年,Lange等^[1]在研究中首次发现了一种独特的不饱和脂肪酸10-HDA,并将其从工蜂的上颚腺中提取出来,它具有重要的生物学意义,10-HDA自此进入了大众视野。随着科学技术的发展,质谱、核磁共振等技术得到了广泛应用,BARKER在1959年利用核磁共振确认10-HDA为反式异构体,Brown等^[2]通过辐照的方式,最终确定10-HDA双键两侧的基团呈反式排列。蜂王浆是5~15日龄工蜂上颚腺的浓稠的乳白色分泌物,其中含有多种物质如水、蛋白质、糖、脂类、维生素、盐和游离氨基酸,具体含量如表1所示^[3]。10-HDA是蜂王浆中所特有的脂肪酸,故又称为王浆酸,在蜂王浆中的含量约为1.4%~2.0% (g/g),它是蜂王浆中含量最高的脂肪酸成分,各种研究已经报道了其抗菌活性,而在动物模型中,已经观察到降血压、抗肿瘤、抗高胆固醇血症和抗炎活性^[4]。在全球范围内,10-HDA也被广泛用作蜂王浆的重要质量指标,根据中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局发布的GB 9697-2008号标准^[5],新鲜蜂王浆中10-HDA的含量不得低于1.4% (g/g)。

拥有多种生理活性功能的10-HDA,不仅可以抗菌消炎^[6,7],还可以抗氧化,修复辐射带来的细胞损伤^[8],同时,对高血糖、高血脂症也有一定的疗效^[9]。在工蜂上颚腺分泌、用于饲喂蜂王及幼虫的蜂王浆成分中可以提取出10-HDA,一只工蜂合成10-HDA的总量大约在0~60 μg左右。在工蜂的上颚腺内,乙酸首先经过脂肪酸合成途径形成硬脂酸,随后硬脂酸在细胞色素P450酶(CytochromeP450, CYP450)的催化下,形成 ω 位羟基化的硬脂酸,然后经 β -氧化过程发生脱饱和和反应形成10-HDA^[10]。

注射dsRNA能显著沉默基因mRNA水平和蛋白水平的表达,为了研究蜜蜂体内10-HDA合成的关键基因,将3-酮脂酰CoA硫解酶(3-Ketoacyl-CoA Thiolase, KAT)基因的dsRNA和电子转移黄素蛋白 β 肽(Electron Transfer Flavoprotein Beta, ETF- β)基因的dsRNA注入到蜜蜂的腹腔,以抑制这两种基因的表达。结果发现,KAT基因和ETF- β 基因的表达降低会导致蜜蜂10-HDA的分泌量显著减少,且蜜蜂上颚腺的小腺体也从最初的丰满紧密状态变为干燥疏松。这就表明KAT和ETF- β 基因均在蜜蜂上颚腺合成10-HDA的过程中发挥重要作用^[11]。鉴于工蜂体内特殊且复杂的合成方式,导致无法对10-HDA的合成进行调控。目前,10-HDA的市场需求不断扩大,需要对10-HDA的合成或提取方式进行开发,满足大规模的市场需要。

表1 蜂王浆中的物质含量

Table 1 Substance content of royal jelly

物质	含量/%
水	60~70
脂质	3~8
10-HDA	1.4~2.0
蛋白质	9~18
果糖	3~13
葡萄糖	4~8
蔗糖	0.5~2.0

1 10-HDA的理化性质

10-HDA的化学分子式是HO-CH₂-(CH₂)₆-CH=CH-COOH (C₁₀H₁₈O₃),其结构式可以参考图1。10-HDA的熔点在64℃,常温常压下为白色晶体状粉末,易溶于甲醇、乙醇、氯仿和乙醚,微溶于丙酮,不溶于水,同时具有良好的稳定性。10-HDA作为一种天然的不饱和脂肪酸,其可以让溴水和高锰酸钾溶液快速褪色,并且还具有良好的抗氧化活性,使用石蕊试纸测定会呈现出明显的酸性特征^[12]。

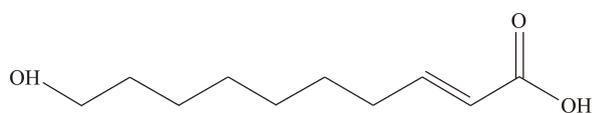


图 1 10-HDA 的结构式

Fig.1 Structural formula of 10-HDA

2 10-HDA的生理活性

2.1 抗菌活性

抗生素的滥用会造成耐药性细菌的出现,对人体更有严重的毒副作用。研究发现,10-HDA作为一种来源于蜂王浆的天然成分,其具有明显的抗菌效果和抑菌广谱性,能强烈抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌等细菌,但对酿酒酵母等真核生物没有抑制作用^[13]。王瑞明等^[14]研究了10-HDA对枯草芽孢杆菌的抑制作用,发现10-HDA可以通过与细菌的基因组DNA结合,有效地阻断DNA复制过程来发挥抗菌作用。对于大肠杆菌,10-HDA还会破坏其细胞膜完整性,导致重要的大分子从细胞中流出,使菌体生长、繁殖受到抑制^[15]。经过10-HDA的处理,会使金黄色葡萄球菌的细胞膜通透性增加,高浓度的10-HDA会破坏菌体正常形态及代谢活力,甚至导致死亡^[16]。因此,10-HDA可以作为天然抗菌剂应用到抗菌日化商品的开发中。

2.2 抗炎活性

10-HDA还能够减轻炎症影响,对炎症组织有非常明显的调节作用。在建立大鼠刀豆蛋白诱导的肝损伤模型后给大鼠饲喂不同浓度的王浆酸和蜂王浆提取物,通过检测大鼠血清中肝损伤相关组分含量、肝脏基因表达以及差异基因的富集分析情况来检测10-HDA发挥抗炎作用的机制。研究发现,10-HDA作为一种具有组蛋白去乙酰化酶抑制剂活性的中链脂肪酸,其可以通过影响机体的代谢,以及小分子代谢等过程,来发挥调节炎症肝脏组织基因转录的作用,从而显著改善肝脏组织的炎症反应^[17]。另有研究发现,以脂多糖诱导建立的C57BL/6J小鼠和BV-2小胶质细胞神经炎症模型,在经过10-HDA预处理后,促炎因子的表达量显著降低。在BV-2细胞中,10-HDA是通过抑制肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor-Alpha, TNF- α)和转录因子核因子- β (Nuclear Factor Kappa-Beta, NF- κ B)

轴,以及NLRP3炎性小体的激活来发挥抑制神经炎症的作用。此外,10-HDA还可以通过调节叉头框蛋白1 (Forkhead Box Protein O1, FOXO1)介导的自噬来减轻BV-2小胶质细胞的神经炎症^[18,19]。

2.3 抗肿瘤活性

10-HDA能够有效地激活肺癌细胞的活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)水平升高,进而影响丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK)、信号转导和转录激活因子3(Signal Transducer and Activator of Transcription 3, STAT3)、NF- κ B和蛋白激酶B(Protein Kinase B, PKB)等信号通路,从而促进细胞的凋亡,并且可以抑制肿瘤的转移,此外,它还可以通过调节线粒体依赖性凋亡和转化生长因子- β (Transforming Growth Factor-Beta, TGF- β)信号通路,有效地促进肿瘤细胞的转化和扩散,并阻止其迁移,从而达到治疗肺癌的目的^[20]。经过10-HDA处理的肝癌细胞HepG2、Hep3B和Huh7,其ROS水平显著上调,这导致胞内MAPK、NF- κ B和STAT3等信号通路被激活,进而引起细胞发生线粒体依赖性凋亡,10-HDA的处理同时还抑制了肝癌细胞的TGF- β 信号通路,阻断肿瘤的转移和扩散^[21]。Albalawi等^[22]发现,对患有埃利希实体瘤(Ehrlich Solid Tumor, EST)的小鼠在饲喂2.5和5 mg/kg剂量的10-HDA,同时腹腔注射环磷酰胺时,小鼠体内可以显示出良好的抗EST现象。10-HDA还可以抑制人结肠腺癌细胞的增值,对癌细胞表现出较高的杀菌和抗炎活性^[23,24]。

2.4 降血糖和降血脂活性

高血糖、高血脂病症会对人的多种器官造成可逆或不可逆的损伤,而10-HDA可以通过激活蛋白激酶,提高腺嘌呤核糖核苷酸(Adenosine Monophosphate, AMP)活性的方式,起到加速促进胰岛素分泌的作用,同时还可以通过激活磷脂酰肌醇3-激酶(Phosphoinositide 3-Kinase, PI3K)、蛋白激酶B(Protein Kinase B, AKT)和糖原合成酶激酶-3(Glycogen Synthase Kinase 3-Beta, GSK-3 β)信号通路的方式,起到促进肝糖原的合成的作用^[25-27],并在此基础上降低血糖,降低血液中甘油三酯、总胆固醇和 β -脂蛋白的水平,从而有效地治疗高脂血症。

2.5 抗辐射活性

蜂王浆中的 10-HDA 是一种强大的抗辐射物质，它能够有效地抵御辐射损伤，并且可以显著改善患者的健康状况。通过 UV 照射会导致细胞增大、减小、死亡，但是在接受 10-HDA 治疗之后，这些细胞的状况可以得到改善，其可以通过提高胶原蛋白的表达水平来提高细胞的自我修复能力^[28,29]。Mirbaha 等^[30]将人皮肤成纤维细胞直接暴露于 UV 后立即将细胞在含有 10-HDA 的培养基中孵育，经过处理后发现细胞中核纤层蛋白的表达下调，说明 10-HDA 的处理提高了核纤层蛋白的表达量，从而保护皮肤免受 UV 诱导的光老化和光损伤。

2.6 神经调节活性

10-HDA 还具有高效的神经调节活性。经过 10-HDA 处理的大鼠海马神经元显著增加，证明其具有显著的促进海马神经元增殖的功能。同时，10-HDA 还可以促进大鼠神经细胞的增殖，并提高它们的增殖率和存活率^[31-33]。10-HDA 作为一种新型自噬诱导剂，可以在苯氯素 1 重组蛋白 (Recombinant Beclin 1, BECN1) 和哺乳动物雷帕霉素靶点 (Mammalian Target of Rapamycin, mTOR) 的调节下，在神经元细胞系和动物模型中触发细胞自噬，同时，10-HDA 还能刺激沉默调节蛋白 1 (Recombinant Sirtuin 1, Sirt1) 的表达，随后通过关键抗胸腺细胞球蛋白 (Antilymphocyte Globulin, ATG) 的脱乙酰化促进自噬，以促进帕金森病的神经保护^[34,35]。

3 10-HDA的提取与分离

迄今为止，已报道的 10-HDA 获取方式主要有：利用有机溶剂等物理提取的方式直接从蜂王浆中分离提取，利用化学合成的方式按不同途径进行 10-HDA 的合成，以及直接选育改良产 10-HDA 的菌株，或利用构建工程菌株进行发酵的方法用于 10-HDA 的生产。

3.1 有机溶剂提取法

10-HDA 作为其中具有多种活性功能的物质，在食品工业中起着重要的作用^[36]，其提取方法迅速引起了人们的重视。蜂王浆中的 10-HDA 成分可以通过有机溶剂处理后，通过萃取、沉淀等方式从中分离纯化出来。使用有机溶剂提取 10-HDA 的方法有多种，其中包括：(1) 乙醇提取法^[37-39]；(2) 乙醚

萃取法^[37,39]；(3) 溶液沉淀结晶法^[40]；(4) 醇中沉淀结晶法^[37]，这些方法均可有效地提取 10-HDA，利用乙醇提取 10-HDA 的方法效率相对较高。首先使用体积分数为 95% 乙醇溶解蜂王浆，再使用使用 3 倍体积的去离子水作为反萃取剂，使 10-HDA 在 -18 °C 状态下缓慢结晶，使用这种方法提取 10-HDA 得到的产物产率高，杂质少，10 g 蜂王浆提取 10-HDA 的产率以质量分数表示，约在 2.0%~2.4% 左右^[36]。表 2 总结了利用有机溶剂提取 10-HDA 使用的试剂以及对应产率，其中产率均以质量分数表示。

表 2 利用有机溶剂提取蜂王浆中的 10-HDA

Table 2 Extraction of 10-HDA using organic solvents

方法	使用试剂	参考文献
乙醇提取法	乙醇	[37-39]
乙醚萃取法	乙醇、乙醚	[37,39]
溶液沉淀结晶法	乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇	[40]
醇中沉淀结晶法	乙醇、盐酸	[37]

3.2 吸附法

采用有机溶剂提取可能会带来复杂的操作流程，有机溶剂对人体和环境也会造成不同程度的污染，因此这种方法难以适用于大规模的 10-HDA 提取过程。大孔吸附树脂具有良好的大孔网状结构和较大的比表面积，可以选择性物理吸附溶液中的有机物，再经一定的溶剂洗脱而达到分离的目的^[41]。通过使用 X-5 大孔吸附树脂，能够有效的从蜂王浆中提取 10-HDA，这种树脂具有良好的选择性，并且能够吸附更多的物质，X-5 树脂的饱和吸附量为 9.7 mg/g，提取出的 10-HDA 以质量分数表示，纯度在 80.4% 左右^[42]。因此通过该技术，可以生产出更纯净的 10-HDA，它具有高回收率和快速吸附的优点，相较于其他方法，由于大孔吸附树脂可以重复利用，因此其可以作为优良的吸附材料应用在工业生产中。

4 合成10-HDA的方法

4.1 化学合成法

通过使用化学合成的方式，可以使用不同的原料通过多种化学反应合成产物 10-HDA，这种方法的优势在于反应方式多，且过程可控性强。通过化学方法合成 10-HDA 的方式如表 3 所示，其中产率均以质量分数表示。经 Wittig 试剂成烯合成 10-HDA 的产率相对较高，但是由于其复杂的合

成过程及苛刻的实验要求,使得它在实现王浆酸的大规模工业化生产方面存在一定的困难。臭氧氧化合成法也是一种相对有效的方法,其可以以蓖麻油裂解产物作为原料来合成 10-HDA,虽然这种方法的原料比较容易获取,但在整体合成路线中存在大量的副产物生成,使得 10-HDA 的纯化困难,从而导致产率过低。相比之下,经 Knoevenagel 缩合合成法产率较高,但由于原料难以大规模获取,从而限制了它的进一步应用^[43]。

表 3 10-HDA 的化学合成方法
Table 3 Chemical synthesis method of 10-HDA

方法	原料	产率/%	参考文献
经 Wittig 试剂成烯合成法	8-乙酰氧基辛醛、8-羟基辛醛、1,8-辛二醇	80~82.7	[44,45]
经臭氧氧化合成法	1,5-环辛二烯、油酸	15	[46]
经溴化消去成烯合成法	10-羟基癸酸、10-十一碳烯酸	5.7	[47]
经 Knoevenagel 缩合合成法	8-羟基辛醛、1,8-辛二酸、1,8-辛二醇、油酸、1,6-己二醇	90	[45,48-50]
增长碳链合成法	己二醇、1,6-二氯己烷	49	[51]

4.2 微生物合成法

4.2.1 选育产 10-HDA 菌株

使用物理提取法提取 10-HDA 由于需要使用大量的有机试剂,会造成严重污染,而化学合成法条件苛刻,产物难以纯化分离的特点也增加了其困难程度。由于物理提取和化学合成 10-HDA 的方法各有缺陷,因此,利用微生物技术来生产 10-HDA 显得尤为重要,它不仅能够满足实际应用的需求,还能够发挥出微生物的最大价值。研究表明,多主枝孢霉具有生产 10-HDA 的潜力,王腾飞等^[52]利用废弃的王浆残渣和变质的蜂王浆等物质作为原料,经粉碎处理后重悬在无菌水中,将稀释液分别涂布在麦芽汁培养基、土豆培养基和蛋白胨培养基上,通过划线分离、纯化以及发酵验证,成功筛选到了一株具有产 10-HDA 能力的菌株 QYF005,10-HDA 的产量以质量分数表示,可以达到 0.25%。

除直接筛选产 10-HDA 的菌株外,还可以利用传统育种手段如紫外照射、常压室温等离子体等使菌株基因发生改变,进而影响其性状和生产能力等。再加以高通量筛选策略,可以在短时间内筛选出少数发生正向突变的个体。在产 10-HDA 微生

物选育中,最常用的方法就是紫外诱变。王海燕等^[53]利用氯化锂复合紫外诱变手段,对 QYW001 多主枝孢霉菌株进行诱变处理,通过筛选得到 QYWT002 菌株,其与出发菌株相比,形态与生长速度都有很大差异,10-HDA 产量得到了提高,质量浓度达到了 1.43 mg/L。

4.2.2 构建产 10-HDA 工程菌株

直接选育合成 10-HDA 的菌株工作量庞大,利用传统育种手段改良菌株也有大部分发生反向突变个体,均具有随机性和偶然性。利用现代分子生物学技术对菌株进行改造,可以定向构建出以底物为原料,通过酶的催化合成产物 10-HDA 的工程菌株。构建过程中,可以根据需要提高或减少催化元件的表达量,以达到各部分发生催化作用的酶系表达量达到平衡,通过级联催化作用合成产物。

由于大肠杆菌代谢途径简单,遗传背景清晰,生长迅速等优点,使它成为应用最广泛的原核工程菌株,在大肠杆菌分子改造方面最常用的宿主菌株就是克隆菌株 DH5 α 和表达菌株 BL21 (DE3)。孙淑慧^[54]在大肠杆菌宿主中构建了硫酯酶 (Thioesterase, YdiI) 表达载体,其可以催化底物 10-羟基癸酸合成 10-HDA。张丽华^[55]将 YdiI 在毕赤酵母 GS115 宿主中表达,发现其仍具有催化 10-羟基癸酸合成 10-HDA 的能力,但酶的表达量不如原核载体高,可能是由于原核来源的基因片段与真核宿主不够兼容导致的。

10-羟基癸酸市场价格不够低廉,用来作为生产 10-HDA 的底物不能满足工业化的需要。可以选用同为 10-C 的脂肪酸癸酸,通过进入脂肪酸 β -氧化过程,经脱氢反应在 2-C 部位脱饱和形成双键合成反式 -2- 癸烯酸。反式 -2- 癸烯酸与产物 10-HDA 仅在 10-C 部位相差一个羟基,可以通过 CYP450 酶对底物反 2- 癸烯酸进行末端羟基化,合成产物 10-HDA。Li 等^[56]敲除了 β -氧化中其他产生副产物的途径,并剔除了反应过程中对产物反式 -2- 癸烯酸合成有负面影响的基因,再将合成途径的关键酶进行了优化和高效表达,使用 *Mycobacterium avium* 来源的脂酰 CoA 合成酶 (Acyl-CoA Synthetase, FadD) 和 *Pseudomonas putida* KT2440 来源的脂酰 CoA 脱氢酶 (Acyl-CoA Dehydrogenase, FadE), 构建了一个工程菌株,用于催化癸酸合成反式 -2- 癸烯酸。同时为了使反式 -2- 癸烯酸继续末端羟基化生成产物 10-HDA,还对 CYP450 酶进行了理性设

计,将来源于海杆菌的烷烃羟化酶 CYP153A 与来源于巨大芽孢杆菌 P450NADH 还原酶 CPR_{BM3} 相融合,构建了另一个工程菌株,用于催化反式-2-癸烯酸合成 10-HDA。通过两个菌株进行两步全细胞催化反应,成功以癸酸为底物全细胞催化合成产物 10-HDA,当使用质量浓度为 500 mg/L 的癸酸时,可以产生质量浓度为 217 mg/L 的 10-HDA, Wang 等^[57]通过转运子过表达和提高细胞通透性策略,提高了 10-HDA 两步催化反应中第一步合成反式-2-癸烯酸的转化率,然后将催化反应第二步末端羟化酶 CYP450 与葡萄糖脱氢酶 (Glucose Dehydrogenase, GDH) 进行融合表达,最终以质量浓度为 500 mg/L 的癸酸作为底物时,通过两步催化反应合成了质量浓度为 486.5 mg/L 的 10-HDA。表 4 总结了利用工程菌株生产 10-HDA 使用的底物及其产量,因为使用微生物合成 10-HDA 可以利用癸酸作为底物,价格低廉反应迅速,且合成过程安全环保,污染低,所以通过构建工程菌株的方式合成 10-HDA 的方法拥有广阔的前景。

表 4 10-HDA 的微生物合成

Table 4 Microbial synthesis of 10-HDA

菌株	底物	产量/(mg/L)	参考文献
大肠杆菌 BL21	10-羟基癸酸	28	[54]
毕赤酵母 GS115	10-羟基癸酸	240	[55]
大肠杆菌 BL21	癸酸	217	[56]
大肠杆菌 BL21	癸酸	270.5	[57]

5 结论与展望

10-HDA 作为蜂王浆中的主要活性成分,在抗菌消炎、降血糖和血脂、抗肿瘤和抗辐射等方面都有一定的功效,其作为一种由蜜蜂合成的天然物质,在自然界中含量极少。10-HDA 主要在工蜂上鄂腺中合成,已经鉴定出 KAT 和 ETF- β 基因在 10-HDA 合成过程中不可或缺,但关于工蜂合成 10-HDA 的具体酶系和分子机制还不够明晰,因此难以对 10-HDA 的自然合成进行调控。使用萃取、吸附等提取方式,可以从蜂王浆等物质中提取出 10-HDA 成分,但由于大量使用有机试剂,废液处理成本高。使用化学法合成 10-HDA 条件苛刻,且反应过程中会产生其他有毒副产物,造成 10-HDA 难以分离纯化。近年来,利用微生物合成 10-HDA 已成为传统生产方法的一种更优质的替代方法,生产过程绿色无污染,生产效率高。利用大肠杆菌工

程菌株生产 10-HDA 的方式是利用两个工程菌株使用两步法合成 10-HDA,即通过过表达发挥催化作用的酶,首先催化癸酸合成 10-羟基癸酸,再催化 10-羟基癸酸合成 10-HDA。然而,该方法操作相对繁琐,且反应过程中由于缺乏连续性,容易造成中间产物尤其是 10-羟基癸酸的积累,导致 10-HDA 的产率降低。因此,挖掘新的、更为高效的 10-HDA 合成催化元件,利用单细胞完成 10-HDA 的全合成,开发适配生物发酵 10-HDA 的新型分离提取工艺,是未来 10-HDA 生物合成技术产业化研究的重点。

参考文献

- [1] BURLANDO B, CORNARA L. Honey in dermatology and skin care: a review [J]. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2013, 12(4): 306-313.
- [2] BARKER S A, FOSTER A B, LAMB D C. Biological origin and configuration of 10-hydroxy-2-decenoic acid [J]. *Nature*, 1959, 22: 634.
- [3] GUO J Y, WANG Z X, CHEN Y X, et al. Active components and biological functions of royal jelly [J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 82: 1-11.
- [4] CORNARAL, BIAGI M, XIAO J B, et al. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8(412): 1-20.
- [5] GB 9697-2008, 蜂王浆 [S].
- [6] 彭川, 张琦, 苟绍华, 等. 王浆酸的高效液相色谱分析及抑菌活性研究 [J]. *应用化工*, 2017, 46(12): 2485-2487.
- [7] HUANG M, XIAO M, DONG J, et al. Synergistic anti-inflammatory effects of graphene oxide quantum dots and trans-10-hydroxy-2-decenoic acid on LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells [J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 136: 1-11.
- [8] SPANIDI E, ATHANASOPOULOU S, LIAKOPOULOU A, et al. Royal jelly components encapsulation in a controlled release system-skin functionality, and biochemical activity for skin applications [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(907): 1-15.
- [9] HU X, LIU Z, LU Y, et al. Glucose metabolism enhancement by 10-hydroxy-2-decenoic acid via the PI3K/AKT signaling pathway in high-fat-diet/streptozotocin induced type 2 diabetic mice [J]. *Food & Function*, 2022, 13(19): 9931-9946.
- [10] 刘丽, 杨晓慧, 王瑞明. RNA 干扰沉默 KAT 基因对蜜蜂合成 10-HDA 的影响 [J]. *中国生物工程杂志*, 2016, 36(4): 63-68.
- [11] YANG X H, YANG S F, WANG R M. Comparative proteomic analysis provides insight into 10-hydroxy-2-decenoic acid biosynthesis in honey bee workers [J]. *Amino Acids*, 2017, 49(7): 1177-1192.
- [12] 刘晓冉, 朱娜, 李辉, 等. 王浆酸的药理作用研究进展 [J]. 特

- 产研究,2020,42(4): 85-88.
- [13] ULUBAYRAM N, CINAR A Y. Microencapsulated and fresh royal jelly: monitoring 10-HDA content, antibacterial and antifungal activity at different storage periods [J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2023, 66: 1-10.
- [14] 王瑞明,李俊霖,杨晓慧,等.10-HDA对枯草芽孢杆菌的抑菌机理研究[J].现代食品科技,2013,29(8):1862-1866.
- [15] 陶文卿.10-HDA对大肠杆菌抑制机理的研究[D].济南:山东轻工业学院,2012.
- [16] 李俊霖,杨晓慧,王腾飞,等.10-HDA对金黄色葡萄球菌的抑菌机理研究[J].中国食品学报,2014,14(12): 73-79.
- [17] 张良才,赵玮璇,贾娟娟,等.王浆酸对大鼠肝脏基因表达谱的影响初探[C]//中国(湖北·潜江)蜂业博览会暨2017年全国蜂产品市场信息交流会论文集,中国湖北潜江,中国养蜂学会,2017,96-102.
- [18] 游蒙蒙,缪卓宁,胡福良.10-HDA可通过FOXO1介导的细胞自噬减轻LPS诱导的神经炎症[C]//2021年中国(广西梧州)蜂业博览会暨全国蜂产品市场信息交流会论文集(上册),中国广西梧州,中国养蜂学会,2021,213-227.
- [19] CAI Q S, JI S M, SUN Y, et al. 10-Hydroxy-trans-2-decenoic acid attenuates angiotensin II-induced inflammatory responses in rat vascular smooth muscle cells [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 45: 298-305.
- [20] LIN X M, LIU S B, LUO Y H, et al. 10-HDA Induces ROS-Mediated Apoptosis in A549 Human Lung Cancer Cells by Regulating the MAPK, STAT3, NF-kappaB, and TGF-beta1 Signaling Pathways [J]. Biomed Research International, 2020, 2: 1-15.
- [21] 臧延青,鞠雪莹,翟雨晴,等.10-羟基癸烯酸诱导肝癌细胞凋亡、周期阻滞及迁移抑制的机制[J].食品科学,2021, 42(23): 182-195.
- [22] ALBALAWI A E, ALTHOBATTI N A, ALRDAHE S S, et al. Anti-tumor effects of queen bee acid (10-Hydroxy-2-Decenoic Acid) alone and in combination with cyclophosphamide and its cellular mechanisms against ehrlich solid tumor in mice [J]. Molecules, 2021, 26(22): 1-14.
- [23] YANG Y C, CHOU W M, WIDOWATI D A, et al. 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2018, 18(202): 1-7.
- [24] FILIPIČ B, GRADIŠNIK L, RIHAR K, et al. The influence of royal jelly and human interferon-alpha (HuIFN- α N3) on proliferation, glutathione level and lipid peroxidation in human colorectal adenocarcinoma cells *in vitro* [J]. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 2015, 66(4): 269-274.
- [25] 许东晖,梅雪婷,许实波.10-羟基-2-癸烯酸治疗实验性高血脂血症大鼠的药理研究[J].中药材,2002,25(5): 346-347.
- [26] TAKIKAWA M, KUMAGAI A, HIRATA H, et al. 10-Hydroxy-2-decenoic acid, a unique medium-chain fatty acid, activates 5'-AMP-activated protein kinase in L6 myotubes and mice [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2013, 57(10): 1794-1802.
- [27] 胡希怡.意大利蜜蜂10-HDA合成受油酸供应的影响及其降血糖的作用机制[D].泰安:山东农业大学,2021.
- [28] PARK H M, HWANG E, LEE K G, et al. Royal jelly protects against ultraviolet B-induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production [J]. Journal of Medical Food, 2011, 14(9): 899-906.
- [29] ZHENG J F, LAI W, ZHU G X, et al. 10-Hydroxy-2-decenoic acid prevents ultraviolet A-induced damage and matrix metalloproteinases expression in human dermal fibroblasts [J]. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2013, 27(10): 1269-1277.
- [30] MIRBAHA S, BAGHERI M, MAHMOUDI-NEJAD S. 10-hydroxy-2-decenoic acid prevents ultraviolet a-induced expression of lamin A150 in human dermal fibroblasts [J]. Maedica (Bucur), 2019, 14(4): 327-331.
- [31] 田静,钟方旭.10-HDA对原代培养大鼠海马神经元增殖的研究[J].山西大学学报(自然科学版),2010,33(2): 282-285.
- [32] 高荣敬,钟方旭,彭友瑞,等.10-HDA对体外培养大鼠小脑细胞增殖的影响[J].中国食物与营养,2011,17(9): 76-79.
- [33] PYRZANOWSKA J, PIECHAL A, BLECHARZ-KLIN K, et al. Long-term administration of Greek Royal Jelly improves spatial memory and influences the concentration of brain neurotransmitters in naturally aged Wistar male rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 155(1): 343-351.
- [34] MARTINEZ-CHACON G, PAREDES-BARQUERO M, YAKHINE-DIOP S, et al. Neuroprotective properties of queen bee acid by autophagy induction [J]. Cell Biology and Toxicology, 2021, 39(3): 751-770.
- [35] 缪卓宁,胡福良.蜂王浆特有成分10-HDA的研究进展[J].蜜蜂杂志,2020,40(2): 4-9.
- [36] BOTEZAN S, BACI G M, BAGAMERI L, et al. Current status of the bioactive properties of royal jelly: a comprehensive review with a focus on its anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant effects [J]. Molecules, 2023, 28(3): 1-24.
- [37] 王腾飞,王海燕,刘洪玲,等.发酵液中提取10-HDA的研究[J].酿酒科技,2006,1(1): 27-29.
- [38] KIM J M, HAN S M, CHO M L, et al. Characterization of water soluble royal jelly removed allergenic protein [J]. Journal of Apiculture, 2013, 28(1): 19-23.
- [39] 刘进,徐怀德.蜂王浆10-HDA提取和饮料加工技术研究[J].食品研究与开发,2003,6: 53-55.
- [40] PANDEYA P R, LAMICHHANE R, LEE K H, et al. Bioassay-guided isolation of active anti-adipogenic compound from royal jelly and the study of possible mechanisms [J].

- BMC Complement Altern Med, 2019, 19(33): 1-14.
- [41] 张庆娜,杨少波.大孔树脂纯化蜂王浆中10-HDA工艺的研究[J].中国蜂业,2014,65(1): 47-49.
- [42] 张其安,王娟,杨少波.大孔吸附树脂法分离提取蜂王浆中10-羟基-2-癸烯酸[J].食品科学,2013,34(6): 116-119.
- [43] 奉强,韩涛,何冰,等.10-羟基-2-癸烯酸合成进展[J].成都师范学院学报,2016,32(3): 101-107.
- [44] FRAY G I, JAEGER R H, MORGAN E D, et al. Synthesis of trans-10-hydroxydec-2-enoic acid and related compounds [J]. Tetrahedron, 1961, 15: 18-25.
- [45] ZONG Q S, WU J Y. A new approach to the synthesis of royal jelly acid [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2014, 50(3): 399-401.
- [46] KHARISOV R Y, BOTSMAN O V, BOTSMAN L P. Synthesis of 10-hydroxy-and 9-oxo-2E-decenoic acids from oleic acid [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2002, 38(2): 145-148.
- [47] ROBINSON R. The biological activity and synthesis of royal jelly acid [J]. Croatica Chemica Acta, 1960, 32: 119-122.
- [48] 金哲山,张洛成,朴虎日.10-羟基-2-癸烯酸的合成[J].延边医学学报,1992,15(1):19-20.
- [49] 金燕华,张伟强.王浆酸中间体8-烷酰氧基辛醛的一种合成方法:中国,CN102491895[P].2012-06-13.
- [50] 李全,古昆,程晓红.王浆酸的合成[J].化学世界,2007, 5:294-297.
- [51] CAMPBELL K N, SOMMERS A H. Hexamethylene chlorohydrin [J]. Organic Syntheses, 1948, 28: 65-68.
- [52] 王腾飞,王瑞明,郭利美,等.10-HDA微生物菌株的选育[J].现代食品科技,2006,22(1):17-19.
- [53] 王海燕,王腾飞,王瑞明.基于氯化锂复合紫外诱变:10-HDA高产菌株的筛选[J].食品科技,2007,194(12):29-32.
- [54] 孙淑慧.生物合成10-HDA关键酶分子的克隆及工程菌构建研究[D].济南:齐鲁工业大学,2019.
- [55] 张丽华.重组毕赤酵母中10-HDA的生物合成研究[D].济南:齐鲁工业大学,2021.
- [56] LI Y, WANG J Q, WANG F, et al. Production of 10-Hydroxy-2-decenoic acid from decanoic acid via whole-cell catalysis in engineered *Escherichia coli* [J]. Chem Sus Chem, 2021, 15(19): 1-12
- [57] WANG L, WANG L L, WANG R M, et al. Efficient biosynthesis of 10-Hydroxy-2-decenoic acid using a NAD(P)H Regeneration P450 system and whole-cell catalytic biosynthesis [J]. ACS Omega, 2022, 7(21): 17774-17783.