

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2015.01.001

文章编号:2095-6002(2015)01-0001-05

引用格式:陈坚,周胜虎,吴俊俊,等.微生物合成黄酮类化合物的研究进展[J].食品科学技术学报,2015,33(1):1-5.



CHEN Jian, ZHOU Shenghu, WU Junjun, et al. Research progress on microbial production of flavonoids[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015,33(1):1-5.

# 微生物合成黄酮类化合物的研究进展

陈坚<sup>1,2</sup>, 周胜虎<sup>1</sup>, 吴俊俊<sup>1</sup>, 周景文<sup>1,\*</sup>, 堵国成<sup>1,2</sup>

(1. 江南大学生物工程学院, 江苏无锡 214122;

2. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122)

**摘要:**目前,工业生产黄酮类化合物面临价格昂贵等一系列问题,因此用微生物廉价生产黄酮类化合物具有重要意义。近年来系统代谢工程的出现,提供了一个全新的角度来解决传统受限制的生物工业过程。介绍了利用代谢流调控、强化前体物质积累等代谢工程策略,实现微生物法生产黄酮类化合物的国际研究状况,希望对解决目前大规模生产黄酮类物质存在的限制和挑战提供参考。

**关键词:**代谢工程;黄酮;骨架物质;大肠杆菌;酿酒酵母

**中图分类号:** TS201.3

**文献标志码:** A

黄酮类化合物泛指两个具有酚羟基的苯环通过中央3个碳原子连接而成的一系列化合物,它是植物的一类次生代谢产物,具有抗氧化、抗衰老和抗癌<sup>[1-3]</sup>、抗菌、抗病毒<sup>[2,4-5]</sup>、预防肥胖和糖尿病<sup>[6]</sup>、抗凝血<sup>[7]</sup>、抗炎症、抗过敏<sup>[8]</sup>等众多作用。已知的黄酮类化合物有9000余种,根据分子结构不同可以分为黄酮醇、黄烷酮、黄酮、异黄酮、儿茶酸、花青素等<sup>[6]</sup>,它们几乎都有一个由15个碳原子组成的核心骨架<sup>[9]</sup>,通过对核心骨架的烷化、氧化和糖基化等化学修饰作用可以形成种类众多的黄酮类物质<sup>[9-10]</sup>。目前工业生产黄酮类化合物主要是从不同的植物组分中提取,这种生产方法受到季节和工艺的限制,产品纯度不高且价格昂贵,因此通过代谢工程的手段改造微生物从而合成黄酮类骨架物质成为一种具有巨大潜力的生产方式。目前国际上以微生物生产黄酮类化合物的研究主要集中在生产黄酮骨架物质上。

它的生物合成路径也得到了充分研究。苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)或酪氨酸(tyrosine, Tyr)在苯丙氨酸脱氨酶(PAL)或酪氨酸脱氨酶(phenylalanine ammonialyase, TAL)作用下变为肉桂酸或香豆酸,肉桂酸在依赖细胞色素P450的4-肉桂酸羟化酶(cinnamate 4-hydroxylase, C4H)作用下转化为香豆酸。依赖细胞色素P450的C4H需要锚定在内质网膜上,并且必须有还原剂随时将氧化态的P450还原<sup>[11]</sup>才能表现出活性,因此很难在细菌细胞内表达出有活性的C4H。为了绕过C4H的活性限制, Miyahisa等<sup>[12]</sup>将来自天蓝色链霉菌A3(2)的香豆酸CoA连接酶(4-cinnamate CoA ligase, 4CL)与来自深红类酵母的PAL和来自甘草的查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)导入大肠杆菌(*E. coli*)表达,最终得到了较高的骨架物质产量。4CL可以同时作用于肉桂酸和香豆酸<sup>[13]</sup>生成肉桂酰-CoA和香豆酰-CoA,因此可以避开由苯丙氨酸合成黄酮骨架物质的限制。

CHS将三分子丙二酰-CoA和一分子4-肉桂酰-CoA/4-香豆酰-CoA转化为生松素查尔酮/柚皮素查尔酮,最后在查尔酮异构酶(chalcone isomerase,

## 1 黄酮类化合物合成路径

### 1.1 微生物合成黄酮化合物的代谢路径

因为黄酮类化合物对于人类健康的众多功用,

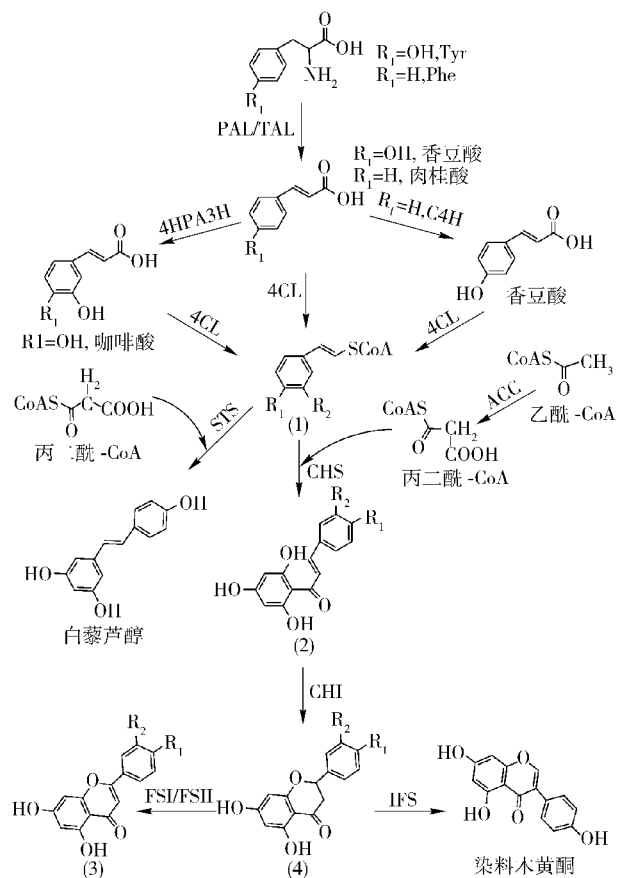
收稿日期:2014-08-21

基金项目:国家“973”计划项目(2012CB720802);国家自然科学基金资助项目(31370130);江苏省自然科学基金重点项目(BK2011004)。

作者简介:陈坚,男,教授,博士,江南大学校长,主要从事发酵工程和食品生物技术方面的研究;

\*周景文,男,副教授,博士,主要从事代谢工程和微生物生理学方面的研究。通信作者。

CHI)作用下,获得生松素/柚皮素<sup>[14]</sup>,芪合酶(stilbene synthase, STS)以4-香豆酰-CoA为底物结合三分子丙二酰-CoA合成白藜芦醇(如图1)。柚皮素和生松素在依赖细胞色素P450的异黄酮合成酶(isoflavone synthase, IFS)转化为异黄酮,在黄酮合成酶(flavonol synthase, FSI)或者依赖细胞色素P450的黄酮合成酶(FSII)作用下转变为木犀草素和芹黄素<sup>[15]</sup>。



4HPA3H: 4-羟基苯乙酸酯 3-羟化酶; ACC: 乙酰-CoA 羧化酶; (1) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH, 咖啡酰-CoA; R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, 肉桂酰-CoA; R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H, 香豆酰-CoA; (2) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH, 圣草酚-查尔酮; R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, 生松素-查尔酮; R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H, 柚皮素-查尔酮; (3) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH, 白杨素; R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, 芹黄素; R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H, 木犀草素; (4) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH, 圣草酚; R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, 生松素; R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H, 柚皮素; 红色标记 C<sub>4</sub>H, FSI 为依赖细胞色素 P450 的单氧化酶

图1 黄酮类化合物合成路径

Fig. 1 Flavonoids' metabolic pathway

## 1.2 TAL在微生物合成黄酮类化合物过程中的抑制机理

不同来源的酶在微生物中表达活性和翻译效率也是不一样的,因此 Santos 等<sup>[14]</sup>对合成黄酮骨架物质的基因来源做了一定的对比和选择。他们对比了

多种来源的 TAL 酶在 *E. coli* 中的催化效率,最终选择了来自黏红酵母的 TAL 得到 213 mg/L 的香豆酸产量,但是当把 TAL 和不同来源的 4CL 共表达的时候发现 TAL 的活性明显下降,通过导入 4CL 下游基因发现这是由于 TAL 受到下游产物香豆酰-CoA 的反馈抑制造成的。TAL 抑制机理的阐明对于后续的研究方向有一定的影响,如何对菌体的代谢流进行调控来解除反馈抑制成为关键。

## 2 不同微生物的合成策略

### 2.1 以 *E. coli* 为宿主合成黄酮类化合物

#### 2.1.1 模块化合成策略

Wu Junjun 等<sup>[16]</sup>根据功能不同将合成黄酮类化合物相关的基因分为多个模块,对这些模块内基因表达强度进行理性调节,有效地提高了骨架物质的产量。将合成 Phe 的相关基因 *aroF<sup>fb</sup>* 和 *pheA<sup>fb</sup>*, 合成肉桂酰-CoA 的基因 *pal* 和 *4cl*, 由肉桂酰-CoA 到生松素的 *chs* 和 *chi* 基因以及丙二酰-CoA 的合成基因 *matB* 和 *matC* 分别组合为 4 个模块,根据启动子强度和质粒的拷贝数来确定每个模块基因的表达强度,最终得到生松素产量为 40.02 mg/L<sup>[16]</sup>,该研究者应用同样的策略对白藜芦醇和柚皮素生产进行了模块化优化,得到产量分别为 35.02 mg/L<sup>[17]</sup> 和 100.64 mg/L<sup>[18]</sup>。

#### 2.1.2 模型优化策略

近年来系统代谢工程的发展使得人们更多地利用系统代谢工程的策略和工具来提高黄酮产量。Fowler 等<sup>[19]</sup>构建了 CiED (cipher of evolutionary design) 模型预测工具预测敲除菌体的某些基因或者改变代谢网络后菌体的代谢变化,研究者应用 CiED 工具使碳源尽可能流向乙酰-CoA 和黄酮骨架物质合成的方向,使得柚皮素和圣草酚产量分别提高到 100 mg/L/OD 和 55 mg/L/OD。Xu Peng 等<sup>[20]</sup>利用 OptForce 工具预测出敲除 *fumC* 和 *sucC* 基因,同时过表达 ACC、PGK、GAPD、PDH 酶可以提高菌体内丙二酰-CoA 的含量,使得菌体由香豆酸开始能够合成 474 mg/L 的柚皮素。

#### 2.1.3 增加前体物质的策略

咖啡酰、香豆酰和丙二酰-CoA 是黄酮骨架物质的直接前体,添加或提高它们的产量可以有效增加黄酮骨架物质的合成。研究者发现 *E. coli* 的 4-羟基苯乙酸酯 3-羟化酶 (4-hydroxy benzene acetic acid ester 3-hydroxylase, 4HP3H) 可以催化香豆酸合成咖啡酰<sup>[21]</sup>,成功地绕开了细胞色素 P450 酶香

豆酸 3-羟化酶(C3H)的限制,他们在酪氨酸高产菌株中获得了 50.2 mg/L 的咖啡酸产量。随后在以香豆酸为底物的条件下获得了 3.82 g/L 的产量,在 Phe 和 Tyr 均高产的菌株中得到 766.68 mg/L 的产量<sup>[22]</sup>。Kang 等<sup>[23]</sup>在高产酪氨酸 *E. coli* 内以葡萄糖为底物得到 974 mg/L 香豆酸、150 mg/L 咖啡酸。

细胞内较低的丙二酰-CoA 含量是导致骨架物质产量较低的重要原因,将来自于谷氨酸棒状杆菌的乙酰-CoA 羧化酶(ACC)置于表达质粒上,导入 *E. coli* 有效提高了黄酮产量<sup>[12]</sup>。Leonard 等<sup>[24]</sup>共表达来自发光光杆状菌的 ACC 以及生物素连接酶,融合表达来自 *E. coli* 和发光光杆状菌的生物素连接酶,增强菌体对乙酸盐的吸收能力。以 Phe 为底物使得生松素、柚皮素和圣草酚产量分别提高到 429, 119, 52 mg/L。随后他们发现导入三叶草根瘤菌的丙二酰-CoA 合成途径以及利用浅蓝菌素来抑制脂肪酸代谢途径能再次提高骨架物质产量,在以 Phe 为底物的条件下生松素产量达到 700 mg/L<sup>[25]</sup>。此外,Lim 等<sup>[26]</sup>通过筛选不同植物里的 STS 基因,利用不同的启动子,质粒结构和宿主来优化白藜芦醇途径,在添加了浅蓝菌素抑制脂肪酸合成的情况下产量提高到 2.3 g/L。

## 2.2 以 *S. cerevisiae* 为宿主合成黄酮类化合物

酿酒酵母没有致病性并且已经应用于食品科学领域,与细菌相比,*S. cerevisiae* 可以对翻译之后的蛋白质进行适当修饰,多用于真核生物相关基因的异源表达。以 *S. cerevisiae* 为宿主可以表达出有活性的 P450 羟化酶(C4H),合成黄酮类化合物的过程中有多个步骤涉及 P450 酶<sup>[15]</sup>,因此 *S. cerevisiae* 成了一个良好的生产菌种。

Jiang 等<sup>[27]</sup>首次用 *S. cerevisiae* 合成出了黄酮类化合物,他们共表达了 PAL、4CL、CHS 三种酶,在添加 Phe/Tyr 的条件下得到生松素和柚皮素的产量分别为 0.8 mg/L 和 7 mg/L。随后 Yan Yajun 等在 *S. cerevisiae* 中共表达 C4H、4CL、CHS、CHI 四种酶,并以苯丙氨酸为底物合成黄酮类物质最终得到柚皮素、生松素、圣草酚的产量分别为 28.3, 16.3, 6.5 mg/L<sup>[15,28]</sup>,进一步提高了产量。还有研究者用随机拼接构建人工酵母染色体的方法,以天然或非天然的底物生产黄酮类化合物,发明了一种构建全代谢路径工程菌的方法<sup>[29]</sup>。2010 年,Werner 等<sup>[30]</sup>指出,用 *S. cerevisiae* 还可以生产自然界中不存在的非天然黄酮类化合物,他们以 22 种肉桂酸衍生物为底物,用含有 4CL、CHS 酶的菌株生产非天然黄酮类物

质获得了成功。

## 2.3 以委内瑞拉链霉菌为宿主合成黄酮类化合物

2009 年,Park 等<sup>[31]</sup>首次报道了以委内瑞拉链霉菌(*streptomyces venezuelae*)为宿主的生产策略。研究者用敲除苦霉素聚酮合酶的委内瑞拉链霉菌为宿主,共表达来自天然蓝色链霉菌的 4-香豆酸 CoA 连接酶(4CL)、不同来源的 CHS 以及 CHI,最终成功合成了黄酮骨架物质。随后,他们在委内瑞拉链霉菌中导入了 *matB* 和 *matC* 基因后在外源添加丙二酸盐的条件下有效地增加了黄酮类化合物的产量,柚皮素 35.6 mg/L、生松素 44.1 mg/L<sup>[32]</sup>。

## 3 工业生产黄酮类化合物现状

黄酮类化合物的工业生产主要是从植物组织中提取得到,目前市场上对黄酮类化合物的需求巨大。工业生产无法满足市场需求,主要原因在于植物中有效成分含量较少,例如白藜芦醇在花生和葡萄中的含量低于 4  $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{干重})$ ,在红酒中只有 2 mg/L<sup>[26]</sup>。有药物活性的黄酮类化合物往往具有手性选择性,从植物组织中很难分离出单一的有效成分,应用有机溶剂萃取的方法生产黄酮类化合物得到的产品会有一定的有机溶剂污染,同时还会污染环境。由于工业生产原料是植物组织,其生产受到季节的限制,并且由于植物的生长地域不同,应用同一提取方案最终提取到的黄酮化合物也会有不同的成分残留,如重金属等,正是由于工业生产上的诸多限制才导致了黄酮价格昂贵。

## 4 结束语

尽管目前利用微生物大规模生产黄酮类物质仍然有一段路要走,但近年来合成生物学技术的迅速发展给人们提供了一个有效的工具来改造生物系统。人类在合成生物学上取得的巨大进展极大地提高了我们设计、构建以及优化微生物细胞工厂的能力<sup>[33]</sup>。随着合成生物学的发展,我们相信在不久的将来,合成的细胞工厂终能克服目前大规模工业化生产黄酮类物质的固有缺陷。除了上述的合成生物学策略和工具以外,一些用来生产其他天然产物的策略和方法对于我们开发出有效的黄酮微生物生产方法也具有一定的启发意义。例如一些先进的 DNA 组装工具提供了构建多基因途径从头合成黄酮骨架物质的有效方法<sup>[20]</sup>。常用的工具包括 SLIC、CPEC 以及 ePathBrick 质粒,它们都可以提供一个一步无痕的方法来构建复杂的途径。在众多

DNA 组装工具中, ePathBrick 质粒因拥有的分布在关键位置的 4 个可兼容的酶切位点, 使得研究者可以更好地研究细胞代谢。另外, 越来越多模拟细胞代谢的研究会发展出新的计算机工具, 来鉴定出遗传操作目标<sup>[34]</sup>。通过使用这些工具, 我们有望构建出特制的细胞工厂来大规模生产黄酮骨架物质以及其他天然产物。

#### 参考文献:

- [1] Liu H L, Jiang W B, Xie M X. Flavonoids: recent advances as anticancer drugs[J]. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 2010, 5(2): 152–164.
- [2] Forkmann G, Martens S. Metabolic engineering and applications of flavonoids[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, 12(2): 155–160.
- [3] Romagnolo D F, Selmin O I. Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence[J]. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, 2012, 31(3): 206–238.
- [4] Dixon R A, Paiva N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism[J]. *Plant Cell*, 1995, 7(7): 1085–1097.
- [5] Hain R, Reif H J, Krause E, et al. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant[J]. *Nature*, 1993, 361: 153–156.
- [6] Leonard E, Yan Y, Fowler Z L, et al. Strain improvement of recombinant *Escherichia coli* for efficient production of plant flavonoids[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2008, 5(2): 257–265.
- [7] Lin Yuheng, Shen Xiaolin, Yuan Qipeng, et al. Microbial biosynthesis of the anticoagulant precursor 4-hydroxycoumarin[J]. *Nature Communications*, 2013(4): 2603.
- [8] Middleton E Jr, Kandaswami C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1992, 43(6): 1167–1179.
- [9] Chemler J A, Yan Y J, Leonard E, et al. Combinatorial mutasynthesis of flavonoid analogues from acrylic acids in microorganisms[J]. *Organic Letters*, 2007, 9(10): 1855–1858.
- [10] Turnbull J J, Nakajima J, Welford R W D, et al. Mechanistic studies on three 2-oxoglutarate-dependent oxygenases of flavonoid biosynthesis-anthocyanidin synthase, flavonol synthase, and flavanone 3 beta-hydroxylase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(2): 1206–1216.
- [11] Lin Yuheng, Sun Xinxiao, Yuan Qipeng, et al. Combinatorial biosynthesis of plant-specific coumarins in bacteria[J]. *Metabolic Engineering*, 2013, 18: 69–77.
- [12] Miyahisa I, Kaneko M, Funa N, et al. Efficient production of (2S)-flavanones by *Escherichia coli* containing an artificial biosynthetic gene cluster[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, 68(4): 498–504.
- [13] Di P, Hu Y S, Xuan H J, et al. Characterization and the expression profile of 4-coumarate: CoA ligase (Ii4CL) from hairy roots of *Isatis indigotica*[J]. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2012, 6(28): 2166–2175.
- [14] Santos C N, Koffas M A G, Stephanopoulos G. Optimization of a heterologous pathway for the production of flavonoids from glucose[J]. *Metabolic Engineering*, 2011, 13(4): 392–400.
- [15] Chemler J A, Yan Yajun, Koffas M A G. Biosynthesis of isoprenoids, polyunsaturated fatty acids and flavonoids in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2006(5): 20.
- [16] Wu Junjun, Du Guocheng, Zhou Jingwen, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for (2S)-pinocembrin production from glucose by a modular metabolic strategy[J]. *Metabolic Engineering*, 2013, 16: 48–55.
- [17] Wu Junjun, Liu Peiran, Fan Yongming, et al. Multivariate modular metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce resveratrol from L-tyrosine[J]. *Journal of Biotechnology*, 2013, 167(4): 404–411.
- [18] Wu Junjun, Zhou Tiantian, Du Guocheng, et al. Modular optimization of heterologous pathways for de novo synthesis of (2S)-naringenin in *Escherichia coli*[J]. *PloS One*, 2014, 9(7): e101492.
- [19] Fowler Z L, Gikandi W W, Koffas M A G. Increased malonyl coenzyme A biosynthesis by tuning the *Escherichia coli* metabolic network and its application to flavanone production[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(18): 5831–5839.
- [20] Xu Peng, Ranganathan S, Fowler Z L, et al. Genome-scale metabolic network modeling results in minimal interventions that cooperatively force carbon flux towards malonyl-CoA[J]. *Metabolic Engineering*, 2011, 13(5): 578–587.
- [21] Lin Yuheng, Yan Yajun. Biosynthesis of caffeic acid in *Escherichia coli* using its endogenous hydroxylase complex[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 42.
- [22] Huang Qin, Lin Yuheng, Yan Yajun. Caffeic acid production enhancement by engineering a phenylalanine over-producing *Escherichia coli* strain[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2013, 110(12): 3188–3196.
- [23] Kang S Y, Choi O, Lee J K, et al. Artificial biosynthesis of phenylpropanoic acids in a tyrosine overproducing *Escherichia coli* strain[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 153.
- [24] Leonard E, Lim K H, Saw P N, et al. Engineering central metabolic pathways for high-level flavonoid produc-

- tion in *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(12): 3877–3886.
- [25] An J H, Kim Y S. A gene cluster encoding malonyl-CoA decarboxylase (MatA), malonyl-CoA synthetase (MatB) and a putative dicarboxylate carrier protein (MatC) in *Rhizobium trifolii*[J]. European Journal of Biochemistry, 1998, 257(2): 395–402.
- [26] Lim C G, Fowler Z L, Hueller T, et al. High-yield resveratrol production in engineered *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(10): 3451–3460.
- [27] Jiang H X, Wood K V, Morgan J A. Metabolic engineering of the phenylpropanoid pathway in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(6): 2962–2969.
- [28] Yan Yajun, Kohli A, Koffas M A G. Biosynthesis of natural flavanones in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 5610–5613.
- [29] Naesby M, Nielsen S V S, Nielsen C F, et al. Yeast artificial chromosomes employed for random assembly of biosynthetic pathways and production of diverse compounds in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microbial Cell Factories, 2009(8): 45.
- [30] Werner S R, Chen H, Jiang H X, et al. Synthesis of non-natural flavanones and dihydrochalcones in metabolically engineered yeast[J]. Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic, 2010, 66(3–4): 257–263.
- [31] Park S R, Yoon J A, Paik J H, et al. Engineering of plant-specific phenylpropanoids biosynthesis in *Streptomyces venezuelae*[J]. Journal of Biotechnology, 2009, 141(3–4): 181–188.
- [32] Park S R, Ahn M S, Han A R, et al. Enhanced Flavonoid Production in *Streptomyces venezuelae* via metabolic engineering[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 21(11): 1143–1146.
- [33] Lee J W, Na D, Park J M, et al. Systems metabolic engineering of microorganisms for natural and non-natural chemicals[J]. Nature Chemical Biology, 2012, 8(6): 536–546.
- [34] Xu Peng, Bhan N, Koffas M A G. Engineering plant metabolism into microbes: from systems biology to synthetic biology[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2013, 24(2): 291–299.

## Research Progress on Microbial Production of Flavonoids

CHEN Jian<sup>1,2</sup>, ZHOU Shenghu<sup>1</sup>, WU Junjun<sup>1</sup>, ZHOU Jingwen<sup>1,\*</sup>, DU Guocheng<sup>1,2</sup>

(1. School of Biological Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Flavonoids are plant secondary metabolites, which are valuable natural products widely used in human health and nutrition due to its biochemical properties such as antiviral, antiobesity, and anticancer. The efficient production of pure flavonoid compounds through plant extraction or chemical production continues to be a major challenge for drug development. Hence, the microbial production of flavonoids has emerged as an interesting and commercially attractive approach. The emergence of systems metabolic engineering offers new perspectives on strain and process optimization. In this review, the strategies of systems metabolic engineering used to overcome these challenges are summarized, which will offer insights into overcoming the limitations and challenges of large-scale microbial production of these important pharmaceutical compounds.

**Key words:** metabolic engineering; flavonoids; skeleton substance; *Escherichia coli*; *Saccharomyces cerevisiae*