

EMILIA GULA, MARTA LIBIK-KONIECZNY

*Zakład Biologii Stresu  
Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego PAN  
Niezapominajek 21, 30-239 Kraków  
E-mail: e.gula@ifr-pan.edu.pl*

## KWAS PIPEKOŁOWY – NIEWYKORZYSTANY POTENCJAŁ

### SYNTEZA KWASU L-PIPEKOŁOWEGO (L-PiP)

Kwas pipekolowy (PiP) jest niebiałkowym aminokwasem, pochodzącym z katabolizmu lizyny. Występuje w formie L i D enancjomerów, jednak niniejszy artykuł dotyczy jedynie formy L-PiP, ponieważ forma D rzadziej występuje w przyrodzie i może być toksyczna dla żywych organizmów i dlatego jest ona także rzadziej opisywana w literaturze (VRANOVA i współaut. 2013).

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań wnioskuje się, że u roślin i zwierząt istnieją dwa szlaki syntezy kwasu L-pipekolowego. Ich nazwy, P6C i P2C, pochodzą od angielskich nazw związków: piperydyno-6-karboksylanu oraz piperydyno-2-karboksylanu, będących głównymi produktami pośrednimi tych szlaków (HE 2006).

Szlak P6C obejmuje powstawanie L-PiP z L-lizyny poprzez -aminoadypinian-6-semialdehyd i delta-piperydyno-6-karboksylan, będące produktami pośrednimi. Kluczowy dla tego szlaku syntezy jest bifunkcyjny enzym o aktywności zarówno reduktazy lizyno-ketoglutaranowej, jak i dehydrogenazy sacharopirynowej. Drugi szlak (P2C) obejmuje powstawanie L-PiP z L-lizyny poprzez delta-piperydyno-2-karboksylan (Ryc. 1). Tu kluczowy jest enzym reduktaza delta-piperydyno-2-karboksylowa. Występowanie obydwu szlaków stwierdzono zarówno w mikroorganizmach, roślinach, jak i tkankach zwierząt, jednak nie u wszystkich tych organizmów zostały one w pełni poznane. Badania nad różnicami w przebiegu biosyntezy PiP wciąż trwają. Odkrywane są nowe ścieżki w szlakach powsta-

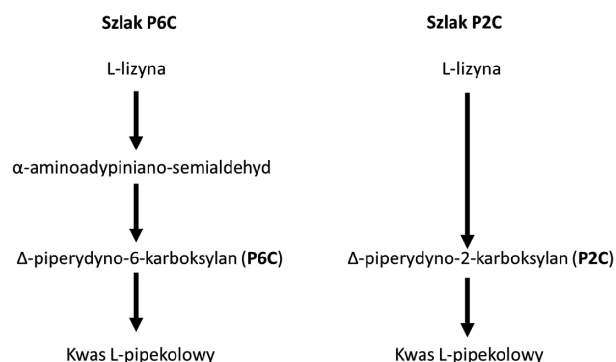
wania tego związku. Przykładem może być synteza PiP z formy D-lizyny, która występuje u roślin i niektórych szczepów bakterii (HE 2006, MOULIN i współaut. 2006).

### DEGRADACJA PiP

W organizmach takich jak bakterie, grzyby czy zwierzęta, kwas pipekolowy katabolizowany jest poprzez jego konwersję do delta-piperydyno-6-karboksylanu z udziałem oksydazy pipekolowej (VRANOVA i współaut. 2013). Ten sam enzym został odkryty w organizmie człowieka, a jego aktywność odgrywa istotną rolę u ludzi z zaburzeniami biogenezy peroksisomów (z ang. peroxisome biogenesis disorders, PBD). U pacjentów cierpiących na PBD zaburzona aktywność oksydazy pipekolowej prowadzi do nagromadzenia L-PiP, co może wskazywać na kluczową rolę tego enzymu w degradacji kwasu pipekolowego (DODT i współaut. 2000).

Pod koniec ubiegłego wieku MIHALIK i współaut. (1991) odkryli, że reakcja utleniania kwasu L-pipekolowego w organizmie człowieka zachodzi poprzez dwie reakcje dehydrogenacji, z wytworzeniem kwasu -aminoadypinowego oraz wydzieleniem nadtlenu wodoru. To odkrycie pozwoliło wysunąć hipotezę, iż reakcja oksydacji L-PiP u ssaków naczelnych przebiega tak samo jak np. u bakterii *Pseudomonas putida*.

Grzyb z gatunku *Rhizoctonia leguminicola* rozkłada kwas pipekolowy do toksycznych alkaloidów, takich jak na przykład swainsonina, która znalazła zastosowanie w medycynie jako potencjalny lek przeciwnowotworowy (WICKWIRE i współaut. 1990).



Ryc. 1. Uproszczony schemat dwóch szlaków biosyntezy kwasu L-pipekolowego.

U roślin z kwasu pipekolowego może powstać osiem różnych mono- i dihydroksystereoizomerów. Kwasy monohydroksypipekolowe są syntetyzowane z kwasu pipekolowego, natomiast kwasy dihydroksypipekolowe powstają z prekursorów monohydroksylowych o tej samej stereospecyficzności. Każda reakcja jest katalizowana przez unikatowy dla niej enzym (MORTON 1997).

#### ROLA PiP W MECHANIZMACH OBRONNYCH ROŚLIN

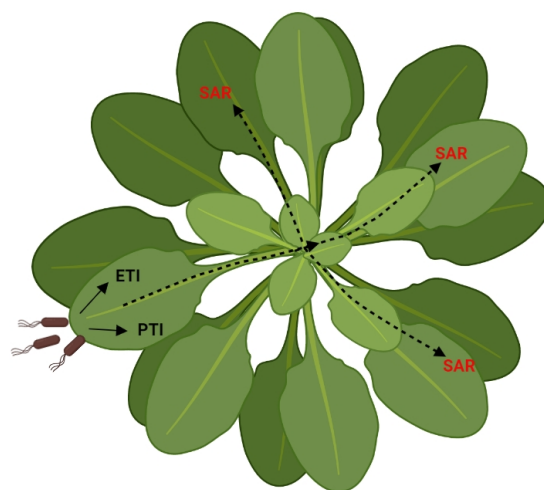
Postępujące zmiany klimatyczne i antropopresja spowodowały wzrost liczby abiotycznych czynników stresowych, takich jak np. zbyt duże zasolenie gleby, susza bądź nadmiar wody, a także zbyt wysoka/niska zawartość składników mineralnych, które zaburzają wzrost i rozwój roślin. Dodatkowo, rośliny są także narażone na działanie czynników stresu biotycznego, tzn. różnego rodzaju szkodniki, patogeny czy gatunki inwazyjne. Z tego względu potrzebne są rozwiązania, które umożliwią roślinom efektywniejszą walkę z tymi czynnikami lub niwelowanie skutków ich działania.

W toku ewolucji rośliny wykształciły złożone mechanizmy obronne przed wieloma zagrażającymi im patogenami. Możemy wyróżnić mechanizmy indukowalne i konstytutywne. Po infekcji tkanki roślinnej przez mikroorganizmy danego typu może dojść do rozpoznania struktury drobnoustrojów charakterystycznej dla wielu typów patogenów [tzw. wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP)] lub cząsteczki efektorowej specyficznej dla poszczególnych izolatów patogenów (BERNSDORFF i współaut. 2016, AMARI i NIEHL 2020). Mówimy wówczas o PTI (ang. PAMP-triggered immunity), czyli odporności wywołanej przez PAMP, oraz ETI (ang. effector-triggered immunity), którą wywołują cząsteczki efektorowe. Czasami odporność wywołana przez bardziej powszechne struktury może być niewystarczająca, i chociaż szlaki sygnałowe obu typów odpor-

ności częściowo się pokrywają, to jednak tylko współdziałając mogą skutecznie obronić roślinę przed patogenem (JONES i DANGL 2006, YUAN i współaut. 2021).

PTI i ETI to nie jedyne formy odporności, potrzebne roślinom do przetrwania. Zlokalizowana infekcja liści może doprowadzić do indukcji systemicznej odporności nabytej (ang. systemic acquired resistance, SAR) (Ryc. 2). Kluczowe dla tego zjawiska są metabolity syntetyzowane w odpowiedzi na infekcję patogenem, takie jak hormony roślinne: kwas salicylowy i kwas jasmonowy, będące aktywatorami szlaków obronnych. Ponadto, cząsteczkami istotnymi dla SAR są również: salicylan metylu, kwas azelainowy, dehydroabietinal czy opisywany tu PiP. To właśnie te cząsteczki umożliwiają roślinom przekazywanie informacji o infekcji z miejsca jej wystąpienia do dalszych tkanek (PARK i współaut. 2007, JUNG i współaut. 2009, CHATURVEDI i współaut. 2012, NÁVAROVÁ i współaut. 2012).

Najważniejszą z wymienionych cząsteczek pozostaje kwas salicylowy (SA). Rolę SA w SAR odkryto już w latach 90., na podstawie m.in. obserwacji wzrostu jego zawartości w roślinie po infekcji patogenem (HUANG i współaut. 2020). SA odgrywa rolę nie tylko w odpowiedzi systemicznej, ale i lokalnej, a jego niskie stężenie powoduje osłabienie reakcji obronnych. Oprócz znaczącej roli kwasu salicylowego w SAR, ważnymi elementami systemu ochrony roślin są aminokwasy niebiałkowe, pełniące rolę cząsteczek o działaniu m.in. przeciwdrobnoustrojowym. Pomimo tego, że występują



Ryc. 2. Schemat przedstawiający potencjalne miejsca działania poszczególnych typów odporności roślin. PTI (ang. PAMP-triggered immunity) odporność wywołana przez PAMP, ETI (ang. effector-triggered immunity) odporność wywołana cząsteczkami efektorowymi, SAR (ang. systemic acquired resistance) systemiczna odporność nabyta. Wykonano przy pomocy platformy BioRender.

one powszechnie w środowisku i są źródłem azotu niezbędnego w ekosystemach, wciąż prowadzonych jest niewiele badań dotyczących ich specyficznych funkcji (ROSENTHAL 1982, VRANOVA i współaut. 2011). W ostatnich latach szczególną uwagę zwrócono na kwas pipekolowy jako związek, który mógłby zostać wykorzystany m.in. do walki z patogenami roślinnymi.

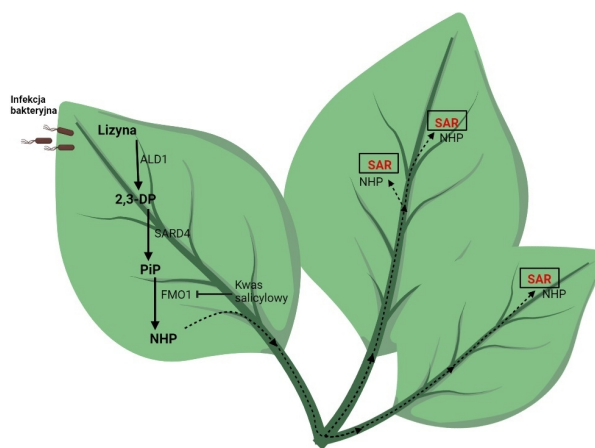
Po raz pierwszy w latach 90. ubiegłego wieku VERNOOIJ i współaut. (1994) wykazali, że to nie kwas salicylowy jest bezpośrednim przekaznikiem sygnału na duże odległości u roślin poddanych działaniu patogenów. Dalsze badania pokazały, że kluczową rolę mogą pełnić kwas pipekolowy oraz jego pochodna kwas N-hydrokso-pipekolowy (NHP). Badania z 2012 r. (NÁVAROVÁ i współaut. 2012) potwierdziły częściowo tę hipotezę. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy stwierdzili, że dwa katabolity lizyny, tzn. PiP i kwas -aminoadypinowy (Aad) biorą udział w odpowiedzi SAR. Opisany w cytowanej publikacji eksperyment zakładał zakażenie rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) bakterią *Pseudomonas syringae* i wykazanie zmian w ilości wolnych aminokwasów różnego rodzaju. PiP oraz Aad były prawie niewykrywalne w liściach roślin nieinokulowanych patogenem czyli kontrolnych. W roślinach infekowanych dochodziło do dużego nagromadzenia PiP właśnie w miejscu inokulacji oraz w liściach znacznie oddalonych od tego miejsca. Stanowiło to potwierdzenie hipotezy, że PiP jest cząsteczką istotną w indukcji SAR (HARTMANN i współaut. 2017).

Gromadzenie się kwasu pipekolowego w liściach po infekcji bakteryjnej, grzybiczej czy wirusowej zostało także udokumentowane w gatunkach roślin uprawnych takich jak: ryż siewny (*Oryza sativa*), psianka ziemniak (*Solanum tuberosum*), tytoń szlachetny (*Nicotiana tabacum*), soja zwyczajna (*Glycine max*) (PÁLFI i DČSI 1968, NÁVAROVÁ i współaut. 2012, VOGEL-ADGHOUGH i współaut. 2013, ALIFERIS i współaut. 2014).

Przyjmuje się, że kwas salicylowy pełni rolę regulatora w konwersji PiP do NHP, prowadząc do zahamowania tej przemiany. Ze względu na podobieństwo strukturalne SA i NHP, kwas salicylowy może być konkurencyjnym inhibitorem jednego z enzymów biorących udział w przemianie PiP do jego pochodnej (Ryc. 3) (SHAN i HE 2018). Ponadto, mutanty roślinne o upośledzonej biosyntezie kwasu salicylowego, można wspomóc w indukcji mechanizmów obronnych przez podanie egzogenego PiP (CAI i współaut. 2021).

Na podstawie badań przeprowadzonych dotychczas na *A. thaliana* wnioskuje się, iż najważniejszymi enzymami niezbędnymi do indukcji SAR są białka o angielskich nazwach:

AGD2-Like Defense Response Protein 1 (ALD1), SAR-Deficient 4 (SARD4) oraz Flavin-Dependent Monooxygenase 1 (FMO1). Geny kodujące te trzy białka są potrzebne roślinie do wydajnej biosyntezy i regulacji poziomu pochodnej PiP; kwasu N-hydrokso-pipekolowego (NHP). ALD1 odpowiada za transfer grupy -aminowej z L-lizyny wraz z utworzeniem kwasu 2,3-dehydropipekolowego (2,3-DP). SARD4 redukuje ten produkt do PiP, a następnie FMO1 hydroksyluje PiP do NHP (Ryc. 3), związku kluczowego dla SAR (CHEN i współaut. 2018, CAI i współaut. 2021). Brak aktywności ALD1 i SARD4 uniemożliwia akumulację NHP i wykształcenie skutecznej obrony *A. thaliana* przed patogenami. Podanie tego kwasu doprowadziło do zniwelowania skutków braku aktywności genów kodujących kluczowe enzymy w biosyntezie PiP i NHP oraz skuteczną obronę przed patogenami takimi jak *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (Psm) (HARTMANN i współaut. 2017).



Ryc. 3. Szlak syntezy kwasu N-hydrokso-pipekolowego (NHP) po infekcji bakteryjnej oraz schemat działania. AGD2-Like Defense Response Protein 1 (ALD1), kwas 2,3-dehydropipekolowy (2,3-DP), SAR-Deficient 4 (SARD4), kwas pipekolowy (PiP), Flavin-Dependent Monooxygenase 1 (FMO1). Wykonano przy pomocy platformy BioRender.

## ZNACZENIE PiP DLA BAKTERII

Pomimo, że kwas pipekolowy jest dla roślin istotny w obronie przed patogenami, to jest on również cząsteczką niezbędną do prawidłowego funkcjonowania bakterii. GOUESBET i współaut. (1994) badali, czy egzogeny kwas L-pipekolowy będzie wpływał na bakterie *E. coli* w środowisku dla nich niekorzystnym, tzn. w warunkach rosnącej osmolalności. Przeprowadzony eksperyment wykazał, że suplementacja pożywek hodowlanych kwasem pipeko-



lowym może mieć pozytywny wpływ na wzrost i osmoprotekcję komórek bakteryjnych.

W kolejnych latach badacze odkrywali następne gatunki, dla których PiP miał działanie ochronne w niekorzystnym środowisku. Hodowla bakterii z gatunku *Sinorhizobium meliloti* w środowisku z dodatkiem chlorku sodu i mannitolu przebiegała wydajniej dzięki suplementacji formami zarówno L jak i D kwasu pipekolowego. Doprowadziło to również do znacznego zniwelowania wpływu hiperosmotyczności środowiska na komórki. Co ciekawe, podanie obu form tego kwasu dało lepszy efekt niż ich osobna suplementacja. Z eksperymentu wynioskowano, że istotna jest nie tylko akumulacja PiP, ale też użycie przez bakterie formy L jako prekursora endogennych osmolitów (GOUFFI i współaut. 2000).

#### KWAS L-PIPEKOŁOWY WE WSPÓŁCZESNEJ MEDYCYNIE I JEGO PRODUKCJA NA DUŻĄ SKALĘ

Kwas L-pipekolowy znalazł zastosowanie we współczesnej medycynie jako prekursor związków wykorzystywanych jako miejscowe anestetyki, czyli leki znieczulające (np. ropiwakaina, chloroprokaina i bupiwakaina). Jest również prekursorem naturalnych produktów makrolidowo-pipekolanowych takich jak rapamycyna, takrolimus (FK-506) i askomycyna (FK-520), które są wykorzystywane jako leki immunosupresyjne czyli hamujące odpowiedź układu immunologicznego (CAPEY 2007, SCHAT i SKINNER 2008, HAN i współaut. 2020). Stanowi on substrat wykorzystywany do tworzenia oktahydroindolizynowych alkaloidów, takich jak slaframina i swainsonina będących potencjalnymi lekami przeciwnowotworowym (Ryc. 4) (NARANJO i współaut. 2003, REN i współaut. 2017).

Bardzo istotnym aspektem w przemyśle farmaceutycznym, a także rolniczym i chemicznym, jest chiralność związków. Chiralność to cecha cząsteczki polegająca na tym, że jej odbicie lustrzane nie jest identyczne z cząsteczką wyjściową. Różnią się one ułożeniem ich fragmentów w przestrzeni i nazywane są enancjomerami. Można je od siebie odróżnić na podstawie kierunku skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego. Jeśli cząsteczka zdolna jest do skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego zgodnie z ruchem wskazówek zegara to nazywamy ją formą D, a tę skręcającą przeciwnie do ruchu wskazówek zegara formą L. Związki chiralne wykazują także diametralnie różną aktywność biologiczną. Na przykład D-glukoza jest w pełni przyswajalna przez organizm, zaś L-glukoza nie jest przyswajalna wcale.

Produkcja i przygotowanie pojedynczych enancjomerów chiralnych produktów pośred-

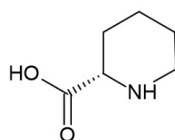
nich jest kluczowa w przemyśle farmaceutycznym, ponieważ stanowią one ponad połowę produkowanych leków (WALTHER i NETSCHER 1996). Jak już wspomniano, L-PiP jest chiralnym produktem pośrednim wykorzystywanym do produkcji leków. Tak jak i wiele innych związków organicznych, czyste enancjomery kwasu PiP są otrzymywane syntetycznie. Wiadomo, że tego typu produkcja na dużą skalę jest złożona, kosztowna i niekorzystna dla środowiska. Dlatego wiele grup badawczych dąży do opracowania metod efektywniejszych, takich jak produkcja przy pomocy mikroorganizmów (YING i współaut. 2017).

Bioprodukcja L-PiP może odbywać się na drodze opisanych wcześniej szlaków P6C lub P2C. Opracowano metody produkcji tego kwasu z wykorzystaniem enzymów biorących udział w obu tych szlakach. Przykładem są badania na bakteriiach *E. coli* z użyciem podłoża zawierającego lizynę. FUJI i współaut. (2002) udokumentowali możliwość wykorzystania enzymów szlaku P2C w bakteriiach do produkcji kwasu L-pipekolowego w ilości 3,9 g na litr medium hodowlanego. Kolejnym przykładem są rekombinowane bakterie z nadekspresją genu cyklodeaminazy L-lizyny, które były w stanie produkować 0,78 g kwasu na litr podłoża w ciągu godziny (HAN i współaut. 2020). Możliwa jest także produkcja L-PiP z glukozy lub sacharozy. PCREZ-GARCÍA i współaut. (2017), wykorzystując bakterie *Corynebacterium glutamicum* i proces fermentacji okresowej, uzyskali 14,4 g L-PiP na litr medium, czyli 0,21 g/L na godzinę.

#### NAJNOWSZE OSIĄGNIĘCIA

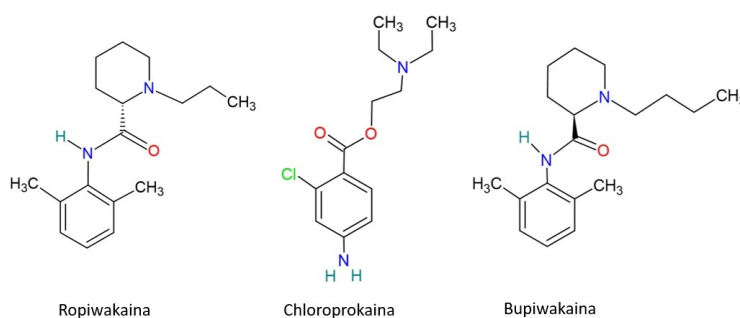
W ciągu ostatnich dwóch lat, pomimo pandemii COVID-19, opublikowano kilka nowych prac związanych z kwasem pipekolowym. W jednej z nich (YU i współaut. 2020) opisano opracowanie usprawnionej metody oznaczania ilościowego PiP w tkankach roślinnych za pomocą spektrometrii masowej połączonej z chromatografią gazową. Jak zapewniają autorzy procedura jest prosta, ekonomiczna i wydajna, stąd może być przydatna dla osób pracujących na materiale roślinnym i zainteresowanych badaniem tego aminokwasu.

Kolejna interesująca publikacja dotyczy nowo odkrytej roli PiP w komórkach roślin poddanych działaniu stresu abiotycznego. WANG i współaut. (2021), przy pomocy technologii CRISPR-Cas9, stworzyli mutanty *Slald1* i *Slfmo1* pomidora zwyczajnego (*Solanum lycopersicum*) pozbawione genów *ald1* i *fmo1*, biorących udział w biosyntezie PiP. Delecja genu *Slald1* spowodowała zwiększenie odporności roślin na suszę. Z kolei delecja zmodyfikowanego genu *Slfmo1*, spowodowała wzrost

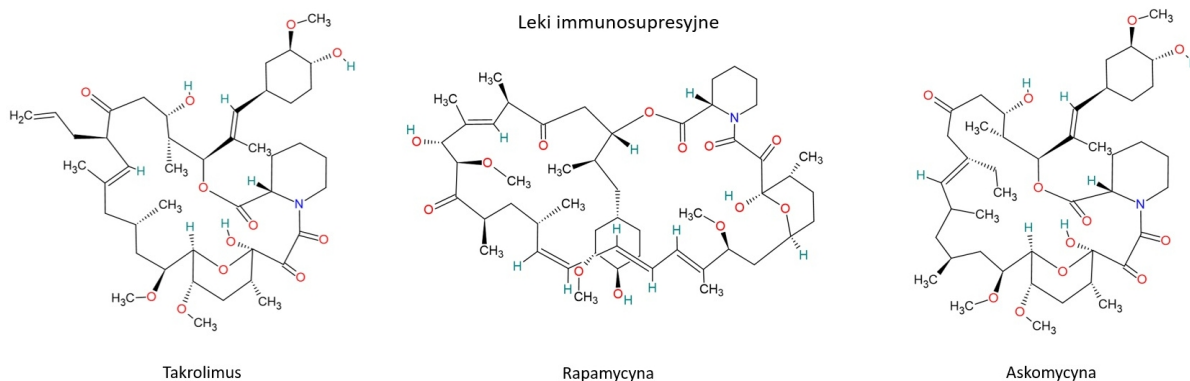


Kwas L-pipekolowy

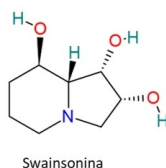
## Miejscowe anestetyki



## Leki immunosupresyjne



## Potencjalny lek przeciwnowotworowy



Swainsonina

Ryc. 4. Wzory chemiczne kwasu L-pipekolowego i jego pochodnych wykorzystywanych w medycynie jako miejscowe anestetyki, leki immunosupresyjne czy potencjalne leki przeciwnowotworowe. Wykonano przy pomocy programu ACD/ChemSketch.

wrażliwości tych mutantów na suszę. Biorąc pod uwagę funkcje tych genów wywnioskowano, że szlaki biosyntezy i hydroksylacji PiP odgrywają w tej odporności znaczącą rolę. Wyniki te mogą zostać w przyszłości wykorzystane w celu poprawy jakości roślin użytkowych w warunkach suszy.

Na szczególną uwagę zasługują także najnowsze badania Luo i współaut. (2022), doty-

czące opracowania sztucznego szlaku syntezy NHP w komórkach *E. coli*. Jest to pierwsza udana próba bezpośredniej syntezy tej cząsteczki sygnałowej w mikroorganizmach, stwarzająca możliwość produkcji pochodnej kwasu pipekolowego na dużą skalę, która dotychczas nie była możliwa ze względu na fakt, że mikroorganizmy naturalnie nie posiadają tego szlaku metabolicznego.

## PODSUMOWANIE

Potencjał kwasu pipekolowego, pomimo dużych możliwości zastosowania w wielu obszarach nauki i przemysłu, pozostaje nie w pełni wykorzystany. Trwają badania nad modyfikacjami szlaków jego biosyntezy, umożliwiające dokładniejszy opis mechanizmu oraz roli jaką pełni w żywych organizmach. Wciąż ulepszone są procedury produkcji tego aminokwasu i jego pochodnych na skalę przemysłową, ze względu na ich szerokie zastosowanie w badaniach medycznych i farmakologicznych.

Szczególnie istotne wydaje się kontynuowanie i rozszerzanie badań nad znaczeniem PiP w zjawisku systemicznej odporności nabytej roślin, poddawanych działaniu szeregu czynników stresu biotycznego i abiotycznego. W dobie wielu zmian środowiska przyrodniczego, poszukiwanie rozwiązań dotyczących ochrony organizmów roślinnych przed czynnikami stresowymi jest kluczowym kierunkiem. Wykorzystując narzędzia inżynierii genetycznej można szczegółowo poznać szlaki biosyntezy PiP i jego pochodnych oraz ich funkcje w organizmach żywych, co w konsekwencji pozwoliłoby na wykorzystanie pełnego potencjału tego aminokwasu.

## Streszczenie

Kwas pipekolowy jest niebiałkowym aminokwasem, występującym zarówno w mikroorganizmach, jak również w komórkach roślin i zwierząt. Biosynteza tego związku może przebiegać na drodze dwóch szlaków, w których kluczowymi produktami pośrednimi są piperydino-6-karboksylan oraz piperydino-2-karboksylan, od których pochodzą skrócone nazwy szlaków P6C oraz P2C. Oprócz pozyskiwania ze źródeł naturalnych, kwas pipekolowy może być produkowany na dużą skalę na potrzeby przemysłu farmaceutycznego czy chemicznego poprzez indukcję jego biosyntezy w organizmach bakteryjnych. Związek ten jest bowiem istotnym prekursorem substancji wykorzystywanych w medycynie jako immunosupresanty lub miejscowe anestetyki. Kwas pipekolowy pełni także ważną rolę w obronie roślin przed patogenami, indukując systemiczną odporność nabytą. W pracy podsumowano informacje na temat syntezy i degradacji tego ważnego aminokwasu w organizmach żywych, a także funkcji, jakie pełni w przyrodzie oraz wskazano możliwości wykorzystania tego związku na potrzeby medycyny. Artykuł ma na celu zwrócenie uwagi czytelników na wciąż nie w pełni wykorzystany potencjał, jaki posiada kwas pipekolowy oraz zainteresowanie naukowców rozszerzeniem badań w tym kierunku.

## LITERATURA

- ALIFERIS K. A., FAUBERT D., JABAJI S., 2014. *A metabolic profiling strategy for the dissection of plant defense against fungal pathogens*. PLoS One 9, doi:10.1371/journal.pone.0111930.
- AMARI K., NIEHL A., 2020. *Nucleic acid-mediated PAMP-triggered immunity in plants*. Curr. Opin. Virol. 42, 32-39.
- BERNSDORFF F., DÖRING A. C., GRUNER K., SCHUCK S., BRÄUTIGAM A., ZEIER J., 2016. *Pipecolic acid orchestrates plant systemic acquired resistance and defense priming via salicylic acid-dependent and -independent pathways*. Plant Cell 28, 102-129.
- CAI J., JOZWIAK A., HOLOIDOVSKY L., MEIJLER M. M., MEIR S., ROGACHEV I., AHARONI A., 2021. *Glycosylation of N-hydroxy-pipecolic acid equilibrates between systemic acquired resistance response and plant growth*. Mol. Plant 14, 440-455.
- CAPEY S., 2007. *Anesthetics. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. Elsevier Amsterdam, 1-3.
- CHATURVEDI R., VENABLES B., PETROS R. A., NALAM V., LI M., WANG X., TAKEMOTO L. J., SHAH J., 2012. *An abietane diterpenoid is a potent activator of systemic acquired resistance*. Plant J. 71, 161-172.
- CHEN Y. C., HOLMES E. C., RAJNIAK J., KIM J. G., TANG S., FISCHER C. R., MUDGETT M. B., SATTELY E. S., 2018. *N-hydroxy-pipecolic acid is a mobile metabolite that induces systemic disease resistance in Arabidopsis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 115, 4920-4929.
- DODT G., KIM D. G., REIMANN S. A., REUBER B. E., MCCABE K., GOULD S. J., MIHALIK S. J., 2000. *L-Pipecolic acid oxidase, a human enzyme essential for the degradation of L-pipecolic acid, is most similar to the monomeric sarcosine oxidases*. Biochem. J. 1, 487-494.
- FUJI T., MUKAIHARA M., AGEMATU H., TSUNEKAWA H., 2002. *Biotransformation of L-lysine to L-pipecolic acid catalyzed by L-lysine 6-aminotransferase and pyrroline-5-carboxylate reductase*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66, 622-627.
- GOUFFI K., BERNARD T., BLANCO C., 2000. *Osmoprotection by pipecolic acid in Sinorhizobium meliloti: specific effects of D and L isomers*. Appl. Environ. Microbiol. 66, 2358-2364.
- GOUESBET G., JEBBAR M., TALIBART R., BERNARD T., BLANCO C., 1994. *Pipecolic acid is an osmoprotectant for Escherichia coli taken up by the general osmoprotectors ProU and ProP*. Microbiology 140, 2415-2422.
- HAN Y. H., CHOI T. R., PARK Y. L., PARK J. Y., SONG H. S., KIM H. J., LEE S. M., PARK S. L., LEE H. S., BHATIA S. K., GURAV R., YANG Y. H., 2020. *Enhancement of pipecolic acid production by the expression of multiple lysine cyclodeaminase in the Escherichia coli whole-cell system*. Enzyme Microb. Technol. 140, doi:10.1016/j.enzmictec.2020.109643.
- HARTMANN M., KIM D., BERNSDORFF F., AJAMI-RASHIDI Z., SCHOLTEN N., SCHREIBER S., ZEIER T., SCHUCK S., REICHEL-DELAND V., ZEIER J., 2017. *Biochemical principles and functional aspects of pipecolic acid biosynthesis in plant immunity*. Plant Physiol. 174, 124-153.
- HE M., 2006. *Pipecolic acid in microbes: biosynthetic routes and enzymes*. J. Industr. Microbiol. Biotechnol. 33, 401-407.
- HUANG W., WANG Y., LI X., ZHANG Y., 2020. *Biosynthesis and regulation of salicylic acid and N-hydroxypipicolonic acid in plant immunity*. Molec. Plant 13, 31-41.
- JONES J. D., DANGL J. L., 2006. *The plant immune system*. Nature 444, 323-329.
- JUNG H. W., TSCHAPLINSKI T. J., WANG L., GLAZEBROOK J., GREENBERG J. T., 2009. *Priming in systemic plant immunity*. Science 324, 89-91.
- LUO Z., WANG Z., WANG B., LU Y., YAN L., ZHAO Z., BAI T., ZHANG J., LI H., WANG W., CHENG J., 2022. *An*



- artificial pathway for *N*-hydroxy-pipecolic acid production from *L*-lysine in *Escherichia coli*. *Front. Microbiol.* 13, doi:10.3389/fmicb.2022.842804.
- MIHALIK S. J., MCGUINNESS M., WATKINS P. A., 1991. Purification and characterization of peroxisomal *L*-pipecolic acid oxidase from monkey liver. *J. Biol. Chem.* 266, 4822-4830.
- MORTON T. C., 1997. Chemotaxonomic significance of hydroxylated pipecolic acids in Central American *Inga* (Fabaceae: Mimosoideae: Ingeae). *Biochem. Systemat. Ecol.* 26, 379-401.
- MOULIN M., DELEU C., LARHER F., BOUCHEREAU A., 2006. The lysine-ketoglutarate reductase-saccharopine dehydrogenase is involved in the osmo-induced synthesis of pipecolic acid in rapeseed leaf tissues. *Plant Physiol. Biochem.* 44, 474-482.
- NARANJO L., MARTÍN DE VALMASEDA E., CASQUEIRO J., ULLÁN R. V., LAMAS-MACEIRAS M., BANUELOS O., MARTÍN J. F., 2004. Inactivation of the *lys7* gene, encoding saccharopine reductase in *Penicillium chrysogenum*, leads to accumulation of the secondary metabolite precursors piperidine-6-carboxylic acid and pipecolic acid from alpha-aminoadipic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 1031-1039.
- NÁVAROVÁ H., BERNSDORFF F., DÖRING A. C., ZEIER J., 2012. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *Plant Cell* 24, 5123-5141.
- PÁLFI G., DÓZSI L., 1968. Pipecolic acid as an indicator of abnormal protein metabolism in diseased plants. *Plant Soil* 29, 285-291.
- PARK S. W., KAIMOYO E., KUMAR D., MOSHER S., KLESSIG D. F., 2007. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science* 318, 113-116.
- PÉREZ-GARCÍA F., MAX RISSE J., FRIEHS K., WENDISCH V. F., 2017. Fermentative production of *L*-pipecolic acid from glucose and alternative carbon sources. *Biotechnol. J.* 12, doi:10.1002/biot.201600646.
- REN Z., SONG R., WANG S., QUAN H., YANG L., SUN L., ZHAO B., LU H., 2017. The biosynthesis pathway of swainsonine, a new anticancer drug from three endophytic fungi. *J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1897-1906.
- ROSENTHAL G. A., 1982. Plant nonprotein amino and imino acids. Biological, Biochemical, and Toxicological Properties. Academic Press, New York.
- SHAN L., HE P., 2018. Pipped at the post: pipecolic acid derivative identified as SAR regulator. *Cell* 173, 286-287.
- SCHAT K. A., SKINNER M. A., 2008. Avian immunosuppressive diseases and immune evasion. *Avian Immunol.* 2008, 299-322.
- VERNOOIJ B., FRIEDRICH L., MORSE A., REIST R., KOLDITZ-JAWHAR R., WARD E., UKNES S., KESSMANN H., RYALS J., 1994. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell* 6, 959-965.
- VOGEL-ADGHOUGH D., STAHL E., NÁVAROVÁ H., ZEIER J., 2013. Pipecolic acid enhances resistance to bacterial infection and primes salicylic acid and nicotine accumulation in tobacco. *Plant Signal. Behav.* 8, doi:10.4161/psb.26366.
- VRANOVA V., REJSEK K., SKENE K. R., FORMANEK P., 2011. Non-protein amino acids: plant, soil and ecosystem interactions. *Plant Soil* 342, 31-48.
- VRANOVA V., LOJKOVA L., REJSEK K., FORMANEK P., 2013. Significance of the natural occurrence of *L*- versus *D*-pipecolic acid: a review. *Chirality* 25, 823-831.
- WALTHER W., NETSCHER T., 1996. Design and development of chiral reagents for the chromatographic e.e. determination of chiral alcohols. *Chirality* 8, 397-401.
- WANG P., LUO Q., YANG W., AHAMMED G. J., DING S., CHEN X., WANG J., XIA X., SHI K., 2021. A novel role of pipecolic acid biosynthetic pathway in drought tolerance through the antioxidant system in tomato. *Antioxidants* 10, doi:10.3390/antiox10121923.
- WICKWIRE B. M., WAGNER C., BROQUIST H. P., 1990. Pipecolic acid biosynthesis in *Rhizoctonia leguminicola*. II. Saccharopine oxidase: a unique flavin enzyme involved in pipecolic acid biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 265, 14748-14753.
- YING H., TAO S., WANG J., MA W., CHEN K., WANG X., OUYANG P., 2017. Expanding metabolic pathway for de novo biosynthesis of the chiral pharmaceutical intermediate *L*-pipecolic acid in *Escherichia coli*. *Microb. Cell Factories* 16, doi:10.1186%2Fs12934-017-0666-0.
- YU K., LIU H., KACHROO P., 2020. Pipecolic acid quantification using gas chromatography-coupled mass spectrometry. *Bio Protocol* 10, doi:10.21769%2FBioProtoc.3841.
- YUAN M., NGOU B. P. M., DING P., XIN X. F., 2021. PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity. *Curr. Opin. Plant Biol.* 62, doi:10.1016/j.pbi.2021.102030.

**KOSMOS Vol. 71, 4, 465-472, 2022**

EMILIA GULA, MARTA LIBIK-KONIECZNY

*Department of Stress Biology, The Franciszek Górski Institute of Plant Physiology PAS, 21 Niezapominajek Str., 30-239 Krakow,  
e-mail: e.gula@ifr-pan.edu.pl*

## THE UNDISCOVERED POTENTIAL OF PIPECOLIC ACID

## Summary

Pipecolic acid is a non-protein amino acid commonly found in microorganisms, plant and animal cells. The biosynthesis of this compound follows two alternative pathways, in which the key intermediates are piperidine-6-carboxylate and piperidine-2-carboxylate, from which the abbreviated names of the P6C and P2C pathways are derived. In addition to obtaining from natural sources, it is possible to produce this compound on a large scale for the needs of the pharmaceutical or chemical industry by inducing its biosynthesis in bacterial organisms. Pipecolic acid is an essential precursor of compounds used in medicine as immunosuppressors or local anesthetics. It also plays an important role in plant defense against pathogens, by inducing systemic acquired resistance. This article summarizes the information on the synthesis and degradation of this important amino acid in living organisms, presents its functions in nature, and indicates the possibilities of using this compound for the purposes of medicine. The article aims to draw reader's attention to the still not fully exploited potential of pipecolic acid and the interest of scientists in extending research in this direction.

Key words: biopharmaceuticals, non-protein amino acids, pathogenesis, pipecolic acid, systemic acquired resistance