

麦角甾醇过氧化物的生物活性及制备进展

刘 鹏, 刘雪莲, 李金耀

(新疆大学生命科学与技术学院新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830017)

[摘要] 麦角甾醇过氧化物是麦角甾醇的衍生物, 广泛存在于多种药用真菌及植物中, 因含 $5\alpha, 8\alpha$ -过氧化物桥结构而具有多种不同的生物活性, 如抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、抑菌等, 并且其抗肿瘤活性显著高于麦角甾醇。目前, 麦角甾醇过氧化物的制备主要有生物提取及化学合成 2 种方法。但因麦角甾醇过氧化物在天然资源中的含量较低, 所以生物提取无法大量获取目标产物; 化学合成的简单快速, 使麦角甾醇过氧化物有望实现产业化。本文对麦角甾醇过氧化物生物活性及制备进展进行综述, 为麦角甾醇过氧化物的应用提供指导。

[关键词] 麦角甾醇过氧化物; 生物活性; 生物提取; 化学合成

[中图分类号] R961 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)20-2058-08

Progress in study on biological activities and preparation of ergosterol peroxide

LIU Peng, LIU Xue-lian, LI Jin-yao

(Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830017, China)

[Abstract] Ergosterol peroxide, a derivative of ergosterol, is widely found in a variety of medicinal fungi and plants and has various biological activities because of its $5\alpha, 8\alpha$ -peroxide bridge structure, such as anti-tumor, anti-virus, immune regulation, bacteriostasis and anti-inflammation. It is worth noting that the anti-tumor activity of ergosterol peroxide is significantly higher than ergosterol. At present, the preparation processes of ergosterol peroxide mainly include biological extraction and chemical synthesis. Biological extraction fails to acquire a large amount of ergosterol peroxide because of its low content in natural resources. However, chemical synthesis is convenient, and may realize the industrialization of ergosterol peroxide. Here, the progress in study on biological activities and preparation of ergosterol peroxide was reviewed to provide direction for its application.

[Key words] ergosterol peroxide; biological activities; biological extraction; chemical synthesis

甾醇(sterols)是类异戊二烯化合物大家族的成员, 具有类固醇基本的四环结构, 在生物体中具有化学复杂性和功能多样性^[1]。麦角甾醇(ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol, ergosterol, $C_{28}H_{44}O$)又称麦角固醇, 与植物甾醇和胆固醇有着相似的化学结构(见图 1), 不仅是维生素 D₂(vitamin D₂)的前体化合物^[2], 还

是真菌细胞膜的重要组成部分, 对饱和膜磷脂具有排列和凝聚功能, 参与调节细胞膜的流动性和选择透过性^[3-4]。麦角甾醇过氧化物($5\alpha, 8\alpha$ -epidioxiergosta-6,22-dien-3 β -ol, ergosterol peroxide, EP, $C_{28}H_{44}O_3$)是一种麦角甾醇衍生物(见图 1), 广泛存在于多种药用真菌及植物中。本课题组从阿魏菇(*Pleurotus ferulae*)中分离纯化的 EP 抗肿瘤活性显著高于麦角甾醇, 具有发展为抗肿瘤药物的潜力^[5]。EP 除抗肿瘤活性外, 还展现出了多种不同的生理功能, 如抗炎作用、免疫调节作用、抑菌作用、抗病毒作用、杀虫作用、抗氧化作用、抗纤维化作用及抗动脉粥样硬化作

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(U1803381)

[作者简介] 刘鹏, 男, 博士研究生, 主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: lp54@stu.xju.edu.cn。

[通讯作者] 李金耀, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物、分子免疫学研究。联系电话: (0991)8583451, E-mail: ljyju@xju.edu.cn。

用^[6]。优越的药理活性使 EP 在药物研发过程中逐渐被科学家们重视起来。本文对 EP 的生物活性及其制备方法进行归纳,旨在为 EP 的产业化和产品开发提供依据。

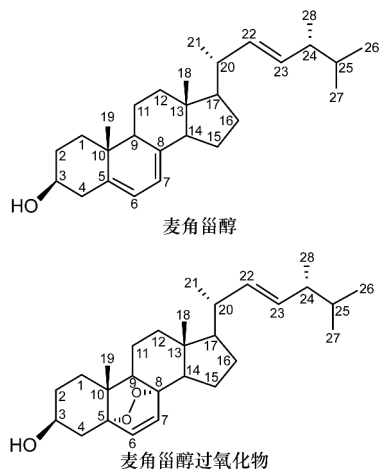


图 1 麦角甾醇及其过氧化物的化学结构式

1 EP 结构特征及理化性质

表 1 列出了麦角甾醇及其过氧化物理化性质,与麦角甾醇相比,EP 具有特殊的 5 α , 8 α -过氧桥结

构,此结构已被证明是包括青蒿素在内的一些天然过氧化物具有生物活性的关键结构^[7-8]。几乎所有的有机过氧化物都至少含有一个过氧化物(O-O)官能团,其中的每个氧原子都会与另外一个氧原子和一个碳原子相连,这些化合物通常是较为活跃的、参与机体代谢的反应分子,在生物体中发挥着重要的生理功能^[6]。过氧化物一般指含有过氧桥结构的化合物,包括环内过氧化物、链过氧化物和氢氧化合物。青蒿素(artemisinin)类药物属于环内过氧化物,是在全球范围内治疗疟疾的主流药物,除了抗疟疾活性外,青蒿素还具有免疫调节、抗纤维化及抗肿瘤活性^[9]。研究表明青蒿素所具有的生物活性在很大程度上都依赖于其分子内部的过氧化物桥结构,过氧化物桥上一个氧原子的消除,直接导致其抗疟疾活性的完全丧失^[10]。青蒿素类药物中的过氧桥结构能够与肿瘤细胞内的游离铁相互作用,生成细胞内毒性自由基引发肿瘤细胞铁死亡;而且过氧化物桥的断裂会导致肿瘤细胞生成活性氧(ROS),造成氧化应激,进而促进肿瘤细胞死亡^[11-12]。天然麦角甾醇因缺乏 EP 中的过氧化物基团而对大部分肿瘤细胞没有显著的抑制活性^[13]。

表 1 麦角甾醇及其过氧化物理化性质

理化性质	麦角甾醇(CAS:57-87-4)	麦角甾醇过氧化物(CAS:2061-64-5)
分子式	C ₂₈ H ₄₄ O	C ₂₈ H ₄₄ O ₃
分子量	396.65	428.65
状态	无色针状晶体(石油醚)	白色针状晶体(甲醇)
密度/g·mL ⁻¹	1.04	1.08
沸点/°C	501.5 ± 39.0(101.325 kPa)	499.7 ± 45.0(101.325 kPa)
熔点/°C	170	178
酸度系数	14.91 ± 0.70	14.97 ± 0.70

2 EP 生物活性

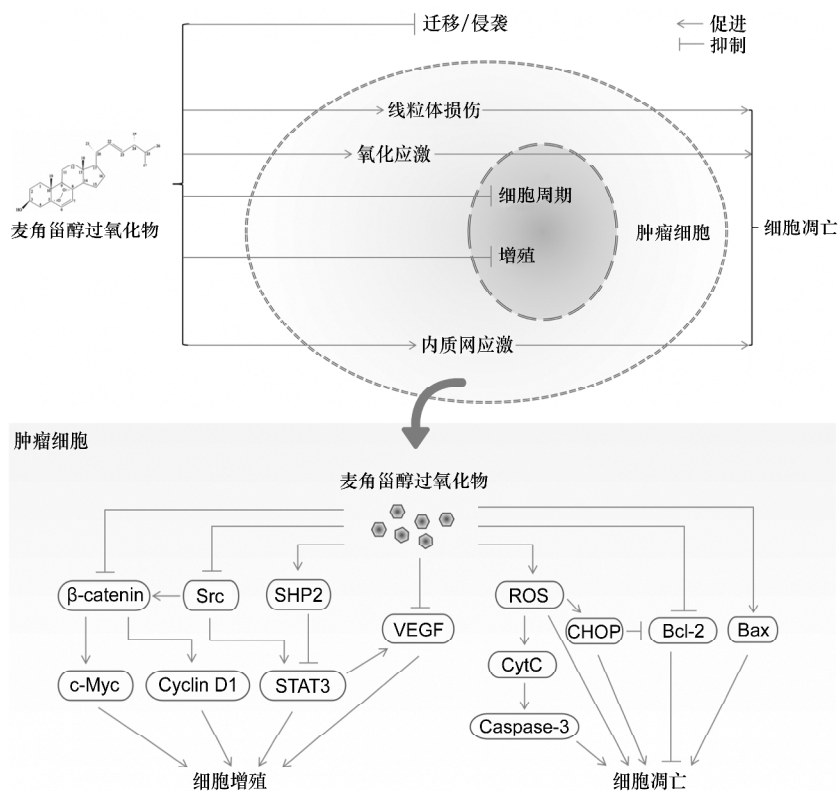
2.1 抗肿瘤活性

研究表明,2020 年全球新发癌症病例约为 1 929 万例,新发死亡病例约为 996 万例,癌症已成为威胁人类健康的重要因素^[14]。筛选天然抗肿瘤药物是当下研究的热点。本课题组从阿魏菇中分离纯化的 EP 可诱导人食管癌细胞(Eca-109)染色质凝结,阻滞肿瘤细胞周期于 G1 期,进而抑制肿瘤细胞增殖;通过提升 Eca-109 细胞中 ROS 水平,上调促凋亡基因 *Bax* 以及下调抗凋亡基因 *Bcl-2* 的表达,激活线粒体凋亡途径和内质网应激途径,诱导细胞凋亡;小鼠肿瘤模型结果显示,EP 能够显著抑制小鼠结肠癌细胞(CT26)的生长,提高肿瘤

小鼠存活率,说明 EP 可能发展成为治疗胃肠道肿瘤的一种有效药物^[5]。从茎点霉属真菌(*Phoma sp.*)中分离出的 EP 可以通过线粒体损伤引发人肺癌细胞(A549)半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase)依赖性凋亡,减弱脂多糖/腺嘌呤核苷三磷酸(LPS/ATP)诱发的 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体活性进而抑制肺部肿瘤细胞的增殖和迁移^[15]。Tan 等^[16]发现 EP 通过 β -连环蛋白(β -catenin)/细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)/c-Myc 和酪氨酸磷酸酶/酪氨酸激酶(SHP2/Src)/信号转导与转录激活因子(STAT3)/血管内皮生长因子(VEGF)通路抑制人卵巢癌细胞(OVCAR-3)和人乳突状卵巢

腺癌细胞 (CAOV3) 的生长。从蝉拟青霉 (*Paecilomyces cicadae*) 发酵液中分离出的 EP 在体外能够抑制人肾腺癌细胞 (786-O) 的生长、增殖、迁移和侵袭,阻滞细胞周期于 G0/G1 期,降低 β -连环蛋白的表达,诱导肿瘤细胞凋亡^[17]。从尖顶地星 (*Geastrum triplex*) 中纯化出的 EP 对人乳腺癌细胞 (MCF-7)、人结肠癌细胞 (HT-29) 和人小细胞肺癌细胞 (H69PR) 的增殖均具有一定的抑制效果,并且对正常细胞未表现出细胞毒性^[18]。从一种新西兰蘑菇 *Hericium novae-zealandiae* 中分离的 EP 在体外能够有效抑制人前列腺癌细胞系 (DU154, LNCaP, PC3) 的增殖,这一过程可能与诱导细胞凋亡或抑制炎症反应相关^[19]。从蜂窝菌 (*Hexagonia tenuis*) 中分离出的 EP 对人肝癌细胞 (HepG2, Hep3B) 也表现出了一定程度的细胞毒性^[20]。从脱皮马勃 (*Lasiosphaera*

fenzlii) 中分离出的 EP 对人宫颈癌细胞 (HeLa) 的增殖有较强的抑制效果,其半抑制浓度 (IC_{50}) 为 $13.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[21]。为减弱放疗对患者机体造成的损伤,有学者发现从平菇 (*Pleurotus ostreatus*) 中分离纯化出的 EP 能够作为放射增敏剂选择性地增强电离辐射对人宫颈癌细胞 (HeLa 和 CaSki) 的杀伤效果,并呈现出 EP 剂量依赖性^[22]。此法能够以较低的辐射强度杀伤大量肿瘤细胞,而减弱对正常细胞的毒性,说明 EP 可能作为一种新型放射增敏剂参与癌症的治疗。此外,研究表明与顺铂和博来霉素相比,EP 还具有毒副作用低、安全性好等优点,具有进一步开发成安全高效抗癌药物的潜力^[5,18]。总之,EP 通过线粒体依赖途径、内质网应激及 ROS 诱导肿瘤细胞凋亡,引起细胞周期阻滞,进而抑制肿瘤细胞增殖,并且能够抑制肿瘤细胞迁移侵袭 (见图 2)。



CytC(细胞色素 C):线粒体凋亡途径关键信号因子;CHOP(C/Ebp 同源蛋白):内质网应激相关蛋白

图 2 麦角甾醇过氧化物抗肿瘤机制

2.2 抗病毒活性 乙型肝炎病毒 (HBV) 感染可能会引发肝炎、肝硬化以及肝癌等重大疾病。HBV 感染机体的第 1 步是乙型肝炎病毒大表面抗原 (LHBsAg) 的前 S1 结构域与其受体牛磺胆酸钠共转运蛋白 (NTCP) 之间相互作用,而 EP 能竞争性抑制 HBV

与 NTCP 的结合,阻止 HBV 进入表达 NTCP 的细胞,因此 EP 可能是治疗 HBV 感染的新型药物^[23]。猪德尔塔冠状病毒 (PDCoV) 是一种单链 RNA 病毒,通过消化道传播,引发幼猪呕吐、腹泻、脱水,使其死亡率升高,对养猪业造成重大损失^[24]。PDCoV 感染

猪肾细胞(LLC-PK1)后,能够激活 p38 信号通路而触发细胞自噬,促进病毒的复制。从隐孔菌(*Cryptopus volvatus*)中分离出的 EP 可以通过抑制 PDCoV 对 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的激活作用,缓解细胞自噬,抑制病毒的复制^[25]。除此之外,EP 还能够抑制由猪流行性腹泻病毒(PEDV)诱发的 ROS 生成和 p53 基因激活,进而阻止 PEDV 诱导的细胞凋亡,遏制病毒的复制与释放,并且具有直接灭活 PEDV 的能力^[26]。丙型肝炎病毒(HCV)是输血后肝炎的主要致病因子之一,丙型肝炎会引发肝硬化及肝癌等恶性疾病,严重危害人类健康。丝氨酸蛋白酶(NS3/4A)是 HCV 基因组编码的非结构蛋白,其中 NS3 参与病毒的复制^[27]。从构巢裸胞壳(*Emericella nidulans*)中分离出的 EP 能够在一定程度上抑制 NS3/4A 的表达,进而抑制 HCV 病毒的复制^[28]。因此,EP 具有发展成为抗病毒药物的潜力。

2.3 免疫调节活性 研究人员对灰树花菌(*Grifola frondosa*)活性成分进行研究时发现 EP 可能是其发挥免疫调节作用的关键活性成分,低浓度 EP 能够降低细菌脂多糖(LPS)刺激人单核细胞(THP-1)产生的细胞毒性,阻断髓样分化因子(MyD88)和血管细胞黏附分子(VCAM-1)的表达,减少白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6 以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子的生成,抑制核因子 κ B(NF- κ B)信号通路的激活,进而起到免疫调节的作用^[29]。从蝉花(*Cordyceps cicadae*)中分离出的 EP 能够抑制植物凝集素(PHA)刺激的 T 细胞的增殖,将细胞周期阻滞在 G0/G1 期,并且能够剂量依赖性抑制细胞周期蛋白 E(Cyclin E), γ -干扰素(IFN- γ),IL-2,IL-4 及 IL-10 的表达,从而发挥免疫调节作用^[30]。Duan 等^[31]以 7 d 大的仔猪为研究对象,通过口服的方式让其感染 PDCoV,并使用 EP 进行治疗,发现 EP 不仅能够控制 p38 信号通路抵抗 PDCoV 的感染,还能够通过抑制 PDCoV 诱导的促炎细胞因子的生成,激活核因子 κ B 抑制蛋白(I κ B α)和 NF- κ B p65 信号分子,促进 I 型-干扰素(IFN-I)的表达,调节机体免疫。

2.4 抗炎活性 炎症是机体对于某种刺激所产生的应答反应,通常表征为红肿、发热、疼痛以及功能性障碍。从板蓝根(*Baphicacanthus cusia*)中分离得到的 EP 可以抑制由甲型流感病毒(IAV)诱发的视黄酸诱导基因蛋白 I(RIG-I)表达以及 RIG-I 下游信号通路的激活,其中包括对 p38 MAPK 和 NF- κ B 表

达的抑制,最终减少促炎因子的产生,从而达到抗炎的效果^[32]。机体内一氧化氮(NO)的过度积累会造成组织损伤,引起关节炎、结肠炎等疾病,体内一氧化氮合酶(NOS)催化左旋精氨酸(L-arginine)生成 NO。与 NOS 抑制剂(L-NMMA)相比,EP 能够以更低的 IC₅₀阻滞该通路,降低机体内 NO 的生成量,显示出一定的抗炎活性^[33-34]。同样地,在 LPS 刺激的巨噬细胞中,从黑柄炭角菌(*Xylaria nigripes*)子实体中分离出的 EP 能够以 NF- κ B 信号通路抑制诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧化酶-2(COX-2)的生成,减少 NO, TNF- α , IL-1 β , IL-6 和前列腺素 E2(PGE2)的表达,进而治疗炎症^[35]。

2.5 抑菌活性 近年来研究发现,天然产物杀伤病原菌的作用机制主要包括:抑制细菌青霉素结合蛋白(PBPs)的活性或直接与肽聚糖结合来阻断细胞壁正常合成;阻止膜孔形成,破坏细菌细胞膜的完整性;结合胞内 RNA 或核糖体,抑制细菌 RNA 聚合酶活性,阻止蛋白合成;抑制 β -(1 \rightarrow 3)-D-葡聚糖和 β -(1 \rightarrow 6)-D-葡聚糖合成酶表达,从而阻止真菌细胞壁的合成^[36-37]。EP 作为天然小分子化合物对人体致病菌及植物病原真菌均有优异的抑制作用,能够显著抑制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、枯草杆菌(*B. subtilis*)、苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)的生长,是一种潜在的抑菌药物^[38]。结核病(tuberculosis)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)引发的全球传染病死亡的主要原因,严重危害人体健康。从大戟属植物 *Euphorbia lagascae* 中纯化出的 EP 能够浓度依赖性抑制结核分枝杆菌 H37Rv 菌株的活性^[39]。从粘帚霉属的 *Gliocladium sp.* 真菌中分离出的 EP 同样对结核分枝杆菌有较强的抑制作用,其最低抑菌浓度(MIC)为 0.78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[40]。除此之外,EP 对于稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)、壳针孢属病原菌 *Septoria sp.*、丝核菌属病原菌 *Rhizoctonia sp.*、镰刀菌属病原菌 *Fusarium sp.* 以及轮枝孢属病原菌 *Verticillium sp.* 等植物致病真菌生长同样具有显著的抑制作用^[6]。

2.6 其他活性 EP 能够引发自由基反应,促进蛋白质和脂质羰基化。从平菇中分离得到的 EP 作用于克锥虫(*Trypanosoma cruzi*)后,与羊毛脂醇-14 α -去甲基化酶(CYP51)的血红素结合位点相互作用,致使其细胞膜上发生一系列自由基反应,进而使膜

质氧化,细胞膜结构被破坏,导致细胞死亡^[41-42]。此外,从豆科植物 *Baphia leptobotrys* 中纯化出的 EP 对杜利什曼原虫 (*Leishmania donovani*) 生长有很强的抑制作用,其 IC_{50} 为 $9.43 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[43],结果暗示 EP 是一种潜在的抗寄生虫药物。脂质积累是导致肥胖的原因之一,从灵芝 (*Ganoderma lucidum*) 中得到的 EP 能够通过抑制脂肪酸合成酶 (FAS)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 等相关脂质因子的表达减少三酰甘油的合成,并且能够抑制脂肪前体细胞 (3T3-L1) 的转化^[44]。胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 能够催化胆固醇与长链脂肪酸发生酰化反应生成胆固醇酯,因此调节该酶的表达量是治疗高胆固醇血症和动脉粥样硬化的一种途径;脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 能够催化氧化型低密度脂蛋白水解为溶血磷脂酰胆碱和氧化自由脂肪酸,而 Lp-PLA2 抑制剂能够显著减少动脉粥样硬化斑块,因此 Lp-PLA2 也是治疗动脉粥样硬化的一个有效靶点。从一年蓬 (*Erigeron annuus*) 中提取出的 EP 能够在较低浓度下抑制 ACAT-1 和 Lp-PLA2 的表达,进而发挥抗动脉粥样硬化的功能^[45]。这些结果说明 EP 不仅有潜力成为抗肥胖药,还可以参与到代谢综合征的治疗。转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 可以刺激大鼠正常肾成纤维细胞 (NRK-49F) 活化,引发慢性肾脏疾病,造成肾损伤。从蝉花中纯化出的 EP 能够抑制 TGF- $\beta 1$ 刺激的肾成纤维细胞的增殖,细胞骨架蛋白和结缔组织生长因子 (CTGF) 的表达以及细胞外基质 (ECM) 的堆积。此外,EP 还能减少细胞中纤连蛋白的表达量,防止肾脏纤维化^[46]。酪氨酸酶控制着生物体内黑色素的合成,其在动植物体内的含量超标会造成黑色素沉着,引发雀斑及褐斑等皮肤性疾病,而有效的酪氨酸酶抑制剂可以阻止黑色素的过度表达^[47]。从荞麦蜂花粉 (*Fagopyrum esculentum bee pollen*) 中分离得到的 EP 通过酶活测定发现具有较强的酪氨酸酶抑制活性^[48]。EP 同样还具有抗脲酶、抗 α -葡萄糖苷酶、抗 α -淀粉酶以及抗丁酰胆碱酯酶活性,说明 EP 极有可能发展成为一种新型酶抑制剂^[49]。骨质疏松症的特点是骨密度降低、骨微结构被破坏,导致骨折风险增加。已有证据表明,在骨质疏松症发展期间,骨髓间充质干细胞 (MSC) 向成骨细胞分化的能力降低,更加趋向于分化成脂肪细胞,这是导致骨密度下降,引起骨质疏松症的重要原因^[50]。有学者发现从茯苓 (*Poria cocos*) 中分离出的 EP 能够抑制 MSC 向脂肪细胞转化,可能是治疗

骨质疏松症的潜在资源^[51]。氧化应激是阿尔茨海默病等神经退行性疾病发生的重要因素,过多的 ROS 会造成细胞蛋白氧化和 DNA 损伤,引起细胞死亡。从库页虎杖 (*Reynoutria sachalinensis*) 中分离出的 EP 能够清除小鼠海马神经元细胞 (HT22) 中的 ROS,起到抗氧化作用,进而具有神经保护功能^[52]。糖尿病是由于缺乏胰岛素或胰岛素功能障碍引发的一种代谢性疾病,特点是血液中葡萄糖水平升高。从灰树花菌中纯化出的 EP 能够促进由棕榈酸诱导的小鼠成肌细胞 (C2C12) 吸收血液中的葡萄糖,改善高血糖;此外,EP 还能够减少细胞中 ROS 的产生,并通过 p38 MAPK、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt)、葡萄糖转运蛋白-4 (GLUT4) 等通路来调节 C2C12 细胞对葡萄糖的吸收作用,说明 EP 具有与胰岛素作用结果相似的抗糖尿病活性^[53]。EP 除本身具有多种生理功能外,还可以作为骨架合成荧光分子探针,用于体外抗癌评估、活细胞研究以及蛋白质组学分析^[54]。将香豆素-3-酰胺荧光团与 EP 结合后,得到的复合物能够在线粒体处富集诱发更大的细胞损伤进而带来更强的作用效果,说明化学结构修饰是开发 EP 生物活性及增强其作用效果的有效方式^[13]。

3 EP 制备进展

目前,EP 的制备方式有生物提取及化学合成 2 种。生物提取主要是指通过有机溶剂浸提、柱色谱等手段从植物或真菌中分离纯化出 EP^[5];化学合成则是以麦角甾醇为原料,在有氧条件下通过光化学反应合成 EP^[13]。此外,由于目前并未实现麦角甾醇的全合成,需要通过有机溶剂提取从真菌中获得麦角甾醇^[55],以供应 EP 合成。

3.1 生物提取 至今为止,EP 已经在大戟属植物^[39]、板蓝根^[32]、黑柄炭角菌^[35]、灵芝^[44]、阿魏菇^[5]等多种植物和真菌中发现。对 EP 的生物提取过程主要是采用不同试剂提取及柱色谱进行分离纯化,再应用现代色谱技术和波谱分析对所得单体化合物进行结构鉴定(见表 2)。生物提取是当前所用较多的 EP 制备方法,其优点是原材料来源广泛,并且能够获取除目标化合物以外的活性物质;缺点是 EP 在天然资源中的含量较低^[56],且提取工艺及纯化方法复杂费时,无法从植物或真菌中提取大量 EP,因此生物提取所得 EP 的量仅能满足实验室的实验需求,不足以进行临床应用,更不能实现 EP 的工业化生产。

表 2 真菌及植物中麦角甾醇过氧化物的粗提试剂与结构鉴定方法

研究对象	拉丁名	提取试剂	结构鉴定
阿魏菇 ^[5]	<i>Pleurotus ferulae</i>	乙醇	核磁共振、电喷雾电离质谱
茎点霉属 ^[15]	<i>Phoma sp.</i>	乙酸乙酯	高效液相色谱
蝉拟青霉 ^[17]	<i>Paecilomyces cicadae</i>	三氯甲烷/甲醇	核磁共振、高效液相色谱
尖顶地星 ^[18]	<i>Gastrum triplex</i>	二氯甲烷	核磁共振
蜂窝菌 ^[20]	<i>Hexagonia tenuis</i>	甲醇	核磁共振、高分辨率电喷雾电离质谱
脱皮马勃 ^[21]	<i>Lasiosphaera fenzlii</i>	甲醇	核磁共振、质谱
隐孔菌 ^[25-26]	<i>Cryptoporus volvatus</i>	乙醇	核磁共振、高分辨率电喷雾电离质谱
构巢裸胞壳 ^[28]	<i>Emericella nidulans</i>	乙酸乙酯	核磁共振、质谱
灰树花菌 ^[29]	<i>Grifola frondosa</i>	正己烷	核磁共振、质谱
蝉花 ^[30]	<i>Cordyceps cicadae</i>	甲醇	高效液相色谱
板蓝根 ^[32]	<i>Baphicacanthus cusia</i>	乙醇	核磁共振
黑柄炭角菌 ^[35]	<i>Xylaria nigripes</i>	正己烷	核磁共振
大戟属植物 ^[39]	<i>Euphorbia lagascae</i>	甲醇	核磁共振
粘帚霉属 ^[40]	<i>Gliocladium sp.</i>	乙酸乙酯	核磁共振
平菇 ^[41]	<i>Pleurotus ostreatus</i>	乙酸乙酯	核磁共振
灵芝 ^[44]	<i>Ganoderma lucidum</i>	乙醇	核磁共振
一年蓬 ^[45]	<i>Erigeron annuus</i>	甲醇	核磁共振、质谱、红外光谱
荞麦 ^[48]	<i>Fagopyrum esculentum</i>	乙醇	核磁共振
茯苓 ^[51]	<i>Poria cocos</i>	乙醇	核磁共振、高效液相色谱

3.2 化学合成 化学合成药物具有效能稳定、易实现产业化等优点。目前化学合成方式主要是以麦角甾醇为起始原料,通过光敏反应得到麦角甾醇过氧化物^[57-58]。该合成反应的机制如下:首先光敏剂经可见光照射后会吸收能量,转变为激发态分子;激发态下的光敏剂分子会将能量传递给周围的基态³O₂分子,使其转化为单线态分子氧(¹O₂);单线态分子

氧的活性很高,极易与不饱和化合物发生加成反应,因此单线态分子氧在狄尔斯-阿尔德反应(双烯加成方式)下可与麦角甾醇分子内部共轭双键体系的C-5,C-8相互作用,并具有明显的区域选择性;此外,单线态分子氧与C-5,7二烯的加成反应为内型加成,并且属于环氧化反应,还具有很高的立体选择性(见图3)^[59]。

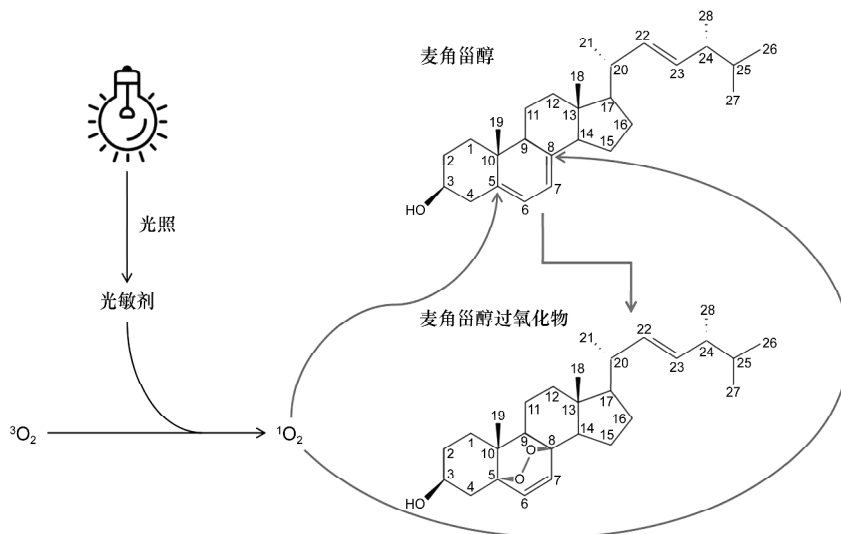


图 3 麦角甾醇过氧化物化学合成机制

具体实验步骤为:以 150 mg 麦角甾醇为原料,10 mL 吡啶为溶剂,1 mg 曙红为光敏剂,在冰水浴、

持续通氧、200 W 碘钨灯照射的条件下进行反应,反应结束后使用乙酸乙酯与饱和食盐水进行萃取,最

终通过硅胶柱色谱得到 104 mg EP,得率为 64%^[60]。除此之外,还有不同学者以吡啶、甲醇、乙醇、二氯甲烷和甲基叔丁基醚作为溶剂;以曙红、孟加拉玫瑰红、荧光桃红 B 和四苯基卟啉作为光敏剂来合成 EP,见表 3。以上研究表明,尽管 EP 广泛存在于各类植物和真菌中,但能够快速获得大量 EP 的方法为麦角甾醇的光敏氧化反应^[57]。

表 3 不同溶剂-光敏剂反应体系所得麦角甾醇过氧化物产率

原料	溶剂	光敏剂	得率/%
麦角甾醇	吡啶 ^[62]	孟加拉玫瑰红	65
	乙醇 ^[59]	曙红	54
	乙醇 ^[62]	孟加拉玫瑰红	47
	甲基叔丁基醚 ^[62]	曙红	16
	甲基叔丁基醚 ^[62]	孟加拉玫瑰红	12
	甲醇 ^[54]	荧光桃红 B	93
	二氯甲烷 ^[61]	四苯基卟啉	70

综上所述,通过化学合成获取 EP 简单方便且合成方法较为完备,但有些方法中所用的试剂价格昂贵且毒性较大,对人体和环境都会造成一定程度的损伤。因此,考虑到生产成本、生产效率以及安全性等因素,认为以上合成方法需经过优化后才可用于 EP 的工业化生产。

4 结论与展望

天然资源中的各类代谢产物为药物研究提供了很多结构新颖的活性分子,EP 作为自然界植物或真菌中的一种小分子次生代谢产物,具有广泛的生物活性和药理功能,并可能发展成为新型的抗肿瘤、抗病毒以及抗炎药物。目前,EP 凭借其优越的药理活性已经得到世界范围内的科学家的关注,其部分生理功能及作用机制已被揭示,但大部分停留在细胞实验阶段,药物的临床研究与应用较少。为了进一步促进 EP 的开发利用,应加强以下方面的研究:① EP 体内抗肿瘤、免疫调节、抗炎、抗病毒、抗菌及降糖降脂作用机制,包括这些作用机制之间的关联性。② EP 的化学合成工艺及纯化工艺。③ EP 结构修饰及成药性。④ EP 体内药物发送体系。⑤ EP 药理及毒理评价。总之,EP 在保健品开发、新药研发等方面具有广阔的应用前景。

[参 考 文 献]

[1] KLEMPNER RL, SHERWOOD JS, TUGIZIMANA F, et al.

- Ergosterol, an orphan fungal microbe-associated molecular pattern (MAMP) [J]. *Mol Plant Pathol*, 2014, 15(7): 747-761.
- [2] 杨开, 李坤, 孙培龙. 紫外光与脉冲强光照射麦角甾醇转化 VD₂ 研究 [J]. *核农学报*, 2019, 33(3): 498-508.
- [3] JORDÁ T, PUIG S. Regulation of ergosterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Genes*, 2020, 11(7): 795.
- [4] LUCHINI A, DELHOM R, CRISTIGLIO V, et al. Effect of ergosterol on the interlamellar spacing of deuterated yeast phospholipid multilayers [J]. *Chem Phys Lipids*, 2020, 227: 104873.
- [5] YANG Y, LUO XY, YASHENG M, et al. Ergosterol peroxide from *Pleurotus ferulae* inhibits gastrointestinal tumor cell growth through induction of apoptosis via reactive oxygen species and endoplasmic reticulum stress [J]. *Food Funct*, 2020, 11(5): 4171-4184.
- [6] MERDIVAN S, LINDEQUIST U. Ergosterol peroxide: a mushroom-derived compound with promising biological activities-a review [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2017, 19(2): 93-105.
- [7] BU M, YANG BB, HU LM. Natural endoperoxides as drug lead compounds [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(4): 383-405.
- [8] CHATURVEDI D, GOSWAMI A, SAIKIA PP, et al. Artemisinin and its derivatives: a novel class of anti-malarial and anti-cancer agents [J]. *Chem Soc Rev*, 2010, 39(2): 435-454.
- [9] MANCUSO RI, FOGLIO MA, OLALLA SAAD ST. Artemisinin-type drugs for the treatment of hematological malignancies [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2021, 87(1): 1-22.
- [10] HU YY, GUO N, YANG T, et al. The potential mechanisms by which artemisinin and its derivatives induce ferroptosis in the treatment of cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 1458143.
- [11] ZHU SQ, YU Q, HUO CS, et al. Ferroptosis: a novel mechanism of artemisinin and its derivatives in cancer therapy [J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(2): 329-345.
- [12] MEUNIER B, ROBERT A. Heme as trigger and target for trioxane-containing antimalarial drugs [J]. *Acc Chem Res*, 2010, 43(11): 1444-1451.
- [13] BU M, LI HL, WANG HJ, et al. Synthesis of ergosterol peroxide conjugates as mitochondria targeting probes for enhanced anticancer activity [J]. *Molecules*, 2019, 24(18): 3307.
- [14] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 全球癌症统计报告解读 [J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2021, 7(2): 1-14.
- [15] WU HY, YANG FL, LI LH, et al. Ergosterol peroxide from marine fungus *Phoma* sp. induces ROS-dependent apoptosis and autophagy in human lung adenocarcinoma cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17956.
- [16] TAN WW, PAN MH, LIU H, et al. Ergosterol peroxide inhibits ovarian cancer cell growth through multiple pathways [J]. *Oncotargets Ther*, 2017, 10: 3467-3474.
- [17] HE LF, SHI WJ, LIU XC, et al. Anticancer action and mechanism of ergosterol peroxide from *Paecilomyces cicadae* fermentation broth [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3935.
- [18] RAGASA CY, OYONG GG, TAN MCS, et al. Cytotoxic sterols from philippine mushrooms [J]. *Asian J Chem*, 2020, 32(5): 1197-1202.
- [19] CHEN ZG, BISHOP KS, TANAMBELL H, et al. Characterization of the bioactivities of an ethanol extract and some of its constituents from the New Zealand native mushroom *Hericium novae-Zealandiae* [J]. *Food Funct*, 2019, 10(10): 6633-6643.
- [20] HUNG DX, KUO PC, TUAN NN, et al. Triterpenoids and sterols from the fruiting bodies of *Hexagonia tenuis* and their cytotoxicity [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(2): 251-256.
- [21] GAO J, WANG LW, ZHENG HC, et al. Cytotoxic constituents of *Lasiosphaera fenizii* on different cell lines and the synergistic effects with paclitaxel [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(16): 1862-1865.
- [22] MEZA-MENCHACA T, POBLETE-NAREDO I, ALBORES-MEDINA A, et al. Ergosterol peroxide isolated from oyster medicinal mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes), potentially induces radiosensitivity in cervical cancer [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2020, 22(11): 1109-1119.
- [23] HUANG H, HUANG HC, CHIOU WC, et al. Ergosterol peroxide inhibits HBV infection by inhibiting the binding of the pre-S1 domain of LHBsAg to NTCP [J]. *Antiviral Res*, 2021, 195: 105184.

- [24] 龚商羽. 猪三角洲病毒 (PDCoV) 研究现状 [J]. 新农业, 2020(5): 67-68.
- [25] DUAN C, LIU Y, HAO ZH, *et al.* Ergosterol peroxide suppresses porcine deltacoronavirus (PDCoV)-induced autophagy to inhibit virus replication via p38 signaling pathway [J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109068.
- [26] LIU Y, WANG X, WANG J, *et al.* Ergosterol peroxide inhibits Porcine epidemic diarrhea virus infection *in vitro* cells by suppressing ROS generation and p53 activation [J]. *Viruses*, 2022, 14(2): 402.
- [27] 邵榆岚, 夏雪山. 丙型肝炎病毒治疗药物与耐药基因突变 [J]. 病毒学报, 2022, 38(5): 1214-1224.
- [28] HAWAS U, EL-KASSEM L, AHMED E, *et al.* *In-vitro* bioassays on the metabolites of the fungus *Emericella nidulans* isolated from the Egyptian Red Sea algae [J]. *Egypt Pharm J*, 2012, 11: 124.
- [29] WU SJ, LU TM, LAI MN, *et al.* Immunomodulatory activities of medicinal mushroom *Grifola frondosa* extract and its bioactive constituent [J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(1): 131-144.
- [30] KUO YC, WENG SC, CHOU CJ, *et al.* Activation and proliferation signals in primary human T lymphocytes inhibited by ergosterol peroxide isolated from *Cordyceps cicadae* [J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 140(5): 895-906.
- [31] DUAN C, WANG JC, LIU Y, *et al.* Antiviral effects of ergosterol peroxide in a pig model of porcine deltacoronavirus (PDCoV) infection involves modulation of apoptosis and tight junction in the small intestine [J]. *Vet Res*, 2021, 52(1): 86.
- [32] ZHOU BX, LIANG XL, FENG QT, *et al.* Ergosterol peroxide suppresses influenza A virus-induced pro-inflammatory response and apoptosis by blocking RIG-I signaling [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 860: 172543.
- [33] 范精华, 刘康, 刘保林. NO 在炎症及免疫应答中的调节作用 [J]. 中外医疗, 2009, 28(25): 163, 166.
- [34] SHI QQ, HUANG YJ, SU HG, *et al.* C₂₈ steroids from the fruiting bodies of *Ganoderma resinaceum* with potential anti-inflammatory activity [J]. *Phytochemistry*, 2019, 168: 112109.
- [35] LIAW CC, WU SJ, CHEN CF, *et al.* Anti-inflammatory activity and bioactive constituents of cultivated fruiting bodies of *Xylaria nigripes* (ascomycetes), a Chinese medicinal fungus [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2017, 19(10): 915-924.
- [36] YE L, ZHANG JX, XIAO W, *et al.* Efficacy and mechanism of actions of natural antimicrobial drugs [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107671.
- [37] 邢敏, 费鹏, 郭鸽, 等. 植物源天然产物的抑菌作用、机理及在食品保藏中的应用 [J]. 核农学报, 2021, 35(8): 1875-1882.
- [38] 麻兵继, 文春南, 吴婷婷, 等. 麦角甾醇过氧化物的抑菌活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2012, 33(7): 42-44.
- [39] DUARTE N, FERREIRA MJ, MARTINS M, *et al.* Antibacterial activity of ergosterol peroxide against *Mycobacterium tuberculosis*: dependence upon system and medium employed [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(7): 601-604.
- [40] UC-CACHÓN AH, GAMBOA-ANGULO M, BORGES-ARGÁEZ R, *et al.* Antitubercular activity of the fungus *Glilocladium* sp. MR41 strain [J]. *Iran J Pharm Res*, 2019, 18(2): 860-866.
- [41] MEZA-MENCHACA T, RAMOS-LIGONIO A, LÓPEZ-MONTEON A, *et al.* Insights into ergosterol peroxide's trypanocidal activity [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(9): 484.
- [42] ZHABINSKII VN, DRASAR P, KHRIPACH VA. Structure and biological activity of ergostane-type steroids from fungi [J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2103.
- [43] WONKAM AKN, NGANSOP CAN, TCHUENMOGNE MAT, *et al.* Chemical constituents from *Baphia leptobotrys* Harms (Fabaceae) and their chemophenetic significance [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2021, 96: 104260.
- [44] JEONG YU, PARK YJ. Ergosterol peroxide from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* inhibits differentiation and lipid accumulation of 3T3-L1 adipocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 460.
- [45] KIM DH, JUNG SJ, CHUNG IS, *et al.* Ergosterol peroxide from flowers of *Erigeron annuus* L. as an anti-atherosclerosis agent [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(5): 541-545.
- [46] ZHU R, ZHENG R, DENG YY, *et al.* Ergosterol peroxide from *Cordyceps cicadae* ameliorates TGF- β 1-induced activation of kidney fibroblasts [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(3): 372-378.
- [47] ROH EJ. Inhibitory effects of coumarin derivatives on tyrosinase [J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2346.
- [48] LI F, GUO S, ZHANG SS, *et al.* Bioactive constituents of *F. esculentum* bee pollen and quantitative analysis of samples collected from seven areas by HPLC [J]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2705.
- [49] AYAN F, GÜLSEN T, DEVECI E, *et al.* A detailed study on multifaceted bioactivities of the extracts and isolated compounds from truffle *Reddellomyces parvulosporus* [J]. *Int J Food Sci Tech*, 2022, 57(3): 1411-1419.
- [50] HU LF, YIN C, ZHAO F, *et al.* Mesenchymal stem cells: cell fate decision to osteoblast or adipocyte and application in osteoporosis treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 360.
- [51] LEE S, CHOI E, YANG SM, *et al.* Bioactive compounds from sclerotia extract of *Poria cocos* that control adipocyte and osteoblast differentiation [J]. *Bioorg Chem*, 2018, 81: 27-34.
- [52] EOM MR, WEON JB, JUNG YS, *et al.* Neuroprotective compounds from *Reynoutria sachalinensis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2017, 40(6): 704-712.
- [53] WU SJ, TUNG YJ, NG LT. Anti-diabetic effects of *Grifola frondosa* bioactive compound and its related molecular signaling pathways in palmitate-induced C2C12 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260: 112962.
- [54] LING TT, LANG WH, MARTINEZ-MONTEMAYOR MM, *et al.* Development of ergosterol peroxide probes for cellular localisation studies [J]. *Org Biomol Chem*, 2019, 17(21): 5223-5229.
- [55] 程洋洋, 惠婧茹, 郝竞霄, 等. 食用菌中麦角甾醇的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 349-354.
- [56] KRZYCZKOWSKI W, MALINOWSKA E, SUCHOCKI P, *et al.* Isolation and quantitative determination of ergosterol peroxide in various edible mushroom species [J]. *Food Chem*, 2009, 113(1): 351-355.
- [57] TIAN NN, LI C, TIAN N, *et al.* Syntheses of 7-dehydrocholesterol peroxides and their improved anticancer activity and selectivity over ergosterol peroxide [J]. *New J Chem*, 2017, 41(24): 14843-14846.
- [58] GHOGARE AA, GREER A. Using singlet oxygen to synthesize natural products and drugs [J]. *Chem Rev*, 2016, 116(17): 9994-10034.
- [59] BU M, CAO TT, LI HX, *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel steroidal 5 α , 8 α -endoperoxide derivatives with aliphatic side-chain as potential anticancer agents [J]. *Steroids*, 2017, 124: 46-53.
- [60] LI XM, WU QP, BU M, *et al.* Ergosterol peroxide activates Foxo3-mediated cell death signaling by inhibiting AKT and c-Myc in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 33948-33959.
- [61] NING YH, TIAN HL, GUI JH. Biogenesis-guided synthesis and structural revision of sarocladiene enabled by ruthenium-catalyzed endoperoxide fragmentation [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(20): 11222-11226.
- [62] PONCE MA, RAMIREZ JA, GALAGOVSKY LR, *et al.* A new look into the reaction between ergosterol and singlet oxygen *in vitro* [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2002, 1(10): 749-756.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2023-01-09