

[文章编号] 1000-4718(2015)02-369-05

• 综 述 •

樟芝三萜类化合物的抗炎作用

张毅红, 赵宗杰[△], 谢海涛, 张向阳, 宋 昱
(香港中医科学院, 中国 香港 999077)

Anti-inflammatory effect of triterpenoids from *Antrodia camphorata*

ZHANG Yi-hong, ZHAO Zong-jie, XIE Hai-tao, ZHANG Xiang-yang, SONG Yu
(Hongkong Chinese Medical Science Academy, Hongkong 999077, China. E-mail: 1751488915@qq.com)

[ABSTRACT] The morbidity of inflammation-associated tumor is high. Prevention and treatment of inflammation play a positive role in delaying the occurrence and development of cancer. *Antrodia camphorata*, an endemic fungus in Taiwan, possesses significant anti-inflammatory effect. So far, 35 anti-inflammatory active components from *Antrodia camphorata* have been identified, among which triterpenoids account for the most. Studies have revealed that triterpenoids, including ergostanes and lanostanes, have significant anti-inflammatory activities. Because of their structures, especially those of the ergostanes, are similar to the structures of cholesterol and steroid hormones, their anti-inflammatory mechanism may be related to mimic the steroid hormones or interfere with the effect of cholesterol.

[关键词] 樟芝; 三萜类化合物; 炎症

[KEY WORDS] *Antrodia camphorata*; Triterpenoids; Inflammation

[中图分类号] R281.4

[文献标志码] A

doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.02.032

炎症是许多病理状态中机体对有害刺激的应答。例如,一些肿瘤在发生前或发生时常有慢性炎症。据报道,慢性炎症与1/4以上的肿瘤发生相关,相当于全世界每年约320多万人罹患炎症相关的肿瘤^[1]。如石棉吸入与间皮瘤,二氧化硅吸入、吸烟、支气管哮喘与支气管癌,宫颈炎、HPV感染与宫颈癌,盆腔炎及卵巢上皮炎症与卵巢癌,EB病毒感染与鼻咽癌,HIV感染与卡西波肉瘤,返流性食管炎与食管癌,幽门螺旋杆菌感染相关性胃炎与胃癌,慢性胰腺炎与胰腺癌,慢性肝炎与肝细胞癌,炎症性肠病与结直肠癌等^[2-7]。炎症的预防和治疗对延缓许多癌症,如胃癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌等的发生和发展都有积极的作用。而一些天然药物也因其具有预防和治理炎症的功能而备受关注。

近年来,寄生于台湾特有种牛樟树的药用真菌樟芝,由于广泛的药理作用而备受关注,例如其在抗癌、抗炎、免疫调节、抗病毒、保护肝脏等方面都有显著的效果^[8]。到目前为止,研究人员在樟芝中总共分离鉴定出了35种具有抗炎作用的化合物,包括三萜类化合物、琥珀/马来酸衍生物、苯环型化合物、苯

醌衍生物、多糖和其它化合物^[8-14],其中以三萜类化合物的数量最多(11种)且有显著的抗炎作用。本文对樟芝中拥有抗炎作用的三萜类化合物进行了总结,为炎症的预防和治疗以及炎症相关性肿瘤的预防提供新的思路。

1 樟芝中的三萜

三萜类化合物是自然界常被发现的天然化合物,尤其以植物含量最多,大多是由30个碳原子组成,属于次级代谢物。樟芝刚被发现的时候,被误以为是灵芝的一种,它的医疗效果也常被用来和灵芝比较。事实上,樟芝中三萜类化合物和灵芝中三萜类化合物是不尽相同的,灵芝中主要以羊毛甾烷类(lanostanes)三萜为主^[15],而樟芝中则含有较多的麦角甾烷类(ergostanes)三萜^[16]。羊毛甾烷类的三萜也常在其它真菌中被发现,而麦角甾烷三萜类化合物则比较罕见,可作为鉴定樟芝的指标成分。三萜类化合物与胆固醇和类固醇激素的结构非常相似,故其或能通过模拟类固醇激素或干扰胆固醇的代谢来发挥抗炎效应。

[收稿日期] 2014-10-27

[修回日期] 2014-12-17

[△]通讯作者 Tel: 0755-83589602; E-mail: 1751488915@qq.com

2 三萜化合物抗炎活性的研究

嗜中性粒细胞中活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的生成和细胞牢固黏附是 2 种在发炎期间表现出的重要炎症应答。为了确定樟芝中 4 种麦角甾烷类三萜化合物 zhankuic acid A、B、C (即 antcin B、I、H) 和 antcin K 是否能防止嗜中性粒细胞引起的炎症应答, Shen 等^[17]评估了这些化合物对甲酰甲硫氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸 (formylmethionyl leucyl phenylalanine, fMLP) 和 1-油酰-2-酰基-3-甘油磷酸酯 (phorbol myristate acetate, PMA) 活化的外周人嗜中性粒细胞的影响。用 1 ~ 25 μmol/L 的 zhankuic acid A、B、C 或 antcin K 进行预处理, 通过化学发光实验分析, 发现 fMLP 或 PMA 诱导的 ROS 生成表现出浓度依赖性减少, 所对应的 IC₅₀ 值在 5 ~ 20 μmol/L 之间^[17]。再者, zhankuic acid A、B、C 或 antcin K 还显著抑制了 fMLP 或 PMA 诱导的细胞牢固黏附, 并且没有干扰 Mac-1 (CD11b/CD18) 表面蛋白 (一种介导嗜中性粒细胞对内皮细胞牢固黏附的 β₂-整合素) 表达的上调^[17]。另外, 这些物质所引起的抗炎作用并不是由于细胞毒性, 因为与对照组相比, 细胞活力没有发生显著变化^[17]。这些结果表明这几种三萜化合物对嗜中性粒细胞 ROS 生成和细胞牢固黏附的抑制没有显著的细胞毒性, 即这几种化合物可以作为临床上潜在的抗炎药物。

最近一项研究阐述了樟芝麦角甾烷类三萜抗炎作用的分子机理。研究人员从樟芝子实体中分离纯化出 5 种三萜类化合物 antcin A、B、C、H、K, 发现其中的 antcin A 与糖皮质激素可的松 (cortisone) 和

地塞米松 (dexamethasone) 的化学结构最相似, 见图 1。由于结构的相似, antcin A 导致了人肺腺癌细胞 A549 中糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 从细胞质中易位至细胞核。分子模型显示, 尽管它们在 C-17 位的端基有所不同^[18], antcin A 以及糖皮质激素可以稳定地与 GR 的结合腔反应。因此, antcin A 作为一种活性成分, 可能是樟芝抗炎的至少一部分原因, 其抗炎的分子机理与糖皮质激素诱导的分子机理相同, 即 antcin A 可以模拟糖皮质激素。由于 antcin A 的亲脂性, 很容易扩散通过细胞膜, 接着与细胞质的 GR 结合。与 antcin A 结合后, GR 与热休克蛋白分离, 然后 GR/antcin A 复合物形成二聚物, 最后易位至细胞核。在细胞核中, GR/antcin A 与目标基因的糖皮质激素反应元件 (glucocorticoid response element, GRE) 结合, 进而调控基因的表达, 例如增加抗炎因子的表达, 降低促炎因子的表达^[18]。此外, 这 5 种化合物中, 只有 antcin A 能够模拟糖皮质激素, 导致 GR 的细胞核易位。Antcin A 和其它 4 种 antcins 的主要区别在于后面这些三萜类化合物在它们的 C-7 位置额外多了一个羰基或者羟基。分子模型表明 antcin A 或者糖皮质激素的 C-7 部位暴露于 GR 结合腔的疏水域, 因此其余 4 种 C-7 位因为拥有额外亲水基团的 antcins 很可能当它们靠近 GR 的时候被排斥^[18]。然而, 尽管体外实验显示这 4 种 antcins 未能导致 GR 的细胞核易位, 但它们有可能在体内通过模拟糖皮质激素产生抗炎作用, 因为肠道菌群或者肝肠循环可能会将 C-7 位的亲水基团去除^[18]。

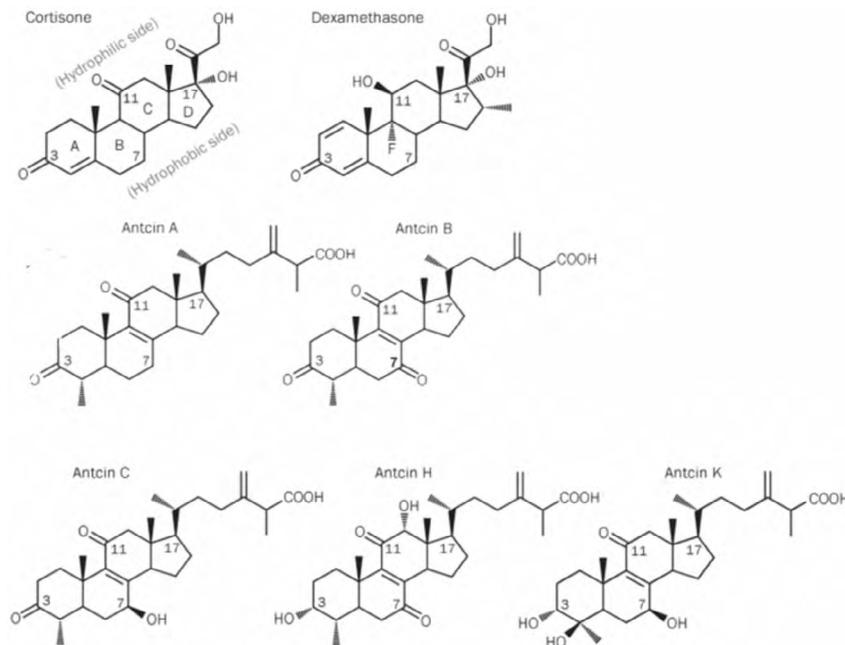


Figure 1. The chemical structures of glucocorticoids and 5 triterpenoids.

图 1 糖皮质激素与 5 种三萜化合物的化学结构式

致病菌幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 是导致胃癌发生的首要危险因素。Hp 毒力因子 细胞毒素相关基因 A (cytotoxin-associated gene A, CagA) 与胆固醇的甾体微区相互作用, 导致胃黏膜上皮细胞产生炎症^[2,9]。Lin 等^[9]发现从樟芝中提取出来的麦角甾烷类三萜化合物 methyl antcininate B (MAB) 可以抑制 CagA 的易位和磷酸化, 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 MAB 使其易位和磷酸化分别减少了 52% 和 60%, 并引起 HP 感染的胃黏膜上皮细胞中蜂鸟表型的减少。MAB 还可以通过减弱 NF- κ B 的活化、p65 NF- κ B 的易位和 I κ B- α 的磷酸化抑制 Hp 诱导的炎症反应, 这表明 MAB 可以调控 CagA 介导的信号通路^[9]。此外, MAB 也可以抑制 Hp 感染的胃黏膜上皮细胞中 IL-8 萤光素酶的活性及其分泌。分子结构模拟显示 MAB 与 CagA 相互作用, 其方式与胆固醇相似。胆固醇与固定化的 CagA 的结合因 MAB 水平的增加而受到抑制^[9]。这项研究表明 MAB 能够通过干扰胆固醇发挥抗炎效应, 有望成为治疗 Hp CagA 诱导的炎症反应的候选药物。

另一项关于樟芝抗炎的研究发现樟芝深层发酵液中的 ergostatrien-3 β -ol (ST1) 在大鼠体内具有抗炎和镇痛作用。通过抗炎实验发现, 在 λ -角叉菜胶 (carrageenin, Carr) 处理 4 h 和 5 h 后, ST1 (10 mg/kg) 可以使大鼠脚爪的水肿减弱, 而且使肝脏中过氧化氢酶 (catalase, CAT)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 的活性增加, 同时 ST1 可明显降低 Carr 处理 5 h 后大鼠水肿的脚爪中丙二醛的含量^[10]。ST1 (1.5 和 10 mg/kg) 还可减少 Carr 处理 5 h 后大鼠水肿脚爪里血清肿瘤坏死因子 α ^[10]。蛋白印记实验结果显示 ST1 (10 mg/kg) 能减少 5 h 后大鼠水肿脚爪里 Carr 诱导的诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的表达。将 ST1 以腹腔内注射形式对大鼠进行处理时, 发现 ST1 也可以减少嗜中性粒细胞浸润到有炎症的部分, 从而达到消炎镇痛的效果^[10]。由此可以看出, ST1 可以通过对 TNF- α 和 ROS 促炎因子的抑制, 增加肝脏中 CAT、SOD 和 GPx 的活性, 来减少大鼠水肿脚爪中 iNOS 和 COX-2 的水平。进一步分析 ST1 的化学结构 (图 2), 可以发现 ST1 的结构与胆固醇的结构非常相似, 因此可以推测 ST1 抗炎的分子机理可能与干扰胆固醇的作用有关, 仍需要进一步的研究证实。

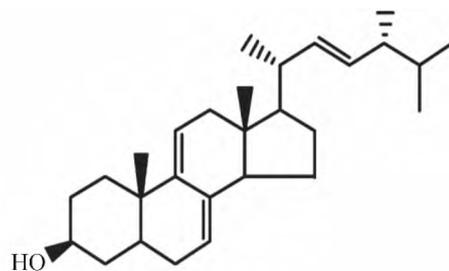


Figure 2. The chemical structure of ST1.

图 2 ST1 化学结构式

除麦角甾烷类外, 樟芝中的某些羊毛甾烷类三萜也被发现有抗炎活性。体外研究表明樟芝中的 2 种羊毛甾烷类三萜化合物 eburicoic acid (TR1) 和 dehydroeburicoic acid (TR2) 以剂量依赖的方式降低了 fMLP 和 PMA 诱导的外周中性粒细胞中 ROS 的生成, 并且这种作用并不是由于细胞毒性效应引起的, 因为相对于对照组来讲, 实验组的细胞活力没有显著改变^[19]。

Deng 等^[11]进一步对这 2 种三萜类化合物在小鼠体内的镇痛和抗炎活性进行了测定。研究发现, TR1 和 TR2 可以显著抑制一系列醋酸诱导的扭体反应和福尔马林诱导的后期疼痛。在抗炎实验中, TR1 和 TR2 可以减轻在 Carr 给药 4 h 和 5 h 后的足肿胀, 并且可以增加小鼠水肿组织中 CAT、SOD 和 GPx 的活性。同时发现在 Carr 给药 5 h 后, TR1 和 TR2 可以明显降低水肿脚爪或血清中的丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、TNF- α 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的水平。其中 10 mg/kg 的 TR1 使 MDA、NO、TNF- α 和 IL-1 β 分别降低了 48.18%、35.18%、53.64% 和 24.81%, 10 mg/kg 的 TR2 使其分别降低了 56.93%、45.02%、62.76% 和 32.49%^[11]。蛋白印记结果表明, TR1 和 TR2 可以明显降低 Carr 给药第 5 h 后的水肿脚爪中 iNOS 和 COX-2 的表达, 以及嗜中性粒细胞对水肿脚爪的浸润^[11]。以上结果表明, TR1 和 TR2 的抗炎机制可能与炎症细胞因子的减少和抗氧化酶活性的增加有关。此外, TR1 和 TR2 的化学结构 (图 3) 同样与糖皮质激素结构相似, 且 C-7 位无亲水基团, 因此可以推测 TR1 和 TR2 抗炎的分子机理可能与糖皮质激素相似, 即可与 GR 受体结合, 易位至细胞核, 调控基因表达, 导致促炎因子的表达降低, 抗炎因子的表达增加。这种推测需要进一步的研究证实。

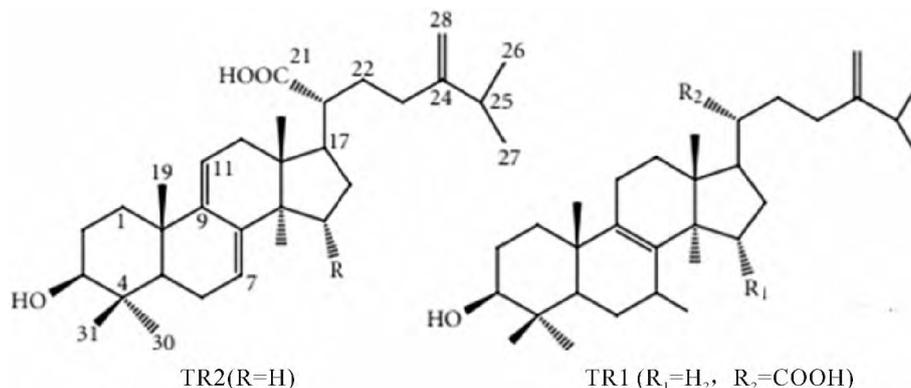


Figure 3. The chemical structures of TR1 and TR2.

图3 TR1 和 TR2 的化学结构式

3 结论与展望

台湾特有真菌樟芝中的三萜类化合物,尤其是麦角甾烷类化合物具有显著的抗炎活性。研究表明樟芝中的三萜类化合物能显著降低促炎因子的表达,增加抗氧化酶的活性。由于樟芝中的三萜类化合物,尤其麦角甾烷类的结构与类固醇激素和胆固醇的结构相似,故其或能模拟类固醇激素,与其受体结合,易位至细胞核,调控基因表达,或者能干扰胆固醇的作用,从而发挥抗炎效应。樟芝中的这些三萜化合物虽然有成为抗炎药物的潜力,然而需要进一步的研究完善三萜化合物的抗炎机理,并且需要开展更多的动物实验和临床试验以确定其有效剂量的范围。

参 考 文 献

[1] World Health Organization. Cancer [EB/OL]. (2014-02) [2014-11]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.

[2] Okada F. Inflammation-related carcinogenesis: current findings in epidemiological trends, causes and mechanisms [J]. *Yonago Acta Med*, 2014, 57(2): 65-72.

[3] Lung ML, Cheung AK, Ko JM, et al. The interplay of host genetic factors and Epstein-Barr virus in the development of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chin J Cancer*, 2014, 33(11): 556-568.

[4] Gobert A, Mounier N, Lavole A, et al. HIV-related malignancies: state of art [J]. *Bull Cancer*, 2014, 101(11): 1020-1029.

[5] Kavanagh ME, O'Sullivan KE, O'Hanlon C, et al. The esophagitis to adenocarcinoma sequence; the role of inflammation [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345(2): 182-189.

[6] Sundström K, Eloranta S, Sparén P, et al. Prospective study of human papillomavirus (HPV) types, HPV persistence and risk of squamous cell carcinoma of the cervix [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(10): 2469-2478.

[7] Tong GX, Geng QQ, Chai J, et al. Association between pancreatitis and subsequent risk of pancreatic cancer: a systematic review of epidemiological studies [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(12): 5029-5034.

[8] Geethangili M, Tzeng YM. Review of pharmacological effects of *Antrodia camphorata* and its bioactive compounds [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 212641.

[9] Lin CJ, Rao YK, Huang CL, et al. Inhibition of *Helicobacter pylori* CagA-induced pathogenesis by methylantennate B from *Antrodia camphorata* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 682418.

[10] Huang GJ, Huang SS, Lin SS, et al. Analgesic effects and the mechanisms of anti-inflammation of ergostatrien-3β-ol from *Antrodia camphorata* submerged whole broth in mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(12): 7445-7452.

[11] Deng JS, Huang SS, Lin TH, et al. Analgesic and anti-inflammatory bioactivities of eburicoic acid and dehydroeburicoic acid isolated from *Antrodia camphorata* on the inflammatory mediator expression in mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(21): 5064-5071.

[12] Liao YR, Kuo PC, Liang JW, et al. An efficient total synthesis of a potent anti-inflammatory agent, benzocamphorin F, and its anti-inflammatory activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(8): 10432-10440.

[13] Chen YC, Chiu HL, Chao CY, et al. New anti-inflammatory aromatic components from *Antrodia camphorata* [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 4629-4639.

- [14] Wu YY , Chen CC , Chyau CC , et al. Modulation of inflammation-related genes of polysaccharides fractionated from mycelia of medicinal basidiomycete *Antrodia camphorata* [J]. *Acta Pharmacol Sin* , 2007 , 28 (2) : 258-267.
- [15] Xia Q , Zhang H , Sun X , et al. A comprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma* spp. [J]. *Molecules* , 2014 , 19 (11) : 17478-17535.
- [16] Lu MC , El-Shazly M , Wu TY , et al. Recent research and development of *Antrodia cinnamomea* [J]. *Pharmacol Ther* , 2013 , 139(2) : 124-156.
- [17] Shen YC , Wang YH , Chou YC , et al. Evaluation of the anti-inflammatory activity of zhankeic acids isolated from the fruiting bodies of *Antrodia camphorata* [J]. *Planta Med* , 2004 , 70(4) : 310-314.
- [18] Chen YC , Liu YL , Chang CI , et al. Antcin A , a steroid-like compound from *Antrodia camphorata* , exerts anti-inflammatory effect via mimicking glucocorticoids [J]. *Acta Pharmacol Sin* , 2011 , 32(7) : 904-911.
- [19] Shen YC , Chen CF , Wang YH , et al. Evaluation of the immuno-modulating activity of some active principles isolated from the fruiting bodies of *Antrodia camphorata* [J]. *Chin Pharmaceu J* , 2003 , 55(5) : 313-318.

(上接第 363 页)

- [8] Inzhutova AI , Larionov AA , Petrova MM , et al. Stabilization of cellular membranes as a target of vascular therapy [J]. *Kardiologiya* , 2011 , 51(4) : 52-55.
- [9] 张艳丛 , 张永进. 阿托伐他汀的临床应用及研究进展 [J]. *医学综述* 2012 , 18(16) : 2616-2618.
- [10] Sadowitz B , Maier KG , Gahtan V. Basic science review: Statin therapy—Part I: the pleiotropic effects of statins in cardiovascular disease [J]. *Vasc Endovascular Surg* , 2010 , 44(4) : 241-251.
- [11] Swenne CA. Beyond lipid lowering: pleiotropic effects of statins in heart failure [J]. *Neth Heart J* , 2013 , 21(9) : 406-407.
- [12] Curtis AM , Zhang L , Medenilla E , et al. Relationship of microparticles to progenitor cells as a measure of vascular health in a diabetic population [J]. *Cytometry B Clin Cytom* , 2010 , 78(5) : 329-337.
- [13] Landmesser U , Engberding N , Bahlmann FH , et al. Statin-induced improvement of endothelial progenitor cell mobilization , myocardial neovascularization , left ventricular function , and survival after experimental myocardial infarction requires endothelial nitric oxide synthase [J]. *Circulation* , 2004 , 110(14) : 1933-1939.
- [14] Di Sciascio G , Patti G , Pasceri V , et al. Efficacy of atorvastatin reload in patients on chronic statin therapy undergoing percutaneous coronary intervention: results of the ARMYDA-RECAPTURE (atorvastatin for reduction of myocardial damage during angioplasty) randomized trial [J]. *J Am Coll Cardiol* , 2009 , 54(6) : 558-565.
- [15] Sun H , Guo T , Liu L , et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after acute myocardial infarction in pigs [J]. *Heart Surg Forum* , 2010 , 13(5) : 305-310.
- [16] Bäcklund T , Palojoki E , Saraste A , et al. Sustained cardiomyocyte apoptosis and left ventricular remodeling after myocardial infarction in experimental diabetes [J]. *Diabetologia* , 2004 , 47(2) : 325-330.
- [17] Guo Y , He J , Wu J , et al. Locally overexpressing hepatocyte growth factor prevents post-ischemic heart failure by inhibition of apoptosis via calcineurin-mediated pathway and angiogenesis [J]. *Arch Med Res* , 2008 , 39(2) : 179-188.
- [18] 严广东 , 李自成 , 李健豪. 阿托伐他汀对糖尿病大鼠急性心肌梗死后心功能及 HGF/c-Met 信号通路的影响 [J]. *中国病理生理杂志* 2014 , 30(4) : 658-663.
- [19] Baldi A , Abbate A , Bussani R , et al. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling [J]. *J Mol Cell Cardiol* , 2002 , 34(2) : 165-174.
- [20] 周芝兰 , 王林静 , 刘革修 等. 红景天苷对内皮祖细胞功能及其 PI3K/Akt 通路的影响 [J]. *中国病理生理杂志* , 2014 , 30(7) : 1192-1195.
- [21] Matsue Y , Suzuki M , Nagahori W , et al. Endothelial dysfunction measured by peripheral arterial tonometry predicts prognosis in patients with heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Int J Cardiol* , 2013 , 168(1) : 36-40.