

茶藨子叶状层菌的化学成分及抗肿瘤活性研究进展^A

牟玥静^{1*}, 方磊², 李佳¹, 张永清^{1#} (1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东省分析测试中心, 济南 250014)

中图分类号 R282; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0542-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.34

摘要 目的: 为进一步研究和开发利用茶藨子叶状层菌提供参考。方法: 以“茶藨子叶状层菌”“茶藨子叶孔菌”“化学成分”“药理作用”“*Phylloporia ribis*”等为关键词, 组合检索2005年1月—2015年7月在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中有关茶藨子叶状层菌化学成分及抗肿瘤活性的研究文献, 并对其进行归纳总结。结果与结论: 共查阅到相关文献261篇, 其中有效文献39篇。目前从茶藨子叶状层菌中分离鉴定出的化学成分主要有甾醇类、有机酸类、萜类、多糖类等, 这些成分在抗肿瘤方面均有一定活性。有关该菌化学成分及抗肿瘤活性研究, 仍需从化学分子结构与肿瘤细胞表面受体间的关系作进一步研究; 如何通过发酵及人工培育等途径来加大产量, 也是需要解决的问题之一。

关键词 茶藨子叶状层菌; 化学成分; 抗肿瘤活性

茶藨子叶状层菌 *Phylloporia ribis* (Schumacher: Fr.) Ryvar-den 隶属担子菌门 Basidiomycota、层菌纲 Hymenomycetes、非褶菌目 Aphyllophorales、锈革孔菌科 Hymenochaetaceae、叶状层菌属 *Phylloporia*, 是一种重要的药用真菌^[1]。其民间药用历史悠久, 分布区域广泛, 临床多用于治疗急性上呼吸道感染、咽炎、喉肿痛等病症, 疗效显著。由于茶藨子叶状层菌分类学划分一直存在争议, 不同命名多次出现在文献记载中。因此, 笔者以“茶藨子叶状层菌”“茶藨子叶孔菌”“化学成分”“药理作用”“*Phylloporia ribis*”等为关键词, 组合检索2005年1月—2015年7月在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中有关茶藨子叶状层菌化学成分及抗肿瘤活性的研究文献。结果, 共查阅到相关文献261篇, 其中有效文献39篇。经整理发现, 该真菌含有甾体、有机酸类、萜类、多糖类等多种生物活性物质, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、抑菌、消炎、止痛等药理活性。由于其营养成分高、食用性强、安全性评价高, 对治疗肿瘤、糖尿病、艾滋病、病毒感和抑制细菌等具有潜在的开发利用价值^[2-3]。目前, 对该菌化学成分及抗肿瘤活性的深入研究极少。鉴于此, 笔者系统归纳总结了该菌化学成分及抗肿瘤活性方面的研究进展, 以期为进一步研究和开发利用茶藨子叶状层菌提供参考。

1 化学成分研究

目前从茶藨子叶状层菌中分离鉴定出的化学成分主要有甾醇类、有机酸类、萜类、多糖类等。

1.1 甾醇类化合物

刘玉红等^[4]首次从茶藨子叶状层菌子实体中分离得到麦角甾醇、麦角甾醇-5,8-过氧化物、(22E,24S)-啤酒甾醇。李聪等^[4]从茶藨子叶状层菌子实体石油醚萃取部分分离鉴定出 β -谷甾醇、豆甾醇、麦角甾醇-5,8-过氧化物、麦角甾醇等。具体甾醇类化合物名称及结构见图1。

1.2 有机酸类化合物

王薪^[5]用氯仿、正丁醇萃取茶藨子叶状层孔菌干燥子实体, 首次从该菌中分离得到了棕榈酸、琥珀酸、烟酸等。李凤

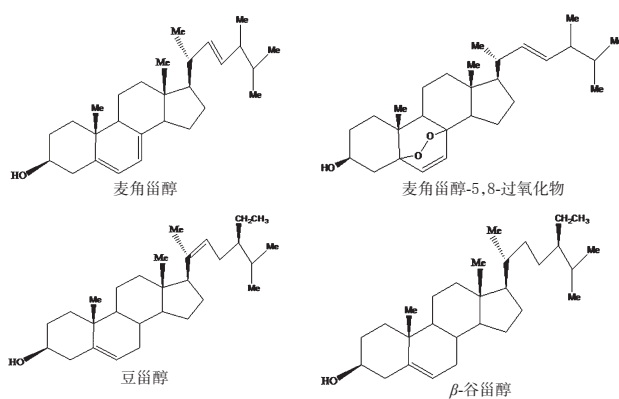


图1 茶藨子叶状层菌中的甾醇类化合物的化学结构

华^[6]从该菌子实体中首次分离出二十八酸、原儿茶酸、二十酸等。刘玉红等^[4]从该菌子实体中分离得到了2-羟基二十四酸, 此成分是在该属真菌中首次分离得到。随后, 刘玉红等^[7]又采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法从该菌子实体强酸性部位中分离鉴定出25种成分, 主要为高级脂肪酸, 其中棕榈酸、亚油酸及油酸含量最高, 分别为24.49%、22.02%、3.14%。李聪等^[4]从茶藨子叶状层菌子实体中分离出壬二酸、烟酸、原儿茶酸等。具体有机酸类化合物名称及结构见图2。

1.3 三萜类化合物

该菌属内含有氧化三萜类化合物。Moon D等^[8]从茶藨子叶状层菌子实体中分离得到了白桦脂酸, 为五环三萜类化合物。具体三萜类化合物名称及结构见图3。

1.4 多糖类化合物

王薪^[5]从该菌干燥子实体中首次分离得到了 α -D-(+)-葡萄糖。Liu YH等^[9]从中分离出一种主链为 β -D-葡聚糖的大分子水溶性多糖, 分子质量为8.59 kDa, 是以 β -D-(1 \rightarrow 4), (1 \rightarrow 6)与骨干相接的新型多糖。具体多糖类化合物名称及结构见图4。

1.5 其他类化合物

李凤华^[6]从该菌子实体中首次分离出D-甘露醇。刘玉红等^[7]采用GC-MS法分离鉴定出2,3,5,6-四氯-4-甲氧基苯酚和1,8-二羟基-3-甲基-9,10-蒽二酮。郭华等^[10]用GC-MS从该菌挥发油中分离出多种化学成分, 其中1-甲氧基-4-丙烯基苯含量最高。2014年, Kubo M等^[11]从中发现了Phelliribisin A, 是一种新的Spironindene pigment化合物。其他类化合物名称及结构见图5。

2 抗肿瘤活性研究

初步药理实验发现, 从茶藨子叶状层菌分离鉴定出的各

^A 基金项目: 国家科技支撑计划课题(No.2011BAI06B01); 山东省农业良种工程重大课题子课题(No.2008LZ013-02); 山东省分析测试中心科技发展基金项目(No.山分基合字2014第6号)

* 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制。E-mail: muyuejing55@163.com

通信作者: 教授, 博士生导师。研究方向: 中药质量控制与资源开发。E-mail: zyzq622003@126.com

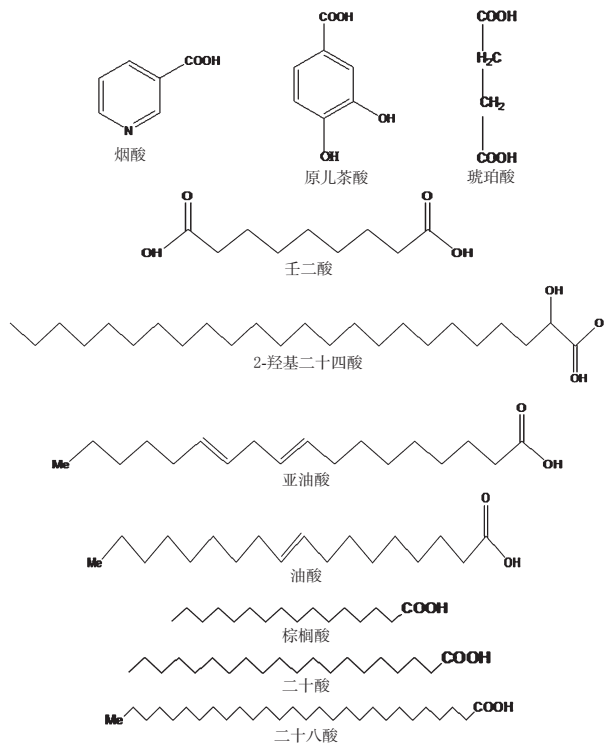


图2 茶藨子叶状层菌中的有机酸类化合物

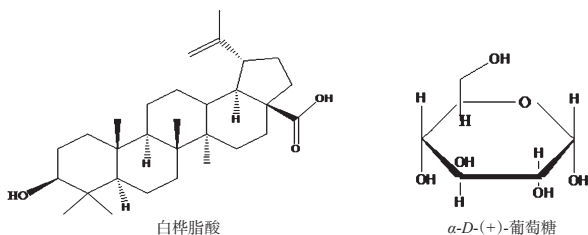


图3 茶藨子叶状层菌中的三萜类化合物 图4 茶藨子叶状层菌中的多糖类化合物

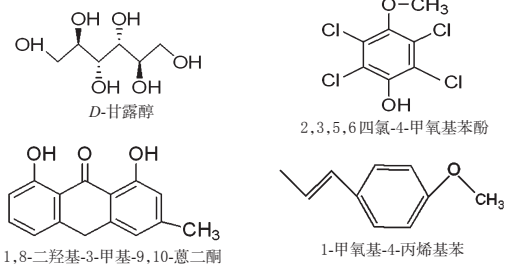


图5 茶藨子叶状层菌中的其他类化合物

类物质在抗肿瘤方面均有一定活性。

2.1 甾醇类

麦角甾醇是真菌的特征甾醇类成分,是脂溶性维生素D₂的前体,具有明显的抗癌作用,作用机制与抑制肿瘤细胞新生血管生长有关^[12]。麦角甾醇过氧化物是具有较高生物活性的次生代谢产物,是麦角甾醇的氧化产物,能够介导人白血病HL60细胞凋亡^[13]。姚凤等^[14]利用酶联免疫吸附法(ELISA)测定β-谷甾醇对小鼠单核巨噬细胞(RAW 264.7)产生肿瘤坏死因子α(TNF-α)和白细胞介素6(IL-6)的影响时发现,β-谷甾醇能降低RAW 264.7细胞上清液中TNF-α和IL-6的浓度水平,其作用机制可能与阻止TNF-α、IL-6的释放和下调小鼠肺脏中核转录因子κB(NF-κB)信号转导通路的活化有关。β-谷甾醇、豆甾醇均能抑制人肝癌细胞SMMC-7721增殖、诱导肿瘤细胞凋亡,作用机制可能与线粒体途径有关^[15]。此外,β-谷甾醇还

能诱导肝癌细胞HepG2^[16]、结肠癌细胞HT-29^[17]、前列腺癌细胞^[18]凋亡。真菌甾醇类物质作为真菌细胞膜的重要组分,在医药领域有着重要用途,如以甾体为母核的激素类药物已被广泛应用于治疗各种疾病。

2.2 有机酸类

研究发现,在一定浓度范围内,棕榈酸能介导人成骨肉瘤细胞MG63细胞凋亡,并呈浓度依赖性,其作用机制可能与脂质的氧化应激损伤诱导细胞凋亡有关^[19]。棕榈酸能够诱导胰岛素瘤细胞MIN6凋亡,推测其作用机制可能与抑制PKB磷酸化激活而使胰岛B细胞凋亡有关^[20]。原儿茶酸对小鼠黑色素B16细胞中黑色素的含量有抑制作用^[21];另有研究通过荧光定量聚合酶链式反应(PCR)和蛋白印迹的方法,发现原儿茶酸能够抑制Huh7细胞中肝细胞核因子(3α/3β/4α)的mRNA水平和肝细胞核因子4α的蛋白水平^[22]。一定剂量的原儿茶酸对M146L细胞淀粉样前体蛋白(APP)mRNA表达有明显的抑制作用^[23],其机制有待进一步研究。

2.3 三萜类

茶藨子叶状层菌含有的白桦脂酸是一种具有高药理价值的五环三萜类物质。研究发现,白桦脂酸能够抑制前列腺癌细胞(LNCaP)生长,其作用机制是通过抑制肿瘤新生血管生长、抑制特异性蛋白质转录因子而实现的^[24]。白桦脂酸能够增强自然杀伤(NK)细胞对胰腺癌细胞SW1990的杀伤作用,其作用机制可能通过促进NK细胞增殖、激活NK细胞内胞外信号调控激酶(ERK)信号通路、抑制胰腺癌细胞增殖有关^[25]。白桦脂酸联合沙利度胺可促进多发性骨髓瘤U266细胞凋亡,其机制可能与凋亡分子Survivin、Bcl-2、Cyto-c和Bax相关^[26]。低浓度的白桦脂酸可以显著增强多柔比星诱导的白血病细胞系K562/A02的增殖抑制效应($P < 0.05$)^[27],其作用机制与降低钠氢交换蛋白1(NHE1)表达和P-糖蛋白(P-gp)的表达,改变细胞内pH值有关。白桦脂酸能够抑制人宫颈癌细胞(HeLa)细胞和人乳腺癌细胞(MCF-7),促使p21 mRNA和p53 mRNA表达升高,作用机制与细胞DNA损伤和抑制细胞周期有关^[28]。体外研究发现,白桦脂酸能够诱导神经细胞癌^[29]、结肠癌细胞(SNU-C5)^[30]、黑色素瘤^[31]、鼻咽癌细胞CNE-1^[32]、食管鳞状细胞癌^[33]等多种细胞凋亡,而对正常细胞无明显影响,这一高效低毒的药理活性使其可能成为发展前景广阔的抗肿瘤药物。

2.4 多糖类

真菌多糖类物质具有抗癌、抗氧化、增强免疫活性,在抗肿瘤方面具有重要作用。刘玉红等通过氯磺酸-甲酰胺法对茶藨子木层孔菌多糖进行硫酸化,发现其多糖硫酸酯衍生物PRP多糖对人卵巢癌细胞(SKOV-3)、人乳腺癌细胞(MDA231)、HepG2细胞均表现出明显的体外抑制作用^[34-35]。进一步的体内抗肿瘤研究结果显示,茶藨子木层孔菌多糖具有显著的免疫增强作用,对小鼠肿瘤具有一定的抑制作用,可改善环磷酰胺对荷瘤小鼠造成的免疫损伤^[36]。

3 安全性评价

急性毒性和遗传毒性研究表明,茶藨子叶状层菌属于实际无毒级,Ames试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验及小鼠精子畸形试验未见其对原核细胞、体细胞、生殖细胞具有遗传毒性作用。进一步通过90 d喂养大鼠实验观察茶藨子叶状层菌的亚慢性毒性显示,实验周期内各实验组动物总体生长状况良好,血生化和血常规指标与对照组比较差异均无统计学意义,并未发现亚慢性毒性靶器官,表明茶藨子叶状层菌为一种安全、可靠的真菌^[37-38]。

4 结语

现有研究结果显示,茶藨子叶状层菌具有重要的药用价值,且安全、可靠。由于真菌分类学专家观点的不同,对其归属仍有争议,本文对茶藨子叶状层菌的归属根据张小青等人编写的《中国真菌志》^[1]。茶藨子叶状层菌属于多年生木腐菌,其资源稀少、药材短缺,采摘及收集都有一定困难,有关该菌化学成分及药理活性方面的研究刚刚起步,从中分离得到的化学成分种类较少,药理活性及作用机制尚未得到全面系统的研究;对于抗肿瘤活性研究,仍需从化学分子结构与肿瘤细胞表面受体间的关系作进一步研究,有望研制出新型、低毒、高效、抗肿瘤药物。另外,对于该菌资源稀缺的问题,如何通过发酵及人工培育等途径来加大产量,进而对其化学成分及抗肿瘤活性进一步深入研究,也是需要解决的问题之一。我国拥有丰富的真菌资源,加强研究与开发利用真菌资源具有重要的理论意义和经济价值。

参考文献

[1] 张小青,戴玉成.中国真菌志:第二十九卷[M].北京:科学出版社,2005:169.

[2] 程书华,张芳,李佳,等.忍冬茶藨子叶状层菌生物学特性研究[J].山东中医杂志,2013,32(4):278.

[3] 刘玉红,徐凌川,王建平,等.茶藨子叶孔菌化学成分的研究[J].中药材,2005,28(11):998.

[4] 李聪,张永清,李佳,等.茶藨子叶孔菌子实体(忍冬)的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2010,22(3):422.

[5] 王薪.环棱褐孔菌水溶性提取物的化学成分研究[D].济南:山东中医药大学,2002.

[6] 李凤华.超临界提取环棱褐孔菌同一般提取法化学成分的比较[D].济南:山东中医药大学,2004.

[7] 刘玉红,徐凌川,王建平,等.茶藨子叶孔菌强酸性成分的研究[J].时珍国医国药,2006,17(9):1692.

[8] Moon D, Hwang K, Choi K, *et al.* Some peroxysterols and ceramides from "Phellinus ribis", a Korean wild mushroom [J]. *Anal Sci Tech*, 1995, 8(4):901.

[9] Liu YH, Wang FS. Structural characterization of an active polysaccharide from *Phellinus ribis*[J]. *Carbohydr Polym*, 2007, 70(4):386.

[10] 郭华,侯冬岩,回瑞华,等.环棱褐孔菌挥发性化学成分的分析[J].鞍山师范学院学报,2005,7(6):49.

[11] Kubo M, Liu Y, Ishida M, *et al.* A new spiroindene pigment from the medicinal fungus *Phellinus ribis*[J]. *Chem Pharm Bull: Tokyo*, 2014, 62(1):122.

[12] Zaidman BZ, Yassin M, Mahajna J, *et al.* Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 67(4):453.

[13] Takei T, Yoshida M, Ohnishi-Kameyama M, *et al.* Ergosterol peroxide, an apoptosis-inducing component isolated from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S.Ito[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69(1):212.

[14] 姚凤,周清燕,熊瑛,等.β-谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J].中国农学通报,2015,31(2):55.

[15] 李庆勇,姜春菲,张黎,等.β-谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞SMMC-7721凋亡[J].时珍国医国药,2012,23(5):1173.

[16] 张忠泉,邢煜君,胡国强,等.β-谷甾醇诱导人肝癌HepG2细胞凋亡机制研究[J].中国中药杂志,2011,36(15):2145.

[17] Jayaprakasha GK, Mandadi KK, Poulouse SM, *et al.* Inhibition of colon cancer cell growth and antioxidant activity

of bioactive compounds from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(14):4923.

[18] Jourdain C, Tenca G, Deguercy A, *et al.* In-vitro effects of polyphenols from cocoa and beta-sitosterol on the growth of human prostate cancer and normal cells[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2006, 15(4):353.

[19] 王筱菁,李万根,苏杭,等.棕榈酸及亚油酸对人成骨肉瘤细胞MG63作用的研究[J].中国骨质疏松杂志,2007,13(8):542.

[20] 王威,曹翠平,陈颖,等.棕榈酸诱导胰岛素瘤细胞MIN6细胞凋亡[J].基础医学与临床,2010,30(4):401.

[21] 杨美花,石艳,李智聪,等.原儿茶酸对小鼠黑色素瘤B16细胞酪氨酸酶活力及黑色素生成的抑制效应[J].厦门大学学报:自然科学版,2013,52(6):842.

[22] 吴道,代小青,陈勇,等.在Huh7细胞中原儿茶酸对肝细胞核因子(3α/3β/4α)的影响[J].湖北大学学报:自然科学版,2015,37(4):327.

[23] 薛小燕,章正,周晓雯,等.原儿茶酸对M146L细胞APP mRNA表达的抑制作用[J].中药材,2012,35(11):1813.

[24] Chintharlapalli S, Papineni S, Ramaiah SK, *et al.* Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(6):2816.

[25] 姚义荣,王营,刘军权,等.白桦脂酸对人NK细胞杀伤SW1990胰腺癌细胞影响及机制探讨[J].中华肿瘤防治杂志,2015,22(1):34.

[26] 孙嘉,马丹,王萍,等.白桦脂酸联合沙利度胺诱导U266细胞凋亡机制研究[J].贵阳医学院学报,2015,40(6):566.

[27] 梁广斌,甘美婵,周睿娴,等.白桦脂酸增强K562/A02细胞株对阿霉素敏感性的研究[J].肿瘤药理学,2015,5(2):106.

[28] 王开祥,张慧,郑克岩,等.白桦脂酸体外抗肿瘤的活性和机制[J].吉林大学学报:理学版,2009,47(3):622.

[29] 陈秀玮,王丹云,刘佳,等.白桦脂酸对HeLa细胞的抑制作用及其机制研究[J].中国癌症杂志,2012,22(4):252.

[30] Jung GR, Kim KJ, Choi CH, *et al.* Effect of betulinic acid on anticancer drug-resistant colon cancer cells[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2007, 101(4):277.

[31] 朱梓菲,汤佳,王婷婷,等.白桦酸衍生物的设计合成及抗肿瘤活性[J].中国药科大学学报,2012,43(5):395.

[32] 向芳,袁琨.白桦脂酸抑制鼻咽癌细胞CNE-1生长及其机制探讨[J].华中科技大学学报:医学版,2010,39(5):639.

[33] 李晓颖,高献书.白桦脂酸抑制食管鳞状细胞癌增殖及相关机制的实验研究[J].中国药理学杂志,2012,47(9):684.

[34] 刘玉红.茶藨子木层孔菌多糖硫酸酯的制备与体外抗肿瘤活性[J].中国医院药学杂志,2014,34(7):509.

[35] 刘玉红,张文玉,刘玉国.茶藨子木层孔菌多糖硫酸酯的体内抗肿瘤作用与机制[J].中国医院药学杂志,2015,35(11):985.

[36] 刘玉红,马艳,蔡梅超.茶藨子木层孔菌多糖的体内抗肿瘤作用研究[J].山东中医杂志,2015,34(2):124.

[37] 卢连华,姚文环,徐凌川,等.茶藨子叶孔菌(金芝)的急性毒性和遗传毒性研究[J].环境与健康杂志,2011,28(9):830.

[38] 卢连华,姚文环,谢玮,等.茶藨子叶孔菌大鼠90 d喂养试验研究[J].毒理学杂志,2013,27(2):103.

(收稿日期:2015-07-20 修回日期:2015-09-15)

(编辑:余庆华)