

白桦脂酸及其衍生物的制备方法和药理作用研究进展^Δ

孙兴^{1,2*},任娟^{1,2},詹燕²,谭镭²,阮佳²,徐超群^{2#}(1.成都中医药大学药学院,成都 610075;2.四川省中医药科学院,成都 610041)

中图分类号 R915;R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)04-0570-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.04.28

摘要 目的:了解白桦脂酸(BA)及其衍生物的制备方法和药理作用的最新研究进展,为其进一步研究和开发提供理论基础。方法:以“白桦脂酸”“衍生物”“提取”“合成”“药理作用”“Betulinic acid”“Derivatives”“Extraction”“Synthesis”“Pharmacological activities”等为关键词,在中国知网、维普、万方、PubMed、Web of Science等数据库中组合查询发表于2000年—2018年6月的相关文献,对BA及其衍生物的制备方法和药理作用方面的研究成果进行综述。结果与结论:共检索到文献2 414篇,其中有效文献62篇。BA及其衍生物的制备方法主要包括植物提取法、化学合成法和生物转化法。其中以化学合成法为主,其产率和产品纯度均较高;植物提取法主要适用于前期研究;生物转化法则具有绿色、选择性高的优点但产率较低,仍需进一步优化。BA及其衍生物具有显著的抗肿瘤和抗病毒作用,对肺癌、卵巢癌、子宫颈癌、乳腺癌、黑色素瘤等多种肿瘤细胞以及对人类免疫缺陷病毒等多种病毒均有明显的抑制/杀伤作用;其还具有抗炎、抗糖尿病、抗高血脂等药理作用。通过对BA化学结构中的C-3、C-28、C-20位进行结构修饰或以白桦脂醇和BA为原料直接进行生物转化可获得不同类型、药理活性更强的衍生物。在后续研究中,应进一步明确BA及其衍生物的构效关系,并侧重于开发具有良好药动学特性的高活性BA衍生物。

关键词 白桦脂酸;衍生物;提取;合成;制备方法;药理作用;作用机制

白桦脂酸(Betulinic acid, BA)是一种天然的五环三萜类化合物(化学结构式见图1),其广泛存在于白桦树(*Betula pubescens*)及多种植物中;除了从植物中提取外,还可以白桦脂醇为原料合成BA;BA具有显著的抗

肿瘤作用,对肺癌、卵巢癌、宫颈癌、乳腺癌、黑色素瘤等多种肿瘤细胞均有明显的抑制作用^[1]。与传统化疗药物对正常细胞有典型杀伤作用不同,BA具有选择性人肿瘤细胞毒性,这一特点使其被认为是最具潜力的抗肿瘤

- [35] 张亚卫,赵晶,何洪静,等.评价遍地金提取物抗抑郁活性的实验研究[J].医学研究生学报,2007,20(1):110-112.
- [36] 石金城,孙兴华,刘媛,等.遍地金不同提取物的抗抑郁作用[J].华西药学杂志,2012,27(2):128-131.
- [37] 赵晶,何洪静,高玮,等.遍地金提取物对大鼠脑纹状体突触体^[3H]-多巴胺重摄取抑制试验[J].药学实践杂志,2002,20(6):338-340.
- [38] 赵晶,何洪静,高玮,等.遍地金提取物对大鼠脑突触体^[3H]-去甲肾上腺素再摄取抑制作用[J].中国医院药学杂志,2003,23(7):400-402.
- [39] 赵晶,何洪静,高玮,等.遍地金对大鼠脑突触体^[3H]-5羟色胺重摄取抑制试验[J].中华国际医药杂志,2003,2(1):11-12.
- [40] 赵晶,何洪静,高玮,等.遍地金提取物对大鼠脑突触体单胺氧化酶抑制作用评价[J].西南国防医药,2003,13(5):469-471.
- [41] 任忠文,赵晶,张玉清,等.遍地金提取物治疗抑郁症的临床疗效观察[J].西南国防医药,2007,17(3):272-273.
- [42] BALAPERIASAMY B, PARVEEZ AHAMED A, THAJUDDIN N, et al. Evaluation of Hypericum wightianum Wall. ex Wight and Arn extracts for antibacterial activity against human pathogens[J]. *Int J Current Res*, 2014,6(9):8669-8672.
- [43] BALAPERIASAMY B, THAJUDDIN N, PANNEER SELVAM A. Cytotoxic activity and apoptosis induction of Hypericum wightianum Wall. ex Wight & Arn[J]. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2016,38(2):232-237.
- [44] RAVISANKAR N, JERRINE J, RADHAKRISHANA M, et al. In vitro cytotoxicity of methanol extracts of Hypericum wightianum and Hypericum hookerianum against 3T3L1 cell lines[J]. *Bangladesh J Pharmacol*, 2016, 11(2):328-329.
- [45] BALAPERIASAMY B, SENTHIL KUMAR R, THAJUDDIN N, et al. Preliminary estimation of antioxidant activities of Hypericum wightianum Wall. ex Wight & Arn using various in vitro assay models[J]. *J Pharm Res*, 2014,8(4):520-525.

Δ 基金项目:国家科技重大专项课题(No.2018ZX09731-013);四川省重大科技专项课题(No.2017SZDZX0005);四川省中医药科学技术研究专项项目(No.2016C004)

* 硕士研究生。研究方向:中药新制剂、新工艺和新技术。电话:028-85213973。E-mail:924934174@qq.com

通信作者:研究员,硕士生导师,博士。研究方向:中药新药与新型给药系统。电话:028-85213973。E-mail:chaoqun_xu@sina.com

(收稿日期:2018-05-08 修回日期:2018-11-29)
(编辑:余庆华)

化合物之一。此外,有研究表明BA还具有抗人类免疫缺陷病毒(HIV)、抗乙型肝炎病毒(HBV)、抗炎、免疫调节等多种药理作用^[2]。天然化合物的半合成衍生物在新药研究中有着重要的地位,对化合物进行结构改造可导致其药理活性产生显著变化。BA衍生物多以BA和白桦脂醇为原料,通过化学合成和生物转化等途径制得。这类衍生物多具有良好的水溶性,在抗肿瘤、抗病毒、抗炎等方面均表现出优良的药理活性^[3]。基于此,本课题组以“白桦脂醇”“衍生物”“提取”“合成”“药理作用”“Betulinic acid”“Derivatives”“Extraction”“Synthesis”“Pharmacological activities”等为关键词,在中国知网、维普、万方、PubMed、Web of Science等数据库中组合检索2000年—2018年6月发表的相关文献。结果,共获得相关文献2414篇,其中有效文献62篇,并据此对BA及其衍生物的制备方法和药理作用方面的研究成果进行综述,以期为其进一步研究和开发提供理论基础。

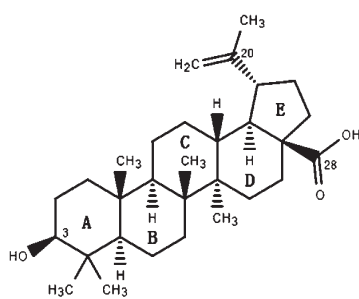


图1 BA化学结构式

1 BA及其衍生物的制备方法

1.1 植物提取法

BA的传统提取方法主要是以乙醇、乙酸乙酯、甲醇等为提取溶剂,采用浸渍法、索氏提取法、加热回流提取法、超声提取法等方式提取;近年来还发展出超临界流体萃取、微波辅助提取、固液萃取等新方法。Dubey KK等^[4]对经典提取法和微波辅助提取法进行了比较,发现微波辅助提取效率更高,且耗时更短。Li C等^[5]采用超声辅助回流加热法从喜树(*Camptotheca acuminata*)的果实中提取喜树碱和BA,结果BA的提取率可达到 (17.192 ± 0.808) mg/g,分别为超声提取法和加热回流提取法的1.33倍和1.43倍。Pinilla JM等^[6]分别比较了固液萃取法、超声辅助提取法和加压液提取法对BA提取效率的影响,结果显示以乙醇为提取溶剂、采用超声辅助提取的提取效率最高。该研究还初步考察了超临界流体萃取的提取效果,结果发现以20%乙醇作为夹带剂可明显提高BA的提取率。超临界流体的不同粒子形成方法对化合物的提取效率有影响,Armbruster M等^[7]分别对直接粒子沉淀、超临界溶液快速膨胀法(RESS)和改良RESS这三种不同的粒子形成方法进行了比较,结

果发现采用RESS时BA提取率最高,约为 $(5.8 \pm 1.4)\%$ 。亚临界水在提取弱极性和非极性化合物时具有高效、快捷、选择性高、无污染等优点,Liu J等^[8]采用亚临界水提取法从白桦树皮中提取BA,与使用乙醇为提取溶剂的传统提取方法相比,能显著提高BA的提取率,且提取物中杂质较少。但无论是采用传统的还是新的提取方法,其所获得的BA产率与工业合成相比仍然较低,不适于作为BA的工业大生产制备方法。

1.2 化学合成法

BA的早期制备方法是白桦脂醇经Jones氧化反应生成白桦脂酮酸,再经硼氢化钠还原制得BA^[9]。但这种氧化方法不具有选择性、条件难以控制、产率较低,且后续还需大量的纯化步骤。另外,也有报道将白桦脂醇的C-28位羟基选择性氧化成醛,然后通过Pinnick氧化反应生成羧酸制得BA^[10]。近年来,发展出一种以氧化铝和固体硅胶为固体载体负载六价铬[Cr(VI)],对白桦脂醇进行催化氧化的新方法,该法具有选择性高、产品纯度高的优点。Melnikova N等^[11]以浓硫酸、丙酮为氧化剂,以氧化铝为固体载体,以Cr(VI)为催化剂在室温下反应制备BA,其产率可高达93%~98%。目前,BA的水溶性低是其在临床应用中面临的难题之一,而其结构中的A、B、C环和C-28位羧基(见图1)在抗癌活性中起着重要作用,提示可通过对C-3、C-28位进行修饰来增加其水溶性和抗癌活性。Dangroo NA等^[12]通过一价铜[Cu(I)]催化的1,3-偶极环加成反应合成了BA的一系列C-28位三唑衍生物,结果显示在C-28位引入游离羟基和游离羧基的衍生物抗肿瘤活性显著提高,但引入非极性烷基的衍生物活性则明显丧失。然而,引入极性羧基会导致BA衍生物的溶解度和生物利用度降低的问题,所以有研究者合成了BA的水溶性衍生物——Barbara,还有研究者通过引入新的基团来增强BA的药理活性^[13]。Bebenek E等^[14]合成了一系列白桦脂醇和BA的乙酰基衍生物,结果发现羧基上引入含有三键的取代基能够增强其衍生物的细胞毒性。Gupta N等^[15]设计合成了BA的亚苄基衍生物,并对其作用于5种肿瘤细胞的毒性进行了评价,结果表明C-2位是进行修饰的有利位点。而在BA结构中引入杂环也会改变其抗肿瘤活性,其芳香族N-杂环衍生物对肿瘤细胞生长的抑制作用减弱,其饱和N-杂环衍生物的抗肿瘤活性则增强^[16]。

聚乙二醇偶联药物后能提高不溶性药物溶解度、延长药物体内循环时间、改变药物的体内分布等。Saneja A等^[17]将BA的C-28位羧基与聚乙二醇胺基团通过共价偶联反应,合成了苯甲氧基聚乙二醇偶联物(MPEG-BA)。通过体内研究证实,与天然BA相比,MPEG-BA静脉注射后可使艾氏腹水瘤模型小鼠的肿瘤体积显著

减小,且未表现出生化或组织学毒性。也有研究者通过在BA的C-3位与多臂聚乙二醇发生酯化反应合成衍生物来增强其对肺癌的治疗效果^[18]。

1.3 生物转化法

近年来,以白桦脂醇为原料合成BA的途径还有生物转化,即通过微生物或其代谢过程中产生的酶对底物进行结构修饰;与化学合成相比,生物转化具有绿色无污染、条件温和、更具有立体和区域选择性等优势。Kumar D等^[19]从天然菌株中分离筛选出的 *Bacillus megaterium* (KD235) 可对白桦脂醇的C-28位进行结构修饰而制得BA;在优选的条件下,平均转化率最高可达22.16%。但是,目前BA的天然微生物转化仍存在转化率、生产率较低的问题,无法满足大生产需求,而合成生物学和代谢工程技术的迅速发展为BA的微生物高效转化提供了新途径。Wu J等^[20]将苜蓿中的细胞色素P₄₅₀酶(CYP)716A12基因和拟芥兰中的CYPAR1基因导入酵母菌后构建出新的工程菌,并以白桦脂醇为原料进行微生物转化,结果显示BA转化率提高,其最高产率为18.7%。Chen Z等^[21]从白桦树中分离出一种新的底物酶基因(*Bplo*),与之前已经报道的CYP基因相比,*Bplo*在促进BA生物转化方面的活性更高。同时,研究者还比较了两种不同酵母菌种对BA转化效率的影响,结果显示WAT11菌株对BA的转化能力优于CEN.PK菌株;在此基础上构建了WAT11菌株的Gal80p突变体,其对BA的转化效率为野生型菌株的2.2倍。此外,还有研究者通过培养不同种属植物的愈伤组织来诱导生产BA,结果发现罗勒属(*Ocimum*)植物的愈伤组织可作为BA的生产来源^[22]。

近年来,也有学者以白桦脂醇和BA为底物对其进行微生物转化从中筛选得出高活性的BA衍生物。例如Goswami A等^[23]选用了芽孢杆菌属、链霉菌属、分枝杆菌属、曲霉属等多种细菌和真菌作为转化菌株,结果发现大部分微生物转化会使BA的C-2、C-3、C-7、C-15、C-23、C-25、C-30位的甲基发生羟基化和氧化反应而转化生成相应衍生物。李会伟等^[24]对莲藕中的BA进行微生物转化,筛选得到了1株具有转化BA功能的菌种 *Bacillus amyloliquefaciens* (FJ18),并通过该菌种转化获得了3种BA衍生物,其中2种为新化合物;进一步的体外试验显示,这3种衍生物对多种肿瘤细胞均有抑制作用。

2 BA及其衍生物的药理作用

2.1 抗肿瘤作用

BA及其衍生物对肺癌、结肠癌、乳腺癌、黑色素瘤、慢性粒细胞白血病等多种肿瘤细胞具明显的细胞毒性,能有效地抑制其生长,且毒副作用小,是一类具有广阔前景的抗肿瘤药物^[25]。有研究报道,BA对神经母细胞

瘤、髓母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤等多种神经外胚层肿瘤细胞具有细胞毒性,与现有的化疗药物相比,BA作用后能明显提高细胞死亡率,提示其有望开发为治疗神经外胚层肿瘤的新药^[26]。研究发现的BA抗肿瘤作用机制目前主要有以下几种:(1)诱导凋亡:BA诱导凋亡的机制有多种,包括激活Caspase-8和Caspase-3,诱导线粒体膜电位变化,激活核因子κB(NF-κB),应激诱导转录激活的关键调节因子,促进丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)的激活和活性氧(ROS)的产生^[27-28]。例如BA可与紫杉醇发挥协同作用,诱导细胞阻滞于G₂/M期和凋亡;其联合作用机制为直接靶向作用于葡萄糖调节蛋白78(GRP78)受体,激活内质网介导的细胞凋亡来增强乳腺癌细胞对紫杉醇的敏感性^[29]。(2)抑制拓扑异构酶活性:拓扑异构酶是作用于DNA拓扑结构的一种异构酶,能够催化DNA的断裂与结合。BA可抑制拓扑异构酶I和DNA的相互作用,分别对BA的C-3、C-17、C-20位进行结构修饰,结果显示C-17位的羧基被取代后其对拓扑异构酶I的抑制作用减弱,而脱羧后则活性完全丧失^[30]。另一方面,BA及其衍生物对DNA拓扑异构酶II也有抑制作用。Wada S^[31]从秋枫(*Bischofia javanica*)的树皮中分离出的BA及其衍生物均能抑制拓扑异构酶II的催化活性,而BA的C-3位羟基酯化后对拓扑异构酶II的抑制作用增强。(3)抑制血管生长:抗血管生成药物能够抑制肿瘤血管的生长和发育,从而限制肿瘤的生长。BA主要通过细胞毒性来降低线粒体的还原电位,从而调节线粒体功能来发挥对血管生长的抑制作用,而其对在血管生成中起重要作用的氨基肽酶N则无影响^[32]。在某些情况下,BA的衍生物具有更强的细胞毒性,例如20,29-二氢-BA衍生物较之于BA或其他衍生物具有更强的抗血管生成活性^[33]。

BA不仅能通过多种作用机制直接发挥抗肿瘤作用,还能通过与其他抗肿瘤药联合用药以增强疗效或降低毒副作用等间接发挥抗肿瘤作用。BA的某些衍生物表现出优良的抗肿瘤活性,其结构的改变会显著影响其作用机制和效果。因此,应将化学结构、药理作用和作用机制的研究相结合,以设计合成出高活性的BA衍生物用于抗肿瘤治疗。

2.2 抗炎作用

大部分五环三萜类化合物都具有抗炎效果,BA及其衍生物的抗炎作用已在大量的体外和体内研究中得到证实。BA可影响与炎症相关的多种细胞因子和信号通路,通过多种途径发挥抗炎作用。白桦脂醇和BA都是在较高浓度下具有温和的抗炎作用,其对叉菜胶、佛波醇、苔藓抑素1导致的小鼠炎症有抑制作用,但对花生四烯酸诱导的炎症以及神经源性炎症模型无抑制作用;

其抗炎作用主要归因于对非神经基因路径的抑制^[34]。Costa JF等^[35]采用内毒素休克小鼠模型评价BA的抗炎作用,结果发现BA能够抑制巨噬细胞分泌促炎因子,而对白细胞介素6(IL-6)无明显影响,但能升高小鼠血清中IL-10的水平。但Viji V等^[36]研究发现,BA可以通过调节人外周血单个核细胞中的NF- κ B来抑制脂多糖诱导的IL-6的产生。BA衍生物也具有明显抗炎作用,例如BA乙酰衍生物的抗炎效果明显优于BA和吡嗪美辛,其对超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的抑制作用最强^[37]。Zhou Y等^[38]对自身免疫肝炎模型小鼠预先注射白桦脂醇20 mg/(kg·d)进行治疗,结果显示小鼠体内促炎因子如干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和IL-6的水平显著降低,肝损伤程度明显减轻。

以上研究表明,BA及其衍生物具有良好的抗炎作用,其机制主要是抑制NF- κ B和促炎因子的释放。

2.3 抗病毒作用

BA及其衍生物对病毒尤其是对HIV具有抗病毒作用。BA能通过阻止Gag蛋白的衣壳间隔肽的断裂来阻断HIV的成熟,从而导致宿主细胞释放不具感染能力的失活病毒^[39]。BA衍生物Bevirimat则是通过抑制病毒成熟这一作用机制起到抗HIV作用,目前正处于艾滋病治疗的III期临床试验阶段^[40]。对BA的C-3、C-28、C-30位进行结构修饰可增强其抗HIV活性。如Liu Z等^[41]设计合成了C-3位脱氧、C-3位苯基和杂环取代的BA衍生物,结果证实其均具有良好的抗病毒作用,与Beverimat相比具有更低的血清迁移率。为了提高BA水溶性,Visalli RJ等^[42]在BA的C-28位羧基处引入极性基团制备了4种离子衍生物,并考察了其对HIV-1蛋白酶的抑制作用,结果发现4种离子衍生物均能增加水溶性、提高生物效能。Bori ID等^[43]设计了一种通过点击化学连接齐多夫定与BA的方法,新形成的BA衍生物具有较强的抗HIV作用,其半数有效浓度(EC₅₀)为0.067 μ mol/L,与齐多夫定(EC₅₀=0.10 μ mol/L)效果相当。这种通过三唑键的连接方式为具有抗HIV活性的新型BA衍生物的合成提供了新思路。此外,BA还有抗疱疹病毒的作用,特别是对临床最常见的单纯疱疹病毒1(HSV-1)。在细胞感染HSV-1病毒前采用BA预处理,能有效抑制对阿昔洛韦敏感和对阿昔洛韦耐药HSV-1病毒株,表现出较强的抗疱疹病毒活性^[44]。此外,近年来还发现BA对丙肝病毒、流感病毒、艾柯病毒、EB病毒等也有抗病毒作用^[45]。

BA及其衍生物是一类很有潜力的抗病毒化合物,其对多种病毒尤其是HIV的抗病毒作用机制仍在持续研究中。可通过对该类化合物的结构进行优化,以增强其抗病毒作用。

2.4 抗糖尿病作用

BA是治疗2型糖尿病的潜在降糖剂,其能够调节血

糖水平、增加胰岛素敏感性、诱导胰岛素分泌、增加肌组织糖原含量和葡萄糖摄取^[46]。BA能抑制肝脏葡萄糖生成和相关基因表达水平,从而降低血糖水平^[47]。Castro AJ等^[48]研究发现,BA是通过刺激葡萄糖转运蛋白4(GLUT 4)的合成和转运来调节血糖,且不会引起高钙血症。BA能提高小鼠葡萄糖摄取率和有氧糖酵解率,使葡萄糖摄取量增加约50%^[49]。G蛋白偶联受体5(TGR5)是一种G蛋白偶联受体,在肠道L细胞中表达并刺激胰高血糖素(GLP-1)的分泌,从而调节糖代谢,可能是治疗代谢紊乱的新靶点^[50]。BA是TGR5的激动剂,可通过激活TGR5受体增强细胞对葡萄糖的摄取^[51]。Wang XY等^[52]设计合成了一系列具有TGR5激活活性的BA衍生物,结果发现3- α -OH-衍生物的作用强于3- β -OH-衍生物,且前者的羟基键酯化后活性进一步增强。除此之外,BA对糖尿病肾病也具有保护作用,其能减轻链脲佐菌素诱导的糖尿病模型大鼠的肾脏炎症和纤维化^[53]。

以上研究表明,BA及其衍生物可通过调节糖代谢来降低血糖含量、增强对葡萄糖的摄取和糖原合成等机制发挥抗糖尿病作用。

2.5 抗高血脂作用

Xie R等^[53]研究发现,BA可降低高脂饮食诱导的肥胖模型小鼠的总胆固醇和三酰甘油水平。Kim J等^[54]研究发现,BA可以抑制猪胰脂肪酶和由环磷酸腺苷(cAMP)磷酸二酯酶介导的脂肪分解,减少脂质在小肠的吸收,增强脂肪动员。除了对脂肪的酯化作用外,体内和体外研究均证实BA能减少脂质的生成和累积^[55]。在体外细胞试验中,BA主要通过调节脂肪因子、激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路、增加钙调蛋白依赖性激酶的激酶(CaMKK)表达、下调哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和S6激酶蛋白表达,从而抑制肝脏脂质积聚;还能通过抑制脂肪形成早期阶段固醇调控元件结合蛋白1c(SREBP-1c)和过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (PPAR γ)等关键转录因子的表达来减少脂质的生成^[56]。在体内实验中,BA及其衍生物对酒精性和非酒精性脂肪肝模型动物均有治疗作用,可通过调节小鼠原代肝细胞的CaMKK-AMPK-mTOR-S6激酶途径和大鼠肝脏的CaMKK-AMPK-SREBP1信号通路来抑制三酰甘油的累积^[57]。

以上研究表明,BA及其衍生物可通过调节脂肪因子、减少脂质生成、降低三酰甘油和总胆固醇水平等机制发挥抗高血脂作用。

2.6 其他作用

BA对于多种原因引起的氧化损伤均有保护作用,能有效地减轻地塞米松所致的氧化损伤,其保护作用可

能部分通过氨基酸末端激酶(JNK)-p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号转导途径介导^[58]。BA对脑、肾和心脏等的缺血再灌注损伤均有保护作用^[59-60]。BA可通过激活转录激活因子3(STAT3)通路,抑制炎症NF-κB通路的活化和调控TNF-α、细胞间黏附分子1(ICAM-1)等炎症因子的表达,保护缺血后再灌注心肌细胞的损伤。BA还有良好的镇痛作用,能减轻醋酸和芥子油引起的小鼠内脏疼痛^[61]。此外,研究发现,BA预处理可以预防阿尔茨海默病所致的大鼠神经行为和长时程增强(LTP)缺陷,减轻大鼠海马神经元损伤^[62]。

3 结语

BA及其衍生物的制备方法主要包括植物提取法、化学合成法和生物转化法。其中,化学合成法是主要的制备方法,其产率和产品纯度均较高;而植物提取法以植物为原料,提取效率相对最低,主要适用于前期研究;生物转化法则是一种新兴的合成方式,具有绿色、选择性高的优点,但其产率较低,仍需进一步深入研究、优化其生产条件。

BA及其衍生物具有显著的抗肿瘤和抗病毒作用,对多种肿瘤细胞和病毒均有抑制/杀伤作用。其可通过多种作用机制直接发挥抗肿瘤作用,且对人癌细胞具有选择性的细胞毒性,具有良好的临床应用前景;还可与其他抗肿瘤药联合用药,通过增强疗效或降低毒副作用等方式间接起到抗肿瘤作用。近年来还发现BA具有免疫和代谢调节作用,即具有抗糖尿病、抗高血脂和抗炎等药理活性,提示BA在治疗代谢综合征方面具有良好的发展前景。此外,BA还有抗氧化应激、镇痛等其他药理作用。

然而,BA的水溶性较差、生物利用度低,直接作为药物在临床上应用有较大的局限性。对BA进行结构修饰获得的衍生物则具有良好的水溶性和药理活性。其结构改造主要有3个活性位置,即C-3、C-28、C-20位,在这几个位置上对BA进行结构修饰,可获得不同类型、药理活性更强的衍生物。同时,也可以白桦脂醇和BA为原料,直接进行生物转化,筛选得到高活性的衍生物。因此,在后续研究中,应进一步明确BA及其衍生物的结构关系,并侧重于开发具有良好药理学特性的高活性BA衍生物。此外,后续还可考虑采用不同的制剂方式、新型的给药系统或改变给药途径等方式来提高其药理学性质和药理活性。

参考文献

[1] LEE SY, KIM HH, PARK SU. Recent studies on betulinic acid and its biological and pharmacological activity[J]. *Excli J*, 2015. DOI: 10.17179/excli2015-150.
[2] 周亚敏, 林丽美, 夏伯候. 白桦脂酸制备方法和药理活性

研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(6): 978-985.

[3] YOGESHWARI P, SRIRAM D. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties[J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12(6): 657-666.
[4] DUBEY KK, GOEL N. Evaluation and optimization of downstream process parameters for extraction of betulinic acid from the bark of *Ziziphus jujubae* L.[J]. *Sci World J*, 2013. DOI: 10.1155/2013/469674.
[5] LI C, ZHANG Y, ZHAO C, et al. Ultrasonic assisted-reflux synergistic extraction of camptothecin and betulinic acid from *Camptotheca acuminata* Decne. fruits[J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1076-1088.
[6] PINILLA JM, LÓPEZ-PADILLA A, VICENTE G, et al. Recovery of betulinic acid from plane tree (*Platanus acerifolia*, L.) [J]. *J Supercrit Fluids*, 2014. DOI: 10.1016/j.supflu.2014.09.001.
[7] ARMBRUSTER M, MÖNCKEDIECK M, SCHERLIE R, et al. Birch bark dry extract by supercritical fluid technology: extract characterisation and use for stabilisation of semisolid systems[J]. *Appl Sci*, 2017, 7(3): 292-305.
[8] LIU J, CHEN P, YAO W, et al. Subcritical water extraction of betulinic acid from birch bark[J]. *Ind Crops Prod*, 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.05.064.
[9] KIM DS, PEZZUTO JM, PISHA E. Synthesis of betulinic acid derivatives with activity against human melanoma[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 29(47): 1707-1712.
[10] ALAKURTTI S, MÄKELÄ T, KOSKIMIES S, et al. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 29(1): 1-13.
[11] MELNIKOVA N, BURLOVA I, KISELEVA T, et al. A practical synthesis of betulonic acid using selective oxidation of betulin on aluminium solid support[J]. *Molecules*, 2012, 17(10): 11849-11863.
[12] DANGROO NA, SINGH J, RATH SK, et al. A convergent synthesis of novel alkyne-azide cycloaddition congeners of betulinic acid as potent cytotoxic agent[J]. *Steroids*, 2017. DOI: 10.1016/j.steroids.2017.04.002.
[13] EIGNEROVA B, TICHY M, KRASULOVA J, et al. Synthesis and antiproliferative properties of new hydrophilic esters of triterpenic acids[J]. *Eur J Med Chem*, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.09.041.
[14] BĘBENEK E, CHROBAK E, WIETRZYK J, et al. Synthesis, structure and cytotoxic activity of acetylenic derivatives of betulonic and betulinic acids[J]. *J Mol Struct*, 2016. DOI: 10.1016/j.molstruc.2015.10.102.
[15] GUPTA N, RATH SK, QAYUM A, et al. Synthesis of novel benzylidene analogues of betulinic acid as potent cyto-

- toxic agents[J]. *Eur J Med Chem*, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.04.062.
- [16] CUI HW, YUAN H, WANG J, et al. Synthesis of heterocycle-modified betulinic acid derivatives as antitumor agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2015. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.03.048.
- [17] SANEJA A, SHARMA L, DUBEY RD, et al. Synthesis, characterization and augmented anticancer potential of PEG-betulinic acid conjugate[J]. *Mater Sci Eng: C*, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2016.12.109.
- [18] DAI L, LI D, CHENG J, et al. Water soluble multi-arm-polyethylene glycol-betulinic acid prodrugs: design, synthesis, and in vivo effectiveness[J]. *Polym Chem: UK*, 2014. DOI: 10.1039/C4PY00648H.
- [19] KUMAR D, DUBEY KK. An efficient process for the transformation of betulin to betulinic acid by a strain of *Bacillus megaterium*[J]. *Biotech*, 2017, 7(3): 157–167.
- [20] WU J, NIU Y, BAKUR A, et al. Cell-free production of pentacyclic triterpenoid compound betulinic acid from betulin by the engineered *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1075–1088.
- [21] CHEN Z, LI J, LI C, et al. Improvement of betulinic acid biosynthesis in yeast employing multiple strategies[J]. *BMC Biotechnol*, 2016, 16(1): 59–65.
- [22] PANDEY H, PANDEY P, SINGH S, et al. Production of anti-cancer triterpene (betulinic acid) from callus cultures of different *Ocimum* species and its elicitation[J]. *Protoplasma*, 2015, 252(2): 647–655.
- [23] GOSWAMI A, GUO Z, TULLY TP, et al. Microbial transformations of betulinic and betulonic acids[J]. *J Mol Catal B: Enzym*, 2015. DOI: 10.1016/j.molcatb.2015.04.012.
- [24] 李会伟, 段金殿, 刘培, 等. 莲藕中白桦脂酸的微生物转化及其产物的抗肿瘤活性研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2017, 33(2): 144–149.
- [25] MULLAUER FB, VAN BL, DAALHUISEN JB, et al. Betulinic acid delivered in liposomes reduces growth of human lung and colon cancers in mice without causing systemic toxicity[J]. *Anticancer Drugs*, 2011, 22(3): 223–233.
- [26] FULDA S, DEBATIN KM. Betulinic acid induces apoptosis through a direct effect on mitochondria in neuroectodermal tumors[J]. *Med Pediatr Oncol*, 2015, 35(6): 616–618.
- [27] 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): 622–627.
- [28] XU T, PANG Q, WANG Y, et al. Betulinic acid induces apoptosis by regulating PI3K/Akt signaling and mitochondrial pathways in human cervical cancer cells[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(6): 1669–1678.
- [29] CAI Y, ZHENG Y, GU J, et al. Betulinic acid chemosensitizes breast cancer by triggering ER stress-mediated apoptosis by directly targeting GRP78[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 636–651.
- [30] CHOWDHURY AR, MANDAL S, MITTRA B, et al. Betulinic acid, a potent inhibitor of eukaryotic topoisomerase I: identification of the inhibitory step, the major functional group responsible and development of more potent derivatives[J]. *Med Sci Monit*, 2002, 8(7): 254–264.
- [31] WADA S. Betulinic acid and its derivatives, potent DNA topoisomerase II inhibitors, from the bark of *Bischofia javanica*[J]. *Chem Biodivers*, 2010, 2(5): 689–694.
- [32] SHIN J, LEE HJ, JUNG DB, et al. Suppression of STAT3 and HIF-1 alpha mediates anti-angiogenic activity of betulinic acid in hypoxic PC-3 prostate cancer cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): 214–223.
- [33] KWON HJ, SHIM JS, KIM JH, et al. Betulinic acid inhibits growth factor-induced in vitro angiogenesis via the modulation of mitochondrial function in endothelial cells [J]. *Cancer Sci*, 2002, 93(4): 417–425.
- [34] HUGUET A, DEL CARMEN RECIO M, MÁÑEZ S, et al. Effect of triterpenoids on the inflammation induced by protein kinase C activators, neuronally acting irritants and other agents[J]. *Eur J Pharmacol*, 2000, 410(1): 69–81.
- [35] COSTA JF, BARBOSA-FILHO JM, MAIA GL, et al. Potent anti-inflammatory activity of betulinic acid treatment in a model of lethal endotoxemia[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23(2): 469–474.
- [36] VIJI V, HELEN A, LUXMI VR. Betulinic acid inhibits endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and pro-inflammatory prostaglandin E2 production in human peripheral blood mononuclear cells[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 162(6): 1291–1303.
- [37] OSUNSANMI FO, SHODE FO, OPOKU AR. Anti-inflammatory activity of betulinic acid and its acetyl derivative from *Melaleuca bracteata*[J]. *S Afr J Bot*, 2016. DOI: 10.1016/j.sajb.2016.02.146.
- [38] ZHOU Y, WENG X, DOU R, et al. Betulin from *Hedyotis hedyotide* ameliorates concanavalin A-induced and T cell-mediated autoimmune hepatitis in mice[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(2): 201–210.
- [39] LI F, GOILA-GAUR R, SALZWEDEL K, et al. PA-457: a potent HIV inhibitor that disrupts core condensation by targeting a late step in gag processing[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(23): 13555–13560.
- [40] ZAN LI, JINYI XU, XIE W, et al. Advances in research on betulinic acid derivatives as anti-HIV agents[J]. *Prog*

- [41] LIU Z, SWIDORSKI JJ, NOWICKA-SANS B, et al. C-3 benzoic acid derivatives of C-3 deoxybetulinic acid and deoxybetulin as HIV-1 maturation inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24(8): 1757–1770.
- [42] VISALLI RJ, ZIOBROWSKI H, BADRI KR, et al. Ionic derivatives of betulinic acid exhibit antiviral activity against herpes simplex virus type-2 (HSV-2), but not HIV-1 reverse transcriptase[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(16): 3168–3171.
- [43] BORI ID, HUNG HY, QIAN K, et al. Anti-AIDS agents 88. Anti-HIV conjugates of betulin and betulinic acid with AZT prepared via click chemistry[J]. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53(15): 1987–1989.
- [44] NAVID MH, LASZCZYK-LAUER MN, REICHLING J, et al. Pentacyclic triterpenes in birch bark extract inhibit early step of herpes simplex virus type 1 replication[J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(11): 1273–1280.
- [45] PAVLOVA NI, SAVINOVA OV, NIKOLAEVA SN, et al. Antiviral activity of betulin, betulinic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses[J]. *Fitoterapia*, 2003, 74(5): 489–492.
- [46] SILVA FSG, OLIVEIRA PJ, DUARTE MF. Oleanolic, ursolic, and betulinic acids as food supplements or pharmaceutical agents for type 2 diabetes: promise or illusion? [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(15): 2991–3008.
- [47] KIM SJ, QUAN HY, JEONG KJ, et al. Beneficial effect of betulinic acid on hyperglycemia via suppression of hepatic glucose production[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(2): 434–442.
- [48] CASTRO AJ, FREDERICO MJ, CAZAROLLI LH, et al. Betulinic acid and 1, 25(OH)₂ vitamin D₃ share intracellular signal transduction in glucose homeostasis in soleus muscle[J]. *Int J Bio Chem Cell Biol*, 2014, 48(1): 18–27.
- [49] HEISS EH, KRAMER MP, ATANASOV AG, et al. Glycolytic switch in response to betulinic acid in non-cancer cells[J]. *Plos One*, 2014, 9(12): e115683.
- [50] POLS TWH, NORIEGA LG, NOMURA M, et al. The bile acid membrane receptor TGR5: a valuable metabolic target [J]. *Dig Dis*, 2011, 29(1): 37–44.
- [51] LO SH, CHENG KC, LI YX, et al. Development of betulinic acid as an agonist of TGR5 receptor using a new in vitro assay[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016. DOI: 10.2147/DDDT.S113197.
- [52] WANG XY, ZHANG SY, JING L, et al. Highly lipophilic 3-epi-betulinic acid derivatives as potent and selective TGR5 agonists with improved cellular efficacy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(11): 1463–1472.
- [53] XIE R, ZHANG H, WANG XZ, et al. The protective effect of betulinic acid (BA) diabetic nephropathy on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats[J]. *Food Funct*, 2016, 8(1): 299–306.
- [54] KIM J, LEE YS, KIM CS, et al. Betulinic acid has an inhibitory effect on pancreatic lipase and induces adipocyte lipolysis[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(7): 1103–1106.
- [55] LEE WS, IM KR, PARK YD, et al. Human ACAT-1 and ACAT-2 inhibitory activities of pentacyclic triterpenes from the leaves of *Lycopus lucidus* TURCZ[J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(2): 382–384.
- [56] BRUSOTTI G, MONTANARI R, CAPELLI D, et al. Betulinic acid is a PPAR γ antagonist that improves glucose uptake, promotes osteogenesis and inhibits adipogenesis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5777–5783.
- [57] QUAN HY, KIM DY, KIM SJ, et al. Betulinic acid alleviates non-alcoholic fatty liver by inhibiting SREBP1 activity via the AMPK-mTOR-SREBP signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(9): 1330–1340.
- [58] ZHU L, XIANGLIAN YI, ZHAO J, et al. Mechanism of betulinic acid on oxidative stressed mice induced by dexamethasone[J]. *Chin J Anim Nutr*, 2018, 30(3): 1035–1043.
- [59] JIAO S, ZHU H, HE P, et al. Betulinic acid protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.028.
- [60] EKSIOLU-DEMIRALP E, KARDAS ER, OZGUL S, et al. Betulinic acid protects against ischemia/reperfusion-induced renal damage and inhibits leukocyte apoptosis[J]. *Phytother Res*, 2010, 24(3): 325–332.
- [61] KALRA J, LINGARAJU MC, MATHESH K, et al. Betulinic acid alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis and visceral pain in mice[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2018, 391(39): 1–13.
- [62] NAVABI SP, SARKAKI A, MANSOURI E, et al. The effects of betulinic acid on neurobehavioral activity, electrophysiology and histological changes in an animal model of the Alzheimer's disease[J]. *Behav Brain Res*, 2017. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.10.002.

(收稿日期: 2018-07-17 修回日期: 2018-12-25)

(编辑: 段思怡)