

不同菌种中天然麦角甾醇及其衍生物的研究进展

冯鸿霞¹ 史敏^{1*} 樊国涛² 杨慧³

1 西安培华学院 2 山东新和成药业有限公司 3 西安科技大学化学与化工学院

DOI:10.12238/as.v8i1.2661

[摘要] “麦角甾醇”又称“麦角固醇”,是真菌类的特征甾醇,1889年首次分离到。本文综述了近十年来,从不同菌种中定量检测分析麦角甾醇的方法以及其生理功能方面的研究进展,为进一步深入开发利用麦角甾醇及其衍生物提供参考。

[关键词] 麦角甾醇; 天然菌种; 研究进展

中图分类号: Q93-34 **文献标识码:** A

Research progress of natural ergosterol and its derivatives in different strains

Hongxia Feng¹ Min Shi^{1*} Guotao Fan² Hui Yang³

1 Xi'an Peihua University 2 Shandong Xinhe Pharmaceutical Co., Ltd.

3 College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Science and Technology

[Abstract] “ergosterol” is the characteristic sterol of fungi, which was first isolated in 1889. In this paper, it reviews the research progress on quantitative detection and analysis of ergosterol from different bacterial strains in the past decade, as well as its physiological functions, providing reference for further development and utilization of ergosterol and its derivatives.

[Key words] ergosterol; natural strains; research progress

引言

麦角甾醇是大型真菌中普遍存在的甾体类化合物,也是真菌类的特征甾醇,主要存在于绝大多数的真菌细胞膜中^[1],维系着真菌细胞的正常代谢^[2],可以增强人体抵抗疾病的能力,是重要的脂溶性维生素D2来源^[3]。

1 麦角甾醇的含量测定

1.1 紫外分光光度法

张嘉昕等^[4]通过试验选取在波长为292nm时测定金针菇粉末中的麦角甾醇含量,经过稳定性实验结果RSD为1.07,经过重复性实验测得金针菇粉末中麦角甾醇的平均含量为10.886mg/g, RSD为2.47%。

李南臻等^[5]通过实验选取282nm作为测定波长,测定米曲霉废菌丝体中麦角甾醇含量,经实验证明在0.005-0.025mg/mL范围内线性关系良好,相关系数为0.99979,经过稳定性实验计算得RSD值为1.03%。

1.2 高效液相色谱法

杨帅等^[6]采用高效液相色谱法在波长为284nm检测点柄乳牛肝菌中麦角甾醇的含量。实验结果表明,麦角甾醇在0.64 μg-12.80 μg范围内呈良好的线性关系, R=0.9992,麦角甾醇的平均回收率均为98.19%, RSD为2.04%。

相聪坤等^[7]以麦角甾醇为测定指标,建立了马勃中麦角甾

醇的提取方法和高效液相色谱测定方法,实验结果表明不同品种和产地的马勃中麦角甾醇范围为0.0099%-0.1503%。

叶明良等^[8]建立了高效液相色谱-蒸发光散射法定海洋真菌Aspergillus sp.中过氧麦角甾醇含量的方法,过氧麦角甾醇在2.5-40 μg/mL内,线性关系良好,平均加样回收率为100.1%,精密度试验RSD值为1.9%,重复性试验RSD值为1.61%,稳定性试验RSD值为1.46%。

郭华等^[9]建立了高效液相色谱测定蘑菇中麦角甾醇含量的方法,结果表明,麦角甾醇在0.04-0.5mg线性良好, R=0.9996,样品加标平均回收率为99.6%, RSD=1.03%,共测定11种蘑菇中麦角甾醇含量,香菇含量最高为482.5mg/100g。

董笑菲^[10]通过样品处理及检测条件优化,建立发酵冬虫夏草菌丝粉麦角甾醇的高效液相色谱法检测方法,结果显示,样品平均加标回收率为97.40%-99.70%,相对标准偏差为0.79%。

王晓琴等^[11]建立了真菌及其制品中麦角甾醇含量测定的高效液相色谱法,并利用建立的高效液相色谱法对冬虫夏草、破壁灵芝孢子粉等真菌及其制品以及螺旋藻、大豆油等6种植物油样品进行麦角甾醇含量的测定。结果显示,麦角甾醇在5-160 μg/mL范围内具有较好的线性,线性相关系数大于0.999,检出限为0.1 μg/mL,平均回收率为86.32%-105.24%。

刘书余等^[12]建立同时测定地顶孢霉培养物中腺苷、虫草素

和麦角甾醇含量的高效液相色谱法,并对3种化合物的提取条件进行了优化,地顶孢霉培养物中腺苷、虫草素和麦角甾醇的加标回收率分别为95.96%–99.95%、97.43%–99.94%、96.31%–99.95%,其相对标准偏差分别为1.39%、0.70%和1.01%。

尹昭晔等^[13]建立柳蘑中抗菌成分麦角甾醇含量的高效液相色谱测定方法,实验结果麦角甾醇在质量浓度0.0225–1.1227 mg/mL线性关系良好平均回收率为100.48%,RSD为1.38%。

1.3 超高效液相色谱法

叶火春等^[14]通过测定 α -倒捻子素对芒果炭疽病菌菌丝生长毒力,建立超高效液相色谱法分析其对菌丝麦角甾醇含量的影响。通过采用超高效液相色谱法检测,麦角甾醇的保留时间为2.58min,在2.5–100mg/L时线性相关系数为0.9999,平均回收率为85.72%,相对标准偏差为4.24%。

曾敏芳等^[15]建立超高效液相色谱法测定黑木耳中麦角甾醇含量的方法,结果显示麦角甾醇在0.0016–0.08mg/mL范围内呈良好的线性关系,平均回收率为100.89%,RSD值为0.55%。

1.4 核壳色谱技术

周妙霞等^[16]采用核壳色谱技术建立冬虫夏草中麦角甾醇的快速定量分析方法,该方法可在15min内完成冬虫夏草中麦角甾醇的测定(10min样品提取和5min色谱分析)。麦角甾醇在7.869–4.43 μ g/mL范围内的线性关系良好,相关系数为1.0000;精密性、重复性良好,RSD均小于3.0%;加样回收率为97.2%。

1.5 核磁共振氢谱

傅利军等^[17]选择氘代氯仿作为溶剂、吡嗪作为内标物,建立3种食用菌(鸡油菌、茶树菇、虫草)麦角甾醇的定量检测方法。在 δ 0.63处的质子单峰C-18H作为麦角甾醇的目标定量特征峰;经方法学评价,在0.55–5.30mg/mg范围内,回归方程线性关系良好,相关系数 R^2 为0.9997,检出限和定量限分别为0.0018mg/mL与0.0450mg/mL;平均加标回收率为103.4919%,方法的精密性与稳定性相对标准偏差均小于2%。

2 麦角甾醇及其衍生物的生理活性研究

2.1 体外抗血小板聚集作用

冯利等^[18]采用家兔体外血小板聚集实验方法,观察结果显示麦角甾醇对二磷酸腺苷、胶原蛋白、花生四烯酸、凝血酶抑制作用的半数抑制浓度(IC₅₀值)分别为(19.3 \pm 0.8), (23.4 \pm 1.2), (26.7 \pm 0.7), (32.9 \pm 1.5) μ mol/L。麦角甾醇能显著抑制血小板聚集及其功能活化,且可能与cAMP含量变化及P2Y₁₂受体有关,推测其可能为麦角甾醇抗血小板聚集作用的靶点。

2.2 抗炎作用

葛金林^[19]等,通过选取50只雄性BABL/c小鼠随机分为5组:空白对照组、模型组、地塞米松组(2mg/kg)、麦角甾醇低剂量组(20mg/kg)、麦角甾醇高剂量组(40mg/kg)来研究麦角甾醇对LPS诱导的小鼠急性肺损伤的抗炎作用,结果表明麦角甾醇20、40mg/kg能显著提升LPS诱导的急性肺损伤小鼠血清SOD水平,降低MDA含量;麦角甾醇对LPS诱导的急性肺损伤小鼠有保护作用,其作用可能与Rho/ROCK/NF- κ B信号通路有关。

2.3 抗肿瘤作用

张磊等^[20]通过MTT法测试橙盖鹅膏菌中过氧麦角甾醇对细胞增殖的抑制情况,倒置显微镜下观察细胞形态,DAPI染色法观察细胞核形态,AnnexinV/PI双染流式细胞术测定细胞早期凋亡率,PI单染流式细胞术测定细胞周期,发现在93.95–3003.00 μ g/mL范围内,不同浓度过氧麦角甾醇对SKOV3细胞增殖具有明显抑制作用。

罗禹等^[21]以卵巢癌A2780S细胞为研究对象,发现从橙盖鹅膏菌中分离得到的过氧麦角甾醇对人卵巢癌A2780S细胞具有一定的抑制作用,呈明显的剂量和时间依赖性,过氧麦角甾醇使A2780S细胞出现早期凋亡形态,使细胞S期比例明显提高,阻滞细胞从G₁期到G₂期的转化,延缓细胞周期的发展,且呈浓度依赖关系。

张宏宇等^[22]采用MTT法检测0(空白对照)、1.25、2.5、5、10、20、40 μ mol/L过氧化麦角甾醇衍生物EP-3P作用于MDA-MB-231细胞24、48、72h后细胞的增殖情况,研究过氧化麦角甾醇衍生物EP-3P对人三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖、迁移和侵袭的影响,结果显示与空白对照比较,2.5、5、10、20、40 μ mol/L/EP-3P均可显著升高细胞的增殖抑制率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且呈浓度和时间依赖趋势。

蒲艳芬等^[23]以家蚕蛹虫草(海宁株)子实体提取分离获得的麦角甾醇和虫草素为原料,开展联合给药(麦角甾醇:虫草素=3:2)的小鼠急性毒性试验,进一步构建Lewis肺癌和H22肝癌荷瘤小鼠模型,以环磷酰胺作为阳性对照,根据Bliss方法计算急性毒性试验数据,获得联合给药的LD₅₀为3.98g/kg。药效试验结果表明,联合给药剂量在67–600mg/kg内时,抑瘤率随给药剂量的升高而增强;当给药剂量为600mg/kg时,与模型组相比,对小鼠肺癌和肝癌的抑制率最高,分别为50%和46%,其对小鼠Lewis肺癌模型的疗效优于环磷酰胺,然而,对小鼠H22肝癌肿瘤模型的效果与环磷酰胺无明显差异。

吴梅佳等^[24]通过设细胞对照组、麦角甾醇15.75–252 μ mol/L组、顺铂16.75–268 μ mol/L组及麦角甾醇15.75–252 μ mol/L+顺铂33.5 μ mol/L组,分别作用12、24、48和72h,MTT法检测细胞存活来研究麦角甾醇与顺铂联合用药对人肺癌A549细胞增殖的抑制作用,结果表明麦角甾醇15.75–252 μ mol/L+顺铂33.5 μ mol/L各浓度组细胞存活抑制率相较于麦角甾醇等浓度15.75–252 μ mol/L及顺铂(33.5 μ mol/L)组均有不同程度的提高。ERG31.5 μ mol/L+顺铂33.5 μ mol/L组出现凋亡样的细胞数量及凋亡率明显高于二者单用($P < 0.01$)。

2.4 降脂作用

崔丹丹^[25]以麦角甾醇为受试物,以高胆固醇饮食SD大鼠为动物模型,考察了不同剂量麦角甾醇对大鼠胆固醇代谢的影响。结果显示,0.5%、1.5%麦角甾醇均可降低大鼠血清、肝脏及粪便胆固醇的含量。麦角甾醇可以竞争性抑制胆固醇进入胶束,从而影响胆固醇的吸收。荧光定量PCR分析表明,0.5%、1.5%麦角甾醇均可上调肝脏胆固醇代谢相关基因SREBP-2、LDL-R和CYP7A1

的表达。杨皓瑜等^[26]通过体外试验证明麦角甾醇纯化产物可以降低胶束中胆固醇的溶解度,进而降低胆固醇利用率,发挥降胆固醇作用。两人研究结果一致。

2.5 合成VD₂

杨开^[27]等采用脉冲强光 (IPL) 与短波段紫外光 (UVC) 研究猴头菇、双孢菇、香菇、灰树花4种食用菌麦角甾醇提取液转化为VD₂, IPL与传统UVC光照处理均能有效促使麦角甾醇转化成VD₂, IPL光照处理VD₂的得率略低,但是,但IPL处理能针对性地促使麦角甾醇向VD₂转化,副产物生成量较少,降低了后期VD₂分离纯化及其产品研发的难度。

3 结语

近年来从不同真菌中麦角甾醇的提取和含量测定研究已经有了一些成果。其生理活性主要表现为抗炎、抗癌,但是这方面的研究相对较少,后续应加强其在临床方面的研究。

[基金项目]

2023年西安培华学院校级教育教学改革研究项目“基于BOPPPS的人体形态学课程“三段八环”教学模式研究与实践”(编号: PHJG2317); 2023年西安培华学院课程思政教学改革研究专项““PBL+BOPPPS”模式下人体形态学课程思政教学设计研究与实践”(编号: PHKCSZ202306)。

[参考文献]

[1]Reeslev M,Miller M,Nielsen K F.Quantifying mold biomass on gypsum board: comparison of ergosterol and beta-N-acetylhexosaminidase as mold biomass parameters [J].Appl Environ Microbiol,2003,69(7):3996-4003.

[2]Martha BA, Mainul H,RaunelT,etal.Effect of pollutants on the ergosterol content as indicator of fungal biomass [J].J Microbiol Methods,2002,50(12):227-236.

[3]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.

[4]张嘉昕,胡代花.UV法快速测定金针菇粉末中麦角甾醇的研究[J].广东化工,2016,22(43):19-20,51.

[5]李南臻,曾治国,王刚,等.紫外分光光度法快速测定废菌丝体中麦角甾醇的含量[J].食品与发酵科技,2021,57(3):157-160.

[6]杨帅,李开通,张艺轩,等.点柄乳牛肝菌中麦角甾醇的分离鉴定及含量测定[J].食品研究与开发,2010,31(9):131-133.

[7]相聪坤,宿树兰,关胜江,等.HPLC法测定不同产地不同品种马勃药材中麦角甾醇[J].中草药,2016,47(8):1397-1400.

[8]叶明良,张会群,陈俊,等.HPLC-ELSD测定海洋真菌Aspergillussp.中过氧麦角甾醇的含量[J].中国现代应用药学,2016,33(10):1312-1313,1346.

[9]郭华,刁全平,欧阳美娜,等.高效液相色谱法测定蘑菇中麦角甾醇的含量[J].鞍山师范学院学报,2017-08,19(4):38-40.

[10]董笑菲.HPLC法测定发酵冬虫夏草菌丝粉中麦角甾醇的含量[J].现代食品,2019(18):154-157.

[11]王晓琴,黄秀丽,陈月景,等.HPLC测定真菌及其制品中麦角甾醇的含量[J].农学报,2021,11(4):56-61.

[12]刘书余,陈晋元,孙清平,等.HPLC法同时测定地顶孢霉培养物中腺苷、虫草素和麦角甾醇含量[J].A扬州大学学报(农业与生命科学版),2022,43(6):111-117,132.

[13]尹昭晔,孔炯伟,赵婷,等.HPLC法测定柳蘑麦角含量甾醇[J].食用菌,2013,45(1):70-71,75.

[14]叶火春,陈敏,秦涵淳.UPLC法测定 α -倒捻子素对芒果炭疽病菌麦角甾醇含量的影响[J].农药,2017,56(11):815-818.

[15]曾敏芳,包海鹰,宋超,等.黑木耳的性状特征和膨胀度与麦角甾醇含量相关性研究[J].特产研究,2022,44(5):69-79.

[16]周妙霞,庄诗诗,李文庆.基于核壳色谱技术快速测定冬虫夏草中麦角甾醇的含量[J].今日药学,2021,31(10):733-736.

[17]傅利军,刘莉,张秀敏,等.核磁共振氢谱定量检测3种食用菌麦角甾醇[J].食品科学,2021,42(20):135-144.

[18]冯利,侯俊杰,程似锦.麦角甾醇体外抗血小板聚集作用[J].医药导报,2017,36(10):1116-1119.

[19]葛金林,曾余丰,钱骏敏,等.麦角甾醇对LPS诱导的肺损伤小鼠的抗炎作用研究[J].2017,20(12):1361-1365.

[20]张磊,杨薇,吴瑕,等.过氧麦角甾醇对人卵巢癌SKOV3细胞增殖的影响及机制[J].2015,31(2):17-19.

[21]罗禹,周静,吴瑕,等.橙盖鹅膏菌中过氧麦角甾醇对人卵巢癌A2780S细胞增殖的影响[J].应用与环境生物学报,2016,22(6):1108-1112.

[22]张宏宇,任文康,邹宇,等.过氧化麦角甾醇衍生物对人三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J].中国药房,2022,33(11):1355-1360.

[23]蒲艳芬,赵太均,许家倚,等.家蚕蛹虫草中麦角甾醇和虫草素联合抗肿瘤研究[J].食用菌与健康,2022,44(2):62-66.

[24]吴梅佳,黄挺,米完完,等.麦角甾醇与顺铂联合用药协同抑制人肺癌A549细胞增殖[J].中国药理学与毒理学,2018,32(6):433-440.

[25]崔丹丹.香菇麦角甾醇的降脂功效研究[D].镇江:江苏大学,2019.

[26]杨皓瑜,程艳芬,王胜男,等.香菇中麦角甾醇提取、表征及抗氧化、降胆固醇特性[J].食用菌学报,2023,30(2):75-84.

[27]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):049-0508.

作者简介:

冯鸿霞(1989--),女,汉族,山西晋中人,硕士研究生,实验师,助教,主要从事天然产物的提取与合成、实验室管理。