

王艳, 苑宏博, 董迎迎, 等. 桦褐孔菌子实体中三萜类化合物的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 416-422. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040158

WANG Yan, YUAN Hongbo, DONG Yingying, et al. Analysis on Research Status of Triterpenoids in Sporophore of *Inonotus obliquus* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 416-422. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040158

· 专题综述 ·

桦褐孔菌子实体中三萜类化合物的研究进展

王 艳¹, 苑宏博¹, 董迎迎¹, 李虹佳¹, 赵 宁¹, 辛嘉英^{1,2}, 张兰威³

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150076;

2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 羧基合成与选择氧化国家重点实验室, 甘肃兰州 730000;

3. 哈尔滨工业大学, 化工学院食品科学与工程系, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘 要: 桦褐孔菌是一种具有多种生物活性的天然植物真菌资源, 三萜类化合物是其主要功效成分, 因三萜类化合物具有优良的抗癌、降血糖和抗氧化等功能特性, 其相关研究开发近年来备受关注。本文主要从桦褐孔菌三萜类化合物的诱导发酵生产, 子实体三萜类化合物的分离纯化、化学组成及结构解析、功能特性和应用开发等方面对其研究现状进行总结分析, 其中, 诱导发酵生产方面使用植物共生微生物提取物作为诱导剂效果最为显著, 分离纯化技术根据目的不同各有优势, 在进行化学组成及结构解析时更适合采用分离效能高的分离纯化技术如高效逆流色谱、高效液相色谱等, 规模化应用则大孔树脂更具优势, 基于以上分析对其今后的研究方向进行了展望, 为后续开发研究和医药与食品行业应用提供了理论依据。

关键词: 桦褐孔菌, 子实体, 三萜类化合物, 抗癌, 降血糖, 抗氧化

中图分类号: S646.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)09-0416-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040158

本文网刊:



Analysis on Research Status of Triterpenoids in Sporophore of *Inonotus obliquus*

WANG Yan¹, YUAN Hongbo¹, DONG Yingying¹, LI Hongjia¹, ZHAO Ning¹, XIN Jiaying^{1,2}, ZHANG Lanwei³

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2. State Key Laboratory for Oxo Synthesis and Selective Oxidation, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

3. College of Chemical and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150076, China)

Abstract: *Inonotus obliquus* is a natural plant fungal resource with a variety of biological activities. Triterpenoids are the main functional components. Because triterpenoids have excellent anticancer, hypoglycemic and antioxidant properties, the related research and development has attracted much attention in recent years. In this paper, the current research status of *Inonotus obliquus* triterpenoid compounds are summarized and analyzed from the aspects of induction fermentation production, separation and purification of sporophore triterpenoid compounds, chemical composition and structure analysis, functional characteristics and application development, among which the use of plant commensal microbial extracts as inducers in induction fermentation production is the most significant. The separation and purification techniques have respective advantages according to different purposes. The separation and purification technologies with high separation efficiency such as high-performance counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography are more suitable for chemical composition and structure analysis, and macroporous resin has more advantages in large-scale application. Based on the above analysis, the future research direction is prospected, which provides a theoretical basis for subsequent development and research and application in that medicine and food industry.

收稿日期: 2021-04-15

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (LH2021C051); 哈尔滨商业大学青年创新人才项目青年后备人才专项 (2019CX33); 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项支撑行动计划 (2021ZX12B07) 的子课题 (2021ZX12B07-2); 中央支持地方高校改革发展资金人才培养支持计划项目 (高水平人才 (304017))。

作者简介: 王艳 (1984-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术和微生物发酵技术研究, E-mail: wangyan_123456@163.com。

Key words: *Inonotus obliquus*; sporophore; triterpenoids; anticancer; hypoglycemic; antioxidant activity

桦褐孔菌是一种生物活性优良的药食两用真菌^[1],其自然生长环境主要分布在低纬度地区,如俄罗斯及中国东北部等。国内主要分布在黑龙江大小兴安岭、吉林长白山、内蒙古、山西等地^[2]。虽然早在 400 年前就有关于桦褐孔菌入药的记载,但是有关于桦褐孔菌的深入研究是在上世纪 50 年代末才开始的^[3]。经过了近些年的开发研究,人们发现桦褐孔菌具有多种有利于人体的功能特性,美国、俄罗斯、日本、中国等国都有在进行褐孔菌功能特性的相关研究^[4]。目前,关于桦褐孔菌的研究主要分为桦褐孔菌野生子实体及人工培养两方面,因桦褐孔菌对土壤条件、森林类型、共生树种要求较高^[2],故野生桦褐孔菌资源较为有限,桦褐孔菌的人工培养在近些年已成为许多研究人员极为关注的研究方向。桦褐孔菌中包含 Fe、Mg、Ca 等常量元素在内的无机元素足有 22 种^[5],这 22 种无机元素均对人体无毒害作用,在无机元素角度看桦褐孔菌制品具有足够的食用安全性,且通过小鼠急性毒性试验、小鼠骨髓细胞微核试验、Ames 试验、小鼠精子畸形试验、大鼠 28 d 喂养试验及大鼠 90 d 喂养等试验探究桦褐孔菌的毒性作用,也证实了桦褐孔菌具有食用安全性属实际无毒级^[6]。除上述无机元素外,桦褐孔菌中还具有多种功效成分如三萜类化合物、多糖类化合物、多酚类化合物、甾体等物质,其中,桦褐孔菌中的三萜类化合物是桦褐孔菌中的主要功效成分之一,因其具有抗癌、降血糖、抗氧化等功效^[7],而备受国内外医药及食品行业关注。各国学者也一直在探索开发桦褐孔菌三萜类化合物的新功能性。目前,我国的桦褐孔菌开发与利用程度仍较为落后,市场上多数还停留在利用桦褐孔菌菌块泡水饮用阶段,其中的功效成分未被有效利用,但随着对桦褐孔菌三萜类化合物相关研究的进一步深入,桦褐孔菌三萜类化合物产业化的医疗产品与保健食品市场必然会得到大力的开发。故本文综述了国内外对桦褐孔菌三萜类化合物的人工诱导生成、提取分离纯化、结构及功能性研究等内容,以期

对桦褐孔菌资源的开发、桦褐孔菌的产业化开发、桦褐孔菌的医疗产品及食用产品的开发提供参考。

1 人工诱导桦褐孔菌发酵高产三萜类化合物

桦褐孔菌的功效很大程度上来源于桦褐孔菌所含的功能性物质,三萜类化合物作为桦褐孔菌主要功效成分之一,具有很高的研究价值。因野外桦褐孔菌资源有限,人工诱导培养桦褐孔菌菌种产三萜类化合物是目前国内外极为关注的研究方向,基于灵芝等药用真菌的诱导培养机制,对桦褐孔菌的诱导培养也在逐渐深入。近年来,国内外研究人员通过实验发现还原桦褐孔菌野外生长条件并添加相关物质也可以使桦褐孔菌中的三萜类化合物产量增加。目前,关于桦褐孔菌三萜类化合物的诱导培养研究现状见表 1。

可以看出传统的诱导剂如茉莉酸甲酯、脂肪酸、金属离子等物质中,茉莉酸甲酯对桦褐孔菌三萜类化合物的诱导作用较好。桦褐孔菌宿主提取物及植物共生微生物提取物诱导剂中根瘤菌提取物的诱导作用最好。通过上表也可看出,目前桦褐孔菌三萜类化合物诱导实验所测定的多为总三萜或者单种类三萜,对诱导前后三萜类化合物的种类与含量关系测定研究较少。除添加诱导剂外,紫外诱变也可筛选出高产三萜菌株,且可参考其他类似真菌的诱导发酵培养实验,如同属于纤孔菌的粗毛纤孔菌诱导发酵培养试验一样进行诱导剂筛选并复配^[12]。

2 桦褐孔菌三萜类化合物提取与分离纯化

2.1 桦褐孔菌三萜类化合物的提取

三萜类化合物的提取原理主要是利用其在不同的有机溶剂中溶解性的差别,进而甄选有机溶剂进行提取。提取方法主要有回流提取法、高压脉冲法、超声提取法等,每种方法的提取效率与三萜类化合物得率都不同。研究人员对提取方法参数进行调整以期提高每种方法三萜类化合物得率,经实验后,采用回流提取法,提取时间为 2.5 h、提取溶剂为异丙醇、料液比 1:22,回流温度 80 ℃,提取三萜类化合物的最佳得率为 1.13%^[13]。采用超声提取法,提取时间为

表 1 桦褐孔菌三萜类化合物的诱导培养研究现状
Table 1 Research status of induction culture of triterpenoids from *Inonotus obliquus*

研究人员	添加诱导剂种类	诱导效果	优势
杨宏博等 ^[8]	茉莉酸甲酯、水杨酸、亚油酸、桦树皮水提物、铁离子	茉莉酸甲酯诱导效果最佳,三萜总量增加了1.2倍	对诱导后的三萜类化合物功能特性进行了实验并发现所选用诱导剂可增强桦褐孔菌三萜类化合物的抗氧化能力
管玉艳等 ^[9]	香叶醇、茉莉酸甲酯、角鲨烯、柠檬烯、 β -蒎烯、蒎品油烯	香叶醇诱导效果最佳,可将桦褐孔菌醇的产量提升3.02倍	探明了香叶醇的诱导机制为使酶活性增加从而促使桦褐孔菌醇产量上升
Lin等 ^[10]	桦树皮提取物、桦树根际土壤提取物、固氮菌提取物、根瘤菌提取物	发现根瘤菌刺激菌丝三萜类化合物积累量最高,三萜总量增加了4倍	发现可以通过调控桦褐孔菌中FPS(法尼基焦磷酸酶)来影响三萜类化合物的积累,探索了诱导剂与三萜类化合物积累之间的关系
Xu等 ^[11]	油酸、亚油酸、软脂酸、含Tween-80和长链脂肪酸的茉莉酸甲酯	添加含Tween-80和长链脂肪酸的茉莉酸甲酯将三萜总量提升了1.3倍,并将肌醇、曲烯果酸、栓菌酸和桦木素,分别增加3.0倍、5.5倍、4.7倍和21.8倍	首次对桦褐孔菌中的单种类三萜诱导前后进行了含量比对;分析出Tween-80的茉莉酸甲酯可提高桦褐孔菌三萜类化合物产量

15 min、提取溶剂为异丙醇、料液比 1:30、超声功率 300 W、超声 30 次,提取三萜类化合物的最佳得率为 1.06%^[14]。采用高压脉冲法,提取时间为 20 μ s、提取溶剂为 75% 乙醇溶液、料液比 1:30、电场强度 50 kV/cm、脉冲数 10、提取三萜类化合物的最佳得率为 1.18%,且比同采用 75% 乙醇溶液作为提取溶剂的超声波法、溶剂浸提法提取率高 5% 和 8%^[15]。采用回流提取法三萜类化合物得率较高,仪器简单,但提取时间较长。超声提取法提取较为快速,但三萜类化合物得率较低。高压脉冲法能耗低、重复性好、效率高且提取速度快,但设备复杂昂贵^[16]。因此,在工业生产及实验室提取时建议根据所有设备及提取目的甄别方法。

为了提高三萜类化合物得率,超声波辅助技术与其它提取方法联用备受关注。经实验人员将仅采用超声波提取法^[14]与超声波辅助技术联用双水相体系提取法比较发现,采用超声波辅助技术联用双水相体系提取三萜类化合物得率提高了 12.94%^[17]。另有研究人员利用超声波辅助技术联用回流提取法提取三萜类化合物,将三萜类化合物得率提高至 1.42%^[18]。但其未与联用提取法前得率进行对比,故参考价值有限。但仍可以看出利用超声波辅助技术联用其他方法可有效提高三萜类化合物得率,工厂及实验室在选用提取方法时可以进行有效参考,选取合适的辅助与提取技术提取桦褐孔菌三萜类化合物。

2.2 桦褐孔菌三萜类化合物的分离纯化

无论是通过野外子实体还是人工培养菌种提取得到的三萜粗提物成分均较为复杂,未达到可直接利用的纯度,因此,需要对三萜粗提物进行分离纯化才能进行利用。目前,三萜类化合物的分离纯化方法主要有高效逆流色谱法、柱层析反复分离法、大孔树脂吸附法和高效液相色谱法等,其特点见表 2。

桦褐孔菌三萜类化合物的分离纯化对于桦褐孔菌实验室研究与工业化生产均具有重要意义。其中,大孔吸附树脂吸附法,因其具有不含交换基团、不溶于水、吸附量大、选择性好、吸附速度快、可再生等优点,被研究人员广泛用来进行桦褐孔菌三萜类化合物的分离纯化。其中,AB-8 和 D101 两种树脂常用来进行桦褐孔菌三萜类化合物的分离纯化,研究人员

对两种树脂进行了筛选,发现 AB-8 大孔树脂较 D101 大孔树脂更适合用于分离纯化桦褐孔菌三萜类化合物^[21],而后有研究人员对 AB-8 大孔树脂分离纯化三萜类化合物进行了工艺优化,其分离纯化纯度可达 85.13%,与纯化前相比总三萜量提高了 2.04 倍^[23]。为了寻找更适合进行桦褐孔菌三萜类化合物分离纯化的树脂,研究人员扩大了筛选范围对 5 种常用的大孔吸附树脂进行了筛选实验,实验结果也证实了 AB-8 树脂是目前更适宜进行桦褐孔菌三萜类化合物分离纯化的大孔吸附树脂^[24]。

除了大孔树脂吸附法,在实验室及工业生产过程中色谱法也是分离纯化三萜类化合物常用且高效的方法^[25]。尽管高效液相色谱及高效逆流色谱提取三萜类化合物的纯度较高,但是因为大孔吸附树脂分离纯化法具有工艺简单、操作简便、成本低、产率高等优点,后者应用更加广泛。对于纯度要求较高的实验室研究选用高效液相色谱及高效逆流色谱法比较合适,对于成本要求更高的工厂应用则选用大孔吸附树脂分离纯化法更为合适。目前,关于桦褐孔菌三萜类化合物分离纯化的研究较少但仍在持续进行,希望可以筛选出更多的桦褐孔菌三萜类化合物分离纯化方法,根据不同目的去选择相应的分离纯化方法是推动桦褐孔菌三萜资源开发的重要一步。

3 桦褐孔菌三萜类化合物结构研究

桦褐孔菌中三萜类化合物是由多种三萜类化合物组合构成的,目前,对于桦褐孔菌三萜类化合物结构的研究主要集中在其三萜类化合物萜组成成分方面,研究桦褐孔菌三萜类化合物的结构与功能特性之间的关系是后续亟需深入研究的部分。对桦褐孔菌三萜类化合物结构的研究方法主要有化学法和波谱法。波谱法(紫外吸收光谱法 UV,红外吸收光谱法 IR,核磁共振波谱法 NMR,质谱法 MS)因具有样品用量少,精确度高以及分析时间短等优点,已逐步取代化学法,广泛应用于有机化合物的结构鉴定。

3.1 桦褐孔菌三萜化合物的结构研究现状

关于桦褐孔菌的结构研究,目前多通过分离纯化后,对分离物的波谱数据采用红外光谱、核磁共振等技术进行分析,从而研究其结构。目前,关于桦褐孔菌三萜类化合物的结构研究尚处在起步阶段,与桦

表 2 桦褐孔菌三萜类化合物分离纯化方法表

Table 2 Table of separation and purification methods of triterpenoids from *Inonotus obliquus*

方法	原理	优点	缺点
高效逆流色谱法 ^[19]	利用特殊的流体动力学现象使两相溶剂在螺旋管中高效接触、混合、分配,而后按照分离物质分配系数依次洗脱分离。	重现性好,无不可逆吸附,回收率高,无制备柱消耗,无需太多样品前处理。	消耗有机溶剂多,难以放大规模进行工业化分离,使用有局限性。
柱层析反复分离法 ^[20]	利用固定相对液体相的各组分吸附力不同而使各组分分离。	操作简单,经济实惠,样品承载量大。	分析应用不方便,再现性较差,不适于梯度洗脱。
大孔树脂吸附法 ^[21]	大孔树脂具有吸附与筛选作用,有机化合物根据吸附力、分子量的大小,在大孔吸附树脂上经一定溶剂洗脱而达到分离的目的。	工艺简单,操作简便,成本低,可重复利用。	对树脂要求较高,树脂品种有限。
高效液相色谱法 ^[22]	根据混合物中的各个组成成分在固定相和流动相之间的分配比例的不同,实现成分之间的分离。	分离效率高,选择性好,灵敏度高,应用范围广,操作简单。	分析成本较高,仪器价格及维护费用昂贵。

褐孔菌多糖的结构研究相比较为落后,对于分离出的三萜类化合物功能性研究也较为不足。各桦褐孔菌三萜类化合物的功能活性与其结构间的关系也尚未被探明,有研究显示茯苓皮中的羊毛甾烷型三萜的 16 位或 15 位羟基、BC 环上的双键均与其对肿瘤细胞的毒性密切相关^[26],桦褐孔菌中也含有多羊毛甾烷型三萜,其结构与功能性的关系可能与茯苓皮羊毛甾烷型三萜类似。桦褐孔菌醇是一种羊毛甾烷型三萜,且是桦褐孔菌所含三萜类化合物中研究较早的,也是三萜类化合物中功能活性研究较为明确的。有学者根据灵芝中的灵芝酸 A 和灵芝酸 H 抑制癌细胞的增殖作用与其 3 位、7 位和 15 位的羟基取代有关,推测出如果化学修饰桦褐孔菌醇 7 位、15 位和 16 位上的羟基也可增加桦褐孔菌醇的抗肿瘤作用^[27]。目前,桦褐孔菌三萜类化合物结构研究还停留在结构鉴定阶段,其结构与功能特性的关系研究还处在起步阶段正在等待科研人员的继续探索。

3.2 桦褐孔菌三萜类化合物的结构鉴定

国内外研究人员采用了不同的方法对桦褐孔菌三萜类化合物进行了结构鉴定,目前,对桦褐孔菌三萜类化合物的结构鉴定见表 3。

表中结构鉴定结果不同可能与其分离条件和方法选择有关,从表中可以看出分离手段较少则所鉴定出的三萜类化合物种类也相应会较少,因此,在进行结构分析时需要将桦褐孔菌三萜提取物采用多种分离方法进行分离,故建议在进行桦褐孔菌三萜类化合物结构鉴定时根据已有条件尽量选用多种分离手段。

4 桦褐孔菌三萜类化合物的功能性

桦褐孔菌三萜类化合物的功能性研究是桦褐孔菌研究的重要组成部分,桦褐孔菌资源的开发依赖于其功能性的相关开发,对桦褐孔菌三萜类化合物的功能性进行透彻的体外实验及动物实验乃至临床试验对桦褐孔菌资源的开发、桦褐孔菌的工业化生产具有重要意义。

4.1 抗癌作用

桦褐孔菌三萜类化合物的抗癌功效一直是桦褐

孔菌三萜类化合物功能性研究中的热点,有报道显示桦褐孔菌提取物对正常细胞无毒性作用,相比较其他抗癌药物可能会有更小的副作用^[32]。桦褐孔菌三萜类化合物对于抗癌的作用主要是从抑制癌细胞增殖作用和使癌细胞凋亡作用两个方向进行实验的^[33]。有实验发现桦褐孔菌三萜类化合物浓度达到 250 μg/mL 时即可明显抑制癌细胞的增殖,并随着剂量加大其抑制性也随之增加,其胞外三萜类化合物对癌细胞增殖的抑制性明显高于胞内三萜类化合物^[30]。有研究人员在其研究上用其他癌细胞进一步进行了验证,证实了其结论并发现桦褐孔菌胞外三萜类化合物含量高于胞内三萜类化合物含量^[34]。因此,桦褐孔菌胞外三萜类化合物在抗癌领域更有进一步研究的价值。为了研究桦褐孔菌三萜类化合物对癌细胞的凋亡作用,有研究通过桦褐孔菌三萜类化合物诱导不同 p53 状态的人肺癌细胞,发现其可使人肺癌细胞裂解从而使其凋亡,以达到抗癌作用^[35]。有实验发现桦褐孔菌三萜类化合物中的抗癌作用物为白桦脂醇、栓菌酸、桦褐孔菌醇和羊毛甾醇^[36]。为了更加贴近实际应用效果,有研究人员对桦褐孔菌三萜类化合物抗癌作用与抗癌药物紫杉醇做了对照,实验结果表明桦褐孔菌三萜类化合物对人宫颈癌细胞、人结肠癌细胞、白血病肿瘤细胞及小鼠淋巴细胞均有较强的细胞毒性^[37]。总的来说,体外实验证明了桦褐孔菌三萜类化合物具有一定的抗癌功能,但是活体实验的缺乏使其抗癌性能的作用效果并不明确,未来需要研究人员进行动物实验乃至临床试验才能准确验证评估桦褐孔菌三萜化合物的抗癌功能性。

4.2 降血糖作用

据估计,2045 年,全球糖尿病患者人数将增至 7 亿^[38]。糖尿病药物的研发是目前医疗行业的热点项目,也是广大糖尿病患者的期望福音。市面上许多商家对桦褐孔菌冠以“天然胰岛素”之名,有研究表明桦褐孔菌对 II 型糖尿病大鼠具有降血糖作用^[39],但桦褐孔菌资源开发程度较低,其降血糖作用也只处在保健或者辅助治疗阶段,只有对桦褐孔菌的功效物质进行更准确的降血糖功能实验之后才能够更好地将

表 3 桦褐孔菌三萜类化合物结构鉴定表
Table 3 Structure identification table of triterpenoids from *Inonotus obliquus*

研究人员	分离方法	鉴定方法	鉴定出的三萜类化合物
王健铭等 ^[28]	硅胶柱色谱、HPLC	¹ H-NMR	白桦脂酸、白桦醇、羽扇豆醇、8,24-羊毛甾-2-烯-3β,21β-二醇、3β-羟基-羊毛甾-8,24-二烯-21-醛、8,23-二烯羊毛甾-3β,22(R),25-三醇、桦褐孔菌醇D
陈程等 ^[25]	硅胶柱色谱	IR、 ¹ H-NMR、 ¹³ C-NMR	羊毛甾醇、栓菌酸
张仕瑾等 ^[29]	硅胶、MCI、SephadexLH-20凝胶等柱色谱	HR-EI-MS、HMR	3-羊毛甾8,24-二烯-21-醛、羊毛甾醇、3β-羟基-羊毛甾-8,24-二烯-21-醛、白桦脂醇、桦褐孔菌醇、栓菌酸、3β,21-二羟基-羊毛甾-8,24-二烯、齐墩果酸、乌苏酸、白桦脂酸、桦褐孔菌素A、桦褐孔菌甾D、3β-乙酰氧基-11α,12α-环氧-齐墩果烷-28,13β-内酯
李广林 ^[21]	大孔吸附树脂吸附法	UV、IR、EI-MS、 ¹ HNMR	羽扇豆醇、羊毛甾-8,24-二烯-3β-内酯
Kim等 ^[30]	大孔吸附树脂吸附法	HPLC、LC-ESI-MS	白桦脂醇、白桦酸、桦褐孔菌醇、栓菌酸
Alzand等 ^[31]	硅胶柱色谱、TLC、HPLC	IR、 ¹ D-NMR、 ² D-NMR、HR-EI-MS	3β,22-二羟基-5α-羊毛甾-8,25-烯-24-酮、桦褐孔菌醇、羊毛甾醇、3β,22-二羟基羊毛甾8,24-烯-11酮、栓菌酸、麦角甾-7,22-烯-3β-醇、24β-乙基胆甾-4烯-3β醇、麦角甾-7-烯-3β-醇

桦褐孔菌资源应用于糖尿病的治疗当中。研究人员根据市面上的降糖药物阿卡波糖的降糖原理——抑制 α -葡萄糖苷酶与 α -淀粉酶活性使进食的碳水化合物分解成葡萄糖的时间延长^[40],对桦褐孔菌三萜类化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制率与 α -淀粉酶抑制率进行了实验,实验发现其对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶均具有一定的抑酶活性,其中,白桦脂酸对 α -葡萄糖苷酶的活性抑制 IC_{50} 值为0.26 mg/mL,显著低于降糖药物阿卡波糖的活性抑制 IC_{50} 值(0.37 mg/mL),桦褐孔菌萜D对 α -淀粉酶的活性抑制 IC_{50} 值为7.86 mg/mL,显著低于降糖药阿卡波糖 IC_{50} 值(10.51 mg/mL);其作用机制为桦褐孔菌三萜类化合物对 α -葡萄糖糖苷酶产生了竞争性抑制,对 α -淀粉酶产生了非竞争性抑制混合抑制^[41]。体外实验的成功也希望可以为后续的桦褐孔菌三萜类化合物降血糖动物实验及开发新型抗糖尿病药物提供新的思考。

4.3 抗氧化作用

在日常生活中人体会持续产生氧化性自由基,当自由基在体内积累过多时,就会加速人体的衰老甚至引发心血管疾病。目前,关于桦褐孔菌三萜类化合物的抗氧化相关试验较为匮乏,基本停留在体外抗氧化试验上,通过体外实验发现桦褐孔菌三萜类化合物可清除DPPH、ABTS、超氧化物和过氧自由基,并随着其浓度的升高其清除自由基能力也随之升高^[17,42],体外实验的结果证明了桦褐孔菌三萜类化合物具有一定的提高抗氧化能力作用。有研究人员对于氧化损伤小鼠模型做了相关实验,发现桦褐孔菌对氧化损伤具有一定保护作用,功效成分为桦褐孔菌醇^[43]。目前,关于桦褐孔菌的抗氧化小鼠实验较少且均是腹腔给药,相对较为偏重于医疗行业的应用,其以食品方向进行的喂药小鼠实验较少^[44-46]。因此,在桦褐孔菌三萜类化合物抗氧化能力小鼠实验中应进行喂药给药,以期更好地应用于食品行业。近年来我国针对脑卒中所开发的药物丁基苯酞就可有效提高细胞抗氧化活性,桦褐孔菌的抗氧化作用研究对于脑卒中开发新药及医美行业抗衰老等都具有很大的研究价值。

4.4 其他作用

桦褐孔菌三萜类化合物的功能性作用仍然处于不断开发阶段,研究人员们基于桦褐孔菌的免疫调节、抗炎、抗氧化和抗凋亡性能,正在拓展研究桦褐孔菌三萜类化合物的一系列新的功能特性,如神经保护作用、抗脱发作用、抑制一氧化氮合成逆转内毒素和肿瘤坏死因子引起的低血压、和肝保护作用^[31,47-49]。桦褐孔菌也在从泡水饮用的保健食品一步步向治疗疾病的医药产品进发,研究人员致力于将桦褐孔菌不同的功效成分应用于治疗不同的疾病,并将不同的功能特性应用于预防各类疾病。桦褐孔菌三萜类化合物作为桦褐孔菌中含量最多的脂溶性化合物,提取价值高,功能特性优越,桦褐孔菌三萜类化合物的研究

开发对推动桦褐孔菌的产业化、应用化、规模化将起到重要作用。

5 结语与展望

桦褐孔菌三萜类化合物具有抗癌、降血糖、消炎、抗氧化等多种功效,并基于以往研究的成果正在不断研究、开发和应用用于其他保健与医疗场景,对未来的保健品、药品与食品行业的市场应用具有一定的启发。因野生桦褐孔菌资源有限,大规模的桦褐孔菌三萜类化合物产品生产将更加依赖于人工培养桦褐孔菌,为促使桦褐孔菌资源的规模化发展,今后应系统化的对人工诱导培养出的桦褐孔菌菌株进行后续相应的提取、分离纯化和功能特性的相关实验并与野外子实体相关实验数据进行比对,并在实验室及工厂化两个方面去进行提取及分离纯化的技术筛选进而推动桦褐孔菌的规模化和产业化。

对桦褐孔菌三萜类化合物今后的研究方向,可以从以下几个方面进行:a.目前桦褐孔菌三萜类化合物的诱导性高产研究多与单一刺激物或外源因子有关,复配诱导剂的有关研究相对较少,并可将复配诱导剂与物理诱变法相结合以期提高三萜化合物产量;b.目前缺少桦褐孔菌三萜类化合物对人体的作用研究,基本停留在体外实验阶段,动物实验也较少,体外实验的成果在人体上效果如何,是否有不良反应及禁忌尚未可知,应增加动物实验比例并随进度进行临床试验;c.尚未探明桦褐孔菌三萜类化合物的结构与其功能活性的关系,探明关系后多展开关于桦褐孔菌单体三萜化合物的功能性实验及化学修饰,以期增加其功能性,推广桦褐孔菌开发。

桦褐孔菌作为尚未广泛应用于医疗及食品行业的新兴研究真菌,与灵芝等真菌不同,尽管已经过了科研人员几十年的不懈研究,但尚有许多作用机制尚未明确,大多数研究目前还停留在应用方面,对作用机制的研究较少。作用机制的明确对于桦褐孔菌的医用食用安全性研究将起到很大地促进作用,并从临床角度齐头并进,才能更好地开发利用桦褐孔菌资源,为人类的生活质量与疾病治疗做出贡献。

参考文献

- [1] 戴玉成,李玉.中国六种重要药用真菌名称的说明[J].菌物学报,2011,30(4):515-518. [DAI Yucheng, LI Yu. Notes on the nomenclature of six important medicinal fungi in China[J]. Mycosystema, 2011, 30(4): 515-518.]
- [2] 李艳婷,郭尚,徐莉娜,等.桦褐孔菌资源分布及其地域环境条件分析[J].中国林副特产,2019(4):60-65. [LI Yanting, GUO Shang, XU Lina, et al. Distribution of *Inonotus obliquus* resources and analysis of its regional environmental conditions[J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2019(4): 60-65.]
- [3] 齐亭娟,周玉柏,曾毅.桦褐孔菌活性成分及药理作用的研究进展[J].智慧健康,2018,4(24):50-53. [QI Tingjuan, ZHOU Yubai, ZENG Yi. Research progress on active constituents and pharmacological action of betula brown-hole bacteria[J]. Smart Healthcare, 2018, 4(24): 50-53.]

- [4] 梁清乐, 王秋颖, 樊锦燕, 等. 桦褐孔菌的研究概况[J]. 中草药, 2005(4): 623-625. [LIANG Qingle, WANG Qiuying, FAN Jinyan, et al. A survey of *Inonotus obliquus*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005(4): 623-625.]
- [5] 马微, 谭阳阳, 魏书娟, 等. 俄罗斯桦褐孔菌中无机元素含量分析[J]. 食品与机械, 2020, 36(12): 34-38, 135. [MA Wei, TAN Yangyang, WEI Shujuan, et al. Analysis of inorganic elements in Russian *Inonotus obliquus*[J]. Food & Machinery, 2020, 36(12): 34-38, 135.]
- [6] 孙嵘. 桦褐孔菌的食用安全性评价[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019. [SUN Rong. Evaluation of edible safety of *Inonotus obliquus*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019.]
- [7] 贺紫薇, 刘旭, 李东辉, 等. 桦褐孔菌研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(2): 119-123. [HE Ziwei, LIU Xu, LI Donghui, et al. Research progress of *Inonotus obliquus*[J]. Chinese Medicine Information, 2020, 37(2): 119-123.]
- [8] 杨宏博, 韩增华, 杨红, 等. 诱导发酵桦褐孔菌三萜类化合物合成及其抗氧化功能的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 105-111. [YANG Hongbo, HAN Zenghua, YANG Hong, et al. Study on the synthesis and antioxidant function of triterpenes from *Inonotus obliquus* induced by fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(13): 105-111.]
- [9] 管玉艳, 王琨, 左松, 等. 外源因子对桦褐孔菌发酵产桦褐孔菌醇的影响[J]. 菌物学报, 2020, 39(7): 1368-1379. [GUAN Yuyan, WANG Kun, ZUO Song, et al. Effects of elicitors on the production of inotodiol by submerged fermentation of *Inonotus obliquus*[J]. Mycosystema, 2020, 39(7): 1368-1379.]
- [10] LIN P, YAN Z F, LI C T. Effects of exogenous elicitors on triterpenoids accumulation and expression of farnesyl diphosphate synthase gene in *Inonotus obliquus*[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2020, 25(4): 580-588.
- [11] XU X, ZHANG X, CHEN C. Stimulated production of triterpenoids of *Inonotus obliquus* using methyl jasmonate and fatty acids[J]. Industrial Crops and Products, 2016, 85: 49-57.
- [12] 刘爽爽. 粗毛纤孔菌总三萜的诱导合成、纯化及降血脂作用研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020. [LIU Shuangshuang. Synthesis, purification and hypolipidemic effect of total triterpenoids from *Inonotus hispidus*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2020.]
- [13] 檀琪. 桦褐孔菌三萜类化合物的提取纯化及抗氧化活性研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2020. [TAN Qi. Extraction, purification and antioxidant activity of triterpenoids from *Inonotus obliquus*[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2020.]
- [14] 胡涛, 王亚亚, 路春桃, 等. 超声波辅助提取桦褐孔菌子实体中三萜类化合物的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(35): 21634-21635, 21643. [HU Tao, WANG Yaya, LU Chuntao, et al. Study on the ultrasonic assisted extraction technology of triterpenoid from *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(35): 21634-21635, 21643.]
- [15] 崔彦如. 桦褐孔菌有效成分的 PEF 提取、化学修饰和抗癌活性的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2008. [CUI Yanru. Active components extraction from *Inonotus Obliquus*, PEF and its chemical modification and anticancer activities[D]. Jilin: Jilin University, 2008.]
- [16] 赵佳敏, 陈泓鑫, 林宇冲, 等. 灵芝三萜的提取工艺及其抗氧化研究进展[J]. 安徽化工, 2021, 47(1): 11-12, 16. [ZHAO Jiamin, CHEN Hongxin, LIN Yuchong, et al. Research progress on extraction technology and antioxidation of triterpenes from *Ganoderma lucidum*[J]. Anhui Chemical Industry, 2021, 47(1): 11-12, 16.]
- [17] 赵艳霞, 刘峰, 魏娟娟, 等. 双水相超声法提取桦褐孔菌三萜[J]. 菌物学报, 2014, 33(1): 129-137. [ZHAO Yanxia, LIU Feng, WEI Juanjuan, et al. Extraction of triterpenoids from *Inonotus obliquus* by aqueous two-phase systems associated with ultrasonic extraction[J]. Mycosystema, 2014, 33(1): 129-137.]
- [18] 戚月婷, 玄光善. 桦褐孔菌总三萜提取工艺的研究[J]. 应用化工, 2015, 44(5): 924-926, 932. [QI yueting, XUAN guangshan. Study on extraction process of total triterpenoids from *Inonotus obliquus*[J]. Applied Chemical Industry, 2015, 44(5): 924-926, 932.]
- [19] 王干珍, 易晓明, 周林宗, 等. 高效逆流色谱原理及其研究进展[J]. 工业技术创新, 2017, 4(1): 179-182. [WANG Ganzhen, YI Xiaoming, ZHOU Linzong, et al. Principle and research progress of high performance countercurrent chromatography[J]. Industrial Technology Innovation, 2017, 4(1): 179-182.]
- [20] 刘延杰, 陈弯弯, 向碧云, 等. 硅胶柱层析分离天然产物实验要点分析[J]. 生物学通报, 2018, 53(6): 44-46. [LIU Yanjie, CHEN Wanwan, XIANG Biyun, et al. Analysis of the experimental points of separating natural products by silica gel column chromatography[J]. Biology Bulletin, 2018, 53(6): 44-46.]
- [21] 李广林. 桦褐孔菌三萜提取分离、结构鉴定及生物活性研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2014. [LI Guanglin. Extraction, isolation, structural identification and biological activity of triterpenoid from *Inonotus obliquus*[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2014.]
- [22] 吴战海. 高效液相色谱法在药品质量分析中的应用进展[J]. 黑龙江科技信息, 2017(4): 118. [WU Zhanhai. Application progress of high performance liquid chromatography in drug quality analysis[J]. Heilongjiang Science and Technology Information, 2017(4): 118.]
- [23] 檀琪, 阮文辉, 杨官娥, 等. 大孔吸附树脂纯化桦褐孔菌三萜类化合物工艺优化[J]. 食品工业, 2021, 42(3): 142-146. [TAN Qi, RUAN Wenhui, YANG Guan'e, et al. Optimization of purification process of triterpenoids from *Inonotus obliquus* by macroporous adsorption resin[J]. Food Industry, 2021, 42(3): 142-146.]
- [24] 胡涛, 黄美, 刘萍. 大孔吸附树脂分离纯化桦褐孔菌三萜工艺研究[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 206-210. [HU Tao, HUANG Mei, LIU Ping. Isolation and purification of triterpenes in *Inonotus obliquus* by macroporous resins[J]. Food Science and Technology, 2012, 37(4): 206-210.]
- [25] 陈程, 徐向群. 桦褐孔菌子实体三萜单体的分离及鉴定[J]. 浙江理工大学学报, 2015, 33(3): 264-268. [CHEN Cheng, XU Xiangqun. Isolation and identification of triterpenoids in *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2015, 33(3): 264-268.]
- [26] 董红敬. 茯苓皮三萜提取物化学成分及抗肿瘤活性研究

- [D]. 北京: 中国中医科学院, 2015. [DONG Hongjing. Antitumor activities of triterpenes isolated from theepidermis of *Poria cocos* (Schw). Wolf[D]. Beijing: Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, 2015.]
- [27] 赵卓卓, 冉祺, 丁辉, 等. 桦褐孔菌醇研究进展[J]. 食用菌学报, 2018, 25(4): 121–129. [ZHAO Zhuozhuo, RAN Qi, DING Hui, et al. Advances in inotodiol research[J]. Acta Edulis Fungi, 2018, 25(4): 121–129.]
- [28] 王健铭, 李晓雪, 陈俊磊, 等. 桦褐孔菌三萜类化合物的研究[J]. 齐齐哈尔大学学报(自然科学版), 2017, 33(4): 62–64. [WANG Jianming, LI Xiaoxue, CHEN Junlei, et al. Study on triterpenes of *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Qiqihar University (Natural Science Edition), 2017, 33(4): 62–64.]
- [29] 张仕瑾, 谢运飞, 谭玉柱, 等. 桦褐孔菌三萜类化学成分研究[J]. 中草药, 2015, 46(16): 2355–2360. [ZHANG Shijin, XIE Yunfei, TAN Yuzhu, et al. Studies on triterpenoids from *Inonotus obliquus*[J]. Chinese Herbal Medicine, 2015, 46(16): 2355–2360.]
- [30] KIM J, YANG S C, HWANG A Y, et al. Composition of triterpenoids in *Inonotus obliquus* and their anti-proliferative activity on cancer cell lines[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(18): 425–432.
- [31] ALZAND K I, NAL S, BOUFARIS M. Lanostane-type triterpenes and abietane-type diterpene from the sclerotia of Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (agaricomycetes), and their biological activities[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2018, 20(6): 58–65.
- [32] DURU K C, KOVALEVA E G, DANILOVA I G, et al. The pharmacological potential and possible molecular mechanisms of action of *Inonotus obliquus* from preclinical studies[J]. Phytotherapy Research, 2019, 33(8): 1966–1980.
- [33] PFEFFER C M, SINGH A T K. Apoptosis: A target for anticancer therapy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(2): 448.
- [34] KIM J, YANG S C, HWANG A Y. Composition of triterpenoids in *Inonotus obliquus* and their anti-proliferative activity on cancer cell lines[J]. Molecules, 2020, 25(18): 4066.
- [35] BAEK J, ROH H S, BAEK K H, et al. Bioactivity-based analysis and chemical characterization of cytotoxic constituents from Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) that induce apoptosis in human lung adenocarcinoma cells[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 224: 63–75.
- [36] ZHAO F, MAI Q, MA J, et al. Triterpenoids from *Inonotus obliquus* and their antitumor activities[J]. Fitoterapia, 2015, 101: 34–40.
- [37] 金黎达, 欧文斌, 徐向群. 液体发酵桦褐孔菌三萜类成分抑制肿瘤细胞活性研究[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2019, 41(1): 98–105. [JIN Lida, OU Wenbin, XU Xiangqun. Preliminary study on tumor cell activity inhibition effect of triterpene from submerged fermentation of *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2019, 41(1): 98–105.]
- [38] MA Q, LI Y, WANG M, et al. Progress in metabonomics of type 2 diabetes mellitus[J]. Molecules, 2018, 23(7): 1834.
- [39] 王秋爽. 桦褐孔菌对不同造模方法建立的2型糖尿病大鼠降血糖作用初探[D]. 延吉: 延边大学, 2017. [WANG Qiushuang. A preliminary study on the hypoglycemic effects of *Inonotus pblisquus* of type 2 diabetic rats made by different methods[D]. Yanji: Yanbian University, 2017.]
- [40] KUMAR S R, SINGH R, KUMAR D A. Important aspects of post-prandial antidiabetic drug, acarbose[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2016, 16(23): 2625–2633.
- [41] 黄盼盼, 陈程, 徐向群. 桦褐孔菌三萜对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制活性及其有效成分鉴定[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2020, 43(5): 678–686. [HUANG Panpan, CHEN Cheng, XU Xiangqun. Inhibitory activity of triterpenoids from *Inonotus obliquus* on α -glucosidase and α -amylase and identification of their effective compounds[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2020, 43(5): 678–686.]
- [42] CUI Y, KIM D S, PARK K C. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96(1–2): 79–85.
- [43] 赵芬琴, 严琳, 崔仙红, 等. 桦褐孔菌三萜对 CCl_4 致小鼠氧化应激损伤的保护作用[J]. 药学学报, 2012, 47(5): 680–684. [ZHAO Fenqin, YAN Lin, CUI Xianhong, et al. Triterpenoids from *Inonotus obliquus* protect mice against oxidative damage induced by CCl_4 [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2012, 47(5): 680–684.]
- [44] 许丽璇, 蔡建秀, 岳枝玲. 桦褐孔菌乙醇提取物对小鼠体内外抗氧化作用研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(6): 48–55. [XU Lixuan, CAI Jianxiu, YUE Zhiling. Study on the antioxidant activity of ethanol crude extracts from mycelia of *Inonotus obliquus*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(6): 48–55.]
- [45] 高愿军, 王娟娟, 龙娇妍, 等. 桦褐孔菌多酚在小鼠血清中的抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(9): 331–333. [GAO Yuanjun, WANG Juanjuan, LONG Jiaoyan, et al. Study on the antioxidation effect of *Inonotus obliquus* polyphenol on mice serum[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(9): 331–333.]
- [46] 吴艳玲, 南极星. 桦褐孔菌多糖对小鼠抗氧化清除自由基作用的研究[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(12): 9–10. [WU Yanling, NAN Jixing. Study on antioxidant and free radical scavenging effects of *Inonotus obliquus* polysaccharide in mice[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2009, 5(12): 9–10.]
- [47] ZOU C X, DONG S H, HOU Z L, et al. Modified lanostane-type triterpenoids with neuroprotective effects from the fungus *Inonotus obliquus*[J]. Bioorganic Chemistry, 2020, 105: 104438.
- [48] SAGAYAMA K, TANAKA N, FUKUMOTO T, et al. Lanostane-type triterpenes from the sclerotium of *Inonotus obliquus* (Chaga mushrooms) as proproliferative agents on human follicle dermal papilla cells[J]. Journal of Natural Medicines, 2019, 73(3): 597–601.
- [49] PARK S, SHIN H, PARK D, et al. Structure elucidation of a new triterpene from *Inonotus obliquus*[J]. Magnetic Resonance in Chemistry, 2021, 59(4): 489–494.