

齐墩果酸和熊果酸调血脂、抗肥胖药理作用研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

摘要: 齐墩果酸和熊果酸对三酰甘油和胆固醇的吸收、合成和代谢都有调控作用, 有望成为抗代谢综合征新药。通过拟胰岛素样作用和促进过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR)- α 表达以及调控脂肪细胞 PPAR- γ 表达和分化, 调控脂质合成、代谢和转运的各种关键酶基因的表达, 从而对抗脂肪细胞激素的炎症反应和白色脂肪形成, 促进棕色脂肪和骨骼肌生长、增加机体能量消耗; 又都是选择性 G 蛋白偶联胆汁酸受体 TGR5 激动剂, 能稳定脂质、葡萄糖和能量的体内平衡。

关键词: 齐墩果酸; 熊果酸; 调血脂; 抗肥胖; 代谢综合征

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2015)01-0090-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.01.018

Research progress on lipidemic regulation and antiobesity effects of oleanolic acid and ursolic acid

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201422, China

Abstract: Oleanolic acid and ursolic acid have regulative actions on the absorption, synthesis, and metabolism of triglyceride and cholesterol. They are hopeful to become new drugs against metabolism syndrome. Oleanolic acid and ursolic acid could regulate the expression of key enzymes genes about synthesis, metabolism, and transport of lipids by imitating insulin-like effects, improving PPAR- α expression, and regulating the differentiation and PPAR- γ expression in adipocytes. Thus oleanolic acid and ursolic acid can inhibit adipokine inflammation and white adipogenesis, increase skeletal muscle and brown fat mass, and improve body energy consumption. Oleanolic acid and ursolic acid are the selective agonists of TGR5, a G protein-coupled bile acid receptor, and may improve the homeostasis of glucose, lipids, and energy.

Key words: oleanolic acid; ursolic acid; lipidemic regulation; antiobesity; metabolism syndrome

齐墩果酸 (oleanolic acid) 是临床上有效的保肝药, 而熊果酸 (ursolic acid) 是齐墩果酸的同分异构体, 立体结构十分类似, 属五环三萜酸类化合物, 因此药理作用相似。齐墩果酸和熊果酸是许多蔬菜、水果和中药所含的活性成分, 几乎无毒。笔者认为齐墩果酸和熊果酸可望成为抗代谢综合征的候选药物, 已从纠正糖代谢异常、抗糖尿病角度进行过综述^[1], 本文从纠正脂代谢、调血脂和抗肥胖方面, 综述它们的药理作用及作用机制, 为新药开发提供依据。

1 调血脂

1.1 齐墩果酸

给正常大鼠 ig 齐墩果酸 50 mg/(kg·d), 可降低血清胆固醇和三酰甘油 (TG) 的量, 对血清 β -脂

蛋白也有降低倾向^[2], 但剂量为 20 mg/(kg·d) 时则无明显影响^[3]。上述 2 个剂量的齐墩果酸能降低喂高脂饲料大鼠和兔血清胆固醇 (TC)、TG 和 β -脂蛋白以及游离脂肪酸含量, 升高高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 的量和 HDL-C/TC 比值^[2-4]。齐墩果酸在预防动脉粥样硬化形成时也防止 TC、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C) 升高, 提高 HDL-C 含量和 HDL-C/TC 比值^[5]。Yunoki 等^[6]报道 ig 50 mg/(kg·d) 齐墩果酸或富含齐墩果酸的乙醇提取物能明显防止喂饲 21% 猪油的高脂饲料升高大鼠血浆 TG 和磷脂。给喂饲高脂饲料的 2 型糖尿病模型大鼠 ig 齐墩果酸 10 mg/kg 共 42 d, 可显著降低升高的血糖、血清 TC、LDL-C 和 TG 水平, 升高低下的 HDL-C 水平^[7]。用女贞子

收稿日期: 2014-10-12

作者简介: 张明发 (1946—), 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: (021)68928846 E-mail: zhmf_my@126.com

中提取的齐墩果酸 100、200 mg/kg 共 40 d 处理链脲霉素性糖尿病大鼠, 在刺激胰岛素分泌和降血糖同时, 显著降低血清 TG、TC、LDL-C 水平, 升高 HDL-C 水平, 但不影响模型大鼠的甲状腺素和促甲状腺激素刺激素水平^[8]。齐墩果酸在降四氧嘧啶性糖尿病大鼠血糖同时, 也显著降低血清 TC、TG、LDL-C 水平和升高 HDL-C 水平^[9]。给盐敏感的、胰岛素抵抗的遗传性高血压大鼠 ip 齐墩果酸 60 mg/kg 共 42 d, 在防止严重高血压出现的同时, 有降血糖和抗高脂(降低 LDL 和 TG 水平)作用^[10]。给 $\text{Lepr}^{\text{db/db}}$ 肥胖糖尿病小鼠 ip 齐墩果酸 20 mg/kg 共 14 d, 显著降低小鼠血清 TC、TG、LDL 和游离脂肪酸以及血糖水平^[11]。

杨红霞等^[12]在临床上观察到齐墩果酸有强化阿托伐他汀的降脂效果: 52 例原发性高脂血症患者 po 阿托伐他汀 20 mg/d, 疗程 3 个月, 血清 TC、LDL-C 和 TG 分别降低至 (4.05 ± 0.73) 、 (2.81 ± 0.54) 、 (1.25 ± 0.72) mmol/L。而 55 例原发性高脂血症患者在 po 上述剂量阿托伐他汀基础上加服齐墩果酸 4 片, 3 次/d, 疗程 3 个月, 上述指标分别降至 (3.53 ± 0.34) 、 (2.22 ± 0.41) 、 (1.48 ± 0.84) mmol/L, 其中降血清 TC 和 LDL-C 的作用被齐墩果酸明显增强。国内有专利称每天 po 齐墩果酸的琥珀酸半酯 10~100 mg 能降低高脂血症患者血中 TC 和 TG 的量, 升高 HDL 的量^[13]。

1.2 熊果酸

连续 1 周给正常小鼠 ig 熊果酸 6.25、12.5、25 mg/kg, 虽然不降低血清 TC 水平, 但中、高剂量组能提高血清 HDL-C 水平, 高剂量组还降低血清 TG 水平^[14]。而 Azevedo 等^[15]报道熊果酸不仅提高正常大鼠血浆 HDL 水平, 也降低血浆 TC 和 LDL 水平。

给仓鼠喂含 0.01% 提取自山楂的熊果酸/齐墩果酸混合物的高胆固醇饲料, 可显著降低血浆 VLDL-C 和 LDL-C 的量^[16]。给喂高脂饲料小鼠喝 15 周含 0.05% 熊果酸的饮用水, 显著抑制喂高脂饲料升高的血脂和血糖水平^[17]。熊果酸也能对抗 ig 高脂乳剂升高小鼠血清 TG 和 TC 作用^[18]。软枣猕猴桃根中的熊果酸 (100 mg/kg) 也对抗 ig 谷物油升高大鼠血浆 TG 水平^[19]。给喂高脂饲料诱导胰岛素抵抗大鼠 ig 熊果酸 150、300 mg/kg 28 或 56 d, 均显著降低血清 TC、LDL-C、TG 和游离脂肪酸水平^[20-21]。含 0.05% 熊果酸的高脂饲料既显著降低喂高脂饲料的链脲霉素导致糖尿病小鼠的血糖, 也降

低血浆 TC、TG 和游离脂肪酸浓度^[22]。ip 熊果酸 60 mg/(kg·d) 既能防止盐敏感的、胰岛素抵抗的遗传性高血压大鼠出现严重高血压, 也能降低血糖和 TG、LDL 水平^[23]。

给喂高脂饲料兔 ig 熊果酸 25 mg/kg, 可防止高脂血症形成, 降低血浆 TC 和 TG 水平, 并能协同增强青蒿琥酯 (artesunate) 防止高脂血症形成作用^[24]。熊果酸与降糖药罗格列酮联用于高脂饲料性肥胖小鼠的防治时, 也协同增强各自的降糖、降脂作用^[25]。含 1% 或 2% 熊果酸硬脂酰葡萄糖苷的高脂饲料也能显著降低高脂饲料性肥胖小鼠的高脂血症。给大鼠 ig 熊果酸硬脂酰葡萄糖苷 0.5、1 g/kg 也能预防 ig 脂肪乳后的血浆 TG 水平升高^[26]。熊果酸葡萄糖酯剂量相关 (10、20、40 mg/kg) 地降低高脂饲料诱导小鼠血清 TC、TG 升高, 提高 HDL-C 水平^[27]。

2 减少脂肪累积和减肥

肥胖者的体质量增加主要是由脂肪大量堆积造成的, 因此减少脂肪积累, 可产生减肥效果。

2.1 齐墩果酸

蔺美玲等^[4]给喂高脂饲料大鼠 ig 齐墩果酸 20、40、80 mg/kg 共 56 d, 无剂量相关地显著抑制高脂饲料致大鼠体质量增加, 即抑制肥胖形成, 并使高脂饮食动物的肝、肾、脾质量明显下降, 脂肪沉积减少^[2-3]。ip 齐墩果酸 20 mg/kg 也能显著降低 $\text{Lepr}^{\text{db/db}}$ 肥胖糖尿病小鼠的体质量、脂肪质量及肝脏质量和肝脏脂肪积累^[11]。

2.2 熊果酸

给喂高脂饲料致肥胖小鼠每天 ig 熊果酸 10 mg/kg 或给大鼠喂饲含 0.05% 熊果酸饮用水或含熊果酸的高脂饲料, 可显著降低肥胖大、小鼠体质量和腹部脂肪质量, 并能对抗罗格列酮升高喂高脂饲料小鼠体质量的不良反应^[18, 25, 28]。给小鼠 ig 含 1% 或 2% 熊果酸硬脂酰葡萄糖苷也能降低饮食性肥胖小鼠的体质量和子宫旁脂肪组织质量以及肝脏质量和肝脏 TG 水平^[26]。

给高脂饲料性肥胖大鼠 ig 熊果酸 150、300 mg/kg 也能降低其体质量、腹部脂肪质量、肝脏质量以及高脂饲料引起的肝损伤和肝脂肪变性^[20-21, 29]。Wang 等^[24]也报道熊果酸在降低喂高脂饲料家兔的血脂水平同时, 可减轻肝脏组织脂肪变性。

3 调脂减肥的作用机制

齐墩果酸和熊果酸属五环三萜类化合物, 它们又是同分异构体, 立体结构十分相近, 区别在于齐

墩果酸的 C₂₀ 上连接 2 个甲基, 而熊果酸的 C₁₉ 上多 1 个甲基, C₂₀ 上又少 1 个甲基。因此齐墩果酸和熊果酸的调血脂、抗肥胖作用机制相似, 因此将二者的作用机制一起叙述。

3.1 刺激胰岛素的表达和分泌

胰岛素也是脂代谢的重要调节激素。齐墩果酸和熊果酸能保护胰腺 β 细胞, 也能促进胰腺 β 细胞表达和释放胰岛素, 使正常和糖尿病模型动物血清胰岛素和 C-肽水平提高^[1,7,30], 从而发挥胰岛素的降低血脂作用。保护 β 细胞的作用机制是激活 ERK-Nrf2 信号转导通路、诱导 GCLc 表达、促进还原型谷胱甘肽产生、抑制 JNK 磷酸化、保护了线粒体的抗氧化防御功能, 从而对抗棕榈酸的脂毒性引起的线粒体凋亡, 保护了 β 细胞的功能完整^[30]。

齐墩果酸和熊果酸是选择性 G 蛋白偶联胆汁酸受体 TGR5 激动剂, 能调控糖、脂代谢的体内稳态平衡。它们能选择性激活跨膜胆汁酸受体 TGR5, 从而提高胰腺 β 细胞内 cAMP 和 Ca²⁺ 水平, 促进磷酸肌醇水解, 使胰腺 β 细胞释放胰岛素增加。它们还能激动肠内分泌细胞的 TGR5, 促进胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 分泌, 从而抑制胰高血糖素分泌并保护 β 细胞和刺激胰岛素合成与分泌^[31-33]。

3.2 改善胰岛素抵抗

齐墩果酸和熊果酸对各种糖尿病动物模型、高脂饲料性肥胖模型动物、遗传性肥胖糖尿病 Lepr^{db/db} 小鼠和 KKAY 小鼠都有改善胰岛素抵抗作用^[34-36]。齐墩果酸和熊果酸增敏胰岛素作用, 对抗胰岛素抵抗的机制是: 促进各种胰岛素受体自身磷酸化; 增加胰岛素激活的受体数量; 它们又是蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 竞争性抑制剂[该酶是负性调节胰岛素信号转导通路的关键酶, 能够活化胰岛素受体酪氨酸激酶 (IRTK) 和胰岛素受体底物 (IRS) 脱磷酸化作用, 从而抑制胰岛素信号转导], 这些作用都可增强胰岛素介导的信号转导, 因此它们也是胰岛素增敏剂^[1]。熊果酸和齐墩果酸对 PTP1B 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 4.1、14.4 $\mu\text{mol/L}$ ^[37]。构效关系分析发现齐墩果酸类化合物要保持对 PTP1B 的抑制活性, 化学结构中的 A 环和 $\Delta^{12,13}$ -烯的完整性很重要, 另外亲水的和酸性的基团以及齐墩果烯部分与酸性侧链部分的空间距离对 PTP1B 抑制活性有明显影响^[38]。张杰等^[20]还报道熊果酸抑制胰岛素抵抗大鼠肝脏组织 PTP1B mRNA 表达, 上调 IRS-2 mRNA 表达。

Li 等^[39]报道给大鼠 ig 齐墩果酸 25 mg/kg 共 70 d, 能对抗果糖诱导血浆胰岛素浓度和胰岛素抵抗指数升高, 并同时逆转口服葡萄糖耐量试验时的脂肪组织胰岛素抵抗指数和血浆非酯化脂肪酸浓度升高。作用机制研究发现齐墩果酸增强白色脂肪组织中基因编码的胰岛素受体、IRS-1 和磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 的 mRNA 表达。在蛋白水平上, 齐墩果酸上调总 IRS-1 表达, 减少 IRS-1 的 307 位丝氨酸磷酸化增加, 从而恢复升高的磷酸化 IRS-1/总 IRS-1 比值, 升高磷酸化 Akt/总 Akt 比值, 并导致齐墩果酸逆转果糖引起的磷酸化 Akt/Akt 蛋白与血浆胰岛素的浓度比。由于齐墩果酸不影响 IRS-2 mRNA 表达, 推测齐墩果酸是通过 IRS-1/PI3K/Akt 信号转导通路对抗果糖诱导大鼠产生脂肪组织胰岛素抵抗, 此乃改善胰岛素抵抗的又一个新机制。

齐墩果酸和熊果酸的上述胰岛素样作用是它们调血脂、减肥作用中的极为重要的机制, 尤其在脂质生物合成和代谢方面, 甚至可能还参与脂质的吸收、合成、代谢和排出。

3.3 抑制脂质和糖吸收

3.3.1 抑制食欲 肥胖患者往往食欲旺盛, 导致糖和脂肪摄入过多, 转化成体内脂肪, 堆积而成肥胖。Yashikawa 等^[40]报道齐墩果酸的糖苷化合物 (齐墩果酸-3-O 葡萄糖苷酸、齐墩果酸-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、木鳖子苷 Ic 等) 通过辣椒素敏感的感觉神经和中枢神经, 刺激多巴胺产生和释放, 并作用于多巴胺受体-2, 引起前列腺素释放, 抑制胃排空, 产生饱胀感而抑制食欲。齐墩果酸和熊果酸又可通过促进 GLP-1 分泌^[31-33], 抑制胃排空, 降低食欲。Rao 等^[17]报道熊果酸像西布曲明那样提高血浆瘦素 (leptin) 和降低饥饿激素 (ghrelin) 水平, 显著降低喂高脂饲料小鼠的食欲、减少饲料摄入而减肥。齐墩果酸和熊果酸还可通过降低高脂饲料引起的血清瘦素升高, 改善瘦素抵抗而减肥^[4,28]。

3.3.2 抑制消化酶活性 齐墩果酸和熊果酸是多种消化酶抑制剂。既能抑制淀粉酶活性, 也能抑制葡萄糖苷酶活性^[1, 17, 41], 从而延缓碳水化合物水解成葡萄糖, 抑制可合成脂肪的糖分被肠道吸收。

体外实验证明熊果酸、齐墩果酸以及它们的衍生物都能抑制胰脂酶活性, 其中熊果酸作用较强, IC₅₀ 为 15.83 $\mu\text{mol/L}$, 使消化道中的脂肪难以水解而阻碍吸收^[17, 19, 23, 26, 42]。熊果酸抑制胰脂酶活性强于齐墩果酸的原因可能与熊果酸影响胰脂酶的静态

和动态分子构象,而齐墩果酸仅影响静态分子构象有关^[43]。它们也都能抑制酰基辅酶A胆固醇酰基转移酶活性^[16,44-45],使进入肠上皮细胞的游离胆固醇不能被酯化,再次由固醇载体蛋白运回到肠腔,从而阻止食物中胆固醇的吸收

3.4 抑制脂质生物合成和促进脂质代谢

熊果酸抑制脂肪酸合酶的 IC_{50} 为6 mg/L,抑制动力学研究发现熊果酸通过与乙酰辅酶A竞争使乙酰转移酶失活,与丙二酸单酰辅酶A竞争使丙二酰转移酶失活,降低脂肪酸合酶活性。还原型辅酶II可增强熊果酸对脂肪酸合酶的抑制作用。熊果酸在低浓度时使脂肪酸合酶缓慢失活,在高浓度时以正协同方式使脂肪酸合酶迅速失活^[46]。也有人用肝mRNA微点阵分析法揭示齐墩果酸是通过下调脂肪生成基因(如乙酰辅酶A羧化酶和甘油-3-磷酸乙酰转移酶等)表达,预防高血脂^[6]。齐墩果酸又是TG合成限速酶二酰甘油酰基转移酶1抑制剂,在50 μ mol/L时显著抑制小鼠腹腔巨噬细胞中的脂酰辅酶A二酰甘油酰基转移酶活性,使TG生物合成减少70%^[47],阻碍TG在细胞内累积形成泡沫细胞。

脂蛋白酯酶是血浆脂蛋白代谢的关键酶,其在肝外组织(脂肪组织、心肌、骨骼肌等)的实质细胞中被合成和分泌,并定居在这些组织的毛细血管腔表面,水解循环中的乳糜微粒和VLDL中的TG成为游离脂肪酸,供组织摄取、积累和氧化供能。齐墩果酸和熊果酸也可能通过促进组织合成和分泌脂蛋白酯酶,产生降血脂作用,Masuno等^[48]曾报道人参皂苷Ro(一种齐墩果酸的糖苷)在25~200 mg/L浓度相关地促进脂肪细胞合成和分泌脂蛋白酯酶,在100 mg/L时脂肪细胞中脂蛋白酯酶含量提高19%,培养液中脂蛋白酯酶含量提高119%。

3.4.1 抑制脂肪细胞分化、脂质合成和促进脂质代谢 过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)- γ 、胞苷-胞苷-腺苷-腺苷-胸苷(CCAAT)增强因子结合蛋白 α (C/EBP α)和内脏脂肪素(visfatin)等是脂肪细胞分化标志物。齐墩果酸1~25 μ mol/L浓度相关地下调细胞PPAR- γ 、C/EBP α 的mRNA表达及内脏脂肪素的表达和分泌,抑制前脂肪细胞3T3-L1分化,并减少脂质在分化的脂肪细胞中积累。进一步研究发现齐墩果酸在抑制脂肪细胞分化时通过阻滞白介素-6/肿瘤坏死因子受体相关因子6/核因子- κ B信号转导,抑制内脏脂肪素生成及其脂肪细胞激素(adipokine,又称肥胖因子)的炎症反应以及脂肪形

成^[49-50]。Kim等^[51]还认为齐墩果酸也通过阻滞Tyk2/STAT1/3信号转导通路抑制与脂肪细胞分化相关的抵抗素(resistin)生成,从而抑制脂肪细胞激素的炎症反应和脂肪形成。万谦等^[52]报道齐墩果酸浓度相关地抑制分化后的3T3-L1脂肪细胞增殖,3、10、30 mg/L的齐墩果酸对脂肪细胞增殖的抑制率分别为11.29%、19.88%、65.06%。齐墩果酸浓度大于25 μ mol/L时刺激大鼠附睾原代脂肪细胞的脂肪分解,使甘油释放量呈浓度相关地增加。机制研究发现齐墩果酸是通过激活蛋白激酶A信号转导通路,引起激素敏感性脂肪酶转位和降低围脂滴蛋白(perilipin)表达量来促进脂肪分解的^[53]。

He等^[54]报道熊果酸2.5~10 μ mol/L通过激活LKB1/AMPK通路,抑制C/EBP α 、C/EBP β 、PPAR- γ 、甾醇调节元件结合蛋白1c(SREBP-1c)以及脂肪酸合酶、脂肪酸结合蛋白4的蛋白表达,促进乙酰辅酶A羧化酶磷酸化和肉毒碱棕榈酰转移酶1的蛋白表达,抑制3T3-L1前脂肪细胞分化和脂肪形成。熊果酸也能增强3T3-L1脂肪细胞中胰岛素对葡萄糖转运体-4(GLUT4)的转位,促进脂肪细胞对葡萄糖的利用^[36]。熊果酸还通过刺激激素敏感性脂酶从胞液向脂质小滴易位和通过cAMP依赖性蛋白激酶A通路抑制围脂滴蛋白A表达以及通过上调脂肪细胞的甘油三酯酶(脂解的一种限速脂酶)表达,显著促进原代培养的大鼠脂肪细胞发生脂肪分解^[55]。Kim等^[19]还认为熊果酸是磷酸二酯酶抑制剂(IC_{50} 为51.21 μ mol/L),能促进大鼠脂肪细胞中的脂肪分解。

可是赵晶晶等^[56]报道齐墩果酸在1~30 μ mol/L时促进3T3-L1分化成熟脂肪细胞,并促进葡萄糖消耗和减少游离脂肪酸产生。认为其机制可能与齐墩果酸上调脂肪细胞PPAR- γ 和GLUT-4的mRNA表达,增强PI3K信号转导,从而增加脂肪细胞对胰岛素敏感性有关。Kunkel等^[57]给小鼠喂食熊果酸的高脂饲料可增加棕色脂肪和骨骼肌质量。

3.4.2 促进骨骼肌生长,增加肌能量消耗 肌肉组织是机体能量消耗的主要部位之一,促进肌肉耗能,有助于减肥。给自发性2型糖尿病KKAy小鼠ig熊果酸150、300 mg/kg共28 d,可改善小鼠的胰岛素抵抗和高血糖。深入研究发现熊果酸可能是通过提高小鼠骨骼肌细胞的GLUT-4蛋白表达和转运,促进肌肉对葡萄糖的利用来降低高血糖^[36]。Kunkel等^[57-58]报道熊果酸增强正常小鼠和高脂饲料性肥胖小鼠的骨骼肌细胞的Akt活性,促进下游的己糖激

酶 II、血管内皮生长因子 a、自分泌/旁分泌类胰岛素生长因子-1 的 mRNA 表达, 加快肌生长, 增加骨骼肌质量、快和慢肌纤维体积、握力和运动能力, 促进能量消耗, 是熊果酸减肥、改善葡萄糖耐量与脂肪肝、调血脂的机制之一。熊果酸因此还能减轻肌萎缩^[58], 这可能与其提高 PI3K/Akt 信号转导, 促进肌蛋白合成代谢有关^[59]。

3.4.3 抑制肝脏的脂质合成和促进脂质代谢 齐墩果酸也显著增强链脲霉素性糖尿病小鼠肉碱棕榈酰基转移酶活性, 并促进肝中脂肪酸 β -氧化反应, 也降低肝中脂肪酸合酶活性, 促使 TG 含量趋于正常^[22], 这可能与其上调肝细胞的 PPAR- α 有关^[60-61]。齐墩果酸对肝脏脂代谢的影响还需要载脂蛋白 A1-高密度脂蛋白的参与^[62]。前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 由肝细胞表达, PCSK9 可降解肝细胞表面 LDL 受体, 抑制肝脏对血脂的清除能力。齐墩果酸可降低肝细胞的 PCSK9 的 mRNA 和蛋白表达, 提高肝脏对血脂的清除能力, 也能对抗降脂药阿托伐他汀诱导肝细胞表达 PCSK9, 从而强化阿托伐他汀对高血脂患者的降脂效果^[12]。Liu 等^[63]报道给大鼠 ig 齐墩果酸 25 mg/kg 共 70 d 可对抗果糖引起大鼠肝脏 TG 过度累积所致的脂肪肝。机制研究发现齐墩果酸是通过抑制果糖刺激肝脏过度表达 SREBP-1c 的 mRNA 和蛋白, 从而下调脂肪酸再合成相关基因的表达, 减少肝脏 TG 的合成。

熊果酸抑制肝细胞中脂肪酸合酶, IC_{50} 为 68.23 $\mu\text{mol/L}$ ^[64]。熊果酸也显著上调肝细胞 PPAR- α 的 mRNA 和蛋白表达, 并能增强 PPAR- α 与 PPAR- α 应答基因中的 PPAR 效应元件结合, 改变了脂代谢中关键基因的表达, 从而显著降低肝细胞中 TG 和胆固醇水平, 对抗高脂饮食性肥胖大鼠的肝脂肪变性^[29, 60-61, 65]。

由于熊果酸和齐墩果酸抑制酰基辅酶 A 胆固醇酰基转移酶活性^[16, 44-45], 因此也可降低肝胆固醇酯水平, 促使肝中游离胆固醇分解、利用和以胆汁形式排泄。

4 结语

齐墩果酸和熊果酸对 TG 和胆固醇的吸收、合成和代谢的多个环节都有调控作用, 因为它们都能通过拟胰岛素样作用, 促进 PPAR- α 表达, 调控脂肪细胞 PPAR- γ 表达和分化, 以及调控脂质合成、代谢和转运的各种关键酶基因的表达, 从而对抗脂肪细胞激素的炎症反应和白色脂肪形成、促进棕色

脂肪和骨骼肌生长、增加机体能量消耗。齐墩果酸和熊果酸又都是选择性 G 蛋白偶联胆汁酸受体 TGR5 激动剂, 也能选择性调控转录因子法尼酯 α 受体 (FXR), 稳定 TG、胆固醇、葡萄糖和能量的体内平衡^[31-33, 66], 以及抑制肠道吸收脂质和糖分的作用。上述作用的综合结果产生调血脂、降血糖和抗肥胖药理效应。因此, 齐墩果酸和熊果酸有望成为抗代谢综合征的新药, 笔者有以下两点建议。

4.1 深层次研究其调血脂、减肥的作用机制

Wang 等^[30]、Kawahara 等^[67]、Reisman 等^[68]发现齐墩果酸能激活核因子红细胞系 2 相关因子 2 (Nrf2) 信号转导。美国学者给喂高脂饲料的野生型和 Nrf2 遭破坏的小鼠 ig 齐墩果酸型三萜化合物 30 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, 可下调野生型小鼠肝脏脂肪酸合酶基因和脂质生成基因的表达, 并有效地阻止高脂饲料升高野生型小鼠体质量、脂肪质量和肝脂质累积, 促进氧和能量消耗, 减少食物摄取, 但齐墩果酸型三萜化合物在 Nrf2 遭破坏的小鼠中无上述作用^[69]。尽管齐墩果酸和熊果酸与 Nrf2、TGR5、FXR 以及 PPAR 之间的作用关系尚未弄清, 但齐墩果酸和熊果酸的这些作用机制可用来解释它们的抗胰岛素抵抗、降血糖、调血脂、抗动脉粥样硬化和抑制肥胖的生物活性^[6, 19, 69-70]。

I 型 11β -羟基甾体脱氢酶 (11β -HSD1) 可将体内无活性的糖皮质激素可的松转化成有活性的氢化可的松。2 型糖尿病肥胖患者中全身 11β -HSD1 活性异常升高^[71]。敲除 11β -HSD1 基因或抑制 11β -HSD1 活性可产生降糖、调脂、减肥的抗代谢综合征作用^[72-73]。齐墩果酸和熊果酸及其衍生物在 $\mu\text{mol/L}$ 水平就能抑制 11β -HSD1 活性^[74-75], 因此抑制 11β -HSD1 活性也是齐墩果酸和熊果酸抗代谢综合征的机制之一。以后应该加强这方面的研究。

4.2 增强降糖、降脂药作用效果的机制

有研究证实熊果酸能增强降糖药罗格列酮的降糖、降脂作用^[25], 也增强他汀类降脂药的效果。齐墩果酸和熊果酸除了对抗他汀类降脂药上调肝细胞 PCSK9 表达, 提高肝脏清除血脂的能力外^[12], 也可通过抑制有机阴离子转运多肽 1B1 (OATP1B1), 阻滞肝细胞摄取瑞舒伐他汀, 从而降低血浆瑞舒伐他汀的清除率^[76-77], 提高他汀类药物的降脂作用。

以上这些药理作用大多数是在动物实验中获得的, 目前尚无齐墩果酸和熊果酸防治代谢综合征的临床报道。齐墩果酸和熊果酸广泛存在于日常食用

的众多蔬菜、水果和中药里,普遍共识是多食蔬菜、水果是防治代谢综合征的重要措施。因此,还需要进一步的药理与临床研究,以揭示齐墩果酸和熊果酸对血糖、血脂等代谢综合征的影响。

参考文献

- [1] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗糖尿病药理[J]. 上海医药, 2010, 31(8): 347-350.
- [2] Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid [J]. *J Ethnopharmacol*, 1995, 49(1): 57-68.
- [3] 马伯良, 王振宇, 杨家海, 等. 齐墩果酸的降血脂研究[J]. 中药药理与临床, 1986, 2(2): 38-39.
- [4] 蔺美玲, 陈红梅, 张小郁, 等. 齐墩果酸抑制脂肪饮食肥胖大鼠体重的实验研究 [J]. 成都医学院学报, 2010, 5(1): 16-20.
- [5] 武继彪, 黄文兴, 董 榕. 齐墩果酸对实验性动脉粥样硬化的预防作用 [J]. 中药药理与临床, 1991, 7(2): 24-26.
- [6] Yunoki K, Sasaki G, Tokuji Y, *et al.* Effect of dietary wine pomace extract and oleanolic acid on plasma lipids in rats fed high-fat diet and its DNA microarray analysis [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(24): 12052-12058.
- [7] 王会敏, 田 炜, 喇孝瑾, 等. 葛根素、齐墩果酸及其配伍对 T2DM 大鼠氧化应激和炎症反应的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 174-177.
- [8] Gao D, Li Q, Li Y, *et al.* Antidiabetic potential of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2007, 85(11): 1076-1083.
- [9] Gao D, Li Q, Li Y, *et al.* Antidiabetic and antioxidant effects of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait in alloxan-induced diabetic rats [J]. *Phytother Res*, 2009, 23(9): 1257-1262.
- [10] Somova L O, Nadar A, Rammanan P, *et al.* Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension [J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(2-3): 115-121.
- [11] Wang X, Liu R, Zhang W, *et al.* Oleanolic acid improves hepatic insulin resistance via antioxidant, hypolipidemic and anti-inflammatory effects [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 376(1-2): 70-80.
- [12] 杨红霞, 龚慧琴, 蒋恒波. 齐墩果酸强化阿托伐他汀降脂效果的临床观察及初步机制 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(6): 537-540.
- [13] 余克建, 胡天培, 谭立武, 等. 用齐墩果酸琥珀酸半酯制备一种降血脂药物 [J]. 中国药品专利, 1995, 4(4): 37.
- [14] 王秀英, 李淑华, 胡东芳, 等. 乌梅对照品——熊果酸降脂作用试验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(12): 12-13.
- [15] Azevedo M F, Camsari C, Sa C M, *et al.* Ursolic acid and luteolin-7-glucoside improve lipid profiles and increase liver glycogen content through glycogen synthase kinase-3 [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(Suppl 2): S220-224.
- [16] Lin Y, Vermear M A, Trautwein E. Triterpenic acids present in hawthorn lower plasma cholesterol by inhibiting intestinal ACAT activity in hamsters [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 801272. DOI: 10.1093/ecam/nep 007. 2010-10-19.
- [17] Rao V S, Melo C L, Queiroz M G, *et al.* Ursolic acid, a pentacyclitriterpene from *Sambucus australis*, prevents abdominal adiposity in mice fed a high-fat diet [J]. *J Med Food*, 2011, 14(11): 1375-1382.
- [18] 林 科, 张太平, 张鹤云. 山楂中熊果酸的提取及其对小鼠的降血脂作用 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(6): 1052-1054.
- [19] Kim J, Jang D S, Kim H, *et al.* Anti-lipase and lipolytic activities of ursolic acid isolated from the roots of *Actinidia arguta* [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(7): 983-987.
- [20] 张 杰, 吴淑艳, 王 琳, 等. 熊果酸对胰岛素抵抗大鼠肝脏组织 PTP-1B, IRS-2 mRNA 表达的影响 [J]. 江苏中医药, 2010, 31(4): 69-71.
- [21] 张 杰, 吴淑艳, 王 琳, 等. 熊果酸对高脂饮食诱导胰岛素抵抗大鼠脂质代谢的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5): 975-978.
- [22] Jang S M, Kim M J, Choi M S, *et al.* Inhibitory effects of ursolic acid on hepatic polyol pathway and glucose production in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Metabolism*, 2010, 59(4): 512-519.
- [23] Jang D S, Lee G Y, Kim J, *et al.* A new pancreatic lipase inhibitor isolated from the roots of *Actinidia arguta* [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(5): 666-670.
- [24] Wang Y L, Wang Z J, Shen H L, *et al.* Effects of artesunate and ursolic acid on hyperlipidemia and its complications in rabbit [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(3/4): 366-371.
- [25] Sundaresan A, Harini R, Pugalendi K V. Ursolic acid and rosiglitazone combination alleviates metabolic syndrome in high fat diet fed C57BL/6J mice [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2012, 31(3): 323-333.
- [26] Kazmi I, Afzal M, Rahman S, *et al.* Antiobesity potential of ursolic acid stearylglucoside by inhibiting pancreatic lipase [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 709(1-3): 28-36.
- [27] 刘 红, 靳学远, 秦 霞. 熊果酸葡萄糖酯的制备及降血脂作用研究 [J]. 安徽农学通报, 2013, 19(10): 22-23.
- [28] 刘颜香. 熊果酸改善高脂血症小鼠肥胖症的实验研究 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(3): 264-266.
- [29] Li S, Liao X, Meng F, *et al.* Therapeutic role of ursolic acid on ameliorating hepatic steatosis and improving

- metabolic disorders in high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease rats [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e86724.
- [30] Wang X, Chen H L, Liu J Z, *et al.* Protective effect of oleanolic acid against beta cell dysfunction and mitochondrial apoptosis: crucial role of ERK-NRF2 signaling pathway [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2013, 27(1): 55-67.
- [31] Sato H, Genet C, Strehle A, *et al.* Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(4): 793-798.
- [32] Genet C, Strehle A, Schmidt C, *et al.* Structure-activity relationship study of betulinic acid, a novel and selective TGR5 agonist, and its synthetic derivative: potential impact in diabetes (paragraph sign) [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(1): 178-190.
- [33] Kumar D P, Rajagopal S, Mahavadi S, *et al.* Activation of transmembrane bile acid receptor TGR5 stimulates insulin secretion in pancreatic β cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 427(3): 600-605.
- [34] Musabayane C T, Tufts M A, Mapanga R F. Synergistic antihyperglycemic effects between plant-derived oleanolic acid and insulin in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Ren Fail*, 2010, 32(7): 832-839.
- [35] 吴淑艳, 张 杰, 朱德增. 熊果酸对胰岛素抵抗大鼠糖代谢及肝脏葡萄糖激酶的影响 [J]. 云南中医学院学报, 2011, 34(1): 20-24.
- [36] 王冠梁, 李 迪, 王 琳, 等. 熊果酸通过葡萄糖转运体改善 KKAY 小鼠胰岛素抵抗的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 787-790.
- [37] Sasaki T, Li W, Morimura H, *et al.* Chemical constituents from *Sambucus adnata* and their protein-tyrosine phosphatase 1B inhibitory activities [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59(11): 1396-1399.
- [38] Qian S, Li H, Chen Y, *et al.* Synthesis and biological evaluation of oleanolic acid derivatives as inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(11): 1743-1750.
- [39] Li Y, Wang J, Gu T, *et al.* Oleanolic acid supplement attenuates liquid fructose-induced adipose tissue insulin resistance through the insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 277(2): 155-163.
- [40] Yashikawa M, Matsuda H. Antidiabetogenic activity of oleanolic acid glycosides from medicinal foodstuffs [J]. *Biofactors*, 2000, 13(1/4): 231-237.
- [41] 宋志成, 王世盛, 宋其玲, 等. 齐墩果酸的结构修饰和 α -葡萄糖苷酶抑制活性 [J]. 高等学校化学学报, 2012, 33(4): 744-749.
- [42] Morikawa T, Xie Y, Asao Y, *et al.* Oleanane-type triterpene oligoglycosides with pancreatic lipase inhibitory activity from the pericarps of *Sapindus rarak* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(9): 1166-1172.
- [43] 刘志芳, 田 萌, 马跃文, 等. 熊果酸和齐墩果酸对胰脂酶活性及构象的影响 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(10): 2600-2602.
- [44] Kim D H, Han K M, Chung I S, *et al.* Triterpenoids from the flower of *Campsis grandiflora* K. Schum. As human acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibitors [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(5): 550-556.
- [45] Lee W S, Im K R, Park Y D, *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.
- [46] Liu Y, Tian W, Ma X, *et al.* Evaluation of inhibition of fatty acid synthase by ursolic acid: positive cooperation mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 392(3): 386-390.
- [47] Rosenblat M, Coleman R, Reddy S T, *et al.* Paraoxonase 2 (PON2) attenuates macrophage triglyceride accumulation via inhibition of diacylglycerol acyltransferase (DGAT1), the rate limiting enzyme in triglycerides biosynthesis [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(5): 870-879.
- [48] Masuno H, Kitao T, Okuda H. Ginsenosides increase secretion of lipoprotein lipase by 3T3-L1 adipocytes [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1996, 60(12): 1962-1965.
- [49] Sung H Y, Kang S W, Kim J L, *et al.* Oleanolic acid reduces markers of differentiation in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Nutr Res*, 2010, 30(12): 831-839.
- [50] Kim H S, Han S Y, Sung H Y, *et al.* Blockade of visfatin induction by oleanolic acid via disturbing IL-6-TRAF6-NF- κ B signaling of adipocytes [J]. *Exp Biol Med*, 2014, 239(3): 284-292.
- [51] Kim H S, Sung H Y, Kim M S, *et al.* Oleanolic acid suppresses resistin induction in adipocytes by modulating Tyk-STAT signaling [J]. *Nutr Res*, 2013, 33(2): 144-153.
- [52] 万 谦, 王兆会, 李启佳, 等. 齐墩果酸对分化后的 3T3-L1 脂肪细胞的作用 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(1): 68-71.
- [53] 孔 天, 李松涛, 李 颖, 等. 齐墩果酸刺激原代脂肪细胞脂解及其机制研究 [J]. 卫生研究, 2011, 40(1): 27-29.
- [54] He Y, Li Y, Zhao T, *et al.* Ursolic acid inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through LKB1/AMPK pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70135.
- [55] Li Y, Kang Z, Li S, *et al.* Ursolic acid stimulates lipolysis

- in primary-cultured rat adipocytes [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(11): 1609-1617.
- [56] 赵晶晶, 魏明, 吕艳青, 等. 齐墩果酸对 3T3-L1 脂肪细胞分化及糖脂代谢的影响 [J]. *中药材*, 2011, 34(4): 588-592.
- [57] Kunkel S D, Elmore C J, Bongor K S, *et al.* Ursolic acid increases skeletal muscle and brown fat and decreases diet-induced obesity, glucose intolerance and fatty liver disease [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39332.
- [58] Kunkel S D, Suneja M, Ebert S M, *et al.* mRNA expression signatures of human skeletal muscle atrophy identify a natural compound that increases muscle mass [J]. *Cell Metab*, 2011, 13(6): 627-638.
- [59] Ogasawara R, Sato K, Higashida K, *et al.* Ursolic acid stimulates mTORC1 signaling after resistance exercise in rat skeletal muscle [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013, 305(6): E760-765.
- [60] Lee H K, Nam G W, Kim S H, *et al.* Phytocomponents of triterpenoids, oleanolic acid and ursolic acid, regulated differently the processing of epidermal keratinocytes via PPAR- α pathway [J]. *Exp Dermatol*, 2006, 15(1): 66-73.
- [61] Lim S W, Hong S P, Jeong S W, *et al.* Simultaneous effect of ursolic acid and oleanolic acid on epidermal permeability barrier function and epidermal keratinocyte differentiation via peroxisome proliferator-activated receptor- α [J]. *J Dermatol*, 2007, 34(9): 625-634.
- [62] Gabas-Rivera C, Martinez-Beamonte R, Rios J L, *et al.* Dietary oleanolic acid mediates circadian clock gene expression in liver independently of diet and animal model but requires apolipoprotein A1 [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(12): 2100-2109.
- [63] Liu C, Li Y, Zuo G. Oleanolic acid diminishes liquid fructose-induced fatty liver in rats: role of modulation of hepatic sterol regulatory element-binding protein-1c-mediated expression of genes responsible for de novo fatty acid synthesis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 534084. DOI: 10.1155/2013/534084.2013-05-02.
- [64] 樊慧锦, 田维熙, 马晓丰. 熊果酸抑制脂肪酸合酶及诱导 HepG2 细胞凋亡机制研究 [J]. *北京师范大学学报: 自然科学版*, 2012, 48(3): 266-169.
- [65] Jia Y, Bhuiyan M J, Jun H J, *et al.* Ursolic acid is a PPAR- α agonist that regulates hepatic lipid metabolism [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(19): 5876-5880.
- [66] Liu W, Wong C. Oleanolic acid is a selective farnesoid X receptor modulator [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(3): 369-373.
- [67] Kawahara K, Hashiguchi T, Masuda K, *et al.* Mechanism of HMGB1 release inhibition from RAW264.7 cells by oleanolic acid in *Prunus mume* Sieb. Et Zucc. [J]. *Int Mol Med*, 2009, 23(5): 615-620.
- [68] Reisman S A, Aleksunes L M, Klaassen C D. Oleanolic acid activates Nrf2 and protects from acetaminophen hepatotoxicity via Nrf2-dependent and Nrf2-independent processes [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77(7): 1273-1282.
- [69] Shin S, Wakabayashi J, Yates M S, *et al.* Role of Nrf2 in prevention of high-fat diet-induced obesity by synthetic triterpenoid CDDO-Imidazolide [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 620(1-3): 138-144.
- [70] Jayaprakasam B, Olson L K, Schutzki R E, *et al.* Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in cornelian cherry (*Cornus mas*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(1): 243-248.
- [71] Stimson R H, Andrew R, McAvoy N C, *et al.* Increased whole-body and sustained liver cortisol regeneration by 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obese men with type 2 diabetes provides a target for enzyme inhibition [J]. *Diabetes*, 2011, 60(3): 720-725.
- [72] Wamil M, Battle J H, Turban S, *et al.* Novel fat depot-specific mechanism underlie resistance to visceral obesity and inflammation in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1-deficient mice [J]. *Diabetes*, 2011, 60(4): 1158-1167.
- [73] Li G, Hernandez-Ono A, Crooke R M, *et al.* Effects of antisense-mediated inhibition of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 on hepatic lipid metabolism [J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(5): 971-981.
- [74] Rollinger J M, Kratschmar D V, Schuster D, *et al.* 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibiting constituents from *Eriobotrya japonica* revealed by bioactivity-guided isolation and computational approaches [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(4): 1507-1515.
- [75] Ramirez-Espinosa J J, Garcia-Jimenez S, *et al.* Antihyperglycemic and sub-chronic antidiabetic actions of morolic and moronic acids, *in vitro* and *in silico* inhibition of 11 β -HSD 1 [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(7): 571-576.
- [76] Wen J H, Xiong Y Q. The effect of herbal medicine danshensu and ursolic acid on pharmacokinetics of rosuvastatin in rats [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2011, 36(4): 205-211.
- [77] Hua W J, Hua W X, Nan F Y, *et al.* The influence of herbal medicine ursolic acid on the uptake of rosuvastatin mediated by OATP1B1*1a and *5 [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2014, 39(3): 221-230.