白桦酯酸及其衍生物的生物活性及作用机制研究进展

李 影[1]，徐林琳[1]，张一彤[2]，田红梅[3]，詹亚光[1,2]，尹 静[1,2*]
1. 东北林业大学 东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150040
2. 东北林业大学生命科学学院，黑龙江 哈尔滨 150040
3. 黑龙江省森林植物园，黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要：白桦酯酸是一种天然存在的五环戊烷型三萜类物质，通常是从白桦 *Betula platyphylla* 树皮中分离出来，在其他植物中也有发现，以游离糖苷和糖基衍生物的形式存在于不同植物中。通过对其化学结构的修饰可以得到多种多样的衍生物，研究表明白桦酯酸及其衍生物在抗肿瘤、抗病毒、消炎止痛、抑制脑神经及血管损伤和对其他常见疾病的治疗作用等方面具有积极的作用。综述了白桦酯酸及其衍生物的种类、生物活性及作用机制，以期为今后对其进一步的研究与应用提供理论参考。

关键字：白桦酯酸；白桦酯醇；衍生物；作用机制；抗肿瘤；抗病毒；消炎止痛；抑制脑神经及血管损伤
中图分类号：R282.71 **文献标志码**：A **文章编号**：0253 - 2670(2020)24 - 6377 - 14
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.24.029

Research progress on biological activities and mechanism of betulinic acid and their derivatives

LI Ying[1], XU Lin-lin[1], ZHANG Yi-tong[2], TIAN Hong-mei[3], ZHAN Ya-guang[1, 2], YIN Jing[1, 2]
1. Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China
2. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China
3. Forest Botanical Garden of Heilongjiang, Harbin 150040, China

Abstract: Betulinic acid is a natural pentacyclic pentane triterpenoid, usually isolated from the bark of *Betula platyphylla*, or in the form of free glycosides and glycosyl derivatives in various plants. A variety of derivatives can be obtained by modifying its chemical structure. Betulinic acid and its derivatives have certain regulatory effects in anti-tumor, antiviral, anti-inflammatory, analgesic, inhibition of cerebral nerve and vascular injury, and treatment of other common diseases. The category, pharmacological activities and related mechanisms of betulinic acid and its derivatives are reviewed in this paper, in order to provide a theoretical reference for the future application.

Key words: betulinic acid; betulin; derivatives; mechanism of action; anti-tumor; antiviral; anti-inflammatory and analgesic effect; inhibition of cerebral nerve and vascular injury

白桦 *Betula platyphylla* Suk.是桦木科桦木属的落叶乔木，白桦三萜类物质主要包括白桦酯酸和白桦酯醇等来自于白桦树皮的羽扇烷型三萜类化合物[1]。白桦三萜类物质具有广泛的生物活性，可以应用于抗菌、抗病毒、抗肿瘤、调脂、利胆和保肝等方面[2-4]。1995 年，Pisha 等[5]首次报道了白桦酯酸可以选择性地抑制黑色素瘤细胞的生长。其中白桦酯酸作为天然药物在抗肿瘤和抗艾滋病病毒（human immunodeficiency virus，HIV）等活性上显示出与以往药物作用机制不同的特点，其靶向性更强、活性更高、抑制肿瘤效果好，未发现不良反应[3-4]。随着对白桦酯酸抗肿瘤作用的深入研究发现它可以通过启动细胞的程序性死亡即细胞凋亡来发挥抗肿瘤作用，这种诱导可能是直接作用于细胞的线粒体而

收稿日期：2020-03-27
基金项目：国家自然科学基金资助项目（31570589）；东北林业大学本科创新项目（201910225082）；中央高校基本科研业务资助项目（2572020DY22）
作者简介：李 影（1995—），女，硕士研究生，研究方向为活性物质代谢调控。E-mail: 2250330567@qq.com
*通信作者 尹 静（1978—），教授，博士生导师，研究方向为天然产物代谢调控及细胞工程利用。E-mail: yinjing20135@163.com

不依赖 p53 蛋白的积累，也不依赖凋亡诱导受体系统 CD95，同其他细胞毒药物不同，具有较高的靶向性[6]。且对于不同肿瘤细胞系，其作用机制和活性均不同[7-9]。白桦酯酸与白桦酯醇的活性位点较多，其 C-3、C-19 和 C-28 部位是与生物活性密切相关的部位，在碳骨架结构上稍作更改即可产生生物活性上的变化[4,9-14]，因此白桦酯酸及其衍生物成为目前极具开发潜力的新型药物。本文综述了白桦酯酸及其衍生物的种类以及其在抗肿瘤、抗病毒、抗炎和其他常见疾病中的生物活性和作用机制。

1 白桦酯酸及其衍生物种类

从化学结构看，白桦酯酸是异戊二烯聚合物，化合物生源途径中最关键的前体是甲戊二羟酸，而不是异戊二烯，因此，白桦酯酸作为甲戊二羟酸衍生物，同白桦酯醇一样保持了羽扇烷的结构，如图 1 所示。白桦酯醇及其衍生物多在 C-2、C-3、C-17、C-20、C-23 和 C-28 位以及丙烯基的双键位置等发生结构变化。从对白桦酯酸及其衍生物的构效关系研究中可知，其 C-3、C-19 和 C-28 部位是与生物活性密切相关的部位，对这些部位的结构改造不仅可以提高化合物的溶解性，增加生物利用度，还可以降低毒性。如对这 3 个位置进行酯化、酰化等化学修饰，得到的新化合物与先导化合物相比，生物活性增强，不良反应降低，水溶性提高；而对其他部位的改造如 C-2 位的溴代、羟基化，C-1 与 C-2 成双键，C-2 与 C-3 成双键等，活性基本上没有改善；几乎所有直接对 A 环上的改造除 C-3 位之外都使化合物活性降低，甚至消失[4]。白桦酯酸及其部分具有重要生物活性的衍生物的化学结构见图 1。

2 白桦酯酸及其衍生物的抗肿瘤作用及机制

作为人类 5 大致死病症之一的恶性肿瘤严重威胁人类的生命健康，抗肿瘤药物的开发已经成为当前药物研发的热门方向。研究表明，白桦酯醇对人宫颈癌 HeLa 细胞、人肝癌 SMMC-7721 细胞、人胃癌 SGC-7901 细胞的体外增殖均有显著的抑制作用[7]。而白桦酯酸的抗肿瘤活性比白桦酯醇更强，白桦酯酸对于黑色素瘤、肝癌、前列腺癌、神经肿瘤、头颈部肿瘤、白血病、人宫颈肿瘤、小细胞肺癌、乳腺癌、鼻咽癌、淋巴瘤、大肠癌等多种肿瘤细胞均有抗增殖作用，而对正常细胞没有作用[8]，美国癌症研究所（National Cancer Institute，NCI）已将其列入快速研发规划项目（rapid access to intervention in development，RAID）[9]。白桦酯酸衍生物同样具有抗肿瘤的特性，Huo 等[10]在 2017 年利用化学转化的方法得到的白桦酯酸糖基化衍生物 B10，能够通过抑制沉默信息调节因子（Sir2）家族成员之一的 SIRT1/叉头框蛋白（FOXO3a）的乙酰化和 Bim/ PUMA 的上调抑制胶质瘤细胞增殖，通过诱导线粒体功能障碍激活细胞凋亡。通过修饰可以改变其细胞毒性和水溶性，但不改变其选择性，对于癌症治疗，白桦酯酸主要的修饰位点有 C-3、C-19 和 C-28[11]。白桦酯酸及其衍生物主要的抗肿瘤作用机制包括以下几个方面：

2.1 对肿瘤细胞的细胞毒作用

白桦酯酸可以通过调节 Cav-1/NF-κB/c-Myc 途径抑制肿瘤细胞的有氧糖酵解[12]；断裂肿瘤细胞 DNA 链，造成形态变化，破坏基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase，MMP），产生活性氧（reactive oxygen species，ROS）来达到杀死肿瘤细胞的目的[13]；白桦酯酸与嗪结合的衍生物对白血病 CCRF-CEM 细胞具有选择的细胞毒性[14]；白桦酯酸-乙酰化合物对人黑色素瘤 G361 细胞系具有细胞毒性[15]。

2.2 阻断肿瘤细胞的细胞周期

白桦酯酸可以阻断肿瘤细胞 G_2/M 期和 G_0/G_1 期的细胞周期[16]；白桦酯酸和白桦酯醇都可以使犬 T 细胞淋巴瘤 CL-1 和犬骨肉瘤 D-17 细胞系细胞的细胞周期停滞在 S 期，使犬 B 细胞淋巴瘤 CLBL-1 细胞周期停滞在 G_0/G_1 期[17]；白桦酯酸协同酪氨酸激酶抑制剂（tyrosine kinase inhibitors，TKI）可以下调肺癌 H1975 细胞的细胞周期相关蛋白 p-Rb、胸苷酸合酶和周期蛋白依赖性激酶的蛋白质水平表达，促使肺癌细胞周期停滞在 S 期[18]。由此可推测白桦酯酸阻断肿瘤细胞细胞周期的作用同抑制细胞周期相关基因在蛋白质水平的表达有关。

2.3 靶向诱导肿瘤细胞凋亡及自噬

白桦酯酸诱导凋亡常见的作用机制是通过直接调节线粒体凋亡途径。白桦酯酸可以改变线粒体膜通透性，将线粒体中的细胞色素 C 及凋亡诱导因子（apoptosis-inducing factor，AIF）释放到细胞质中，激活部分下游凋亡相关蛋白半胱天冬酶（Caspase），以激活 Caspase 介导的凋亡通路，促进肿瘤细胞凋亡[9]；或通过诱导自噬引发多种癌细胞的死亡[8,19]。

白桦酯酸联合部分抗肿瘤药物可以诱导多发性骨髓瘤 U266 细胞凋亡，其机制可能与联合用药后下调 Survivin 和 Bcl-2 基因，上调 cyto-c 和 Bax 基因的表达相关[20]。白桦酯酸结合 EGFR TKI 增强了

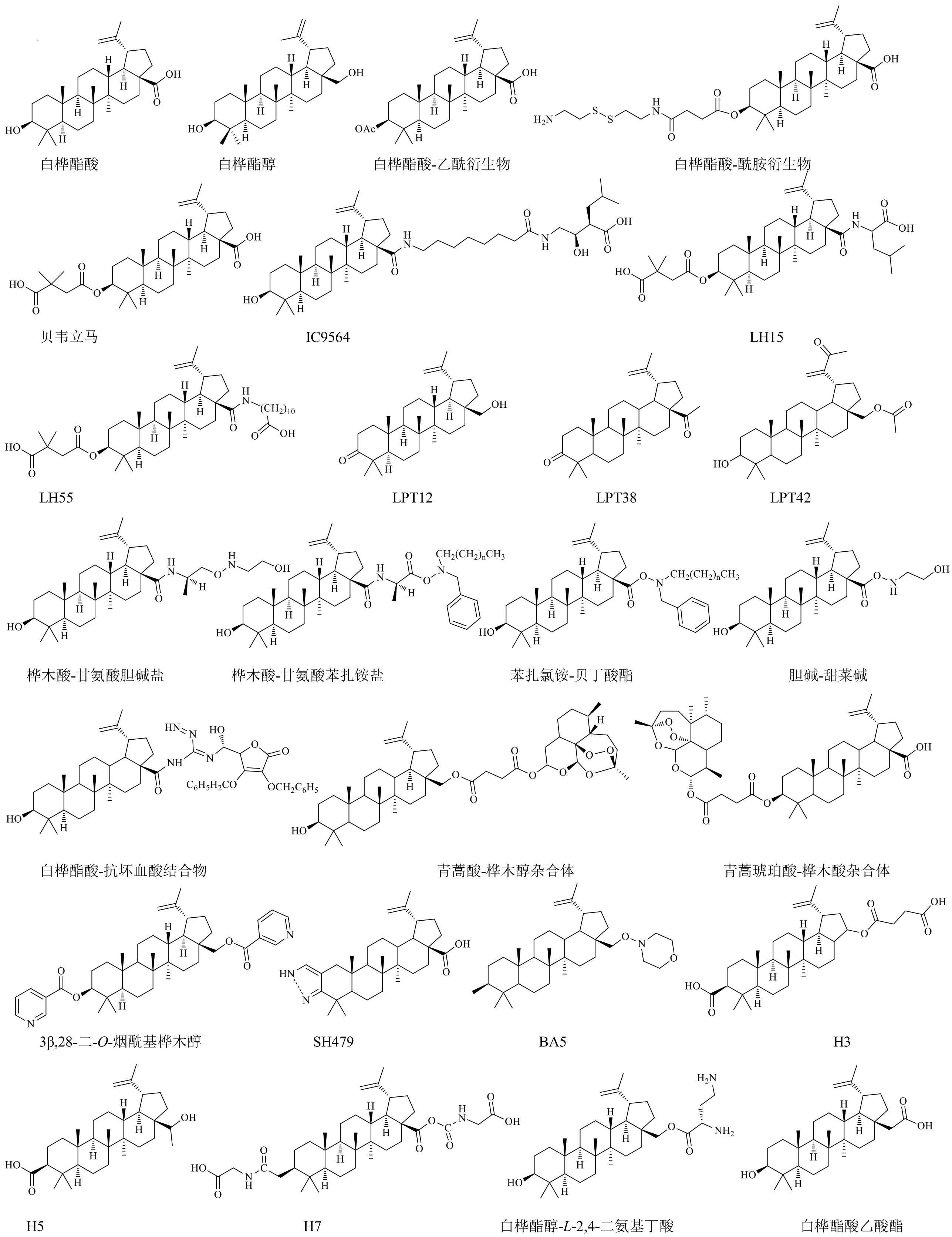


图 1　白桦酯酸及其部分具有重要生物活性的衍生物的化学结构

Fig. 1　Chemical structures of betulinic acid and some derivatives with important biological activities

Sub-G1 积累，抑制了细胞周期相关蛋白，触发细胞凋亡和自噬相关蛋白表达，诱导线粒体膜电位丧失从而诱导细胞凋亡[18]；白桦酯酸和熊果酸缀合物（毒性高于白桦酯酸）能够诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞、人结肠癌 HCT-116 细胞和人神经母细胞瘤 TET21N 细胞系线粒体靶向性凋亡[21]；白桦三萜同哌嗪基-罗丹明 B 聚合物同样可以通过诱导线粒体凋亡抑制人卵巢癌 A2780 细胞生长[22]。而白桦酯醇可以通过提高 GRP78 介导的内质网应激反应，激活蛋白激酶 R、内质网激酶等启动凋亡通路，以促使乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞凋亡[23]；磷脂酰肌醇 3-激酶（PI3K）/AKT 通路是细胞中抑制凋亡的重要通路，而白桦酯醇可以通过抑制 PI3K/AKT 途径抑制宫颈癌小鼠移植瘤增殖[24]。白桦酯酸通过激活线粒体凋亡途径、抑制核因子 κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）等途径引起肿瘤细胞凋亡或自噬[25]，见图 2。

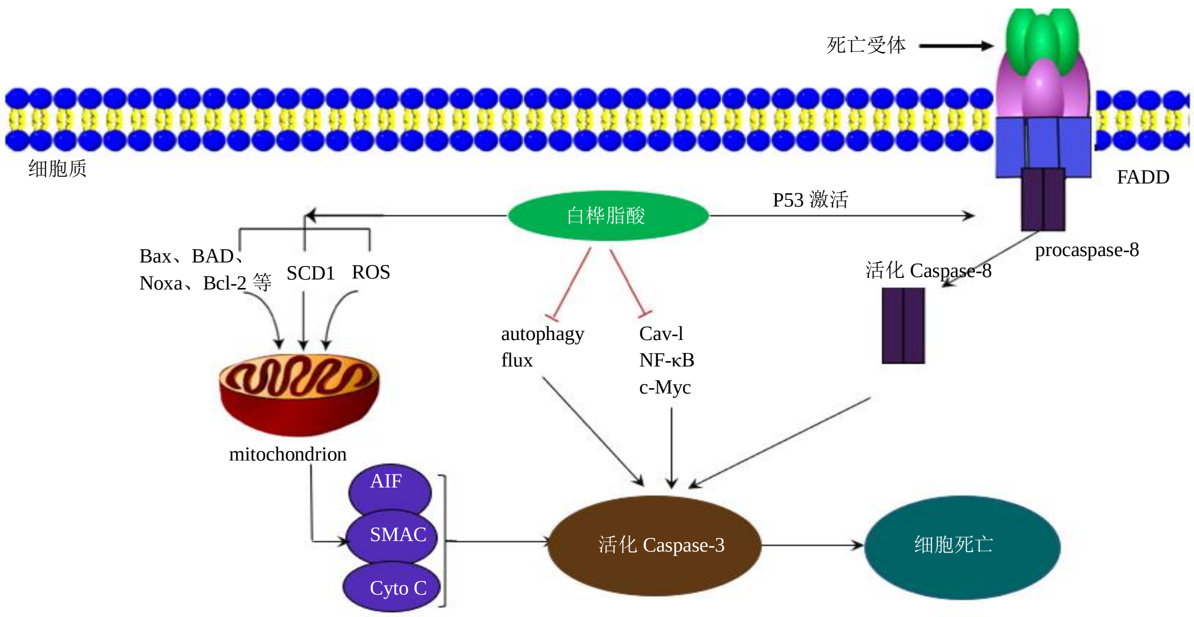


图 2　白桦酯酸的抗肿瘤作用机制

Fig. 2　Anti-tumor mechanism of betulinic acid

2.4　诱导肿瘤细胞分化

白桦酯酸能够通过激活 AMP 依赖的蛋白激酶（AMP-activated protein kinase，AMPK）信号传导来抑制胰腺癌细胞的干细胞形成，从而抑制胰腺癌细胞的增殖和肿瘤形成，还可以抑制其上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT），并可以通过降低干细胞转录因子 SRY-Box2、八聚体结合蛋白 4 和胚胎干细胞关键蛋白 Nanog 3 种多能性因子的表达来诱导肿瘤细胞分化[26]。

2.5　阻止肿瘤细胞迁移、侵袭及其他作用

白桦酯酸可以和其他物质配合，抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭，如紫杉醇-桦木酸混合纳米悬浮液可以阻断乳腺癌 MCF7 细胞系 G_0/G_1 期的细胞周期，诱导凋亡并抑制细胞迁移；桦木酸-氨基磺酸酯结合物可以引起由 Caspase 活化介导的细胞凋亡，可能通过抑制碳酸酐酶 9（carbonic anhydrase IX，部分肿瘤细胞的常见靶点）抑制乳腺癌细胞迁移和侵袭；还可以通过血管内皮生长因子 Sp1/VEGF 信号通路减弱肿瘤血管生成[27-29]。

2.6　提高机体免疫功能

体外实验表明，经白桦酯酸诱导后的 γδT 细胞分泌 γ 干扰素量明显高于对照组，杀伤胰腺癌细胞活性也得到有效提高[30]；白桦酯酸可以促进巨噬细胞和脾细胞分泌肿瘤坏死因子（TNF），增加巨噬细胞的细胞毒活性，提高机体的非特异性免疫功能，由此发挥其靶向性杀死肿瘤细胞的功效[31]。

白桦酯酸能够克服多药耐药性（MDR 表型），可能是通过抑制靶向自分泌运动因子受体（autocrine motor factor receptor，AMFR）活性实现[32]；还能够通过下调 Sp1 和诱导 Sp1 的泛素化来上调抑癌基因 PTEN 蛋白表达来诱导口腔鳞状癌 OSCC 细胞的放射增敏作用，以结合放射疗法治疗 OSCC 细

胞[33]；还可以抑制多种去泛素化酶以减少前列腺癌细胞中雄激素受体蛋白的稳定性和mRNA表达，从而降低前列腺癌对恩杂鲁胺药物的抗性以治疗前列腺癌[34]。

3 白桦酯酸及其衍生物的抗病毒作用及机制

病毒是一类比较原始的，有生命特征的，能够自我复制和严格细胞内寄生的非细胞生物，人类传染病有70%～80%是由病毒引起的[35]，常见疾病如获得性免疫缺陷综合征（acquired immunodeficiency syndrome，AIDS），流行性感冒，乙、丙型肝炎，带状疱疹等。20世纪初至今，科学家陆续发现，一些病毒的感染能够引起肿瘤的发生，这类病毒被命名为RNA肿瘤病毒[36]。而白桦三萜类物质具有抑制多种病毒、缓解多种病毒引起的疾病症状的药理活性[37]。

当前药物抗病毒的作用机制通常是以病毒复制的不同阶段为作用靶点，由于核酸类型差异，病毒可分为RNA病毒（单链或双链）和DNA病毒（单链或双链），不同遗传物质的病毒其药物抑制作用的靶点也有所差异。以DNA为遗传物质的病毒，其独特的作用靶点是DNA多聚酶，如阿昔洛韦、更昔洛韦等对带状疱疹病毒、人类疱疹病毒、I型和II型单纯疱疹病毒的抑制作用；以RNA为遗传物质的逆转录病毒，其独特的作用靶点是逆转录酶，常见如齐多夫定和拉米夫定对HIV的抑制[38]。而白桦酯酸及其衍生物对几种常见的DNA和RNA病毒均有抑制作用。

3.1 对HIV的抑制及机制

HIV引起的AIDS已成为危害人类健康的重大传染疾病之一[39]。目前公认的抗艾滋病毒的作用机制有进入抑制剂、逆转录酶抑制剂、蛋白水解酶抑制剂、整合酶抑制剂和成熟抑制剂，当前大部分药物均为逆转录酶抑制剂和蛋白水解酶抑制剂，存在药物耐药性等缺点[40]。而白桦酯酸及其衍生物是通过干扰病毒生命循环的后阶段来起作用的，同病毒进入、成长和成熟相关，主要用作进入和成熟抑制剂，属于待开发的新型HIV抑制剂，因此近年来白桦酯酸的抗HIV活性受到广泛关注[41]。人们通过对白桦酯酸的抗HIV活性研究，发现了一些高活性的衍生物，其中美国Panacos公司开发了抗HIV-1衍生物贝韦立马（图1），II期临床已获得成功[42]。

研究表明，白桦酯酸抗HIV病毒的主要活性位点在C-17的羧基和C-19的异丙烯基，而白桦酯酸在作用靶点上的差异主要取决于对其侧链结构C-3、C-28和C-30位的修饰与改造[43-45]。白桦酯酸及其衍生物的抗HIV的作用机制如下[37]：

3.1.1 进入抑制剂——阻断或抑制病毒与细胞膜的融合，阻止RNA病毒侵入细胞 白桦酯酸衍生物RPR103611等通过改变gp120和gp41之间的分子信号来抑制HIV-1融合，这些信号是触发受体诱导的gp41构象变化所必需的[46]。桦木酸衍生物IC9564（图1）则通过影响HIV-1的gp120来阻断HIV-1包膜介导的膜融合[47]。

3.1.2 成熟抑制剂——抑制RNA病毒蛋白的产生来抑制其复制与分化成熟 贝韦立马可以通过阻碍衣壳前体蛋白衣壳间隔肽1向成熟衣壳的转变，,使病毒产生无感染性颗粒，从而抑制HIV复制[48]；从棒花蒲桃叶中提取的白桦酯酸能够抑制HIV-1在淋巴细胞中的繁殖[49]；还可以通过阻止病毒蛋白的衣壳-间隔肽的裂解来阻止病毒成熟[50]。

3.1.3 多功能抑制剂 很多白桦酯酸衍生物可以作用于多个靶点以达到对HIV的抑制作用。如白桦酯酸C-28位修饰的LH15（*N*-[3-*O*-(3′,3′-二甲基琥珀酰)-lup-20(29)-en-28-oyl]亮氨酸）和LH55（*N*-[3-*O*-(3′,3′-二甲基琥珀酰基)-lup-20(29)-en-28- oyl]-11-氨基十一烷酸，图1）能够抑制HIV-1进入同时通过干扰P25的加工来抑制HIV-1成熟[51]；羽扇烷型五环三萜LPT12（图1）主要通过抑制逆转录、遗传物质整合、病毒转录、病毒蛋白产生和装配成熟来抑制HIV-1感染；LPT38（图1）通过对遗传物质整合，病毒转录或病毒蛋白产生等过程的抑制来实现其抗HIV的作用；而LPT42（图1）能够抑制逆转录，病毒转录及病毒蛋白产生[52]。

3.2 对流感、丙型肝炎病毒（HCV）等常见RNA病毒的抑制

白桦酯酸及其衍生物对于其他RNA病毒也有抑制作用，如白桦酯酸可以通过抑制环氧化酶-2介导的NF-κB和ERK1/2通路抑制流感病毒复制来抑制流感病毒[41]；而白桦酯酸和白桦脂醇都有抗肠道ECH0-6病毒的作用[46]；白桦脂醇衍生物3,28-二-*O*-乙酰基甜菜碱对仅有一种治疗药物（利巴韦林）的人呼吸道合胞病毒表现出较高活性[53]；白桦酯酸的离子衍生物（图1）能够抑制鼠白血病病毒MuLV蛋白成熟[54]。

针对病毒在宿主细胞表达不同阶段的特异性靶点，白桦酯酸及其衍生物对RNA病毒的抑制存在

几类不同的作用机制[37]：

3.2.1　抗流感病毒——进入抑制剂　白桦酯酸-抗坏血酸结合物（图 1）可以抗甲型流感 H1N1，其发挥活性的分子基础可能是通过对 HA 蛋白的高亲和力来大量结合 HA 蛋白，从而阻断流感病毒与细胞的附着（图 3）[55]。

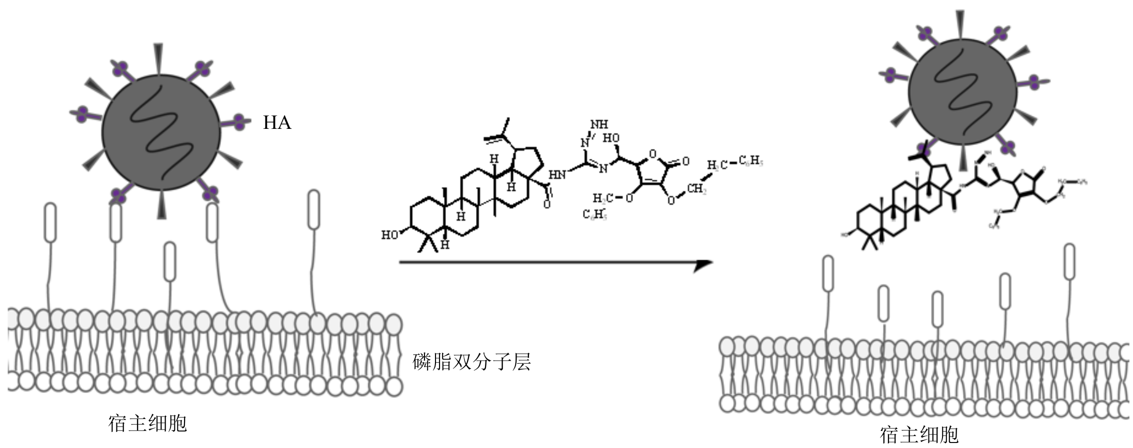


图 3　白桦酯酸-抗坏血酸结合物对甲型流感 H1N1 的抑制

Fig. 3　Inhibition of influenza A H1N1 by betulinic acid-ascorbic acid conjugate

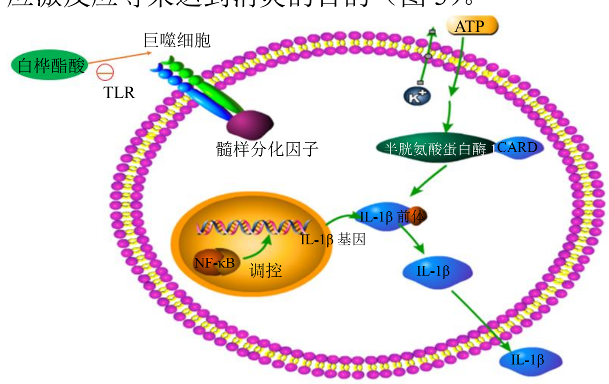
3.2.2　抗 HCV 病毒　HCV 是丙型肝炎的致病原因，临床研究表明，白桦树皮提取物可以显著改善 HCV 患者的症状[56]。白桦酯酸通过抑制 NF-κB 和 ERK1/2 介导的 COX-2 途径，抑制 Ava5 复制子细胞和细胞培养物衍生的感染性 HCV 颗粒系统中的 HCV 复制，同时白桦酯酸与各种 HCV 抑制剂的组合治疗对 HCV 的复制表现出协同抑制作用[57]。

3.3　对常见 DNA 病毒的抑制

白桦酯酸及其衍生物对于 DNA 病毒也有抑制作用。桦木酸 3-肟苯甲酰肼和桦木酸酰肼可以抑制 I 型单纯疱疹病毒的复制[58]；白桦酯酸的离子衍生物(如图 1)对单纯疱疹病毒II型具有抗病毒活性[59]；桦木酸通过下调锰超氧化物歧化酶表达，随后产生活性氧物质和线粒体功能障碍而显著抑制乙肝病毒复制[60]；白桦酯酸和西达本胺可以协同作用，诱导 ROS 产生和 DNA 损伤，并且显著抑制侵染了疱疹病毒科嗜淋巴细胞病毒（EBV）的 LCL 细胞中 EBV 的复制[61]；青蒿酸-桦木醇杂合体和青蒿琥珀酸-桦木酸杂合体（图 1）在抑制恶性疟原虫和人类巨细胞病毒方面均有活性，且同抗巨细胞病毒常用药物伐昔洛韦相比，在低浓度下也起作用[62]；白桦酯醇衍生物 3β,28-二-*O*-烟酰基桦木醇（图 1）对人乳头瘤病毒的复制具有较高的抑制活性[63]。

4　白桦酯酸及其衍生物的消炎止痛作用及机制

NF-κB 是一类以 κB 位点为靶点的核转录因子的总称，其作用多种多样，可以调控多种炎性因子基因表达[64]；而抗磷脂酶 A2（phospholipaseA2，PLA2）参与炎症及急性损伤的致病过程[65]。白桦三萜类物质消炎的主要作用机制是通过抑制 NF-κB 信号通路，抑制其下游调控的炎症介质的基因和蛋白水平（图 4）[66]；或通过抗 PLA2 活性、促进一氧化氮合酶活性降低 NO 产生、促进 ROS 产生氧化应激反应等来达到消炎的目的（图 5）。



TLR 受体识别并接收外来信号，激活吞噬细胞中核细胞因子 NF-κB 调控 IL-1β 等促炎介质相关基因的表达，BA 通过抑制 TLR 受体抑制 NF-κB 的激活，抑制促炎因子产生

TLR receptors recognize and receive external signals, activate nuclear cytokine NF-κB in phagocytes to regulate the expression of IL-1β and other pro-inflammatory mediator-related genes. BA inhibits the activation of NF-κB by inhibiting TLR receptors and inhibits pro-inflammatory factors produce

图 4　白桦酯酸调控 NF-κB 的作用机制

Fig. 4　Mechanism of betulinic acid regulating NF-κB

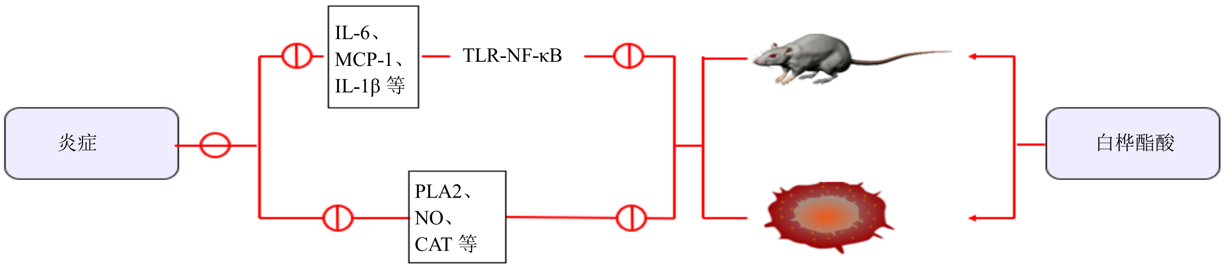


图 5　白桦酯酸抗炎的作用机制

Fig. 5　Anti-inflammatory mechanism of betulinic acid

白桦酯醇和白桦酯酸可以通过抗 PLA2 活性来抑制促炎过程[65]；白桦酯酸在大鼠急性足肿胀模型中通过降低 NO 水平表现出抗炎作用[67]，可明显抑制关节炎指数，改善关节病理，减少足趾肿胀，改善血液流变学，改善滑膜细胞凋亡，恢复相关细胞因子对 ROCK/NF-κB 信号通路的负调控作用[50]；白桦酯酸衍生物 SH479（图 1）通过调节 T 细胞分化和细胞因子平衡抑制胶原诱导的关节炎[68]；白桦酯酸可以通过协同氟伐他汀通过 Toll 样受体-4（TLR4）介导的抗动脉粥样硬化机制治疗 II 型胶原诱导的关节炎[69]；还可以通过降低炎性细胞因子水平，尤其是 γ 干扰素等，治疗小鼠的肺炎、结肠炎，并减轻疼痛[70-71]；已有研究表明，白桦脂醇能够显著抑制 TNF-a 诱导的白细胞介素-1β（IL-1β）、白细胞介素-6（IL-6）和单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1）等炎症基因的转录水平；近期研究表明白桦酯酸作为蛋白酶激活剂可以有效地降低脂多糖诱导的 IL-1β 蛋白水平[72]。

白桦酯酸还可以通过调控 NF-κB/钙通道双重调控达到止痛的效果。最新研究表明，白桦酯酸的半合成酰胺衍生物 BA5-1（图 1）是一种双重 NF-κB/钙调神经磷酸酶抑制剂，可减轻实验性休克和迟发型超敏反应[73]；来自沙漠薰衣草的白桦酯酸可以通过阻断 N 和 T 型钙通道，抑制化疗诱导的周围神经病变或 HIV 相关外周感觉神经病变引发的机械性异常疼痛，具有非阿片类镇痛药的开发潜力[74]。

5　白桦酯酸及其衍生物抑制脑神经、血管损伤及机制

5.1　对中枢神经系统的作用

白桦酯酸及其衍生物对中枢神经系统具有积极的作用，该效果可能是通过调控一些细胞因子、影响神经元相关的信号通路来起作用，更深入的作用机制还需要进一步的研究。Machado 等[75]利用悬尾实验（tail suspension test，TST）发现白桦酯酸在抑郁症动物模型中具有抗抑郁作用；另有研究表明白桦酯酸可以改善神经元特异性级联传导环磷酸腺苷反应元件结合蛋白/脑源性神经营养因子 CREB/BDNF 信号通路，而该信号通路和抑郁症等神经系统问题相关[76-77]；白桦酯醇可以通过结合 γ-氨基丁酸（GABAA）受体介导的信号传导途径来抑制小鼠的癫痫发作[78]；白桦酯酸还可以通过控制炎症细胞因子的浓度和氧化应激的产生，抑制 FAS/FASL 途径在神经元细胞中引起的凋亡，从而减少暴露在异氟烷中的新生小鼠的神经元损伤，抑制异氟烷对小鼠认知功能的损害[79-80]。

5.2　调控血管损伤，抑制神经元损伤

白桦酯酸还可以通过影响相关信号通路对血管和神经元损伤起到修复作用。核因子红细胞相关因子-2（Nrf2）是调节内源性抗氧化基因表达的关键转录因子，白桦酯酸通过调节 Nrf2 抗氧化功能减弱大鼠主动脉中脂多糖诱导的血管低反应性[81]；白桦酯酸也可以通过激活 NF-κB 显著抑制由 Atg7 敲低引起的血管新生受损[82]；还可以通过减轻内皮功能障碍来治疗和预防早期动脉粥样硬化[83]；白桦酯酸还可以通过下调 NADPH 氧化酶 NOX4 防止小鼠脑缺血，减轻缺血性中风的危险[84]；白桦酯酸通过激活 PI3K/Akt 信号通路抑制 OGD/R 诱导的大鼠海马预防脑缺血性神经元损伤。

5.3　改善老年痴呆

痴呆是一种后天智力功能持续性障碍的综合征，当前最常见的 2 种老年性痴呆分别是阿尔茨海默病和血管性痴呆；而近期研究表明，白桦酯酸对这 2 种常见痴呆均有一定的改善作用。

5.3.1　对阿尔茨海默病的改善　白桦酯酸对阿尔茨海默病的不同动物模型中的神经变性和神经元损伤具有保护作用，可以预防阿尔茨海默病诱导的大

鼠的神经行为缺陷，可以预防阿尔茨海默病诱导的大鼠长时程增强效应（long-term potentiation，LTP）缺乏[85]。研究表明白桦酯酸通过以下方式表现出保护作用：减弱神经行为和认知功能障碍；减少海马体促炎细胞因子；减少氧化和亚硝化应激；乙酰胆碱酯酶活性正常化；恢复神经传递平衡；使长期潜能参数正常化；减少对海马体的组织学损伤[25]。

5.3.2 对血管性痴呆的改善 白桦酯酸可以与抗氧化剂和抗炎药协同作用通过影响 cAMP/cGMP/CREB/BDNF 信号通路，抑制血管性痴呆，达到提高脑血流量，抑制海马体损伤，恢复部分认知障碍的作用[77]。

6 白桦酯酸及其衍生物对其他常见疾病的治疗作用及机制

6.1 保护心肌细胞

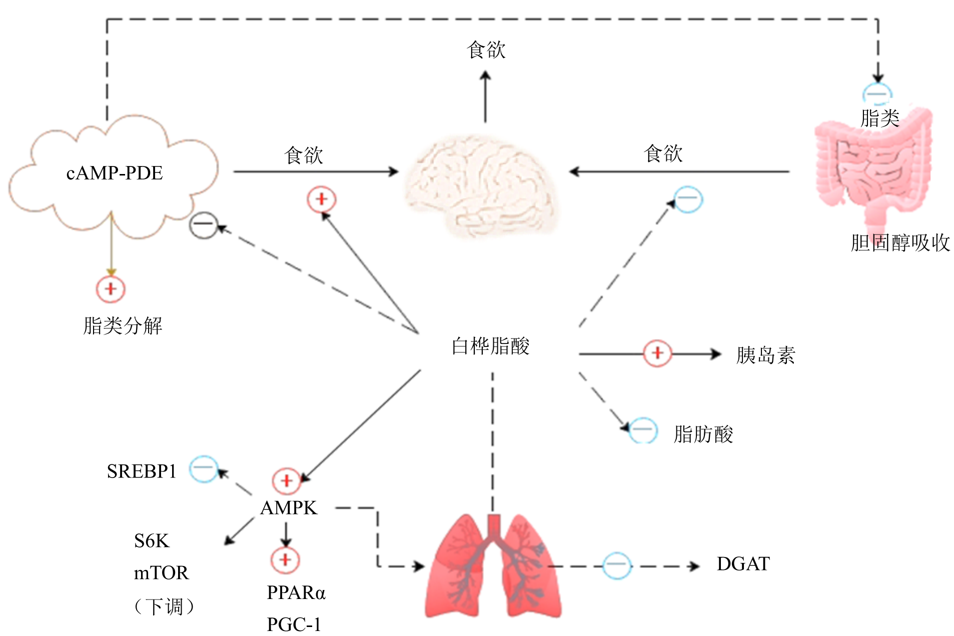
白桦酯酸及其衍生物可以通过调控细胞信号因子起到对心肌细胞的保护作用。如白桦酯酸能够通过诱导 Nrf2/HO-1 和抑制 p38 和 JNK 途径减轻心肌缺氧/复氧损伤，通过抑制 TGF-β1/Smad 信号传导途径阻止高葡萄糖诱导的心脏成纤维细胞中细胞外基质蛋白的表达，治疗心脏纤维化，起到对心脏细胞的保护作用[86-87]；白桦脂醇可以通过抑制 PI3K/AKT 的活性进而降低 AGEs 诱导的心肌 H9C2 细胞自噬水平[88]；白桦酯酸衍生物 BA5-2（图 1）通过诱导白细胞介素-10 和 M2 巨噬细胞极化减轻实验性慢性恰加斯心肌病的炎症和纤维化。

6.2 调脂和护肝作用

白桦酯酸及其衍生物还可以起到调脂和护肝等的作用。白桦酯酸及其衍生物可以预防乙醇诱导的脂肪肝；用白桦酯酸喂食高脂肪饮食的小鼠能够显著抑制肥胖；白桦酯酸还可以抑制非酒精性脂肪肝，并降低其总胆固醇和三酰甘油水平[50]。白桦酯酸抗肥胖的两种可能机制是活化 AMPK 和降低肠道中胆固醇吸收（图 6）[89]。调节 AMPK-SREBP 信号通路帮助减少肝脏脂质积累；通过对人体胆固醇酰基转移酶-1（负责巨噬细胞中的泡沫细胞形成）和人体胆固醇酰基转移酶-2（负责肠黏膜细胞中的胆固醇吸收过程）的抑制来降低肠中胆固醇的吸收[50]。

6.3 抑菌作用

白桦酯酸及其衍生物可以通过对细菌及真菌生



AMPK-AMP 激活的蛋白激酶 cAMP-PDE-环状 AMP-磷酸二酯酶 DGAT-二酰基甘油酰基转移酶 mTOR-雷帕霉素的哺乳动物靶标 PGC-1-PPARγ 共激活剂-1 PPARα-过氧化物酶体增殖物激活受体-α S6K-S6 激酶 SREBP1-固醇调节元件结合蛋白 1

AMPK-AMP-activated protein kinase cAMP-PDE-cyclic AMP-phosphodiesterase DGAT-diacylglycerol acyltransferase mTOR-mammalian target of rapamycin PGC-1-PPARγ co-activated agent-1 PPARα-peroxisome proliferator activated receptor-α S6K-S6 kinase SREBP1-sterol regulatory element binding protein 1

图 6 白桦酯酸对葡萄糖代谢的影响

Fig. 6 Effects of betulinic acid on glucose metabolism

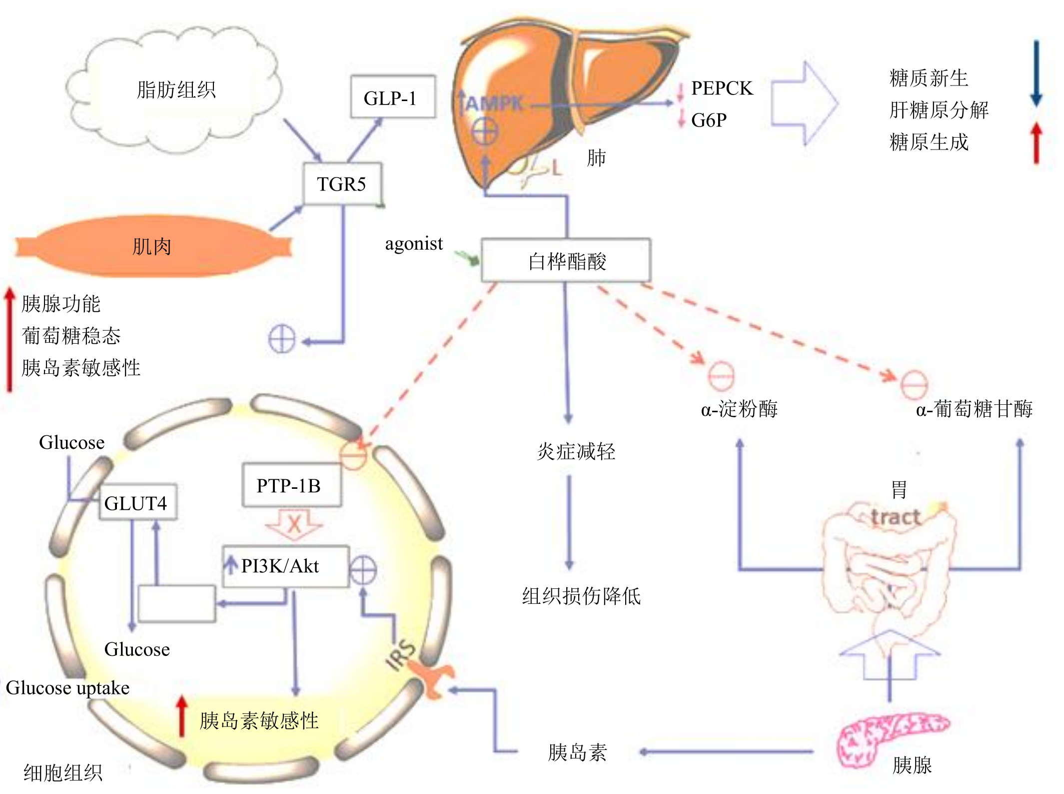
物膜的抑制来发挥其抑菌作用。白桦酯酸和白桦酯醇能够抑制铜绿假单胞菌群体的生长，并减少其生物膜的形成[90]；白桦酯醇、白桦酯酸和熊果酸通过增强大肠杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌的电子传递链活性，诱导并增加 ROS 产生，使得脂质过氧化、DNA 片段化从而引起细菌死亡[91]；白桦酯酸还可以通过抑制肽聚糖的形成来抑制金黄色葡萄球菌[92]；白桦酯酸-酰胺化合物（图 1）对变形链球菌 *Streptococcus mutans* 和蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 也具有抑制作用[15]。

6.4 抑制糖尿病及其并发症

糖尿病是当前人类需要面对的重大疾病之一。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ（peroxisome proliferators-activated receptors，PPARγ）在调节糖代谢和脂类平衡方面具有重要的功能，白桦酯酸作为 PPARγ 拮抗剂，可以通过促进成骨分化并抑制脂肪生成，从而抑制糖尿病[93]。白桦酯酸抑制糖尿病主要有 2 种作用机制：（1）抑制 α-淀粉酶和 α-葡糖苷酶，减少多糖的水解，降低游离葡萄糖含量，以此减少机体对糖分的吸收；（2）通过激活 AMPK，从而降低磷酸烯醇丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶的表达，同时增加了跨细胞膜的葡萄糖转运并促进葡萄糖转运蛋白 GLUT-1、GLUT-2 的表达，以促进葡萄糖摄取和糖原合成（图 7）[50]。白桦酯酸类物质还可以抑制糖尿病并发症的产生，如白桦酯酸可以通过调节 Nrf2/NF-κB 途径改善实验性膜性肾病中的蛋白尿[94]。

6.5 对其他疾病的作用

人类疾病多种多样，近年来很多研究表明，白桦酯酸及其衍生物对多种疾病均可能具有预防或治疗活性，这些结果仍需要进一步的验证和研究。也有报道，白桦酯酸衍生物 H3、H5 和 H7（图 1）可以保护人视网膜神经胶质 MIO-M1 细胞免受谷氨酸



Akt-蛋白激酶 B AMPK-AMP 激活的蛋白激酶 G6P-6-磷酸葡萄糖 GLP-1-胰高血糖素样肽 1 GLUT-4-葡萄糖转运蛋白 4 IRS-胰岛素受体底物 PEPCK-磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 PI3KB-磷脂酰肌醇 3-激酶依赖性 B PTP1B-蛋白酪氨酸磷酸酶-1B TGR5-胆汁酸膜受体

Akt-protein kinase B AMPK-AMP activated protein kinase G6P-6-phosphate glucose GLP-1-glucagon-like peptide 1 GLUT-4-glucose transporter 4 IRS-insulin receptor substrate PEPCK-phosphoenolpyruvate carboxykinase PI3KB-phosphatidylinositol 3-kinase-dependent B PTP1B-protein tyrosine phosphatase-1B TGR5-bile acid membrane receptor

图 7 白桦酯酸对脂质稳态、代谢和氧化的调节

Fig. 7 Regulation of betulinic acid on homeostasis, metabolism and oxidation of lipids

诱导的氧化应激，可能具有预防或治疗人类视网膜疾病的活性[95]；白桦酯酸可以通过激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶途径诱导自噬，从而减轻肝脏纤维化和肾脏纤维化[82]；白桦酯醇衍生物白桦酯醇-*L*-2,4-二氨基丁酸（图 1）具有很强的刺激人成纤维细胞中胶原合成的能力，且在水中的溶解度更好，因此白桦酯醇-*L*-2,4-二氨基丁酸适合添加入治愈伤口，再生口腔黏膜和使皮肤恢复活力的制剂中[96]；白桦酯酸及其衍生物在杀虫（如埃及伊蚊幼虫）方面也具有一定活性，还可以通过杀死克氏锥虫，并诱导其坏死以达到治疗恰加斯病的目的[2,97]；白桦酯酸还可以抑制蛇毒金属蛋白酶（蛇毒中的主要功能蛋白之一）的毒性，减轻蛇毒引起的局部组织损伤[98]；防止 *N*-亚硝基二甲基胺引起的大鼠睾丸氧化还原失衡[99]；另有研究表明，白桦酯酸衍生物白桦酯酸乙酸酯（图 1）具有有效的抗结核活性[100]；白桦酯酸还可以通过刺激 Smad 1/5/8 和 p38 途径协同增强骨形态发生蛋白 BMP2 诱导的骨形成，而白桦酯醇可以通过下调 T 细胞核因子抑制核因子 κB 受体活化因子配体 RANKL 介导的破骨细胞分化[101]。

7 结语与展望

白桦酯酸及其衍生物具有非常广泛的药理活性，因此对于它的研究越来越深入。通过对其各种药理活性的作用机制的深入认识，可以清楚白桦酯酸及其衍生物在不同细胞以及不同条件下的作用各有差异，如在肿瘤细胞中白桦酯酸可以诱导线粒体相关性细胞凋亡；而在小鼠缺血再灌注实验中，白桦酯酸可以抑制神经细胞凋亡与损伤；在消炎的调控机制中，白桦酯酸可以通过抑制吞噬细胞 NF-κB 通路抑制促炎细胞因子产生，而另一方面又可以激活 NF-κB 通路抑制新生血管受损，这充分说明了白桦酯酸及其衍生物的具有选择性的药理活性，具有更大的应用价值。

除了对于其药理活性的挖掘，作用机制的探索以外，如何得到更多的天然产物也成为了当前研究的重点。从植物（如白桦树皮）中提取得到白桦酯酸已经无法满足研究和进一步应用的需求，因此对提高白桦酯酸产量的探求也是研究的重点之一。这方面本实验室前期做了大量研究工作，并取得可喜进展，通过白桦细胞培养、基因工程改造、环境调控、抗逆信号分子（茉莉酸甲酯、一氧化氮、水杨酸、内生真菌等）诱导使得白桦细胞中三萜含量显著提高，使总三萜干质量不足 1 mg/g 提高到 50～60 mg/g[4,102-103]，实现了利用白桦细胞和组织获得白桦三萜的目的。非生物与生物诱导子可以提高植物次生代谢产物产量，Hajati 等[104]在 2018 年用 0.5 mg/L 氯化胆碱（CCC）作非生物诱导子（也是分支途径固醇合成抑制剂）处理白桦细胞得到更多的白桦酯酸；Yin 等[103]通过过表达调控白桦酯酸的转录因子 bHLH9 提高白桦酯酸的产量。

近年来合成生物学成为研究的重点，利用合成生物学的方法，结合酵母的生物安全、遗传改造技术及培养方法成熟等优点，在酵母中构建并优化白桦酯酸合成的代谢途径以合成白桦酯酸也是研究的重点之一,并取得一定进展[105-106]。除了白桦酯酸及其部分天然存在的衍生物，对其结构活性位点的化学修饰所产生的衍生物也逐渐成为研究的重点。化学修饰研究的重点是对其 C-3、C-19 和 C-28 的取代，而主要化学转化包括胺化、酯化、烷基化、磺化等[107]等。另外，在实际应用中，白桦酯酸具有水溶性差和体内半衰期短等限制其应用于治疗的缺点，通过使用纳米级药物递送系统可以增强白桦酯酸的水溶性、半衰期和功效。目前已开发了几种不同种类的纳米级递送系统，包括聚合物纳米颗粒、磁性纳米颗粒、脂质体、聚合物缀合物、纳米乳剂、环糊精复合物和碳纳米管等，另有利用晶体工程等的方法将其他化合物如维生素 C 等与白桦酯酸共结晶以改变其特性[108]。相信随着基因工程、代谢工程及合成生物学技术的进一步应用，在不久的将来，白桦酯酸类药物将有效地合成，并在人类疾病治疗过程中发挥重要的作用。

参考文献

[1] Baltazar A, Espina-Lucero J, Ramos-Torres I, *et al*. Effect of methyl jasmonate on properties of intact tomato fruit monitored with destructive and nondestructive tests [J]. *J Food Eng*, 2007, 80(4): 1086-1095.

[2] da Silva G N, Trindade F T, dos Santos F, *et al*. Larvicidal activity of natural and modified triterpenoids against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [J]. *Pest Manag Sci*, 2016, 72(10): 1883-1887.

[3] Suresh C, Zhao H, Gumbs A, *et al*. New ionic derivatives of betulinic acid as highly potent anti-cancer agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(4): 1734-1738.

[4] 詹亚光, 尹 静. 白桦细胞培养与三萜合成的生物调控 [M]. 北京: 科学出版社, 2017.

[5] Pisha E, Chai H, Lee I S, *et al*. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that

functions by induction of apoptosis [J]. *Nat Med*, 1995, 1(10): 1046-1051.

[6] Fulda S, Scaffidi C, Susin S A, *et al*. Activation of mitochondria and release of mitochondrial apoptogenic factors by betulinic acid [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(51): 33942-33948.

[7] 宋添添, 牟 瑛, 张桂英. 白桦脂醇的体内抗肿瘤作用及机制 [J]. 世界中医药, 2014, 9(7): 916-918.

[8] Zhang D M , Xu H G, Wang L, *et al*. Betulinic acid and its derivatives as potential antitumor agents [J]. *Med Res Rev*, 2015, 35(6): 1127-1155.

[9] Kikuchi T, Akazawa H, Tabata K, *et al*. 3-*O*-(*E*)-*p*-coumaroyl tormentic acid from *Eriobotrya japonica* leaves induces caspase-dependent apoptotic cell death in human leukemia cell line [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59(3): 378-381.

[10] Huo L W, Bai X B, Wang Y F, *et al*. Betulinic acid derivative B10 inhibits glioma cell proliferation through suppression of SIRT1, acetylation of FOXO3a and upregulation of Bim/PUMA [J]. *Biomed Pharm*, 2017, 92: 347-355.

[11] Ana S M, Diana P A. Plant secondary metabolites as anticancer agents: Successes in clinical trials and therapeutic application[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 263.

[12] Jiao L, Wang S Q, Zheng Y F, *et al*. Betulinic acid suppresses breast cancer aerobic glycolysis via caveolin-1/NF-κB/c-Myc pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 161: 149-162.

[13] Goswamia P, Paulb S, Banerjee R, *et al*. Betulinic acid induces DNA damage and apoptosis in SiHa cells [J]. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2018, 828: 1-9.

[14] Pokorny J, Krajcovicova S, Hajduch M, *et al*. Triterpenic azines, a new class of compounds with selective cytotoxicity to leukemia cells CCRF-CEM [J]. *Future Med Chem*, 2018, 10(5): 483-491.

[15] Bildziukevich U, Rárová L, Janovská L, *et al*. Enhancing effect of cystamine in its amides with betulinic acid as antimicrobial and antitumor agent *in vitro* [J]. *Steroids*, 2019, 148: 91-98.

[16] Zhan X K, Li J L, Zhang S, *et al*. Betulinic acid exerts potent antitumor effects on paclitaxel-resistant human lung carcinoma cells (H460) via G_2/M phase cell cycle arrest and induction of mitochondrial apoptosis [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 3628-3634.

[17] Zhao J, Li R F, Pawlak A, *et al*. Antitumor activity of betulinic acid and betulin in canine cancer cell lines [J]. *In Vivo*, 2018, 32(5): 1081-1088.

[18] Ko J L, Lin C H, Chen H C, *et al*. Effects and mechanisms of betulinic acid on improving EGFR TKI-resistance of lung cancer cells [J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33(11): 1153-1159.

[19] Potze L, Mullauer F B, Colak S, *et al*. Betulinic acid-induced mitochondria-dependent cell death is counterbalanced by an autophagic salvage response [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1169.

[20] 孙 嘉. 白桦酯酸增强抗肿瘤药物诱导 U266 细胞凋亡及其机制研究 [D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2015.

[21] Nedopekina D A, Gubaidullin R R, Odinokov V N, *et al*. Mitochondria-targeted betulinic and ursolic acid derivatives: Synthesis and anticancer activity [J]. *Medchemcomm*, 2017, 8(10): 1934-1945.

[22] Wolfram R K, Fischer L, Kluge R, *et al*. Homopiperazine-rhodamine B adducts of triterpenoic acids are strong mitocans [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 155: 869-879.

[23] Cai Y L, Zheng Y F, Gu J Y, *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.

[24] 刚小青, 吴衡慧, 周文磊. 白桦脂醇通过抑制 PI3K/AKT 途径抑制宫颈癌小鼠移植瘤增殖 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(10): 1227-1231.

[25] Amiri S, Dastghaib S, Ahmadi M, *et al*. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects [J]. *Biotechnol Adv*, 2020, 38: 107409.

[26] Sun L K, Cao J Y, Chen K, *et al*. Betulinic acid inhibits stemness and EMT of pancreatic cancer cells via activation of AMPK signaling [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(1): 98-110.

[27] Gao Y, Jia Z, Kong X, *et al*. Combining betulinic acid and mithramycin A effectively suppresses pancreatic cancer by inhibiting proliferation, invasion, and angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(15): 5182-5193.

[28] Theo A, Masebe T, Suzuki Y, *et al*. *Peltophorum africanum*, a traditional South African medicinal plant, contains an anti HIV-1 constituent, betulinic acid [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2009, 217(2): 93-99.

[29] Vanchanagiri K, Emmerich D, Bruschke M, *et al*. Synthesis and biological investigation of new carbonic anhydrase IX (CAIX) inhibitors [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 284: 12-23.

[30] 徐卫东, 刘军权, 陈复兴, 等. 白桦酯酸对 γδT 细胞杀伤胰腺癌细胞功能影响及机制研究 [J]. 长治医学院学报, 2013, 27(3): 161-167.

[31] 李 薇, 李 岩, 金雄杰. 白桦三萜类物质的抗肿瘤作用及其对免疫功能的增强效应 [J]. 中国免疫学杂志,

2000, 16(9): 485-487.

[32] Saeed M E M, Mahmoud N, Sugimoto Y, *et al*. Betulinic acid exerts cytotoxic activity against multidrug-resistant tumor cells via targeting autocrine motility factor receptor (AMFR) [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 481.

[33] Yuan D Y, Meng Z, Xu K, *et al*. Betulinic acid increases radiosensitization of oral squamous cell carcinoma through inducing Sp1 sumoylation and PTEN expression [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4): 2360.

[34] de las Pozas A, Reiner T, de Cesare V, *et al*. Inhibiting multiple deubiquitinases to reduce androgen receptor expression in prostate cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 13146.

[35] 徐耀先. 分子病毒学 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2000.

[36] 王志玉. 医学病毒学原理 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996.

[37] Xiao S L, Tian Z Y, Wang Y F, *et al*. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives [J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(3): 951-976.

[38] 宋 建, 都鹏飞. 抗病毒药物作用机制的研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19(21): 3971-3973.

[39] 周润宏. 天然产物抑制艾滋病毒感染及其机制研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2017.

[40] 李 俊, 王 巍. HIV 衣壳蛋白结构及其药物小分子研究进展 [J]. 药学学报, 2015, 50(9): 1088-1095.

[41] 周亚敏, 林丽美, 夏伯候. 白桦酯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.

[42] 徐 军, 王晋萍, 钱辰旭, 等. 白桦酯酸的研究进展 [J]. 生命科学, 2011, 23(5): 503-510.

[43] 肖苏龙, 王 晗, 王 琪, 等. 基于五环三萜先导结构的抗病毒抑制剂研究进展 [J]. 中国科学: 化学, 2015, 45(9): 865-883.

[44] 李 赞, 徐进宜, 谢唯佳, 等. 白桦酸衍生物抗 HIV 活性的研究进展 [J]. 药学进展, 2013, 37(8): 368-375.

[45] Huang Q X, Chen H F, Luo X R, *et al*. Structure and anti-HIV activity of betulinic acid analogues [J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(3): 387-397.

[46] Aiken C, Chen C H. Betulinic acid derivatives as HIV-1 antivirals [J]. *Trends Mol Med*, 2005, 11(1): 31-36.

[47] Holz-Smith S L, Sun I C, Jin L, *et al*. Role of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 envelope in the anti-HIV activity of the betulinic acid derivative IC9564 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(1): 60-66.

[48] Emiko U, Uddha T, Justin K, *et al*. Resistance to second-generation HIV-1 maturation inhibitors [J]. *J Virol*, 2019, 93(6): e02017-e02018.

[49] Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie R E, *et al*. Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzigium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(2): 243-247.

[50] Ríos J L, Máñez S. New pharmacological opportunities for betulinic acid [J]. *Planta Med*, 2018, 84(1): 8-19.

[51] Huang L, Yuan X, Aiken C, *et al*. Bifunctional anti-human immunodeficiency virus type 1 small molecules with two novel mechanisms of action [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(2): 663-665.

[52] Bedoya L M, Beltrán M, García-Pérez J, *et al*. Promiscuous, multi-target lupane-type triterpenoids inhibits wild type and drug resistant HIV-1 replication through the interference with several targets [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 358.

[53] da Silva G N S, Atik D M, Fernandes J L A, *et al*. Synthesis of three triterpene series and their activity against respiratory syncytial virus [J]. *Arch Pharm Chem Life Sci*, 2018, 351(8): 1800108.

[54] Phillips J, Phillips I, Enya B, *et al*. Effect of betulinic acid and its ionic derivatives on M-MuLV replication [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(2): 365-369.

[55] Wang H, Xu R Y, Shi Y Y, *et al*. Design, synthesis and biological evaluation of novel *L*-ascorbic acid-conjugated pentacyclic triterpene derivatives as potential influenza virus entry inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 110: 376-388.

[56] Shikov A N, Djachuk G I, Sergeev D V, *et al*. Birch bark extract as therapy for chronic hepatitis C – A pilot study [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(10): 807-810.

[57] Lin C K, Tseng C K, Chen K H, *et al*. Betulinic acid exerts anti-hepatitis C virus activity via the suppression of NF-κB- and MAPK-ERK1/2-mediated COX-2 expression [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(18): 4481-4492.

[58] Flekhter O B, Boreko E I, Nigmatullina L R, *et al*. Synthesis and antiviral activity of hydrazides and substituted benzalhydrazides of betulinic acid and its derivatives [J]. *Russ J Bioorg Chem*, 2003, 29(3): 296-302.

[59] Visalli R J, Ziobrowski H, Badri K R, *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.

[60] Yao D C, Li H W, Gou Y L, *et al*. Betulinic acid-mediated inhibitory effect on hepatitis B virus by suppression of manganese superoxide dismutase expression [J]. *FEBS J*, 2009, 276(9): 2599-2614.

[61] Yu H B, Zhang H Y, Chu Z G, *et al*. Combination of betulinic acid and chidamide synergistically inhibits Epstein-Barr virus replication through over-generation of reactive oxygen species [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(37): 61646-61661.

[62] Karagöz A Ç, Leidenberger M, Hahn F, *et al*. Synthesis of new betulinic acid/betulin-derived dimers and hybrids with potent antimalarial and antiviral activities [J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(1): 110-115.

[63] Kazakova O B, Giniyatullina G V, Yamansarov E Y, *et al*. Betulin and ursolic acid synthetic derivatives as inhibitors of *Papilloma virus* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(14): 4088-4090.

[64] 唐旭东. 核因子 NF-κB 与心肌缺血再灌注损伤 [J]. 西南国防医药, 2001, 11(4): 296-298.

[65] Bernard P, Scior T, Didier B, *et al*. Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: Application to phospholipase A2 inhibitors [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(6): 865-874.

[66] 宋　爽. PRRSV 诱导炎症反应及其调控机制 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.

[67] Chaniad P, Sudsai T, Septama A W, *et al*. Evaluation of anti-HIV-1 integrase and anti-inflammatory activities of compounds from *Betula alnoides* buch-ham [J]. *Adv Pharmacol Sci*, 2019, 2019: 1-11.

[68] Chen S J, Bai Y, Li Z, *et al*. A betulinic acid derivative SH479 inhibits collagen-induced arthritis by modulating T cell differentiation and cytokine balance [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 126: 69-78.

[69] Mathew L E, Rajagopal V, Helen A. Betulinic acid and fluvastatin exhibits synergistic effect on toll-like receptor-4 mediated anti-atherogenic mechanism in type II collagen induced arthritis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 681-694.

[70] Hong E H, Song J H, Kang K B, *et al*. Anti-influenza activity of betulinic acid from *Zizyphus jujuba* on influenza A/PR/8 virus [J]. *Biomol Ther*, 2015, 23(4): 345-349.

[71] Kalra J, Lingaraju M C, Mathesh K, *et al*. Betulinic acid alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis and visceral pain in mice [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2018, 391(3): 285-297.

[72] Torp M K, Yang K, Ranheim T, *et al*. Mammalian target of rapamycin (mTOR) and the proteasome attenuates IL-1β expression in primary mouse cardiac fibroblasts [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1285.

[73] Meira C S, Santo R E, Dos S T, *et al*. Betulinic acid derivative BA5, a dual NF-κB/calcineurin inhibitor, alleviates experimental shock and delayed hypersensitivity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 815: 156-165.

[74] Bellampalli S S, Ji Y S, Moutal A, *et al*. Betulinic acid, derived from the desert lavender *Hyptis emoryi*, attenuates paclitaxel-, HIV-, and nerve injury-associated peripheral sensory neuropathy via block of N- and T-type calcium channels [J]. *Pain*, 2019, 160(1): 117-135.

[75] Machado D G, Cunha M P, Neis V B, *et al*. Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L [J]. *Food Chem*, 2013, 136(2): 999-1005.

[76] Waltereit R, Weller M. Signaling from cAMP/PKA to MAPK and synaptic plasticity [J]. *Mol Neurobiol*, 2003, 27(1): 99-106.

[77] Kaundal M, Zameer S, Najmi A K, *et al*. Betulinic acid, a natural PDE inhibitor restores hippocampal cAMP/cGMP and BDNF, improve cerebral blood flow and recover memory deficits in permanent BCCAO induced vascular dementia in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 832: 56-66.

[78] Muceniece R, Saleniece K, Rumaks J, *et al*. Betulin binds to gamma-aminobutyric acid receptors and exerts anticonvulsant action in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 90(4): 712-716.

[79] 寿琼华, 解雅英. 白桦酯酸通过阻断 Fas-Fasl 信号通路抑制异氟醚诱导的大鼠脑神经元损伤 [J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(8): 1122-1127.

[80] Wang D W, Chen P, Chen L, *et al*. Betulinic acid protects the neuronal damage in new born rats from isoflurane-induced apoptosis in the developing brain by blocking FASL-FAS signaling pathway [J]. *Biomed Pharm*, 2017, 95: 1631-1635.

[81] Bai Y Y, Yan D, Zhou H Y, *et al*. Betulinic acid attenuates lipopolysaccharide-induced vascular hyporeactivity in the rat aorta by modulating Nrf2 antioxidative function [J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(1): 165-174.

[82] Cheng Z, Yao W, Zheng J, *et al*. A derivative of betulinic acid protects human retinal pigment epithelial (RPE) cells from cobalt chloride-induced acute hypoxic stress [J]. *Exp Eye Res*, 2019, 180: 92-101.

[83] Yoon J J, Lee Y J, Han B H, *et al*. Protective effect of betulinic acid on early atherosclerosis in diabetic apolipoprotein-E gene knockout mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 796: 224-232.

[84] Lu P, Zhang C C, Zhang X M, *et al*. Down- regulation of NOX4 by betulinic acid protects against cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. *Curr Med Sci*, 2017, 37(5): 744-749.

[85] Navabi S P, 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*, 2018, 337: 99-106.

[86] Wang D, Chen T Y, Liu F J. Betulinic acid alleviates myocardial hypoxia/reoxygenation injury via inducing Nrf2/HO-1 and inhibiting p38 and JNK pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 838: 53-59.

[87] Jiang L, Chen F X, Zang S T, *et al*. Betulinic acid prevents high glucose-induced expression of extracellular matrix protein in cardiac fibroblasts by inhibiting the TGF-β1/Smad signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 6320-6325.

[88] 罗 萍, 杜娟娟, 杜 松. 白桦脂醇对 AGEs 诱导 H9C2 心肌细胞自噬的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(14): 1681-1685.

[89] Kim K D, Jung H Y, Ryu H G, *et al*. Betulinic acid inhibits high-fat diet-induced obesity and improves energy balance by activating AMPK [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2019, 29(4): 409-420.

[90] Rajkumari J, Borkotoky S, Murali A, *et al*. Attenuation of quorum sensing controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by pentacyclic triterpenes, betulin and betulinic acid [J]. *Microb Pathog*, 2018, 118: 48-60.

[91] Oloyede H O B, Ajiboye H O, Salawu M O, *et al*. Influence of oxidative stress on the antibacterial activity of betulin, betulinic acid and ursolic acid [J]. *Microb Pathog*, 2017, 111: 338-344.

[92] Chung P Y. Novel targets of pentacyclic triterpenoids in *Staphylococcus aureus*: A systematic review [J]. *Phytomedicine*, 2020, 73: 152933.

[93] Gloria B, Roberta M, Davide C, *et al*. Betulinic acid is a PPARγ antagonist that improves glucose uptake, promotes osteogenesis and inhibits adipogenesis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5777.

[94] Sutariya B, Taneja N, Saraf M. Betulinic acid, isolated from the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels, ameliorates the proteinuria in experimental membranous nephropathy through regulating Nrf2/NF-κB pathways [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 274: 124-137.

[95] Cheng Z, Zhang T, Zheng J, *et al*. Betulinic acid derivatives can protect human Müller cells from glutamate-induced oxidative stress [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 383(1): 111509.

[96] Drąg-Zalesińska M, Rembiałkowska N, Borska S, *et al*. A new betulin derivative stimulates the synthesis of collagen in human fibroblasts stronger than its precursor [J]. *In Vivo*, 2019, 33(4): 1087-1093.

[97] Sousa P L, Souza R O D S, Tessarolo L D, *et al*. Betulinic acid induces cell death by necrosis in *Trypanosoma cruzi* [J]. *Acta Trop*, 2017, 174: 72-75.

[98] Preciado L M, Rey-Suárez P, Henao I C, *et al*. Betulinic, oleanolic and ursolic acids inhibit the enzymatic and biological effects induced by a P-I snake venom metalloproteinase [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 279: 219-226.

[99] Adeleke G E, Adaramoye O A. Betulinic acid protects against *N*-nitrosodimethylamine-induced redox imbalance in testes of rats [J]. *Redox Rep*, 2017, 22(6): 556-562.

[100] Fadipe V O, Mongalo N I, Opoku A R, *et al*. Isolation of anti-mycobacterial compounds from *Curtisia dentata* (Burm.f.) C.A.Sm (Curtisiaceae) [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 306.

[101] Choi H, Jeong B C, Kook M S, *et al*. Betulinic acid synergically enhances BMP2-induced bone formation via stimulating Smad 1/5/8 and p38 pathways [J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23: 45.

[102] Zhang M Y, Wang S Y, Yin J, *et al*. Molecular cloning and promoter analysis of squalene synthase and squalene epoxidase genes from *Betula platyphylla* [J]. *Protoplasma*, 2016, 253(5): 1347-1363.

[103] Yin J, Li X, Zhan Y G, *et al*. Cloning and expression of BpMYC4 and BpbHLH9 genes and the role of BpbHLH9 in triterpenoid synthesis in birch [J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17(1): 214.

[104] Hajati R J, Payamnoor V, Chashmi N A, *et al*. Improved accumulation of betulin and betulinic acid in cell suspension culture of *Betula pendula* Roth by abiotic and biotic elicitors [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2018, 48(9): 867-876.

[105] Jin C C, Zhang J L, Song H, *et al*. Boosting the biosynthesis of betulinic acid and related triterpenoids in *Yarrowia lipolytica* via multimodular metabolic engineering [J]. *Microb Cell Fact*, 2019, 18(1): 77.

[106] Huang J J, Zha W L, An T Y, *et al*. Identification of RoCYP01 (CYP716A155) enables construction of engineered yeast for high-yield production of betulinic acid [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(17): 7029-7039.

[107] Sousa J L C, Freire C S R, Silvestre A J D, *et al*. Recent developments in the functionalization of betulinic acid and its natural analogues: A route to new bioactive compounds [J]. *Molecules*, 2019, 24(2): E355.

[108] Saneja A, Arora D, Kumar R, *et al*. Therapeutic applications of betulinic acid nanoformulations [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2018, 1421(1): 5-18.