

## 4,4-二甲基甾醇生物活性研究进展

谢亮亮<sup>1</sup>, 李 龙<sup>1</sup>, 谢 丹<sup>1</sup>, 郑立友<sup>1</sup>, 金 俊<sup>2</sup>, 金青哲<sup>2</sup>

(1. 安徽工程大学 生物与食品工程学院, 安徽 芜湖 241000; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:**旨在为4,4-二甲基甾醇在功能食品、保健品和药品等领域的开发应用提供科学的理论参考,概述了4,4-二甲基甾醇的来源、提取与分离纯化方法、鉴定方法及吸收与代谢,在此基础上对4,4-二甲基甾醇的降血糖、抗炎、减肥降脂、抑菌、抗肿瘤及抗阿尔茨海默病等方面表现的潜在生物活性进行了归纳总结,并对目前存在的问题提出相应的对策。4,4-二甲基甾醇是一种重要的植物甾醇,具有多种生物活性,表现出较大的潜在应用价值。

**关键词:**4,4-二甲基甾醇; 糖尿病; 肥胖; 生物活性

中图分类号: TS229; TQ645 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2024)07-0047-07

### Research progress on biological activity of 4,4-dimethylsterol

XIE Liangliang<sup>1</sup>, LI Long<sup>1</sup>, XIE Dan<sup>1</sup>, ZHENG Liyou<sup>1</sup>, JIN Jun<sup>2</sup>, JIN Qingzhe<sup>2</sup>

(1. College of Biological and Food Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, Anhui, China;

2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to provide scientific theoretical reference for the application of 4,4-dimethylsterol in functional food, health products and drugs, the source, method of extraction, isolation and purification, identification method, and absorption and metabolism of 4,4-dimethylsterol were outlined, then the potential bioactivities of 4,4-dimethylsterol in terms of hypoglycemic, anti-inflammation, weight loss and lipid lowering, bacteriostasis, anti-tumor and anti-Alzheimer's disease were summarized, and the corresponding countermeasures were proposed for the current problems. 4,4-Dimethylsterol is a kind of important phytosterol with a variety of bioactivities and shows a large potential application value.

**Key words:** 4,4-dimethylsterol; diabetes mellitus; obesity; biological activity

植物甾醇是以环戊烷- $\alpha$ -菲环为基本结构单元的甾体醇类化合物<sup>[1]</sup>,目前已报道的植物甾醇超过250种<sup>[2]</sup>。植物甾醇可分为两类:一类是根据C-3位置上一OH是否结合其他化学结构分为游离甾醇(FS)和结合甾醇<sup>[3]</sup>,结合甾醇又分为甾醇酯(SE)、羟基肉桂酸甾醇酯(HSE)、甾醇糖苷(SG)和酰化甾醇糖苷(ASG)<sup>[4]</sup>;另一类是根据C-4位置上甲基的数量可分为4-无甲基甾醇、4-单甲基甾醇和4,4-二甲基甾醇<sup>[5]</sup>。4,4-二甲基甾醇也称

为三萜醇,其根据结构差异可进一步分为四环三萜醇和五环三萜醇两大类。4,4-二甲基甾醇主要包括环阿屯醇、24-亚甲基环木菠萝烷醇、牛油果醇、 $\alpha$ -香树脂醇、 $\beta$ -香树脂醇和羽扇豆醇<sup>[6-8]</sup>(结构见图1)。

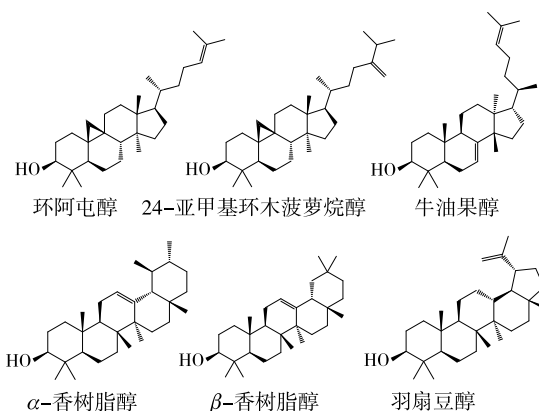


图1 4,4-二甲基甾醇结构

收稿日期:2023-04-12;修回日期:2024-03-23

基金项目:安徽省重点研究与开发计划(202104a06020030);安徽省自然科学基金(2308085MC111)

作者简介:谢亮亮(1986),男,讲师,博士,研究方向为脂质健康与营养(E-mail)liangliangxie@163.com。

通信作者:金青哲,教授,博士(E-mail)jqzwx12@163.com。

目前,植物甾醇研究主要集中在4-无甲基甾醇,其主要包括 $\beta$ -谷甾醇、菜油甾醇和豆甾醇<sup>[9]</sup>。对4,4-二甲基甾醇的研究相对较少。但随着研究的不断深入,4,4-二甲基甾醇生物活性成为新的研究热点<sup>[10-11]</sup>。因此,本文主要围绕4,4-二甲基甾醇基本概况、生物活性、局限性及未来发展方向展开。

## 1 4,4-二甲基甾醇概述

### 1.1 4,4-二甲基甾醇的来源

除强化食品外,一般来说,植物油被认为是植物甾醇最丰富的来源之一,植物甾醇是植物油不皂化物的主要成分,约占植物油的1%<sup>[12]</sup>。植物油中4,4-二甲基甾醇含量在12.0~260.0 mg/100 g之间,以米糠油中的含量最高;坚果中4,4-二甲基甾醇含量为0.4~8.2 mg/100 g,占总甾醇含量的2.5%~17.1%;谷物中大米制品的4,4-二甲基甾醇含量约为30.0 mg/100 g,与 $\beta$ -谷甾醇含量基本相当,而在小麦制品和其他谷物中,其含量小于5 mg/100 g;豆科植物中4,4-二甲基甾醇含量为24.3~38.8 mg/100 g,豆制品中为2.0~9.7 mg/100 g;蔬菜和水果中4,4-二甲基甾醇含量较低<sup>[13]</sup>。

### 1.2 4,4-二甲基甾醇的提取及分离纯化方法

常见的脂质提取方法也适用于植物甾醇的提取。有机溶剂法如Bligh-Dyer法<sup>[14]</sup>和Folch法<sup>[15]</sup>可提取所有种类的植物甾醇,然后经酸或碱水解形成游离甾醇,经进一步分离可得到4,4-二甲基甾醇。薄层色谱法(TLC)和固相萃取法(SPE)可用于进一步分离不同种类的植物甾醇,如:美国油脂化学家学会(AOCS)官方方法Ch 6-91推荐使用TLC从其他脂质和植物甾醇类化合物(4-单甲基甾醇和4-无甲基甾醇)中分离4,4-二甲基甾醇<sup>[16]</sup>;Azadmard-Damirchi等<sup>[17-18]</sup>利用SPE从榛子油和橄榄油不皂化物(4,4-二甲基甾醇、4-单甲基甾醇和4-无甲基甾醇)中分离富集4,4-二甲基甾醇。传统的TLC分离4,4-二甲基甾醇存在制备量少、回收率低、耗时长等缺点。SPE法虽具有萃取速度快、节省溶剂等优点,但上样量少且萃取小柱价格高。因此,上述两种分离方法主要应用于分析研究。目前,4,4-二甲基甾醇的提取主要采用正相制备高效液相色谱法(P-HPLC)、高效逆流色谱法(HPCCC)和结晶法。Li等<sup>[19]</sup>采用P-HPLC从油茶籽油、芥菜籽油和微孔草籽油不皂化物(烃类化合物、4,4-二甲基甾醇、4-甲基甾醇和4-无甲基甾醇)中分离出4,4-二甲基甾醇。Liu等<sup>[20]</sup>利用HPCCC从米糠油中分离4,4-二甲基甾醇阿魏酸酯(环阿屯醇阿魏酸酯和24-亚甲基环木菠萝烷醇阿

魏酸酯单体)。Lee等<sup>[21]</sup>利用结晶法从 $\gamma$ -谷维素中分离4,4-二甲基甾醇(环阿屯醇和24-亚甲基环木菠萝烷醇的混合物)。总的来说,正相高效液相色谱柱,如使用硅胶柱或二醇柱结合非极性溶剂洗脱,用于不同种类植物甾醇的分离,反相高效液相色谱柱则用于单体化合物的分离,分辨率高,但成本高、费时,结晶法可用于大规模生产,但在前期预实验中发现对混合游离甾醇进行结晶,产物为4-无甲基甾醇,而不是4,4-二甲基甾醇,母液继续结晶,得到的4,4-二甲基甾醇纯度提高并不明显。因此,从混合游离甾醇中分离富集4,4-二甲基甾醇有待进一步研究。

### 1.3 4,4-二甲基甾醇的鉴定方法

4,4-二甲基甾醇定性及定量方法主要包括气相色谱法(GC)和高效液相色谱法(HPLC)。GC是定性和定量分析4,4-二甲基甾醇单体和总4,4-二甲基甾醇的常用手段,一般需要经过皂化和衍生化,生成三甲基硅基(TMS)醚或乙酸酯。尽管衍生化不是必须的,但衍生化提高了4,4-二甲基甾醇的挥发性、峰形和响应因子,也有助于防止热降解。常用的GC检测器为火焰离子检测器<sup>[22]</sup>或质谱检测器<sup>[23]</sup>。HPLC被应用于分析4,4-二甲基甾醇类别和定性、定量分析4,4-二甲基甾醇单体。HPLC的优势在于4,4-二甲基甾醇可以以游离或缀合物形式进行分析,不需要进行皂化和衍生化,通常采用示差折光检测器(RID)或蒸发光散射检测器(ELSD),也可采用紫外检测器(UV)或二极管阵列检测器(DAD)。与GC一样,HPLC很难分离同分异构体或密切相关的游离4,4-二甲基甾醇和缀合物。高效液相色谱-质谱联用技术的发展有助于4,4-二甲基甾醇的准确定性和定量,特别是有助于各种4,4-二甲基甾醇缀合物分子的鉴定<sup>[24]</sup>。

### 1.4 4,4-二甲基甾醇的吸收和代谢

4,4-二甲基甾醇不是内源性合成的,在体内发现的4,4-二甲基甾醇均来自于饮食。4,4-二甲基甾醇主要以脂肪酸酯、羟基肉桂酸酯和糖苷的形式存在。在胃肠道内,所有4,4-二甲基甾醇酯的酯键都被特定的酶水解形成游离的4,4-二甲基甾醇<sup>[25]</sup>,随后进入混合胶束中,通过肠道胆固醇转运蛋白NPC1L1受体从混合胶束中被肠上皮细胞吸收<sup>[26]</sup>。但游离的4,4-二甲基甾醇的代谢与胆固醇不同,其不能有效地融入乳糜微粒,大多数通过三磷酸腺苷(ATP)驱动的转运体异质二聚体ABCG5/G8排泄回肠腔,造成4,4-二甲基甾醇的肠道净吸收非常低。进入循环的少量4,4-二甲基甾醇被肝

脏迅速吸收,并通过肝脏 ABCG5/G8 分泌到胆汁中,导致血浆中 4,4-二甲基甾醇浓度极低。与胆固醇相比,尽管 4,4-二甲基甾醇循环浓度非常低,但其会被不同的组织吸收,从而影响各种生理过程。

## 2 4,4-二甲基甾醇的生物活性

### 2.1 降血糖

碳水化合物消化酶,尤其是  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶,在消化系统催化淀粉水解成葡萄糖,进入血液循环,导致 2 型糖尿病患者餐后血糖升高<sup>[27]</sup>。因此,抑制碳水化合物消化酶活性是减少膳食碳水化合物摄入,抑制餐后高血糖,改善糖尿病症状的一种有效策略。Sobhy 等<sup>[28]</sup>研究了  $\gamma$ -谷维素(4-无甲基甾醇和 4,4-二甲基甾醇的阿魏酸酯)、豆甾醇和  $\beta$ -谷甾醇在体外的抗淀粉分解作用,结果显示,三者对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性均有显著抑制作用。另有研究发现,阿魏酸亦可显著抑制  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性<sup>[29-30]</sup>。因此,无法判断  $\gamma$ -谷维素对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制作用是由植物甾醇还是由阿魏酸导致的。Pujirahayu 等<sup>[31]</sup>研究了 4,4-二甲基甾醇(环阿屯醇)与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之间的构效关系,结果发现,其非竞争性抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶。综上可知,4,4-二甲基甾醇和 4-无甲基甾醇均有碳水化合物消化酶抑制活性,虽然两者的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)在文献中均有报道,但是不同溶剂体系无法对比,因此 4,4-二甲基甾醇对碳水化合物消化酶的抑制作用是否优于 4-无甲基甾醇有待进一步研究。

碳水化合物经消化酶水解后产生葡萄糖。葡萄糖的吸收和转运与两种载体蛋白[钠-葡萄糖协同转运体(SGLT)和葡萄糖转运体(GLUT)]有关,并在其调控中发挥关键作用<sup>[32]</sup>。大约 80% 的葡萄糖摄取发生在骨骼肌细胞中<sup>[33]</sup>,肌肉中葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)介导的葡萄糖摄取不足是 2 型糖尿病的典型病理表现。 $\alpha$ -香树脂醇或羽扇豆醇可以降低 CD1 正常雄鼠血糖水平<sup>[34]</sup>, $\alpha$ -香树脂醇降血糖机制是通过增加腺苷酸活化蛋白酶激酶(AMPK)和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\delta/\gamma$ (PPAR $\delta/\gamma$ )介导的 GLUT4 基因表达<sup>[35]</sup>。Okahara 等<sup>[36]</sup>首先证明了从米糠中提取的植物甾醇可降低小鼠和人类的餐后高血糖,然后用其中的组分环阿屯醇进一步开展动物和细胞实验,研究其对葡萄糖吸收与转运的影响,结果发现,添加环阿屯醇后转运到 Wistar 大鼠外翻肠囊和转染了 SGLT1 的人十二指肠腺癌细胞(HuTu80 细胞)的葡萄糖明显减少,肠道葡萄糖转

运呈剂量依赖性下降,环阿屯醇处理细胞后,SGLT1 向根尖质膜易位受到抑制。由此,推断环阿屯醇诱导的肠道葡萄糖吸收下降导致餐后血糖的降低,与 SGLT1 的膜易位下降有关。但实验选择的模型是正常的模型,并非糖尿病模型,因此环阿屯醇是否对糖尿病模型同样起作用,还需进一步研究。

肝脏在维持稳定的血糖水平中起着核心作用,可将多余的葡萄糖转化为糖原。当机体需要葡萄糖时,糖原可通过糖原分解重新转化为葡萄糖。血糖稳态主要由肝脏维持,涉及糖酵解、磷酸戊糖途径、糖异生和糖原分解等碳水化合物代谢途径的调节。对实验性糖尿病模型的研究报道,糖尿病状态导致糖异生和糖原分解途径的酶活性增加,而糖酵解和戊糖磷酸途径的酶活性降低<sup>[37]</sup>。Misawa 等<sup>[38]</sup>研究发现,从芦荟中提取的 4,4-二甲基甾醇(环阿屯醇,cycloartanol)可降低 Zucker 糖尿病肥胖(ZDF)大鼠空腹血糖,抑制糖异生关键酶葡萄糖-6-磷酸酶(G6P)和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)mRNA 水平,提高肝脏中编码糖酵解酶关键酶之一的葡萄糖激酶(GK)的基因表达水平。但是环阿屯醇对 ZDF 大鼠的血清胰岛素水平无显著影响,没有改善胰岛素抵抗症状,而胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的始发因素。

$\beta$  细胞功能下降总是先于 2 型糖尿病的发展,并诱发严重的代谢功能障碍<sup>[39]</sup>。因此, $\beta$  细胞功能保留或恢复可成为预防或治疗 2 型糖尿病的有效策略。Santos 等<sup>[40]</sup>研究发现, $\alpha$ - $\beta$ -香树脂醇可显著改善链脲佐菌素(STZ)诱导的 2 型糖尿病小鼠血糖水平,而且血浆胰岛素水平和胰腺组织病理学分析显示  $\alpha$ - $\beta$ -香树脂醇对  $\beta$  细胞的完整性有保护作用。Nair 等<sup>[41]</sup>研究发现,环阿屯醇和 24-亚甲基环木菠萝烷醇通过增加高脂饲料喂养-链脲佐菌素(HFD-STZ)诱导的 2 型糖尿病大鼠  $\beta$  细胞和 RIN-5F 细胞胰岛素的分泌来改善血糖水平。

### 2.2 抗炎

抗炎作用是 4,4-二甲基甾醇较早被发现的生物活性之一<sup>[42]</sup>。Akihisa 等<sup>[43]</sup>发现菊科植物花中的 4,4-二甲基甾醇对 12-O-十四烷酰基佛波醇-13-乙酸酯(TPA)诱导的小鼠急性耳水肿炎症具有明显的抑制作用。其中,24-亚甲基环木菠萝烷醇和  $\alpha$ -香树脂醇的 IC<sub>50</sub>(每耳 0.2 mg)小于消炎药物吲哚美辛(每耳 0.3 mg),可作为潜在的消炎药物。该课题组进一步证实了来自米糠的环阿屯醇和 24-亚甲基环木菠萝烷醇均对 TPA 诱导的小鼠急性耳水肿炎症有明显的缓解作用,同时发现 4,4-

二甲基甾醇的抗炎活性高于相应的阿魏酸酯和 4-无甲基甾醇<sup>[44]</sup>, 4,4-二甲基甾醇的抗炎活性高于 4-无甲基甾醇可能是由于其 C-4 位置甲基导致的。

Ahumada 等<sup>[45]</sup>在研究环阿屯醇对角叉菜胶诱导大鼠后足水肿的抗炎作用时发现,口服最高剂量(40 mg/kg)环阿屯醇在 3 h 和 5 h 时的水肿抑制率分别为 61.5% 和 52.5%,在小鼠角叉菜胶腹膜炎实验中发现,口服 10、20、40 mg/kg 环阿屯醇提取物对腹腔白细胞浸润的抑制率分别为 41.9%、64.7% 和 89.4%。由此可见,在不同的抗炎模型中 4,4-二甲基甾醇均具有抗炎作用。巨噬细胞是重要的抗炎免疫细胞,在炎症过程会使血清、坏死细胞或受损组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素(IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17A)等细胞因子水平升高<sup>[39]</sup>。研究发现,终浓度为  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 的环阿屯醇对 TNF- $\alpha$  的抑制率为 54.7%<sup>[46]</sup>,表明环阿屯醇可通过降低 TNF- $\alpha$  的表达水平来发挥抗炎作用。

### 2.3 减肥降脂

Zhang 等<sup>[47]</sup>研究了来源于米糠油和乳木果油的 4,4-二甲基甾醇对脂质代谢的影响,结果显示,4,4-二甲基甾醇通过 NHR-49/SCD 途径降低去饱和指数(油酸/硬脂酸比值)来抑制秀丽线虫脂质积累。Fukuoka 等<sup>[48]</sup>研究了米糠中环阿屯醇和 24-亚甲基环木菠萝烷醇对小鼠体质量的影响,结果发现,环阿屯醇和 24-亚甲基环木菠萝烷醇可降低葡萄糖依赖性促胰岛素肽(GIP)的释放,并通过增加肌肉中脂肪酸氧化和减少肝脏中脂肪酸合成来防止 C57BL/6J 小鼠因饮食引起的肥胖。Santos 等<sup>[40]</sup>研究发现,10、30、100 mg/kg  $\alpha$ - $\beta$ -香树脂醇显著降低了 STZ 诱导的糖尿病小鼠血清甘油三酯的升高,表现出降血脂作用。Santos 等<sup>[49]</sup>研究了  $\alpha$ -、 $\beta$ -香树脂醇对高脂饮食诱导的肥胖小鼠的影响,结果发现, $\alpha$ -、 $\beta$ -香树脂醇可显著预防小鼠体质量增加。Carvalho 等<sup>[50]</sup>研究发现, $\alpha$ -、 $\beta$ -香树脂醇通过降低过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 和脂蛋白脂肪酶(LPL)的基因表达来预防高脂饮食诱导的肥胖,表明  $\alpha$ -、 $\beta$ -香树脂醇可调节脂肪和碳水化合物代谢相关的各种激素和酶的分泌。

### 2.4 抑菌

Jiménez 等<sup>[51]</sup>研究了环阿屯醇和 24-亚甲基环木菠萝烷醇的抑菌活性,结果显示,二者可抑制真菌生长和真菌毒素的产生,虽然二者对镰刀菌的生长有中等至微弱的抑制作用,但具有显著的抗霉菌毒

素作用,同时显示环阿屯醇和 24-亚甲基环木菠萝烷醇与山梨酸钾的协同作用为二者在粮食保藏中防治引起稻穗腐烂的黄萎病菌和禾谷病菌提供了良好的应用前景。

### 2.5 抗肿瘤

Prakash Chaturvedula 等<sup>[52]</sup>从加拿大一枝黄花中提取了羽扇豆醇、羽扇豆醇乙酸酯、环阿屯醇、环阿屯醇棕榈酸酯、 $\alpha$ -香树脂醇乙酸酯等 5 种 4,4-二甲基甾醇,发现其均可抑制 DNA 聚合酶  $\beta$  的裂解酶活,且抑制活性均高于豆甾醇,其中羽扇豆醇的抑制作用最强,IC<sub>50</sub> 仅为 6.4  $\mu$ mol/L,说明羽扇豆醇可作为潜在的天然抗癌药物。Sultana 等<sup>[53]</sup>研究发现,环阿屯醇对过氧化苯甲酰和紫外线 B 辐射诱导的小鼠肿瘤促进标志物鸟氨酸脱羧酶(ODC)具有抑制作用。由此可见,环阿屯醇是一种潜在的皮肤致癌化学预防剂,并能够干预肿瘤发生过程中的几个关键途径,比其他单靶点药物具有更大的优势。Saleem 等<sup>[54]</sup>研究发现,羽扇豆醇可抑制 ODC 酶活和 ODC、环加氧酶-2、一氧化氮合成酶的基因表达,并通过调节核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 和磷脂酰肌醇 3-肌酶(PI3K)/Akt 信号通路在 CD1 小鼠皮肤肿瘤模型中具有抗肿瘤促进作用,表明其可作为潜在药物进行开发。

### 2.6 抗阿尔茨海默病

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病。Jung 等<sup>[55]</sup>通过乙酰胆碱酯酶(AChE)、丁酰胆碱酯酶(BChE)和  $\beta$ -位淀粉样前体蛋白裂解酶 1(BACE1)抑制实验评价从荷花雄蕊中提取的环阿屯醇的抗阿尔茨海默病作用,结果发现,环阿屯醇非竞争性抑制 AChE 和 BChE,其 IC<sub>50</sub> 分别为 11.89、13.93  $\mu$ mol/L。此外, Park 等<sup>[56]</sup>研究了香树脂醇对小鼠认知障碍的影响,发现 AChE 活性被  $\beta$ -香树脂醇抑制,而不被  $\alpha$ -香树脂醇抑制,但是提示  $\alpha$ -、 $\beta$ -香树脂醇可能通过激活海马体组织中细胞外信号调节激酶(ERK)和糖原合酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )信号通路改善低胆碱能神经传递引起的认知功能损害。4,4-二甲基甾醇的体内抗 AD 作用也已被证明, Berté 等<sup>[57]</sup>通过体内研究发现,蒲公英甾醇可显著抑制动物海马体中的 AChE 活性和改善 AD 的某些记忆障碍。由此可见,4,4-二甲基甾醇在体内外均可改善 AD 症状。

### 2.7 抗氧化

Islam 等<sup>[58]</sup>通过体外抗氧化实验发现,与  $\alpha$ -生育酚相比,环阿屯醇阿魏酸酯和 24-亚甲基环木菠

甾醇阿魏酸酯均具有较强的自由基清除能力和抗氧化能力,环阿屯醇没有抗氧化活性,但是,环阿屯醇及其阿魏酸酯均可抑制  $H_2O_2$  诱导 NIH 3T3 小鼠胚胎成纤维细胞产生活性氧。由此可见,环阿屯醇可在复杂的细胞系统中发挥抗氧化作用,体外则不表现抗氧化活性。

### 3 结 语

4,4-二甲基甾醇在预防和治疗糖尿病、炎症、肥胖症、癌症、阿尔茨海默病等常见疾病方面表现出潜在的应用价值。同时目前也存在一些问题,如当前4,4-二甲基甾醇研究仅限于细胞和动物实验,生物利用度低,种类繁多,多为混合物,其单体的生物活性并不相同。针对上述问题,今后可从以下几个方面进行研究:①可采用结构改性或选择合适的传递介质,以提高其生物利用度;②采用计算机模拟技术研究分子间的相互作用从而筛选高活性单体;③寻找合适的分离纯化方法得到高纯度单体以明确其作用机制。

### 参考文献:

- [1] MAJUMDER P, ANNEGOWDA H V. Fruit and vegetable by-products: Novel ingredients for a sustainable society [M]//BHAT R. Valorization of agri-food wastes and by-products. Amsterdam: Elsevier, 2021: 133-156.
- [2] ZHAO J Q, HAO Y Y, GONG T T, et al. Phytosterol intake and overall survival in newly diagnosed ovarian cancer patients: An ambispective cohort study [J/OL]. Front Nutr, 2022, 9: 974367[2023-04-12]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.974367>.
- [3] MOREAU R A, NYSTRÖM L, WHITAKER B D, et al. Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses[J]. Prog Lipid Res, 2018, 70: 35-61.
- [4] GARCIA-LLATAS G, ALEGRÍA A, BARBERÁ R, et al. Current methodologies for phytosterol analysis in foods [J/OL]. Microchem J, 2021, 168: 106377[2023-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106377>.
- [5] XIE L, ZHANG T, KARRAR E, et al. Insights into an  $\alpha$ -glucosidase inhibitory profile of 4,4-dimethylsterols by multispectral techniques and molecular docking[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(50): 15252-15260.
- [6] NARUMI Y, TAKATSUTO S. Sterols in rice bran[J]. J Jpn Oil Chem Soc, 2000, 49(7): 719-722,734.
- [7] AKIHISA T, KOJIMA N, KATOH N, et al. Triterpene alcohol and fatty acid composition of shea nuts from seven African countries[J]. J Oleo Sci, 2010, 59(7): 351-360.
- [8] 江纪武. Butyrospermol 译名的商榷及其研究简况[J]. 国外医药:植物药分册, 1998,13(6): 283-284.
- [9] 关于批准 DHA 藻油、棉籽低聚糖等 7 种物品为新资源食品及其他相关规定的公告[EB/OL]. (2010-07-07)[2023-04-12]. <http://law.foodmate.net/show-163987.html>.
- [10] ZHANG T, LIU R, CHANG M, et al. Health benefits of 4,4-dimethyl phytosterols: An exploration beyond 4-desmethyl phytosterols[J]. Food Funct, 2020, 11(1): 93-110.
- [11] XIE L, ZHANG T, KARRAR E, et al. Purification, characterization, and cellular antioxidant activity of 4,4-dimethylsterols and 4-desmethylsterols[J]. J Am Oil Chem Soc, 2022, 99(12): 1165-1174.
- [12] SHAHIDI F. Bailey's industrial oil and fat products[M]. 7th ed. New Jersey: John Wiley & Sons New Jersey, 2020.
- [13] WANG M, HUANG W, HU Y, et al. Phytosterol profiles of common foods and estimated natural intake of different structures and forms in China[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(11): 2669-2676.
- [14] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37(8): 911-917.
- [15] FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. J Biol Chem, 1957, 226(1): 497-509.
- [16] Composition of the sterol fraction of animal and vegetable oils and fats by TLC and capillary GLC: Official method Ch 6-91 [S]. Urbana, IL: AOCS, 2017.
- [17] AZADMARD-DAMIRCHI S, NEMATI M, HESARI J, et al. Rapid separating and enrichment of 4,4'-dimethylsterols of vegetable oils by solid-phase extraction [J]. J Am Oil Chem Soc, 2010, 87(10): 1155-1159.
- [18] AZADMARD-DAMIRCHI S, DUTTA P C. Novel solid-phase extraction method to separate 4-desmethyl-, 4-monomethyl-, and 4,4'-dimethylsterols in vegetable oils[J]. J Chromatogr A, 2006, 1108(2): 183-187.
- [19] LI J, HO C T, LI H, et al. Separation of sterols and triterpene alcohols from unsaponifiable fractions of three plant seed oils[J]. J Food Lipids, 2000, 7(1): 11-20.
- [20] LIU M, YANG F, SHI H, et al. Preparative separation of triterpene alcohol ferulates from rice bran oil using a high performance counter-current chromatography[J]. Food Chem, 2013, 139(1/2/3/4): 919-924.
- [21] LEE S S, YOUNG L H, WANG K C. Separation of 24-methylenecycloartanol from cycloartanol via a chemical method[J]. J Nat Prod, 1992, 55(5): 644-648.
- [22] CRUZ-HERNANDEZ C, DESTAILLATS F. Gas

- chromatographic analysis of lipids [M]//POOLE C F. Gas chromatography. Amsterdam: Elsevier, 2021: 683 – 701.
- [23] SCHLAG S, BRÄCKLE Y, JELEČEVIĆ M, et al. Gas chromatography with mass spectrometry analysis of 4, 4 – dimethylsterols and 4 – methylsterols in edible oils after their enrichment by means of solid phase extraction [J/OL]. J Chromatogr A, 2023, 1705: 464166 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464166>.
- [24] XIE L, ZHANG T, KARRAR E, et al. Highly efficient synthesis of 4, 4 – dimethylsterol oleates using acyl chloride method through esterification [J/OL]. Food Chem, 2021, 364: 130140 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130140>.
- [25] PLAT J, BAUMGARTNER S, VANMIERLO T, et al. Plant – based sterols and stanols in health & disease: Consequences of human development in a plant – based environment? [J]. Prog Lipid Res, 2019, 74: 87 – 102.
- [26] JIA L, BETTERS J L, YU L. Niemann – pick C1 – like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport [J]. Annu Rev Physiol, 2011, 73: 239 – 259.
- [27] TENG H, CHEN L.  $\alpha$  – Glucosidase and  $\alpha$  – amylase inhibitors from seed oil: A review of liposoluble substance to treat diabetes [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2017, 57 (16): 3438 – 3448.
- [28] SOBHY R, EID M, ZHAN F, et al. Toward understanding the *in vitro* anti – amylolytic effects of three structurally different phytosterols in an aqueous medium using multispectral and molecular docking studies [J]. J Mol Liq, 2019, 283: 225 – 234.
- [29] ZHENG Y, TIAN J, YANG W, et al. Inhibition mechanism of ferulic acid against  $\alpha$  – amylase and  $\alpha$  – glucosidase [J/OL]. Food Chem, 2020, 317: 126346 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126346>.
- [30] SALAU V F, ERUKAINURE O L, KOORBANALLY N A, et al. Ferulic acid promotes muscle glucose uptake and modulate dysregulated redox balance and metabolic pathways in ferric – induced pancreatic oxidative injury [J/OL]. J Food Biochem, 2022, 46(4): e13641 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13641>.
- [31] PUJIRAHAYU N, BHATTACHARJYA D K, SUZUKI T, et al.  $\alpha$  – Glucosidase inhibitory activity of cycloartane – type triterpenes isolated from Indonesian stingless bee propolis and their structure – activity relationship [J/OL]. Pharmaceuticals, 2019, 12(3): 102 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.3390/ph12030102>.
- [32] SCHEEPERS A, JOOST H G, SCHÜRMAN A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: Molecular basis of normal and aberrant function [J]. J Parenter Enteral Nutr, 2004, 28(5): 364 – 371.
- [33] HULETT N A, SCALZO R L, REUSCH J E B. Glucose uptake by skeletal muscle within the contexts of type 2 diabetes and exercise: An integrated approach [J/OL]. Nutrients, 2022, 14(3): 647 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.3390/nu14030647>.
- [34] GIACOMAN – MARTÍNEZ A, ALARCÓN – AGUILAR F, ZAMILPA A, et al. Triterpenoids from *Hibiscus sabdariffa* L. with PPAR $\delta$ / $\gamma$  dual agonist action: *In vivo*, *in vitro* and *in silico* studies [J]. Planta Med, 2019, 85 (5): 412 – 423.
- [35] GIACOMAN – MARTÍNEZ A, ALARCÓN – AGUILAR F J, ZAMILPA A, et al.  $\alpha$  – Amyrin induces GLUT4 translocation mediated by AMPK and PPAR $\delta$ / $\gamma$  in C2C12 myoblasts [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2021, 99(9): 935 – 942.
- [36] OKAHARA F, SUZUKI J, HASHIZUME K, et al. Triterpene alcohols and sterols from rice bran reduce postprandial hyperglycemia in rodents and humans [J]. Mol Nutr Food Res, 2016, 60(7): 1521 – 1531.
- [37] 王梦婷. 杨梅叶原花色素基于调控淀粉消化吸收和肝糖代谢的降血糖作用机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [38] MISAWA E, TANAKA M, NOMAGUCHI K, et al. Oral ingestion of aloe vera phytosterols alters hepatic gene expression profiles and ameliorates obesity – associated metabolic disorders in Zucker diabetic fatty rats [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(11): 2799 – 2806.
- [39] ZHOU W J, YANG H L, SHAO J, et al. Anti – inflammatory cytokines in endometriosis [J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(11): 2111 – 2132.
- [40] SANTOS F A, FROTA J T, ARRUDA B R, et al. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of  $\alpha$ ,  $\beta$  – amyryn, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice [J/OL]. Lipids Health Dis, 2012, 11: 98 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-98>.
- [41] NAIR A N S, NAIR R V R, NAIR A P R, et al. Antidiabetes constituents, cycloartenol and 24 – methylenecycloartenol, from *Ficus krishnae* [J/OL]. PLoS One, 2020, 15(6): e0235221 [2023 – 04 – 12]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235221>.
- [42] 张忠廉, 罗祖良, 石宏武, 等. 植物药活性成分环阿屯醇药理、生理活性及其研究展望 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 433 – 437.
- [43] AKIHISA T, YASUKAWA K, OINUMA H, et al. Triterpene alcohols from the flowers of Compositae and

- their anti - inflammatory effects [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(6): 1255 - 1260.
- [44] AKIHISA T, YASUKAWA K, YAMAURA M, et al. Triterpene alcohol and sterol ferulates from rice bran and their anti - inflammatory effects[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(6): 2313 - 2319.
- [45] AHUMADA C, SÁENZ T, GARCÍA D, et al. The effects of a triterpene fraction isolated from *Crataegus monogyna* Jacq. on different acute inflammation models in rats and mice. Leucocyte migration and phospholipase A<sub>2</sub> inhibition[J]. *J Pharm Pharmacol*, 1997, 49(3): 329 - 331.
- [46] 杨秀伟, 韩美华, 钟国跃, 等. 半夏中抑制肿瘤坏死因子 -  $\alpha$  产生的新脑苷[J]. *中草药*, 2008, 39(4): 485 - 490.
- [47] ZHANG T, XIE L, LIU R, et al. Differentiated 4, 4 - dimethylsterols from vegetable oils reduce fat deposition depending on the NHR - 49/SCD pathway in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food Funct*, 2021, 12(15): 6841 - 6850.
- [48] FUKUOKA D, OKAHARA F, HASHIZUME K, et al. Triterpene alcohols and sterols from rice bran lower postprandial glucose - dependent insulinotropic polypeptide release and prevent diet - induced obesity in mice[J]. *J Appl Physiol*, 2014, 117(11): 1337 - 1348.
- [49] SANTOS F A, CARVALHO K M M B, BATISTA - LIMA F J, et al. The triterpenoid *alpha*, *beta* - amyryn prevents the impaired aortic vascular reactivity in high - fat diet - induced obese mice [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2017, 390(10): 1029 - 1039.
- [50] CARVALHO K M, DE MELO T S, DE MELO K M, et al. Amyryns from *Protium heptaphyllum* reduce high - fat diet - induced obesity in mice via modulation of enzymatic, hormonal and inflammatory responses [J]. *Planta Med*, 2017, 83(3/4): 285 - 291.
- [51] JIMÉNEZ C M, ÁLVAREZ H L, BALLARI M S, et al. Antifungal activity of *Euphorbia* species against moulds responsible of cereal ear rots [J]. *J Appl Microbiol*, 2021, 130(4): 1285 - 1293.
- [52] PRAKASH CHATURVEDULA V S, ZHOU B N, GAO Z J, et al. New lupane triterpenoids from *Solidago canadensis* that inhibit the lyase activity of DNA polymerase beta[J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12(23): 6271 - 6275.
- [53] SULTANA S, ALAM A, KHAN N, et al. Inhibition of benzoyl peroxide and ultraviolet - B radiation induced oxidative stress and tumor promotion markers by cycloartenol in murine skin [J]. *Redox Rep*, 2003, 8(2): 105 - 112.
- [54] SALEEM M, AFAQ F, ADHAMI V M, et al. Lupeol modulates NF -  $\kappa$ B and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD - 1 mice [J]. *Oncogene*, 2004, 23(30): 5203 - 5214.
- [55] JUNG H A, JUNG Y J, HYUN S K, et al. Selective cholinesterase inhibitory activities of a new monoterpene diglycoside and other constituents from *Nelumbo nucifera* stamens [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(2): 267 - 272.
- [56] PARK S J, AHN Y J, OH S R, et al. Amyryn attenuates scopolamine - induced cognitive impairment in mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(7): 1207 - 1213.
- [57] BERTÉ T E, DALMAGRO A P, ZIMATH P L, et al. Taraxerol as a possible therapeutic agent on memory impairments and Alzheimer' s disease: Effects against scopolamine and streptozotocin - induced cognitive dysfunctions [J]. *Steroids*, 2018, 132: 5 - 11.
- [58] ISLAM M S, YOSHIDA H, MATSUKI N, et al. Antioxidant, free radical - scavenging, and NF -  $\kappa$ B - inhibitory activities of phytosteryl ferulates: Structure - activity studies [J]. *J Pharmacol Sci*, 2009, 111(4): 328 - 337.