

L-麦角硫因生物合成与应用研究进展

木开代斯·买合木提^{1,2}, 陈建¹, 焦春伟¹, 谢意珍^{1,2*}¹广东粤微食用菌技术有限公司, 广州 510663; ²仲恺农业工程学院资源与环境学院, 广州 510225

摘要: L-麦角硫因(*L*-ergothioneine, *L*-EGT) 是一种稀有的硫咪唑氨基酸类强抗氧化剂, 高温及高 pH 下无法降解。只有部分细菌、蓝细菌和真菌可合成, 植物、动物以及人均不能合成麦角硫因。哺乳动物通过分布于不同组织的转运体 OCTN1 吸收麦角硫因, 并影响着不同组织麦角硫因含量。麦角硫因具有独特的生理和药理活性, 在医药、食品、保健品和化妆品等行业极具应用前景。本文综述了麦角硫因的生物合成途径, 并深入探讨了其在食品与人类健康和疾病中的作用。

关键词: L-麦角硫因; 食用菌; 生物合成; 抗氧化性; 生理功能; 功效原料

中图分类号: TQ041+.8

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)4-0713-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.4.019

Progress in biosynthesis and application of *L*-ergothioneineMUKAIDAI SI · Maihemuti^{1,2}, CHEN Jian¹, JIAO Chun-wei¹, XIE Yi-zhen^{1,2*}¹Guangdong Yuewei Edible Fungus Technology Co., Ltd., Guangzhou 510663, China;²College of Resources and Environment, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China

Abstract: *L*-Ergothioneine (*L*-EGT) is a sort of uncommon thimidazole amino acid with strong antioxidant activity, which cannot be degraded at high temperature and pH. *L*-EGT only can synthesized by some bacteria, cyanobacteria and fungi, but plants, animal and human unable to synthesized. Mammals absorb *L*-EGT via transporter OCTN1 which distribution in different tissues, thus diverse tissues may influence concentration of *L*-EGT. With the unique physiological and pharmacological activities made it have extensive application prospect in the field of medicine, food, health care products and cosmetics. Here we reviewed the recent advances in biosynthetic pathway of *L*-EGT and in-depth exploration its roles in food, human health and diseases.

Key words: *L*-ergothioneine; edible fungi; biosynthesis; oxidation resistance; physiological function; efficacy ingredients

天然麦角硫因为左旋 L-麦角硫因(*L*-ergothioneine, *L*-EGT), 分子量为 229.3, 白色晶体, 易溶于水(24 °C 下每升可溶 0.9 mol), 硫咪唑氨基酸(thiol-imidazole amino acids) 类天然抗氧化剂, 参与维持机体细胞内的氧化还原态^[1]。1909 年, Tanret 等^[2]首次从寄生于禾本植物黑麦的麦角真菌分离出 *L*-EGT, 随后在人类血液中发现 *L*-EGT, 从而引起了人们的关注。生理条件下, *L*-EGT 主要以硫酮的形式存在, 保持稳定, 使其不易发生自氧化(见图 1)。由于 *L*-EGT 特殊结构, 它具有比谷胱甘肽更高的稳定性和抗氧化活性^[3]。研究表明, *L*-EGT 具有预防和治疗由氧化胁迫而引起的癌症、心血管疾病、认知

功能障碍等疾病的潜力以及生鲜食品的保鲜和防腐^[4-6]。2016 年, 欧洲食品安全局发布了 *L*-EGT 作为新型食品的安全性评估声明^[4], 为 *L*-EGT 相关医药以及食品的开发拓宽了道路。基于 *L*-EGT 的强抗氧化性、安全性和稳定性等优点, 使其在化妆品、功能食品、医疗、治疗学和生物医学等领域展现出良好的应用前景。

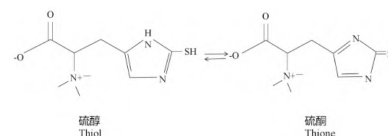


图 1 *L*-EGT 的互变异构体

Fig. 1 The tautomers of *L*-EGT

收稿日期: 2021-09-13

接受日期: 2022-03-15

基金项目: 2021 年广州市科技计划(援藏)(202103000074); 肇庆高新区创新团队项目(2019ZHQ10)

* 通信作者 Tel: 86-013622216490; E-mail: xyzgdim@sina.com

1 *L*-麦角硫因的生物合成

L-EGT 最初是 1909 年 Tanret 等^[2]从麦角真菌

中分离得到,并认为 *L*-EGT 分布于分生孢子中而不是菌核。

1956年、1957年及1958年 Heath 和 Wildy 连续用 $[2-^{14}\text{C}]$ 乙酸盐标签法^[17]、 $[^{35}\text{S}]$ 标记蛋氨酸及用 $[2(\text{环})-^{14}\text{C}]$ 标记组胺标签法^[18]、组氨酸标签法^[19] 确认了组氨酸、蛋氨酸是合成 *L*-EGT 的前体。1959年 Melville 等^[20] 在同位素标记前体的帮助下,研究了粗糙链孢霉 (*Neurospora crassa*) 生物合成 *L*-EGT 三甲基铵基团的途径;推测 *L*-EGT 的生物合成顺序为:组氨酸经蛋氨酸转甲基作用合成组氨酸甜菜碱再经半胱氨酸巯基化作用合成 *L*-EGT。Ishikawa 等人用粗糙链孢霉无细胞提取物催化组氨酸的 α -氨基氮原子甲基化,推测 *N*-二甲基组氨酸甲基转移酶催化 α -*N*-甲基组氨酸、 α -*N* 形成组氨酸三甲内盐,其中,二甲基组氨酸甲基转移酶负责组氨酸转化为组氨酸三甲内盐的三个转氨甲基化反应^[21-22]。

直到2010年 Seeback 等^[23] 首次在细菌耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*) 中解析了 *L*-EGT 的生物合成途径,并确定了 *L*-EGT 生物合成反应的酶,该途径涉及五个酶构成的酶促反应,这些酶包括 EgtA (γ -谷氨酰基半胱氨酸连接酶)、EgtB (Fe^{2+} 依赖性酶)、EgtC (谷氨酰氨基转移酶)、EgtD (组氨酸甲基转移酶) 和 EgtE (PLP 依赖性 C-S 裂解酶)^[24] (图2中“*”标记部分)。首先,在细菌合成中, EgtD 将三个甲基从 *s*-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 转移到组氨酸中形成组氨酸三甲内盐;同时, EgtA 将半胱氨酸转化为 γ -谷氨酸-半胱氨酸。其次,以二价离子和氧作为辅因子,将组氨酸三甲内盐和 γ -谷氨酰基

半胱氨酸通过 EgtB 催化生成 γ -谷氨酰基海西炔基半胱氨酸亚砷。随后, γ -谷氨酰基海西炔基半胱氨酸亚砷经 EgtC 催化生成海西炔基半胱氨酸亚砷。最后,海西炔基半胱氨酸亚砷经 EgtE 催化产生 *L*-EGT, 同时释放丙酮酸和 NH_3 ^[25]。此外,最新研究发现甲基杆菌菌株 (*Methylobacterium strains*) 中 *L*-EGT 生物合成只需三步,即 EgtD \rightarrow MsEgtB (图2中“#”标记部分) \rightarrow EgtE; 其中 MsEgtB 可以利用半胱氨酸作为硫供体,将组氨酸三甲内盐转化为海西炔基半胱氨酸亚砷,将细菌的 *L*-EGT 生物合成途径从5步减少到3步^[26]。因此,这种具有特殊 EgtB 的较短的细菌合成途径对 *L*-EGT 的生物制备更具吸引力。

在蓝细菌和厌氧绿硫细菌中, *L*-EGT 的合成途径由两个酶 EanA 和 EanB 构成^[27-28] (图2中“^”标记部分)。组氨酸在 EanA 酶的作用下转化为组氨酸三甲内盐,通过 EanB 酶直接催化生成 *L*-EGT。而在一些真菌中,如粗糙链孢霉、裂殖酵母、烟曲霉菌及胶红酵母四种小型真菌的 *L*-EGT 合成途径与耻垢分枝杆菌、蓝细菌和厌氧绿硫细菌均不相同^[29-30], 该途径由 Egt1 和 Egt2 两个合成酶构成^[31-33] (图2中“&”标记部分)。在这四种真菌中, Egt1 将三个甲基从 *s*-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 转移到组氨酸中形成组氨酸三甲内盐,并利用氧和半胱氨酸进一步催化组氨酸三甲内盐生成海西炔基半胱氨酸亚砷,最后通过 Egt2 催化生成 *L*-EGT^[35]。此外,真菌 *L*-EGT 生物合成途径还免除了 γ -谷氨酰基-半胱氨酸的参与,从而消除了 *L*-EGT 和谷胱甘肽之间的生物合成竞争,极大提高了 *L*-EGT 的生物合成效

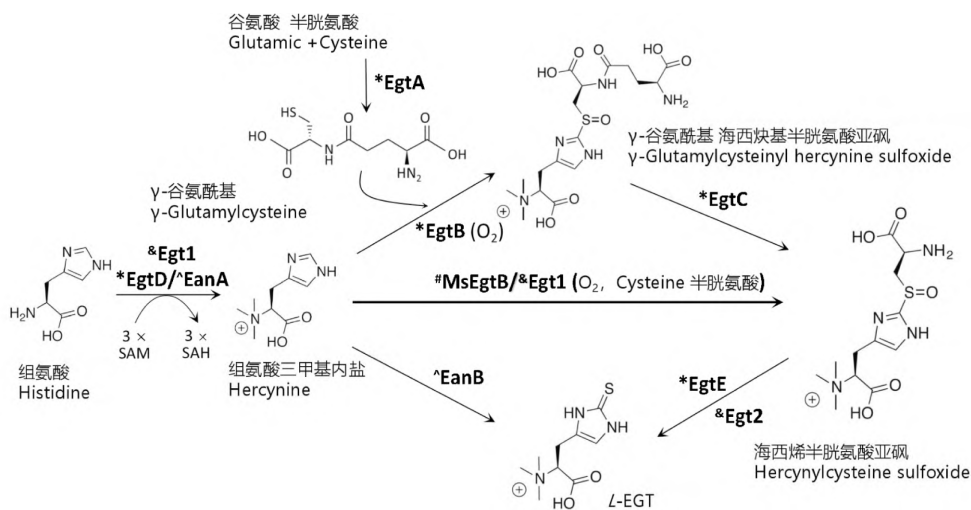


图2 微生物 *L*-EGT 的生物合成途径

Fig. 2 The biosynthetic pathways of *L*-EGT in microorganism

率^[36]。这些研究表明,自然界微生物的 L-EGT 生物合成途径是多样的,可能还存在着一些未知 L-EGT 生物合成方式。

2 麦角硫因的摄取、代谢及分泌

植物、动物和人均不能合成 L-EGT,只能从其他来源获取 L-EGT。植物可吸收土壤微生物合成的 L-EGT,而动物和人可从食物中获取 L-EGT^[37]。人体中 L-EGT 的主要膳食来源是蘑菇、某些品种的黑豆和红豆、内脏和谷物^[38-40]。在所有的 L-EGT 来源中,食用菌的 L-EGT 含量最为丰富,但不同种类的食用菌的含量各异(见表 1)。根据欧洲食品安全局估计,欧洲人群中蘑菇约占饮食摄入 L-EGT 含量的 95%^[15]。一些研究发现,膳食中 L-EGT 的含量对动物和人组织的 L-EGT 含量具有显著的影响。Kato 等^[41]分析了小鼠口服³H 标记的 L-EGT(浓度为 330 ng/kg bw)后的放射性分布。口服给药 4 h 后,小肠上、中段的放射性浓度最高。14 天后,放射性浓度最高的区域发生了改变,放射性水平依次为肝脏 > 肾 > 红细胞 > 肠。在大鼠的研究中,也观察到了类似的组织分布,即腹腔注射¹⁴C 标记的 L-EGT 4 ~ 5 h 后,在肝脏中检测到 20% ~ 30% 的放射性,且放射性主要集中在非蛋白组织部分。同样的,在大鼠静脉注射³H 标记的 L-EGT 24 h 后,放射性水平依次为肝脏 > 肾 > 脾脏 > 肺 > 血液 > 睾丸 > 血浆。在 10 ~ 19 天内,大鼠口服³⁵S 标记的 L-EGT 后,发现肝脏的放射性水平最高,其次是血细胞和肾脏。

在脊椎动物中,有一种称为有机阳离子转运体的跨膜蛋白 OCTN1 (organic cation transporter 1)。通过分析大鼠和不同人体组织中的 OCTN1 转运蛋白 mRNA 水平^[42-43]以及 OCTN1 敲除小鼠证明了 OCTN1 是 L-EGT 特异转运体^[44]。哺乳动物通过 OCTN1 转运体从胃肠道的食物中吸收 L-EGT。由于不同组织中的 OCTN1 的 mRNA 表达差异,进而影响着 L-EGT 在各个组织和器官中分布不均。

L-EGT 在各器官和组织的代谢周转率较低。Mayumi 等^[48]发现,大鼠腹腔注射 16 mg/kg bw 的 L-EGT 给药 1 周后,血液和肝脏中的 L-EGT 浓度呈线性增加。腹腔注射 L-EGT 后 2 周期间, L-EGT 并没有或只是少量地从肝脏或红细胞中清除。在 10 名中国男性受试者中,血浆中 L-EGT 随着服用剂量和时间的增加而增加,在随后的 4 周内,全血中 L-EGT 浓度持续升高,并在 4 周左右趋于平稳。

在大鼠肝中, L-EGT 浓度随着鼠龄的增长而增

表 1 常见食用菌 L-麦角硫因含量

Table 1 The L-ergothioneine content of daily edible fungi

食用菌 Edible fungi	L-EGT 含量 Content of L-EGT (mg/g, DW)
灰平菇 <i>Pleurotus ostreatus</i>	1.21 ^[45]
双孢蘑菇 <i>Agaricus bisporus</i>	0.41 ^[45]
榆黄蘑 <i>Pleurotus citrinopileatus</i>	3.94 ^[45]
香菇 <i>Lentinula edodes</i>	0.92 ^[45]
灰树花 <i>Lentinula edodes</i>	1.11 ^[45]
赤芝 <i>Ganoderma lucidum</i>	0.56 ^[45]
猴头菇 <i>Hericium erinaceus</i>	1.12 ^[45]
美味牛肝菌 <i>Boletus edulis</i>	7.27 ^[45]
茶树菇 <i>Agrocybe aegerita</i>	2.56 ^[45]
羊肚菌 <i>Morchella esculenta</i>	0.47 ^[45]
蛹虫草 <i>Cordyceps militaris</i>	0.41 ^[45]
冬虫夏草 <i>Ophiocordyceps sinensis</i>	0.052 ^[46]
蟹味菇 <i>Hypsizygus marmoreus</i>	0.221 ^[46]
桑黄 <i>Phellinus linteus</i>	0.182 ^[47]
杏鲍菇 <i>Pleurotus eryngii</i>	1.5146 ^[47]

注: DW 为干重。

Note: DW is dry weight.

加,在 11 周时达到最大值^[49]。同样,大鼠^[50]和人类^[51]红细胞中 L-EGT 随着年龄的增长而增加。雌性大鼠在出生后的第一个月到第三个月期间,它的水平增加了两倍,然后保持不变;而雄性大鼠的水平则在 18 个月期间一直上升^[52]。

3 麦角硫因的应用研究

3.1 麦角硫因在食品中的应用

因 L-EGT 良好的抗氧化性,具有良好的食品保鲜效果。研究表明,用 L-EGT 溶液处理采收双孢蘑菇,可减缓其褐变和延长货架期^[53]。Bao 等^[45]从金针菇中提取 L-EGT 水溶液可抑制大眼金枪鱼肉高铁血红生产,进一步研究发现 L-EGT 水溶液可防止牛肉和金枪鱼肉的脂质过氧化,保持其色泽鲜艳^[5]。利用金针菇提取的 L-EGT 水溶液可防止鲜虾黑变病的发生以及抑制虾肉的脂质过氧化^[9]。用 L-EGT 水溶液处理新鲜的红海鲑和日本海鲑鱼,可保持其品质,延长红海鲑和日本海鲑鱼的货架期^[6,7]。此外,在低温条件下,富含 L-EGT 的蘑菇提取液可抑制鲑鱼肌肉组织的脂质氧化,保持肌肉组织色泽鲜艳^[11]。2016 年,欧盟发布了 L-EGT 作为食品添加剂安全声明,为 L-EGT 在食品防腐保鲜中的应用拓宽了道路^[54]。

3.2 麦角硫因在日化中的应用

化妆品行业在过去的几十年里发展迅速。然而人工合成的化学物质的不良副作用,许多以天然成分为基础的化妆品市场发展迅速。长时间暴露在强烈的阳光下会导致紫外线诱导的皮肤细胞生物分子的氧化损伤,随后导致晒伤、光衰老以及皮肤癌。而良好的抗氧化剂可作为化妆品的活性成分用于预防和减少皮肤老化作用。Bazela 等研究表明, *L*-EGT 增加人体成纤维细胞谷胱甘肽含量,保护细胞免受 UVA 辐射引起的线粒体 DNA 损伤^[55]。此外,一些研究发现, *L*-EGT 抑制 MMP1(基质金属蛋白酶 1)和 TNF- α 基因 mRNA 的表达,降低炎症反应;并通过清除超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$ 和单线态氧 1O_2 等活性自由基,从而降低 UVB 照射后皮肤的抗衰老作用^[56]。2015 年, Hseu 等^[57]发现, *L*-EGT 通过激活人类角质化细胞中 Nrf2(核转录相关因子),从而上调抗氧化基因 HO-1, NQO-1 以及 γ -GCLC 表达,同时提高 GSH 的含量,最终清除皮肤中因 UVA 辐照而产生的 ROS,减少紫外对皮肤损伤。随后, Hseu 等^[58]又发现, *L*-EGT 可抑制人真皮成纤维细胞 AP-1 转录激活因子以及 MMP1,降低炎症反应;同时激活 Nrf2 及其下游抗氧化基因表达,从而抵抗 UVA 辐照引起的光衰老作用。此外,一项研究发现, *L*-EGT 可抑制蘑菇酪氨酸酶活性(同等浓度下,抑制活性稍弱于曲酸(一种酪氨酸酶强抑制剂,致癌))^[13]。目前, *L*-EGT 作为美白抗衰老的活性成分已用于多款化妆品的研究开发。

3.3 麦角硫因在医疗中的应用

3.3.1 麦角硫因的抗氧化性

L-EGT 是一种强抗氧化剂,具有清除多种自由基能力,并参与维持生物体的氧化还原稳态以及真菌、细菌对环境变化的适应^[59]。*L*-EGT 对超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$)、过氧亚硝酸盐 ($ONOO^{\cdot}$)、羟自由基 (OH^{\cdot})、DPPH 自由基以及 ABTS 自由基均具有良好的清除活性^[2]。对比于传统抗氧化剂, *L*-EGT 清除过氧自由基 (ROO^{\cdot})、羟自由基 (OH^{\cdot}) 和过氧亚硝酸盐 ($ONOO^{\cdot}$) 能力显著的高于谷胱甘肽、尿酸、水溶性维生素 E(Trolox)^[3]。相比于 GSH 等硫醇类抗氧化剂, *L*-EGT 清除单线态氧的能力更强^[60]。此外, *L*-EGT 清除过氧化氢的能力强于艾地苯醌,抗脂质过氧化能力数倍强于辅酶 Q10^[61]。一些体内研究发现,敲除粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*) *L*-EGT 合成基因 *NcEgt-1*,降低了粗糙脉孢菌分生孢子的 ROS

清除能力,干扰 HeLa 细胞 *L*-EGT 转运体 OCTN1 的表达,引起线粒体蛋白的羧基化以及 DNA 损伤,加剧线粒体氧化胁迫^[62]。此外,敲除了 OCTN1 的肠缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤模型小鼠表现出对氧化胁迫的超敏现象^[41]。

3.3.2 麦角硫因整合金属离子

L-EGT 具有螯合二价阳离子的功能。例如, *L*-EGT 可与 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cd^{2+} 等金属阳离子形成配合物,并防止这些金属离子参与 ROS 的形成^[63]。此外, *L*-EGT 可保护 DNA 和蛋白质免受 Cu^{2+} 诱导的氧化损伤^[64]。研究表明,在动物和人类中,高水平的 *L*-EGT 可以防止 Cu^{2+} 对精子活力的抑制^[65]。此外,与 GSH 在 Cu^{2+} 存在下易生成活性氧 ROS(通过形成具有氧化还原活性的 $Cu(I)-[GSH]_2$ 配合物)相比, *L*-EGT 与 Cu^{2+} 的配合物相对稳定,不易分解生成自由基^[66]。

3.3.3 神经保护作用

神经元氧化应激与抑郁症、阿尔兹海默症、抑郁症等神经系统性疾病息息相关。许多研究表明, *L*-EGT 可以保护神经元细胞抵御多种氧化胁迫损伤。早先,人们在小鼠与大鼠的大脑中检测到 *L*-EGT 转运体 OCTN1 mRNA 的表达^[67]。与此同时,在不同小鼠、大鼠、豚鼠、兔子、猫、羊和牛等动物大脑中检测到不同水平的 *L*-EGT,表明 *L*-EGT 是可以穿过血脑屏障^[68]。利用 PC12 细胞(用于神经生物学研究的细胞模型)研究发现, *L*-EGT 通过清除该细胞中的过氧亚硝基,从而抑制 $A\beta$ 淀粉样蛋白诱导细胞凋亡^[69]。另一项细胞内研究发现,广谱抗癌药 Cisplatin 能显著降低 PC12 细胞的增殖,强烈抑制 PCN(初级表皮神经元)细胞轴突和树突的生长,但 *L*-EGT 能显著抑制这些作用^[70]。*L*-EGT 还可抑制由 Cisplatin 引起的抗细胞增殖效应,恢复小鼠皮层神经元生长^[71]。与 Cisplatin 和 $A\beta$ 作用类似,过度刺激 NMDA(N-甲基-D-天冬氨酸)受体能引发自由基的产生,继而导致神经元细胞死亡,而腹腔注射 *L*-EGT 可显著抑制因注射 NMDA 引起的大鼠视网膜神经元的损失^[72]。*L*-EGT 还可促进大鼠神经前体细胞分化^[73]。此外,在小鼠 FST(强迫游泳实验)和 TST(悬尾实验)中,口服 *L*-EGT 可提高小鼠大脑 *L*-EGT 水平,促进神经元分化以及减轻抑郁症状^[74]。

3.3.4 在慢性炎症中的作用

越来越多的证据表明许多慢性疾病与慢性炎症的发生密切相关。而细胞中重要的核转录因子 NF-

κ B 通过介导细胞因子的表达,调控机体的慢性炎症反应。Kos 等^[75]研究发现, *L*-EGT 可显著下调 7-酮胆固醇诱导的脑内皮细胞 hCMEC/D3 中促炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 和 COX2 的表达,降低炎症反应。此外, Rahman 等^[76]研究表明, *L*-EGT 可抑制 H₂O₂ 和 TNF α 介导的人肺泡上皮细胞 A549 中 NF- κ B 的激活和 IL-8 表达,降低炎症反应。富含 *L*-EGT 的鸡腿菇 (*Coprinus comatus*) 提取物可清除髓过氧化物酶 (MPO) 产生的次氯酸 (HOCl) 和次溴酸 (HOBr) 以及抑制 UV-B 诱导的炎症反应^[77]。在 C2C12 细胞中, *L*-EGT 通过抑制 P38 信号转导以及降低炎症因子 IL6 水平,减少炎症反应,从而抵御棕榈酸诱导的细胞凋亡^[78]。

在克罗恩氏病 (Crohn's disease, 肠道炎症性疾病) 患者以及类风湿性关节炎患者中, *L*-EGT 的抗炎作用存在着争议。在 2004 年, Peltekova 等^[79]研究发现, *L*-EGT 转运体 OCTN1 第 503 个氨基酸发生突变 (即 503L 突变为 503F) 突变与克罗恩氏病有关, 随后研究发现, OCTN1 503F 变体比正常 503L 变体的 *L*-EGT 转运能力提高了 50%。与正常个体相比, 克罗恩氏病患者体内 OCTN1 mRNA 表达与 *L*-EGT 含量均显著上升。用炎症因子 TNF α 处理 Caco2 细胞可诱导 TNF α 受体 TNFR1 介导的 OCTN1 mRNA 表达上调^[80]。然而, 与之相反, Kato 等^[41]发现日本克罗恩氏病患者的血液 *L*-EGT 浓度显著低于正常个体; 随后他们利用 OCTN1 敲除小鼠研究发现, 缺乏 *L*-EGT 的动物容易发生肠道炎症, 因此提示 *L*-EGT 可能在抗肠道炎症中发挥作用。此外, 在轻度类风湿性关节炎患者的红细胞和单核细胞 *L*-EGT 水平显著升高^[81]。另一项研究发现, 胶原蛋白诱导关节炎小鼠在炎症关节的血液学和免疫学组织中也高表达 OCTN1^[82]。因此, *L*-EGT 在克罗恩氏病以及类风湿性关节炎中的作用仍然有待于进一步研究。

3.3.5 在子痫前期中的作用

子痫前期是妊娠晚期的一种疾病, 是孕妇死亡的主要原因。据估计该病每年影响全球 3% ~ 5% 的妊娠, 并导致 7 万多名孕妇死亡^[83]。子痫前期的病理生理机制尚不完全清楚, 但与胎盘附着位置异常而引起的氧化损伤和全身炎症反应有关^[84]。然而, 使用经典小分子抗氧化剂维生素 C 和维生素 E 的临床试验结果令人失望, 几乎无法改善子痫前期症状。可能是这些小分子抗氧化剂无法穿透线粒体 (细胞活性氧 ROS 主要来源) 质膜, 而无法清除其中

的活性氧^[85]。最近研究表明, *L*-EGT 可通过提高抗氧化能力来保护线粒体免受氧化胁迫, 从而降低子痫前期相关的炎症反应^[86]。此外, 口服 *L*-EGT 可清除子痫前期的子宫灌注压降低大鼠模型 (RUPP) 的肾组织细胞线粒体有关的 H₂O₂^[87]。这些研究表明 *L*-EGT 具有治疗子痫前期的潜力。

3.3.6 在心血管中的作用

L-EGT 的免疫调节作用有助于抑制促炎细胞因子以及粘附分子引起动脉粥样硬化。研究表明, *L*-EGT 可降低人主动脉内皮细胞的粘附分子 VCAM-1、ICAM-1 和 E-selectin 的表达, 抑制单核细胞与内皮的结合^[88]。利用缺血再灌注 (ischemia reperfusion, IR) 模型大鼠研究发现, *L*-EGT 可降低 IR 模型大鼠血清 AST、ALT 和 LDH 水平, 抑制脂质过氧化以及上调热休克蛋白 HSP70 水平, 从而防止 IR 引起的肝脏损伤^[89]。在大鼠肠系膜 IR 模型中研究发现, *L*-EGT 通过提高 HSP70 水平, 降低 TNF- α 、IL-1 β 、MDA 和 MPO 含量, 从而减轻肠系膜 IR 损伤, 并改善因 IR 损伤后的形态学改变^[90]。多项研究发现, 金属螯合剂可以抑制自由基产生, 缓解 IR 损伤, 暗示 *L*-EGT 还可通过螯合金属离子减轻 IR 损伤^[91]。然而, Cargnoni 等^[92]研究发现, 服用 *L*-EGT 并不能保护兔子心脏 IR 损伤, 而导致该结果可能原因是兔子服用 *L*-EGT 是在 IR 之前的 60 min, 组织尚未很好地吸收 *L*-EGT, 致 *L*-EGT 不能发挥保护 IR 损伤的作用。

Zn 元素对人体储存胰岛素和糖原重要作用。早期的调查显示, 糖尿病患者体内的 *L*-EGT 水平升高, 而 *L*-EGT 可螯合 Zn 离子, 因而认为 *L*-EGT 是糖尿病发病的元凶之一^[7]。然而, 四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠体内并没有发现 *L*-EGT 水平升高, 且 *L*-EGT 处理并没有影响含 Zn 金属酶的活性。另外一项研究显示, 小鼠成肌细胞中 *L*-EGT 可抑制由棕榈酸诱导的胰岛素抵抗及 2 型糖尿病相关的 IL6 表达^[93]。此外, 补充 *L*-EGT 可降低患糖尿病的妊娠大鼠因高血糖依赖性的氧化胁迫而引起的胚胎畸形率^[94]。

4 总结与展望

L-EGT 是一种高效、安全、稳定的天然抗氧化剂, 具有良好的自由基清除能力、螯合二价阳离子功能以及食品保鲜防腐功效。人体通过细胞膜表面有机阳离子转运体 OCTN1 吸收 *L*-EGT, 保护细胞免受氧化胁迫, 抑制机体炎症反应、保护皮肤免受紫外胁

迫等^[95]。但人体从食物中获取 L-EGT 有限,而市面上 L-EGT 价格高昂,限制了人们额外补充 L-EGT。目前化学方法合成 L-EGT 困难,且存在产品安全性难以保证、合成原料及成本高昂等缺点。从富含 L-EGT 的食用菌中提取存在提取效率低、耗费时间长、难以大规模制备等问题,依然不能从根源上解决 L-EGT 产量不足。当前已经解析了细菌和真菌的 L-EGT 生物合成途径,未来应当利用基因工程手段构建稳定高产 L-EGT 工程菌,并结合现代化绿色低碳发酵技术实现 L-EGT 规模化生产,从根本上降低 L-EGT 生产成本。

鉴于 L-EGT 具有预防和治疗癌症、心血管疾病、认知功能障碍等疾病的潜力,但缺乏有力的临床实验数据,应进一步加强对 L-EGT 临床试验研究。

参考文献

- Nachimuthu S, et al. L-Ergothioneine: A Potential Bioactive Compound from Edible Mushrooms [M]. In Medicinal Mushrooms; Singapore: Springer 2019: 391-407.
- Tanret C. The new base drawn from rye ergot, ergothioneine [J]. Compt Rend 1909, 149: 222-224.
- Franzoni F, et al. An *in vitro* study on the free radical scavenging capacity of ergothioneine: comparison with reduced glutathione, uric acid and trolox [J]. Biomed Pharmacother, 2006, 60: 453-457.
- Turck D, et al. Safety of synthetic L-ergothioneine (ergothioneine) as a novel food pursuant to regulation (EC) No258/97 [J]. EFSA J 2016, 14(11): e04629.
- Liu Qi, et al. Biosynthesis and catabolism of L-ergothioneine [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发) 2015, 27: 1112-1117.
- Heath H. The metabolism of 35S-labelled 2-thiolhistidine and ergothioneine in the rat [J]. Biochem J, 1953, 54(4): 689.
- Burn R, et al. Anaerobic origin of ergothioneine [J]. Angew Chem Int Ed Engl 2017, 56: 12508-12511.
- Liao C, et al. Convergent evolution of ergothioneine biosynthesis in cyanobacteria [J]. Chem Bio Chem 2017, 18: 2115-2118.
- Hu W, et al. Bioinformatic and biochemical characterizations of C-S bond formation and cleavage enzymes in the fungus *Neurospora crassa* ergothioneine biosynthetic pathway [J]. Org Lett 2014, 16: 5382-5385.
- Ando C, et al. A proposed antioxidation mechanism of ergothioneine based on the chemically derived oxidation product hercynine and further decomposition products [J]. Biosci Biotechnol Biochem 2021, 85: 1175-1182.
- Sheridan KJ, et al. Ergothioneine biosynthesis and functionality in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* [J]. Sci Rep 2016, 6: 35306.
- Bello MH, et al. The *Neurospora crassa* mutant NcΔEgt-1 identifies an ergothioneine biosynthetic gene and demonstrates that ergothioneine enhances conidial survival and protects against peroxide toxicity during conidial germination [J]. Fungal Genet Biol 2012, 49: 160-172.
- Yang X, et al. The Biosynthetic pathway of ergothioneine in culinary-medicinal winter mushroom, *Flammulina velutipes* (*Agaricomycetes*) [J]. Int J Med Mushrooms 2020, 22: 171-181.
- Pang L, et al. Protective role of ergothioneine isolated from *Pleurotus ostreatus* against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rat model [J]. J Food Sci, 2022, 87: 415-426.
- Han Y, et al. The current status of biotechnological production and the application of a novel antioxidant ergothioneine [J]. Crit Rev Biotechnol 2021, 41: 580-593.
- Cheah IK, et al. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease [J]. Biochim Biophys Acta 2012, 1822: 784-793.
- HEATH H, et al. The biosynthesis of ergothioneine and histidine by *Claviceps purpurea*. I. The incorporation of [2-14C] acetate [J]. Biochem J, 1956, 64: 612-620.
- Wildy J, et al. Biosynthesis of ergothioneine by *Claviceps purpurea*. II. Incorporation of [35S]methionine and the non-utilization of [2(ring)-14C]histamine [J]. Biochemical J, 1957, 65: 220-222.
- Heath H, et al. Biosynthesis of ergothioneine by *Claviceps purpurea*. 3. The incorporation of labelled histidine. [J]. Biochem J, 1958, 68: 407-410.
- Melville DB, et al. Transmethylation in the biosynthesis of ergothioneine [J]. J Biol Chem, 1959, 234: 1195-1198.
- Ishikawa Y, et al. Participation of an intermediate sulfoxide in the enzymatic thiolation of the imidazole ring of hercynine to form ergothioneine [J]. J Biol Chem, 1974, 249: 4420-4427.
- Ishikawa Y, et al. The enzymatic α -N-methylation of histidine [J]. J Biol Chem, 1970, 245: 5967-5973.
- Seebeck FP. *In vitro* reconstitution of mycobacterial ergothioneine biosynthesis [J]. J Am Chem Soc, 2010, 132: 6632-6633.
- Misson L, et al. Inhibition and regulation of the ergothioneine biosynthetic methyltransferase EgtD [J]. ACS Chem Biol, 2018, 13: 1333-1342.
- Song H, et al. Mechanistic studies of a novel C-S lyase in ergothioneine biosynthesis: the involvement of a sulfenic acid intermediate [J]. Sci Rep 2015, 5: 11870.
- Kamide T, et al. High production of ergothioneine in *Esche-*

- richia coli* using the sulfoxide synthase from methylobacterium strains [J]. *J Agr Food Chem* 2020 68: 6390-6394.
- 27 Nigam SK. The SLC22 transporter family: a paradigm for the impact of drug transporters on metabolic pathways, signaling, and disease [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2018 58: 663-687.
- 28 Gründemann D. The ergothioneine transporter controls and indicates ergothioneine activity—a review [J]. *Prev Med* 2012 54(suppl): S71-S74.
- 29 Pluskal T, et al. Genetic and metabolomic dissection of the ergothioneine and selenoneine biosynthetic pathway in the fission yeast *S. pombe* and construction of an overproduction system [J]. *PLoS One* 2014 9(5): e97774.
- 30 Fujitani Y, et al. Ergothioneine production using methylobacterium species, yeast, and fungi [J]. *J Biosci Bioeng* 2018, 126: 715-722.
- 31 Cumming BM, et al. Role of ergothioneine in microbial physiology and pathogenesis [J]. *Antioxid Redox Signal* 2018 28: 431-444.
- 32 Tucker RAJ, et al. Specificity of the ergothioneine transporter natively expressed in HeLa cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2019 513(1): 22-27.
- 33 Misson L, et al. Inhibition and regulation of the ergothioneine biosynthetic methyltransferase EgtD [J]. *ACS Chem Biol* 2018 13: 1333-1342.
- 34 Zhang D, et al. Biosynthesis of lincosamide antibiotics: reactions associated with degradation and detoxification pathways play a constructive role [J]. *Acc Chem Res* 2018 51: 1496-1506.
- 35 Hu W, et al. Bioinformatic and biochemical characterizations of C-S bond formation and cleavage enzymes in the fungus *Neurospora crassa* ergothioneine biosynthetic pathway [J]. *Org Lett* 2014 16: 5382-5385.
- 36 Naowarajna N, et al. Crystal structure of the ergothioneine sulfoxide synthase from *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum* and structure-guided engineering to modulate its substrate selectivity [J]. *ACS Catal* 2019 9: 6955-6961.
- 37 Kalaras MD, et al. Mushrooms: a rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione [J]. *Food Chem* 2017, 233: 429-433.
- 38 Huang CW, et al. Chemical composition and antioxidant properties of different combinations of submerged cultured mycelia of medicinal mushrooms [J]. *Int J Med Mushrooms* 2021, 23(8): 1-24.
- 39 Shin-Yu Chen, et al. Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia [J]. *LWT-Food Sci Technol* 2012 15: 315-323.
- 40 Mayumi T, et al. Studies on ergothioneine. V. Determination by high performance liquid chromatography and application to metabolic research [J]. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* 1978, 26: 3772-3778.
- 41 Kato Y, et al. Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/organic cation transporter OCTN1 [J]. *Pharm Res* 2010 27: 832-840.
- 42 Sugiura T, et al. Functional expression of carnitine/organic cation transporter OCTN1/SLC22A4 in mouse small intestine and liver [J]. *Drug Metab Dispos* 2010 38: 1665-1672.
- 43 Halliwell B, et al. Ergothioneine—a diet-derived antioxidant with therapeutic potential [J]. *FEBS Lett* 2018 592: 3357-3366.
- 44 Nishiyama M, et al. Homostachydrine is a xenobiotic substrate of OCTN1/SLC22A4 and potentially sensitizes pentylene-tetrazole-induced seizures in mice [J]. *Neurochem Res* 2020 45: 2664-2678.
- 45 Bao HN, et al. Antioxidative activities of hydrophilic extracts prepared from the fruiting body and spent culture medium of *Flammulina velutipes* [J]. *Bioresour Technol* 2010, 101: 6248-6255.
- 46 Chen SY, et al. Preparation of culinary-medicinal king oyster mushroom *Pleurotus eryngii*-fermented products with high ergothioneine content and their taste quality [J]. *Int J Med Mushrooms* 2012 14(1): 85-93.
- 47 Cohen N, et al. Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher Basidiomycetes mushrooms [J]. *Int J Med Mushrooms* 2014 16: 273-291.
- 48 Mayumi T, et al. Studies on ergothioneine. VIII. preventive effects of ergothioneine on cadmium-induced teratogenesis [J]. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* 1982 30: 2141-2146.
- 49 Kawano H, et al. Studies on ergothioneine. VI. Distribution and fluctuations of ergothioneine in rats [J]. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* 1982 30: 1760-1765.
- 50 Cheah IK, et al. Administration of pure ergothioneine to healthy human subjects: uptake, metabolism, and effects on biomarkers of oxidative damage and inflammation [J]. *Antioxid Redox Signal* 2017 26: 193-206.
- 51 Mackenzie JB, et al. The effect of age, sex, and androgen on blood ergothioneine [J]. *J Biol Chem* 1957 225: 651-657.
- 52 Kumosani TA. *L*-Ergothioneine level in red blood cells of healthy human males in the western province of Saudi Arabia [J]. *Exp Mol Med* 2001 33(1): 20-22.
- 53 Tao Y, et al. Effect of *Flammulina velutipes* extract rich in ergothioneine on the quality of frozen pork patties [J]. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)* 2021 42: 456-457.
- 54 EFSA Panel on Dietetic Products, et al. Statement on the safety of synthetic *L*-ergothioneine as a novel food-supple-

- mentary dietary exposure and safety assessment for infants and young children ,pregnant and breastfeeding women [J]. EFSA J 2017 ,15(11) : e05060.
- 55 Bazela K ,et al. L-Ergothioneine protects skin cells against UV-induced damage—A preliminary study [J]. Cosmetics , 2014 ,1(1) : 51-60.
- 56 Obayashi K ,et al. L-Ergothioneine scavenges superoxide and singlet oxygen and suppresses TNF- α and MMP-1 expression in UV-irradiated human dermal fibroblasts [J]. J Cosmet Sci 2005 ,56(1) : 17-27.
- 57 Hseu YC ,et al. The antiaging activity of ergothioneine in UVA-irradiated human dermal fibroblasts via the inhibition of the AP-1 pathway and the activation of Nrf2-mediated antioxidant genes [J]. Oxid Med Cell Longev 2020: 2576823.
- 58 Hseu YC ,et al. Dermato-protective properties of ergothioneine through induction of Nrf2/ARE-mediated antioxidant genes in UVA-irradiated Human keratinocytes [J]. Free Radic Biol Med 2015 ,86: 102-117.
- 59 Rougee M ,et al. Deactivation of singlet molecular oxygen by thiols and related compounds ,possible protectors against skin photosensitivity [J]. Photochem Photobiol ,1988 ,47: 485-489.
- 60 Dong KK ,et al. A comparison of the relative antioxidant potency of L-ergothioneine and idebenone [J]. J Cosmet Dermatol 2007 ,6: 183-188.
- 61 Pahila J ,et al. Effects of ergothioneine-rich mushroom extract on the oxidative stability of astaxanthin in liposomes [J]. J Agr Food Chem 2019 ,67: 3491-3501.
- 62 Tucker RAJ ,et al. Specificity of the ergothioneine transporter natively expressed in HeLa cells [J]. Biochem Biophys Res Commun 2019 ,513(1) : 22-27.
- 63 Jenny KA ,et al. Ergothioneine in a peptide: Substitution of histidine with 2-thiohistidine in bioactive peptides [J]. J Pept Sci 2021 ,27(10) : e3339.
- 64 Liu X ,et al. A study on the antioxidant properties and stability of ergothioneine from culinary-medicinal mushrooms [J]. Int J Med Mushrooms 2020 ,22: 211-220.
- 65 Cheah IK ,et al. Could ergothioneine aid in the treatment of coronavirus patients? [J]. Antioxidants (Basel) ,2020 ,9: 595-627.
- 66 Zhu BZ ,et al. Ergothioneine prevents copper-induced oxidative damage to DNA and protein by forming a redox-inactive ergothioneine-copper complex [J]. Chem Res Toxicol 2010 ,24(1) : 30-34.
- 67 Nakamichi N ,et al. Oral administration of the food-derived hydrophilic antioxidant ergothioneine enhances object recognition memory in mice [J]. Curr Mol Pharmacol ,2021 ,14: 220-233.
- 68 Drobyshev E ,et al. Capabilities of selenoneine to cross the *in vitro* blood-brain barrier model [J]. Metallomics ,2021 ,13(1) : mfaa007.
- 69 Jang JH ,et al. Ergothioneine rescues PC12 cells from β -amyloid-induced apoptotic death [J]. Free Radical Bio Med , 2004 ,36: 288-99.
- 70 Song TY ,et al. Ergothioneine protects against neuronal injury induced by cisplatin both *in vitro* and *in vivo* [J]. Food Chem Toxicol 2010 ,48: 3492-3499.
- 71 Ishimoto T ,et al. Ergothioneine-induced neuronal differentiation is mediated through activation of S6K1 and neurotrophin 4/5-TrkB signaling in murine neural stem cells [J]. Cell Signal 2019 ,53: 269-280.
- 72 Moncaster JA ,et al. Ergothioneine treatment protects neurons against N-methyl-D-aspartate excitotoxicity in an *in vivo* rat retinal model [J]. Neurosci Lett 2002 ,328(1) : 55-59.
- 73 Takahiro I ,et al. Organic cation transporter-mediated ergothioneine uptake in mouse neural progenitor cells suppresses proliferation and promotes differentiation into neurons [J]. PLoS One 2014 ,9(2) : e89434.
- 74 Nakamichi N ,et al. Food-derived hydrophilic antioxidant ergothioneine is distributed to the brain and exerts antidepressant effect in mice [J]. Brain Behav 2016 ,6(6) : e00477.
- 75 Koh SS ,et al. Effect of ergothioneine on 7-ketocholesterol-induced endothelial injury [J]. Neuromolecular Med 2021 ,23(1) : 184-198.
- 76 Rahman I ,et al. Ergothioneine inhibits oxidative stress-and TNF- α -induced NF- κ B activation and interleukin-8 release in alveolar epithelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun 2003 ,302: 860-864.
- 77 Asahi T ,et al. A mushroom-derived amino acid ,ergothioneine ,is a potential inhibitor of inflammation-related DNA halogenation [J]. Biosci Biotechnol Biochem 2016 ,80: 313-317.
- 78 Laurenza I ,et al. Modulation of palmitic acid-induced cell death by ergothioneine: evidence of an anti-inflammatory action [J]. Biofactors 2008 ,33: 237-247.
- 79 Peltekova VD ,et al. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease [J]. Nat Genet 2004 ,12: 3678-3681.
- 80 Nakamichi N ,et al. Involvement of carnitine/organic cation transporter OCTN1/SLC22A4 in gastrointestinal absorption of metformin [J]. J Pharm Sci 2013 ,102: 3407-3417.
- 81 Taubert D ,et al. Association of rheumatoid arthritis with ergothioneine levels in red blood cells: a case control study [J]. J Rheumatol 2006 ,33: 2139-2145.
- 82 Nakamura T ,et al. Functional characterization of ergothioneine transport by rat organic cation/carnitine transporter

- Octn1(slc22a4) [J]. Biol Pharm Bull 2008 31: 1580-1584.
- 83 Dymara-Konopka W et al. Preeclampsia-current management and future approach [J]. Curr Pharm Biotechnol 2018 19: 786-796.
- 84 Filipek A et al. Preeklampsja-choroba kobiet w ciąży [Preeclampsia-a disease of pregnant women] [J]. Postepy Biochem 2018 64: 232-229.
- 85 Chiarello DI et al. Oxidative stress: normal pregnancy versus preeclampsia [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2020 1866(2): 165354.
- 86 Williamson RD et al. L- (+) -Ergothioneine significantly improves the clinical characteristics of preeclampsia in the reduced uterine perfusion pressure rat model [J]. Hypertension 2020 75: 561-568.
- 87 Morillon A-C et al. Effect of L-ergothioneine on the metabolic plasma profile of the RUPP rat model of pre-eclampsia [J]. PLoS one 2020 15(3): e0230977.
- 88 Martin KR. The bioactive agent ergothioneine, a key component of dietary mushrooms, inhibits monocyte binding to endothelial cells characteristic of early cardiovascular disease [J]. J Med Food 2010 13: 1340-1346.
- 89 Bedirli A et al. Ergothioneine pretreatment protects the liver from ischemia-reperfusion injury caused by increasing hepatic heat shock protein 70 [J]. J Surg Res 2004 122(1): 96-102.
- 90 Sakrak O et al. Ergothioneine modulates proinflammatory cytokines and heat shock protein 70 in mesenteric ischemia and reperfusion injury [J]. J Surg Res 2008 144(1): 36-42.
- 91 Tyler EF et al. Corneal nerve plexus changes induced by oxaliplatin chemotherapy and ergothioneine antioxidant supplementation [J]. Clin Exp Ophthalmol 2020 48: 264-266.
- 92 Cargnoni A et al. In vitro administration of ergothioneine failed to protect isolated ischaemic and reperfused rabbit heart [J]. Biochim Biophys Acta 1995 1270(2-3): 173-178.
- 93 Dare A et al. L-Ergothioneine and metformin alleviates liver injury in experimental type-2 diabetic rats via reduction of oxidative stress, inflammation, and hypertriglyceridemia [J]. Can J Physiol Pharmacol 2021 99: 1137-1147.
- 94 Smith E et al. Ergothioneine is associated with reduced mortality and decreased risk of cardiovascular disease [J]. Heart 2020 106: 691-697.
- 95 Cheah IK et al. Ergothioneine, recent developments [J]. Redox Biol 2021 42: 101868.

~~~~~

(上接第 597 页)

- 18 Song CP. Exploration of new development mode of whole industry chain of *Hibiscus manihot* L. [J]. Agr Technol Equip (农业技术与装备) 2020(9): 23-24.
- 19 Cao DY, Yu H, Zeng WB et al. Analysis of chemical constituents in different parts of *Abelmoschus manihot* [J]. J Anhui Agr Sci (安徽农业科学) 2017 45: 90-92.
- 20 Cao MM, Che LL, Zhu LW. Research progress on the pharmacological action and mechanism of hyperoside [J/OL]. J Liaoning Univ TCM (辽宁中医药大学学报): 1-14 [2022-01-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543R.20211026.1935.003.html>.
- 21 Chou Y, Pang LR, Li ZW et al. Determination of hyperoside in ethanolic extract of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic and its growth inhibitory effects on tumor cells [J]. J Anhui Agr Sci (安徽农业科学) 2011 39: 8331-8333.
- 22 Qiu JL, Liu P, Xiong WZ et al. Determination of the content of hyperin in Jinhuakui by HPLC method [J]. Acta Chin Med (中医学报) 2015 30: 1793-1795.
- 23 Bai Y, Zhu RC, Li P et al. Simultaneous determination of five flavonoids in the flowers of *Aurea helianthus* by ultra performance liquid chromatography method [J]. Tianjin J Tradit Chin Med (天津中医药) 2018 035: 147-150.
- 24 Zhang XJ, Sun LQ, Luo AQ et al. Optimization of extraction technology of water-soluble flavonoids and total polysaccharides from *Aurea helianthus* flower by response surface methodology [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技) 2019, 40(15): 135-142.
- 25 Cui Q, Liu JZ, Fu YJ. Chemical constituents from *Hibiscus manihot* [J/OL]. Chin Tradit Pat Med (中成药): 1-5 [2022-01-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.r.20211213.1009.002.html>.
- 26 Wang Y, Liang ZH, Cui MX. Effect of flavonoid extracts from flowers of *Hibiscus manihot* in aging mice [J]. Anhui Agr Sci Bull (安徽农学通报) 2020 26(19): 25-28.
- 27 Fan HT, Wei WB, Wang Y et al. Growth situation of *Hibiscus manihot* L. in Zhangjiakou area [J]. Heilongjiang Agr Sci (黑龙江农业科学) 2020(3): 74-77.
- 28 Rubiang-Yalambing L, Arcot J, Greenfield H et al. Aibika (*Abelmoschus manihot* L.): Genetic variation, morphology and relationships to micronutrient composition [J]. Food Chemistry 2016 193: 62-68.
- 29 Liu L. Determination of trace element of *Abelmoschus manihot* by means of atom absorption spectra [J]. Stud Trace Elements Health (微量元素与健康研究) 2008 25(4): 27-29.