

雌马酚抗菌作用的研究现状及前景展望

孙 奥^{1,2}, 唐 锐^{1,2}, 李文莹^{1,2}, 信彩岩², 王 芬¹

¹西南医科大学附属中医医院检验科, 四川 泸州

²西南医科大学基础医学院, 四川 泸州

收稿日期: 2022年9月16日; 录用日期: 2022年11月24日; 发布日期: 2022年12月5日

摘 要

雌马酚是由大豆异黄酮在肠道微生物菌群作用下合成的一类雌激素类似物。其对雌激素受体的亲和力高, 且具有比大豆异黄酮更高的生物学活性, 是目前研究较为广泛的小分子物质之一。雌马酚具有激素样作用、抗氧化、免疫调节等多种生物学作用。本文主要对雌马酚的生物学活性及抗菌作用研究方面进行综述, 旨在为雌马酚在抗菌治疗方面提供新的思路。

关键词

雌马酚, 生物学活性, 真菌, 细菌, 抗菌作用

Research Status and Prospect of the Antibacterial Effect of Equol

Ao Sun^{1,2}, Rui Tang^{1,2}, Wenxuan Li^{1,2}, Caiyan Xin², Fen Wang¹

¹The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou Sichuan

²School of Basic Medical Science, Southwest Medical University, Luzhou Sichuan

Received: Sep. 16th, 2022; accepted: Nov. 24th, 2022; published: Dec. 5th, 2022

Abstract

Equol, is a kind of phytoestrogenic compound, which synthesized by soybean isoflavones by intestinal microbiota. It has high affinity for estrogen receptor and higher biological activity than soybean isoflavones, so it is one of the widely studied small molecule substances. Equol has many biological effects, such as hormone like effect, antioxidation, immune regulation, etc. In this paper, the biological activity and antibacterial effect of equol were reviewed, in order to provide new ideas for the antibacterial treatment of equol.

Keywords

Equol, Biological Activity, Fungi, Bacteria, Antibacterial Effect

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

大豆异黄酮是黄酮类化合物，是大豆生长中形成的一类次级代谢产物，具有生物活性，因其可以预防骨质疏松症、心血管疾病、乳腺癌、前列腺癌及更年期综合征等多种人类健康疾病，得到了国内外学者的广泛关注[1]。雌马酚(equol, Eq)作为大豆异黄酮生物转化的代谢产物之一，Marrian 和 Haslewood 于 1932 年在妊娠雌马的尿液中分离发现的一种二羟基苯酚混合物，研究发现雌马酚具有比大豆异黄酮更高的生物学活性[2]。本文对雌马酚生物学活性及其在抗菌作用方面的研究进展作如下综述。

2. 雌马酚的生物学活性

2.1. 雌激素样作用

雌马酚是大豆异黄酮在肠道微生物菌群作用下的代谢产物之一，Sathyamoorthy 等人通过 pS2 mRNA 表达实验观察到雌马酚具有雌激素样活性，是大豆昔元的 100 倍，因此，雌马酚最早被人们关注的是其雌激素样作用[3]。雌马酚有 S 型和 R 型两种异构体形式，其中 S 型在人体中具有生物学活性。S 型雌马酚与雌激素受体(Estrogen Receptor- β Polypeptide, ER- β)高效结合，由于其结构与 17- β -雌二醇相似，它与雌激素受体 α 和 β 的结合比其前体大豆昔元亲和力更强，程度与染料木素相当。当机体内雌激素缺乏时，其可成为雌激素促效剂；而当机体内雌激素过多时，雌马酚与 ER 竞争性结合，减少雌激素与 ER 结合的机会，从而减轻雌激素的促细胞增殖作用，降低与雌激素有关(如乳腺癌，前列腺癌，骨质疏松症，动脉粥样硬化)疾病的危险[4] [5]。由于 ER 在不同组织中的分布不均匀，根据 ER α 和 ER β 亚型的比例不同，雌马酚可能有不同的作用。它的作用是激动剂还是拮抗剂，可能进一步取决于存在的内源性雌激素水平。

雌马酚也是一种选择性雄激素调节剂，能够特异性地结合 5 α -双氢睾酮(5 α -DHT)，并强烈抑制其在皮肤老化中的负作用[6]。Hirvonen 等研究发现，雌马酚具有与雌激素相关受体(ER γ)结合的能力，这对人类皮肤的抗衰老具有重要意义。此外，当雌马酚与 ER γ 结合时，可以减少炎症，并对前列腺癌和乳腺癌细胞具有抗增殖作用[7]。

关于雌马酚类激素样作用的研究广泛，尤其是在对女性更年期后的疾病预防等方面，且可在一定程度上改善慢性疾病，骨质疏松等的患病风险[5] [8]。雌马酚还具有抗动脉粥样硬化和改善动脉硬化的作用，并可能预防冠心病和认知障碍/痴呆。更为突出的是有降低女性患乳腺癌及男性前列腺癌风险。其中雌马酚的抗癌作用可被归因于多种信号通路的共同参与，包括调节细胞周期、降低细胞周期蛋白 B/CDK 复合体的活性、通过降低拓扑异构酶 II 的活性抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡，以及 S 期蛋白相关蛋白 2(PKAP2)降解雌激素受体[9] [10]。

2.2. 抗氧化

雌马酚引起研究人员们的关注的另一个焦点，是因为它具有强大的抗氧化活性，以及独特的分子特

性。许多多酚类化合物具有抗氧化性，其中包括异黄酮类。与其他多酚化合物比较研究发现，雌马酚是一种优越的抗氧化剂，在几项体外试验中表明它比维生素 C 或维生素 E 具有更强的抗氧化能力[11]。Rufer 和 Kulling 等研究发现，当使用六种不同抗氧化剂进行体外试验时，染料木素、大豆苷元以及雌马酚显示出较高的抗氧化活性，并且其比阳性对照槲皮素和抗坏血酸效果更佳[12]。另外 Chung 等证明，雌马酚在牛主动脉内皮细胞中具有显著的抗氧化作用，雌马酚可以保护细胞免受过氧化氢诱导的细胞死亡[13]。此外，雌马酚还可以通过氧化应激保护猪和人的肺动脉内皮细胞免受细胞凋亡和血管损伤[14]。

雌马酚的抗氧化作用，是其类激素样作用外的另一重要功能。研究发现，其抗氧化活性主要是通过与 ER β 的相互作用来调节的，后者诱导细胞外信号调节蛋白激酶 ERK1/2 和核因子- κ B 肽，这些因子控制转录、细胞因子的产生和细胞存活。雌马酚本身不是抗氧化剂，而是通过触发细胞信号通路，导致细胞酶如：超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶的表达发生变化，引起氧化应激[15]。通过各种生化/分子作用和机制减少氧化应激级联事件，达到抗氧化和增强细胞外基质，减少皮肤衰老。

3. 雌马酚的抗菌作用

尽管雌马酚的上述生物学活性备受关注，然而，关于雌马酚的抗菌活性研究甚少。已有的研究发现，雌马酚在抗菌方面也有较为广阔的发展运用前景，对多种常见的细菌及真菌均有较为明显抑制作用。

3.1. 雌马酚对细菌的抑制作用

艰难梭菌(*Clostridium difficile*)为革兰阳性厌氧细菌，是人类肠道的正常菌群，能形成芽胞、产生毒素。由于抗生素的不规范使用时，可导致肠道菌群失调，耐药艰难梭菌大量生长繁殖，引起抗生素相关性腹泻和伪膜性肠炎等疾病。Tanaka 等研究发现，雌马酚以浓度依赖的方式抑制艰难梭菌的生长和孢子的形成，但是不能抑制其毒素的产生。Tanaka 等进一步探究了雌马酚对其他细菌的影响，结果发现雌马酚对某些细菌具有很强的抑制作用，但是不具有杀菌作用[16]。

近年来，碳青霉烯类抗生素的广泛使用导致耐碳青霉烯类大肠杆菌(carbapenem-resistant *Escherichia coli*)的出现且不断传播，已成为严重的全球性公共卫生问题[17]。研究表明，与单独使用抗生素相比，两种或两种以上抗生素联合使用的协同效应能扩大抗菌谱、并防止多重耐药细菌的出现[18]。其中，最近的一项研究发现，抗生素和天然酚类化合物联合使用对大肠杆菌显示出协同作用[19]。因此，迫切需要能够替代或协同现有抗生素的新的有效化合物来治疗碳青霉烯类耐药大肠杆菌。Kim 等研究发现，雌马酚联合美罗培南对耐碳青霉烯类大肠杆菌具有协同作用，且时间杀伤曲线结果显示雌马酚恢复了耐碳青霉烯类大肠杆菌对美罗培南的敏感性。此外，qRT-PCR 结果发现雌马酚抑制了耐碳青霉烯类大肠杆菌中 blaKPC 和 blaOXA-48 基因的转录水平。该研究还发现雌马酚抑制了耐碳青霉烯类大肠杆菌生物膜的形成及其运动能力[20]。在上述研究中，雌马酚显示出作为抗生素佐剂和抗毒力制剂的潜力。

鲍曼不动杆菌属于条件致病菌，广泛存在于自然界中，是医院感染的重要病原菌。常用抗生素的耐药率呈现逐年增加的趋势，最引人注目的是碳青霉烯类抗生素的高耐药率，而这是全世界关注的一个主要问题。本课题组对临床获得的耐药鲍曼不动杆菌研究发现，当雌马酚与多粘菌素联合使用时，对多株耐碳青霉烯类药鲍曼不动杆菌菌株显示出很强的协同效应，且抑制其生物膜的形成。

3.2. 雌马酚对真菌的抑制作用

白色念珠菌(*Candida albicans*)是一种人体内常见的条件致病性真菌，可以在免疫缺陷或机体受损(如艾滋病患者、接受免疫抑制治疗的器官移植患者，以及感染 COVID-19 的患者)中引起感染，导致念珠菌病的发生[21] [22]。近年来，随着艾滋病的流行、化疗和器官移植的增加，白色念珠菌引发的深部真菌感

染越来越多,且死亡率高达35%~50% [23]。由于白色念珠菌感染的复杂性、多重耐药性以及抗真菌药物种类有限,因此,寻找新的抗真菌药物尤为重要。Jeong 等研究证明雌马酚对白色念珠菌有杀菌活性,雌马酚对其最低抑菌浓度和最低杀菌浓度分别为516 μM 和1032 μM ,进一步通过荧光显微镜及扫描电镜观察发现雌马酚可能通过改变白色念珠菌细胞膜的完整性来实现其抑菌和杀菌作用[24]。雌马酚是大豆异黄酮在肠道微生物菌群作用下的代谢产物之一,而白色念珠菌是其中的正常菌群,Jeong 等研究结果可能为雌马酚对胃肠道内白色念珠菌生长的影响提供一些新的方向。

随着真菌耐药性的增强以及某些抗真菌药物的副作用,当务之急是寻找新型抗真菌药物。大多数现有的抗菌药物都有抑菌活性,因此,发现具有杀菌活性的新型抗真菌药物对未来真菌治疗方法具有重要意义。本课题组前期研究发现,雌马酚对热带念珠菌、新生隐球菌的生长及菌丝的发育均具有抑制作用。关于雌马酚的抗菌作用机制,还需我们进一步的研究。雌马酚可能作为一种潜在的有效抗菌药物,有望用于制药领域,然而,在其可以用于制药领域之前,还需要进行相应的体内研究实验,探究其在体内的抑菌效果。此外,利用其他分子生物学手段及基因敲除技术等来探究雌马酚可能的作用靶点。

4. 总结及展望

综上所述,雌马酚具有广泛而复杂的生物学活性,已经在癌症、抗糖尿病、心脏保护和抗衰老等方面取得了令人瞩目的进展。雌马酚作为一种选择性雌激素受体调节剂,具有显著的抗氧化潜力,作为一种营养补充剂,成为更年期症状(如潮热)激素治疗的替代品,已在实际运用中卓有成效。此外,S-雌马酚用于治疗更年期症状和良性前列腺增生的研发工作也取得了较好进展。

然而,对于雌马酚的抗菌作用虽已有部分研究报道,但对于其抗菌谱的探索仍很局限。本实验室在前期的实验中已完成了雌马酚对于常见的肠道细菌(大肠杆菌、粪肠球菌、沙门氏菌等)以及常见真菌(白色念珠菌、新生隐球菌等)抑菌作用验证。已有的研究证实了雌马酚具有抗菌的潜质,但是其抑菌机制尚不明确。这就需要研究者们利用菌株基因敲除等现代微生物学、转录组学分析技术来探究雌马酚的抑菌机制,作用靶点以及调控通路等的深入挖掘,为耐药细菌及真菌新药物的开发带来曙光。

基金项目

2021年西南医科大学校级课题(2021ZKQN123);西南医科大学2022年大学生创新创业训练计划项目(2022156)。

参考文献

- [1] Shor, D., Sathyapalan, T., Atkin, S.L. and Thatcher, N.J. (2012) Does Equol Production Determine Soy Endocrine Effects? *European Journal of Nutrition*, **51**, 389-398. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0331-7>
- [2] Marrian, G.F. and Haslewood, G.A. (1932) Equol, a New Inactive Phenol Isolated from the Ketohydroxyoestrin Fraction of Mares' Urine. *Biochemical Journal*, **26**, 1227-1232. <https://doi.org/10.1042/bj0261227>
- [3] Sathyamoorthy, N. and Wang, T.T. (1997) Differential Effects of Dietary Phyto-Oestrogens Daidzein and Equol on Human Breast Cancer MCF-7 Cells. *European Journal of Cancer*, **33**, 2384-2389. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(97\)00303-1](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(97)00303-1)
- [4] 李燕, 蒋守群, 陈伟. 雌马酚的产生、生物学功能及潜在应用[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(11): 3236-3244.
- [5] Fatima, A., Khan, M.S. and Ahmad, M.W. (2020) Therapeutic Potential of Equol: A Comprehensive Review. *Current Pharmaceutical Design*, **26**, 5837-5843. <https://doi.org/10.2174/1381612826999201117122915>
- [6] Gopaul, R., Knaggs, H.E. and Lephart, E.D. (2012) Biochemical Investigation and Gene Analysis of Equol: A Plant and Soy-Derived Isoflavonoid with Antiaging and Antioxidant Properties with Potential Human Skin Applications. *Biofactors*, **38**, 44-52. <https://doi.org/10.1002/biof.191>
- [7] Hirvonen, J., Rajalin, A.M., Wohlfahrt, G., Adlercreutz, H., Wähälä, K. and Aarnisalo, P. (2011) Transcriptional Activity of Estrogen-Related Receptor γ (ERR γ) Is Stimulated by the Phytoestrogen Equol. *The Journal of Steroid Bio-*

- chemistry and Molecular Biology*, **123**, 46-57. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.11.001>
- [8] Sekikawa, A., Ihara, M., Lopez, O., *et al.* (2019) Effect of S-Equol and Soy Isoflavones on Heart and Brain. *Current Cardiology Reviews*, **15**, 114-135. <https://doi.org/10.2174/1573403X15666181205104717>
- [9] Alfa, H.H. and Arroo, R.R.J. (2019) Over 3 Decades of Research on Dietary Flavonoid Antioxidants and Cancer Prevention: What Have We Achieved? *Phytochemistry Reviews*, **18**, 989-1004. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09632-0>
- [10] Fang, K., Dong, H., Wang, D., Gong, J., Huang, W. and Lu, F. (2016) Soy Isoflavones and Glucose Metabolism Inmenopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Molecular Nutrition & Food Research*, **60**, 1602-1614. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201501024>
- [11] Arora, A., Nair, M.G. and Strasburg, G.M. (1998) Antioxidant Activities of Isoflavones and Their Biological Metabolites in a Liposomal System. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **356**, 133-141. <https://doi.org/10.1006/abbi.1998.0783>
- [12] Rüfer, C.E. and Kulling, S.E. (2006) Antioxidant Activity of Isoflavones and Their Major Metabolites Using Different *In Vitro* Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 2926-2931. <https://doi.org/10.1021/jf053112o>
- [13] Chung, J.E., Kim, S.Y., Jo, H.H., *et al.* (2008) Antioxidant Effects of Equol on Bovine Aortic Endothelial Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **375**, 420-424. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.08.027>
- [14] Cheng, C., Wang, X., Weakley, S.M., *et al.* (2010) The Soybean Isoflavonoid Equol Blocks Ritonavir-Induced Endothelial Dysfunction in Porcine Pulmonary Arteries and Human Pulmonary Artery Endothelial Cells. *The Journal of Nutrition*, **140**, 12-17. <https://doi.org/10.3945/jn.109.110981>
- [15] Mayo, B., Vázquez, L. and Flórez, A.B. (2019) Equol: A Bacterial Metabolite from the Daidzein Isoflavone and Its Presumed Beneficial Health Effects. *Nutrients*, **11**, Article No. 2231. <https://doi.org/10.3390/nu11092231>
- [16] Tanaka, Y., Kimura, S., Ishii, Y. and Tateda, K. (2019) Equol Inhibits Growth and Spore Formation of *Clostridioides difficile*. *Journal of Applied Microbiology*, **127**, 932-940. <https://doi.org/10.1111/jam.14353>
- [17] Suay-García, B. and Pérez-Gracia, M.T. (2019) Present and Future of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections. *Antibiotics (Basel)*, **8**, Article No. 122. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030122>
- [18] Sanhueza, L., Melo, R., Montero, R., Maisey, K., Mendoza, L. and Wilkens, M. (2017) Synergistic Interactions between Phenolic Compounds Identified in Grape Pomace Extract with Antibiotics of Different Classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *PLOS ONE*, **12**, e0172273. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172273>
- [19] Hossain, M.A., Park, H.C., Park, S.W., *et al.* (2020) Synergism of the Combination of Traditional Antibiotics and Novel Phenolic Compounds against *Escherichia coli*. *Pathogens*, **9**, Article No. 811. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100811>
- [20] Kim, H.R. and Eom, Y.B. (2021) Synergistic Activity of Equol and Meropenem against Carbapenem-Resistant *Escherichia coli*. *Antibiotics (Basel)*, **10**, Article No. 161. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020161>
- [21] Al-Hatmi, A.M.S., Mohsin, J., Al-Huraizi, A. and Khamis, F. (2021) COVID-19 Associated Invasive Candidiasis. *Journal of Infection*, **82**, e45-e46. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.08.005>
- [22] Govender, N.P., Todd, J., Nel, J., *et al.* (2021) HIV Infection as Risk Factor for Death among Hospitalized Persons with Candidemia, South Africa, 2012-2017. *Emerging Infectious Diseases*, **27**, 1607-1615. <https://doi.org/10.3201/eid2706.210128>
- [23] San-Juan, R., Aguado, J.M., Lumbreras, C., *et al.* (2011) Universal Prophylaxis with Fluconazole for the Prevention of Early Invasive Fungal Infection in Low-Risk Liver Transplant Recipients. *Transplantation*, **92**, 346-350. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182247bb4>
- [24] Lee, J.A. and Chee, H.Y. (2010) *In Vitro* Antifungal Activity of Equol against *Candida albicans*. *Mycobiology*, **38**, 328-330. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.4.328>