

橄榄苦苷提取工艺及生物活性研究进展

Research progress in extraction technology and biological activity of oleuropein

郭卫平 鲁 绪 褚泽军 罗登林 向进乐 徐云凤

GUO Weiping LU Xu CHU Zejun LUO Denglin XIANG Jinle XU Yunfeng

(河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023)

(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology,
Luoyang, Henan 471023, China)

摘要:文章对近年来橄榄苦苷的生物合成途径、安全性、提取工艺、生物活性等国内外最新研究进展进行了综述,分析了橄榄行业存在的问题,并对其未来发展方向进行了展望。

关键词:橄榄苦苷;生物活性;提取工艺;安全性

Abstract: The review summarized the latest domestical and international research progress in the biosynthesis pathway, safety, extraction process, and biological activity of oleuropein in recent years. The problems in the olive industry was analyzed and its future development direction was prospected.

Keywords: oleuropein; biological activity; extraction process; safety

油橄榄(*Olea europaea* L.)属木犀科植物,其果实是一种经济型水果,极具经济和营养价值,主要产区为地中海,约占全球橄榄产量的 98%,全球每年所产橄榄中约 85%~90%用于榨油,其余作为橄榄制品以供食用^[1-2]。目前,中国油橄榄树栽培面积已达 15 000 hm²,年产鲜果 6 000 t,主要分布于福建、四川、云南等地^[3-4],但油橄榄树与中国本土橄榄并非同一物种且研究所指橄榄皆为油橄榄。一项追踪调查^[5-6]结果显示,以橄榄为基础的地中海式饮食习惯能显著降低呼吸系统疾病、肿瘤等的发病率,这些功效与橄榄产品中酚酸类物质橄榄苦苷(oleuropein, OLE)密切相关。

OLE 是一种无毒,由羟基酪醇、葡萄糖分子、橄榄香酸构成的苯酚类裂环烯醚萜苷类化合物,是橄榄中最主要的生物活性物质,易被人体吸收,在酸碱条件下可水解为羟基酪醇^[7]。现代科学研究已证实,OLE 及其苷元(OA)具有多种生物学活性,如抗氧化^[8]、抗肿瘤^[9]、抑菌^[10]、抗病毒^[11]、养护心脑血管^[12]、抗精神疾病^[13]等。

橄榄资源丰富但利用率不高,是当今该行业的痛点。橄榄叶及橄榄工业生产中的残留物被认为是橄榄的副产品,其贮藏及销毁,包括橄榄叶的修剪都给行业带来了诸多额外成本,若对其进行合理的开发利用,将产生巨大的环境及经济效益。为进一步开发橄榄资源,研究拟对近年来橄榄苦苷的提取工艺、生物活性等方面进行综述,并对未来橄榄行业的发展进行展望,旨在为橄榄资源在食品、医疗领域的进一步开发应用提供依据。

1 橄榄苦苷概述

1.1 橄榄苦苷的生物合成途径

橄榄果实中酚类物质的含量在其发育和成熟过程中呈下降趋势,且某些化合物具有品种专一性。OLE 属于二环烯醚化合物家族,此类物质主要负责橄榄产品的生物学活性,提升橄榄油的品质及改善其氧化稳定性。

在植物体内,OLE 可分别由香叶基二磷酸及 *L*-环己烷为前体物质衍生而来,香叶醇合成酶将香叶基二磷酸催化为香叶醇,再经一系列反应催化后生成脱氧有机酸,脱氧有机酸在各种酶的作用下经过复杂的酯化及羟基化反应生成 OLE。以 *L*-环己烷为前体物质时,芳香酸脱氢酶催化其生成酪氨酸,酪氨酸再由酪氨酸多巴脱羧酶、铜氨氧化酶及酒精脱氢酶共同催化为酪胺,酪胺可继续反应生成 OA,OA 与 OLE 可在葡萄糖苷酶及葡萄糖基转移酶的作用下相互转化^[14]。

基金项目:河南科技大学博士科研启动基金项目(编号:13480067);河南科技大学大学生研究训练计划(编号:2022214)

作者简介:郭卫平,男,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:徐云凤(1989—),女,河南科技大学讲师,博士。

E-mail: xuyunfeng1573@126.com

收稿日期:2022-12-21 **改回日期:**2023-06-15

1.2 橄榄苦苷的稳定性

OLE 在碱性条件下极易水解,而对酸有较高的耐受性,其在 pH 为 10 时开始解离,当环境中 pH 达到 14 时降解完全,在酸碱环境中分解产物为羟基酪醇和橄榄香酸;OLE 干粉高温分解的极限温度为 232.3 °C,在 232.3 ~ 550.0 °C 范围内可完全降解;其水溶液在 95 °C 煎煮会发生一系列分解、转化,转化产物皆为已知化合物;光照试验中未发现 OLE 有降解现象,但若持续加大光照强度,其中含有的酯键和醚键可能断裂^[15-16]。此外,橄榄提取物中存在的 β -葡萄糖苷酶会催化 OLE 降解,因此在进行提取分离时,应先进行灭酶处理^[17]。

1.3 橄榄苦苷提取物的安全性

Bonolive™ 是一种来源于橄榄叶的专利水溶性提取物,其酚含量约为 40%,主要酚类为 OLE,而其他组分占比较低。以 Bonolive™ 进行遗传毒性和重复给药毒性研究,在细菌回复突变试验和哺乳动物染色体畸变试验中未见致突变性;在小鼠体内致微核试验中,以每天 2 000 mg/kg 的剂量饲养小鼠,未观察到遗传毒性;在 90 d 重复剂量经口毒性研究中,所测试的最高剂量为 1 000 mg/(kg · d · BW),但仍未观察到受试雄性及雌性大鼠的任何不良反应,在所有参与者(连续 12 个月,每日口服 250 mg Bonolive™)中也未见相关不良反应发生^[18]。此外,在人体试验中,口服含有 19.9% 的 OLE 的橄榄叶乙醇提取物,剂量为每天两次,每次 500 mg,连续 8 周末引起任何相关血液、电解质、生化指标的变化^[19]。

然而,在对另一类橄榄叶提取物进行毒理学分析时,以高剂量(占总饮食 0.50% 和 0.75%)连续饲喂小鼠 14 周后,受试小鼠出现明显的胆汁淤积及肝脏损伤,甚至偶有肝纤维化发生,与对照组相比,试验组小鼠肝脏能量代谢受到抑制,呼吸控制率下降^[20]。

1.4 橄榄苦苷的吸收与代谢

OLE 是一种大分子亲水性化合物,较难通过小肠上皮细胞的磷脂双分子层,因其含有一个共轭葡萄糖部分,其吸收可能由葡萄糖转运蛋白所介导,即经 SGLT1 转运蛋白进入上皮细胞,再通过位于细胞基底外侧的 Glut2 转运蛋白进入血液循环。此外,分子模拟结果显示,尽管 OLE 的最小球形半径大于回肠中细胞旁连接半径,考虑到 OLE 的最小体积为立方体而非球形,因此其经肠道吸收时细胞旁路也有可能发挥了一定作用^[21]。

OLE 的体内代谢途径见图 1,在胃酸或酶的作用下,其中含有的 β -糖苷键断裂,释放出苷元及葡萄糖部分,橄榄苦苷苷元不稳定,会再次裂解为羟基酪醇,这些代谢产物进入血液循环代谢后,经尿液排出体外;经灌胃给药后,大鼠体内的 OLE 的代谢符合非线性药代动力学过程,OLE 的生物利用度较低,大部分以橄榄苦苷原型经尿液排出^[22-23]。

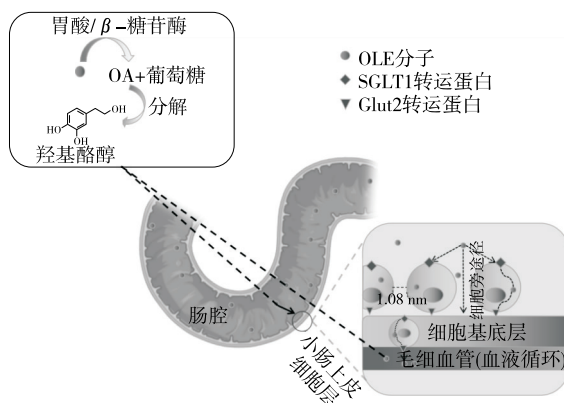


图 1 OLE 吸收及生物转化概况

Figure 1 Overview of OLE absorption and biotransformation

2 橄榄苦苷的提取工艺

2.1 溶剂萃取法

溶剂萃取法多利用相似相溶的原理,该法操作简单,成本低廉,能保证萃取物的稳定性,但有机溶剂需求量大,可能对环境造成污染。目前提取橄榄多酚常用的萃取方法有微波、超声波辅助萃取法、加压液体萃取法等,以溶剂萃取法提取活性物质时,效率会受到溶剂类型、温度、pH、萃取步骤、溶剂体积和萃取物粒径等因素的影响。

微波辅助提取技术是利用植物细胞在微波场中不断吸收能量,细胞内部热应力升高而破裂,从而加速活性物质的流出。该法污染小,所需设备简单,被誉为绿色提取工艺。王化等^[24]和王晓杰等^[25]分别以暴马丁香和油橄榄叶为对象,使用微波辅助联用溶剂萃取的方法提取 OLE,最终得率分别为 5.28%,8.06%;超声波提取是在其特殊作用下,使细胞在溶媒中瞬时产生空化泡而裂解,溶媒随之渗入细胞内部使目标成分溶于其中,且在超声作用下,提高了活性成分的溶解度,该法能耗小、工艺简单安全。Contreras 等^[26]使用超声波辅助提取法从橄榄枝叶中提取橄榄多酚,含量可达 25.78 mg/g。

加压溶剂萃取法具有高选择性、低溶剂损耗、在提取过程中能保持橄榄多酚稳定性等优点,而被视为传统萃取方法的较优替代。该方法选用无害溶剂乙醇为萃取剂,在恒压和可变参数下进行全自动提取,以充分保证萃取剂的稳态并提高效率。Martin-Garcia 等^[27]采用响应面法设计优化了橄榄叶中提取多酚的最优条件,并用高效液-质联用技术对提取物进行分析,得出以 138 °C、100% 乙醇、提取时间 5 min 时酚类得率最高,可达 42.2%。该方法成本低、耗时短,适合应用于大规模工业生产。

有证据^[28]表明,冷冻干燥后的橄榄中酚含量远高于鲜果,这是由于冻干可以最大限度地减少任何不利于酚

类化合物稳定的酶促反应。因此,冷溶剂萃取法在橄榄多酚的提取中具有一定的优势。将粉碎后的橄榄叶在液氮中冷冻,并以-80℃保存5个月,冻干后冷溶剂萃取,可使酚类损失低于20%。

2.2 大孔树脂吸附法

大孔树脂吸附法主要依靠静电、疏水作用、氢键等对活性物质进行吸附,该法成本低廉,大孔树脂选择性好,易再生,吸附量大,生产效率高^[29]。然而,因为大孔树脂中存在的疏水骨架及内腔结构,在吸附芳香族化合物时存在选择性差、机械强度低等问题,因此,为解决此类问题,实际操作中常会对大孔树脂进行改性处理^[30]。

将D-101型大孔树脂联用有机溶剂萃取,从橄榄提取物中分离纯化OLE,经响应面试验分析,得出最优提取条件为大孔树脂100g,上液质量浓度0.25g/mL,吸附时间3.9h,有机溶剂选用4.2BV的30%乙醇,洗脱速度为1.9BV/h,最后经乙酸乙酯萃取,此工艺条件可使OLE的萃取率达到63.43%^[31]。

考虑到OLE是一种具有邻苯二酚结构的化合物,将大孔树脂进行硼酸修饰后,可通过化学结合的方式吸附于大孔树脂,硼酸亲和树脂对OLE的吸附符合动力学一级速率方程;而解吸和分离活性物质时,通常会优先考虑能与活性分子形成氢键的洗脱剂,以正己烷、乙酸乙酯、甲醇、水建立四联OLE洗脱体系,能够得到高纯度的目标活性物质,该吸附与洗脱条件能使OLE的提取纯度达到(68.30±2.08)%,对分离纯化邻苯二酚类化合物具有指导意义^[32]。

3 橄榄苦苷的生物活性

3.1 抗氧化作用

机体内进行的各种生化反应都会产生自由基,其在某些生理环节中发挥着重要作用,如机体免疫、细胞增殖、前列腺素合成等,但过量的自由基会攻击细胞、组织、器官,从中掠夺电子,几乎所有疾病的进程都有自由基的参与,其清除作用及活性见表1。

已有大量证据表明,植物多酚具有极强的抗氧化活性,能够调节体内自由基动态平衡,预防衰老和疾病的发生。OLE在应对DPPH自由基及OH自由基氧化时,效果甚至优于抗坏血酸^[22],在对核桃油抗氧化稳定性研究过程中,由橄榄多酚复配而成的抗氧化剂仍能发挥理想的效果,其抗氧化能力甚至与目前公认的最理想的油脂抗氧化剂TBHQ相当^[33]。

超氧化物歧化酶能够有效抵御体内超氧自由基,是一种重要的人体细胞保护酶,谷胱甘肽过氧化物酶能够加速体内过氧化物的分解(如H₂O₂),防止细胞结构及功能受到氧化损伤,这两种酶是机体抗过氧化的重要指标。PC12细胞经H₂O₂诱导产生氧化损伤后,超氧化物歧化

表1 OLE的作用对象及清除率/活性

Table 1 Target and clearance/activity of OLE

作用对象	提取方法/ 药物浓度	清除率/ 活性/%	参考 文献
DPPH 自由基	58.1 μg/mL	50.00	[22]
	微波辅助提取	73.52±1.06	[25]
	热浸法提取	55.99±0.37	[25]
	200 mg/kg	72.50±0.38	[33]
	50 μmol/L	55.00	[34]
ABTS ⁺ 自由基	微波辅助提取	52.41±0.58	[25]
	热浸提取	50.85±0.76	[25]
OH 自由基	45.7 μg/mL	50.00	[22]
	200 mg/kg	76.00±0.62	[33]
Fe ³⁺ 还原	0.08 mg/mL	52.90±1.58	[35]
亚硝酸盐清除	500 μmol/L	72.70	[34]
类超氧化物歧化酶活性	500 μmol/L	89.80	[34]

酶和谷胱甘肽过氧化物酶的酶活性显著降低,而OLE可对其产生拮抗作用^[36]。

3.2 抗肿瘤作用

以橄榄为主的地中海式饮食习惯能显著降低一些肿瘤的发生率,如胰腺癌、肝癌、前列腺癌、结直肠癌、胃癌等,OLE作为橄榄提取物中的主要活性物质,可通过诱导肿瘤细胞凋亡、干扰侵袭、抑制增殖、阻滞细胞周期等方式实现其抗癌活性^[37-41]。

OLE成本低廉,无毒性,在肿瘤治疗中可与化疗药物联用,其具体抑制机制见表2。在作用于MCF7与MDA-MB-231乳腺癌细胞系时,以剂量和时间依赖性抑制肿瘤细胞的生长,增加其凋亡率,具体机制为OLE使*miR-125b*、*miR-16*、*miR-34a*及外源凋亡调控基因*TNFRSF10B*的表达增加,并降低*Bcl-2*、*mcl1*等细胞中潜在靶基因的表达,进而诱导肿瘤细胞凋亡^[42]。纤维酶原激活抑制物-1(PAI-1)是一种溶血酶抑制物,该因子的高表达除了加剧血栓的形成,还与一些肿瘤的低生存率密切相关,PAI-1通过促进新生血管形成,癌细胞转移,抑制凋亡等机制发挥其促癌作用,抑制PAI-1的表达,是治疗乳腺肿瘤的又一突破点^[43-45]。通过电子分子对接分析,确定OLE是PAI-1的一种强效对接分子,在由MCF7与MDA-MB-231乳腺癌细胞系所构建的ER-/PR-型乳腺癌模型中,OLE选择性破坏PAI-1分子并激活其凋亡通路caspase,值得注意的是,抑制PAI-1表达的治疗方案,在应对ER+/PR+型乳腺癌时效果并不理想^[45]。

肿瘤相关死亡的主要原因是癌细胞转移,原发肿瘤细胞透过基膜,经血液或淋巴管迁移到其他组织器官,进而形成继发性肿瘤。有研究^[46]证实,某些离子通道在肿瘤的转移中发挥着至关重要的作用,如电压门控钠离子

表 2 OLE 对不同类型肿瘤的抑制机制

Table 2 Inhibitory mechanism of OLE on different types of tumors

肿瘤类型	细胞系	作用机制	文献
白血病	Jurkat	调节 Bcl-2、Bax、p53 的活性	[37]
结肠癌	Caco-2	阻滞细胞周期于 G2/M,抑制 p38 及 CREB 的磷酸化	[38]
胃癌	SGC-7901	降低 STAT3 的磷酸化,上调 caspase、Bax 等促凋亡因子活性,下调 CDK2、Bcl-2 等活性	[39]
卵巢癌	SKOV3	上调 Bax,下调 Bcl-2 的表达	[40]
肝癌	HepG2	激活 caspase 途径,抑制 AKT 过表达,调节 Bcl 2 家族基因	[41]
乳腺癌	MCF7、MDA-MB-231	增加 <i>miR-125b</i> 、 <i>miR-16</i> 、 <i>miR-34a</i> 及外源凋亡调控基因 <i>TNFRS10B</i> 的表达,抑制 <i>Bcl-2</i> 、 <i>mcl1</i> 等靶基因	[42]
乳腺癌(ER-/PR-)	MCF7、MDA-MB-231	降低 PAI-1 分子活性并激活其凋亡通路 caspase	[45]
前列腺癌	MAT-LyLu	下调 VGSC 编码 mRNA SCN9A 的表达	[47]
胶质瘤	U251、A172	降低 AKT 的磷酸化,上调 Bax,下调 Bcl-2 的表达,抑制 MMP-2、MMP-9 的表达	[50]

通道(VGSC)广泛参与前列腺癌细胞的扩散与侵袭。OLE作用于大鼠前列腺癌 MAT-LyLu 细胞系后,能破坏其细胞形态,抑制细胞横向运动,下调 VGSC 活性,且其编码 mRNA SCN9A 的表达亦受到影响,证实了 OLE 在前列腺肿瘤治疗上的潜力^[47]。Bcl-2 家族密切参与胶质瘤的凋亡过程,此外,胶质瘤的扩散主要通过蛋白质和细胞外基质实现,细胞外基质与表面黏附因子是侵袭的分子学基础,基质金属蛋白酶(MMP),特别是 MMP-2 和 MMP-9,可降解多种胞外基质,破坏胶质瘤的组织屏障,在胶质瘤的组织间转移中发挥着关键作用^[48-49]。OLE 能诱导人恶性胶质瘤细胞系 U251 及 A172 凋亡,并阻遏其侵袭与转移,其具体机制为对 Bcl-2 家族进行调控,且下调 MMP-2 及 MMP-9 的表达,此外,P13K 抑制剂能增加 OLE 的抗肿瘤作用,提示 OLE 或通过抑制 AKT 活性而削弱胶质瘤的转移与侵袭^[50]。

3.3 延缓衰老作用

酪氨酸酶(TYR)在自然界生命体中广泛存在,是调控黑色素合成的关键限速酶,TYR 的过度表达会加速黑色素的生成,加剧机体衰老^[51]。目前常用的 TYR 抑制剂多为曲酸、氢醌等化学制剂,效果显著却极易引起皮肤炎症,甚至皮肤癌的发生,进而人们将目光转向了天然来源。有研究^[52-53]表明,酚类、黄酮类、有机酸类、香豆素类等植物源活性物质或能对 TYR 产生良好的抑制效果。OLE 对 B16 细胞内 TYR 有明显的抑制作用,且这种抑制呈剂量依赖性,酶促动力学研究表明,OLE 对 TYR 的抑制类型为可逆的非竞争性抑制,其不干扰 TYR 与底物 L-多巴的结合,而是在结合部位以外的必需基团与之作用,限制 TYR 与底物的反应^[54]。此外,OLE 作为一种抗氧化剂,还能通过清除过氧化自由基,促进机体代谢,使已有色素沉着消散,进而发挥其美白功效。

注射 D-半乳糖是建立亚急性衰老模型的常规方法,其机制为 D-半乳糖进入机体后被代谢为不能分解的半乳糖醇,半乳糖醇持续在细胞内蓄积,引发由细胞到组织的代谢紊乱,这与自然衰老过程相类似;此外,过量的 D-半乳糖还会被半乳糖氧化酶分解为大量的超氧阴离子自由基,机体的过度氧化会损伤核酸、蛋白质等生物大分子,影响组织功能,这是其诱发衰老模型的又一机制^[55]。衰老会削弱机体对氧化损伤的调节能力,因此血液中总超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶等酶活性在一定程度上可以反映出机体衰老程度,晚期糖基化终末产物是一种蛋白,其作为糖基化衰老假说中的重要指标,是探讨机体衰老程度最为直观的指标^[56]。服用 40%纯度的 OLE 能将衰老小鼠血清及脏器中的各衰老相关指标酶调节到正常水平,并显著降低其晚期糖基化终末产物水平,这是 OLE 抗衰老功效的又一佐证^[57]。

3.4 抑菌作用

酚类化合物中的羟基可与细菌的膜结构相互作用,破坏其稳定性并使细胞内容物流出;此外,羟基的抗氧化活性还能改变微生物生长环境中的氧化还原稳态,限制一些需氧微生物的生命进程^[58]。与其他酚类化合物相类似,橄榄苦苷通过破坏细菌的肽聚糖层以实现其抗菌能力,该活性可能得益于其含有的邻二酚结构,但这种抗菌效果的确切机制尚不清晰^[59]。有研究^[60-61]表明,橄榄苦苷对 G⁺ 菌的抑制效果强于 G⁻ 菌,可能是由于 G⁻ 菌中的脂多糖层比 G⁺ 菌中的肽聚糖层更能抵御小分子抗菌物质的转移。以超声波辅助提取获得的纯度为 96.54%的 OLE 进行药敏试验,可对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌产生较强的抑制活性,其 MIC 分别为 0.05,0.40 mg/mL^[35]。

3.5 抗病毒作用

HIV-1 感染可扰乱细胞应激、凋亡、蛋白激酶 C、

Hedgehog 信号转导相关基因的表达,OLE 可以逆转 HIV-1 感染后相关指标的变化,此外,分子仿真对接试验显示,OLE 能与 HIV-gp41 结合域表面的疏水分子口袋相结合,从而削弱其毒性,抑制病毒的复制^[62];病毒性出血败血症病毒(VHSV)是一种以鱼类为宿主的弹状病毒,能致鱼类溶血或贫血,而对人类尚无威胁。OLE 处理 VHSV 后,可显著降低其滴度及病毒蛋白聚集,抑制病毒与细胞膜的融合,感染前施加 OLE 治疗,能使 VHSV 的感染力降低至 30%^[63];另有一项美国专利^[64]声称,含有 OLE 的各类药方可对疱疹病毒、肝炎病毒、轮状病毒、犬类细小病毒等产生良好的抗病毒活性;天然源尤其是植物源抗病毒活性物质在将来仍有巨大的开发空间。

3.6 养护心脑血管作用

急性心肌梗死是世界范围内心力衰竭及猝死的主要原因,早期再灌注治疗是减少最终梗死面积的有效手段,该疗法使急性心肌梗死的早期死亡率大幅降低,但长期死亡率及心梗后心力衰竭问题依然棘手^[65-66]。较为矛盾的是,缺血再灌注也能诱导心肌细胞的死亡,IRI(心肌缺血再灌注损伤)的发生机制多样,与活性氧和炎症通路密切相关,因此,在早期再灌注治疗的基础上辅助心脏保护措施,能有效降低缺血期间心肌细胞的死亡,PostC 是临床上常用的抗 IRI 手段^[67]。OLE 具有极强的抗氧化及抗炎活性,具有多靶点抗 IRI 的潜力。有学者^[68]对 OLE 抗 IRI 的潜在机制进行了评估,发现其能与 PostC 产生协同作用,显著降低受试动物梗死面积,值得注意的是,心肌保护通路抑制剂并不能对 OLE 产生拮抗作用,OLE 也不调控 Ca^{2+} 的转运,不增加 cGMP 的水平,说明其对心肌细胞直接进行保护,且 OLE 通过增加 nrf-2 及其下游靶点的表达,在 PostC 的基础上对心肌细胞提供额外的保护作用。

3.7 抗精神类疾病作用

抑郁症是一种常见的精神障碍,严重影响患者的健康和生活质量,其发病原因复杂,除了各种环境因素,还涉及一些遗传及表观遗传因素。有研究^[69]显示,氧化应激可能是包括抑郁症在内诸多精神类疾病的重要发病诱因,临床数据表明,严重抑郁症与一些内源性抗氧化物水平降低有关,其中包括维生素 E、辅酶 Q10、锌、谷胱甘肽过氧化物酶等。此外,活性氧及活性氮能调节去甲肾上腺素、多巴胺等活性胺的水平与活性,这些生物胺与抑郁症发病进程中所涉及神经递质密切相关,因此,使用抗氧化剂辅助治疗精神类疾病拥有巨大潜力^[70]。

以皮质酮(40 mg/kg)建立小鼠抑郁样模型,该模型使小鼠产生皮质酮效应,与正常小鼠相比,模型小鼠在悬尾试验、强迫游泳试验中不动时间增加,旷场试验中移动次数减少,蔗糖利用度减少。该效应机制为谷胱甘肽的过量消耗、脂质过氧化的增加、一些生物胺的减少。在应

对皮质酮效应时,OLE 与抗抑郁药氟西汀均可对其产生拮抗作用,甚至在一些结果中,OLE 的效果要明显优于氟西汀,肯定了其在精神疾病治疗中的潜力^[71]。

4 总结与展望

目前常用的橄榄多酚提取方法多为萃取法及大孔树脂吸附法,得率理想。橄榄苦苷具有较好的稳定性,安全性高,但生物利用度不佳。可通过多通路、多靶点发挥其生物活性,能在抗氧化、抗肿瘤、延缓衰老、抑菌、抗病毒等方面发挥一定作用。

从成分上来讲,除了不饱和脂肪酸外,橄榄产品中还包含 15~40 种酚类物质,这与橄榄产地、种类有关,橄榄苦苷是其中含量最为丰富,活性最为突出的酚类,但其在生物体内利用率较低,难以在临床上发挥出理想的效果,目前食品加工领域常用水凝胶包裹、纳米颗粒制备等技术解决此类问题,橄榄苦苷在此方向仍有巨大的开发空间;就食品领域而言,天然产物尚无法大规模运用于食品加工行业,究其原因,是因为天然来源活性物质缺少相应的毒理、代谢动力学研究,且相关法律审批困难,而提取物往往需要过量加入才能保持其理想效果,这无疑会影响食品的口感及味道,这些都是当天然产物在食品领域应用的难点。此外,橄榄苦苷结构复杂,包含多种化学键,加入到食品中是否会发生复杂的反应,进而对食品的一些指标产生影响还无从得知;在医疗保健领域中,含橄榄多酚保健品的开发具有广阔的市场前景,但橄榄苦苷的某些药理作用机制尚未探明,未来对其在此方面的研究还需继续深入。

参考文献

- [1] VOGEL P, MACHADO I K, GARAVAGLIA J, et al. Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L.) to human health [J]. *Nutrición Hospitalaria*, 2015, 31(3): 1 427-1 433.
- [2] GAMLI Ö F. The health effects of oleuropein, one of the major phenolic compounds of olives, *Olea europaea* L.[J]. *Italian Journal of Food Science*, 2016, 28(2): 178-189.
- [3] 李聚桢. 我国油橄榄产业发展概况及前景展望[J]. *粮油食品科技*, 2006(4): 8-10.
LI J Z. Overview and prospect of olive industry development in China[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2006 (4): 8-10.
- [4] 李楠, 赵兴文, 郭美佳, 等. 油橄榄叶有效成分的提取及药理活性的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(10): 327-331, 338.
LI N, ZHAO X W, GUO M J, et al. Advances in extraction and pharmacological activities of effective constituents from *olea europaea* leaf[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41 (10): 327-331, 338.
- [5] SABRY O M M. Beneficial health effects of olive leaves extracts[J]. *Journal of Natural Sciences Research*, 2014, 4(19): 1-9.

- [6] SCHWINGSHACKL L, HOFFMANN G. Does a mediterranean-type diet reduce cancer risk? [J]. Current Nutrition Reports, 2016, 5(1): 9-17.
- [7] 赵艳霞, 卜文文, 刘常金, 等. 油橄榄叶羟基酪醇提取工艺优化及抗氧化研究[J]. 食品工业, 2017, 38(4): 8-13.
ZHAO Y X, BU W W, LIU C J, et al. Study on extraction processing optimization of hydroxytyrosol from olive leaves and their antioxidant activities[J]. The Food Industry, 2017, 38(4): 8-13.
- [8] CAN A, AYVAZ H, PALA Ç U, et al. The potential of near and mid-infrared spectroscopy for rapid quantification of oleuropein, total phenolics, total flavonoids and antioxidant activity in olive tree (*Olea europaea*) leaves [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2018, 12(4): 2 747-2 757.
- [9] RUZZOLINI J, PEPPICELLI S, ANDREUCCI E, et al. Oleuropein, the main polyphenol of *Olea europaea* leaf extract, has an anti-cancer effect on human BRAF melanoma cells and potentiates the cytotoxicity of current chemotherapies[J]. Nutrients, 2018, 10(12): 1 950.
- [10] SOMERVILLE V, MOORE R, BRAAKHUIS A. The effect of olive leaf extract on upper respiratory illness in high school athletes: A randomised control trial[J]. Nutrients, 2019, 11(2): 358.
- [11] MA S C, HE Z D, DENG X L, et al. In vitro evaluation of secoiridoid glucosides from the fruits of *ligustrum lucidum* as antiviral agents[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2001, 49(11): 1 471-1 473.
- [12] XING C, XU L, YAO Y. Beneficial role of oleuropein in sepsis-induced myocardial injury. Possible Involvement of GSK-3 β /NF- κ B pathway[J]. Acta Cirúrgica Brasileira, 2021, 36(1): e360107.
- [13] MIKAMI T, KIM J, PARK J, et al. Olive leaf extract prevents obesity, cognitive decline, and depression and improves exercise capacity in mice[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 12495.
- [14] ALAGNA F, MARIOTTI R, PANARA F, et al. Olive phenolic compounds: Metabolic and transcriptional profiling during fruit development[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12(1): 162.
- [15] 谢普军, 黄立新, 张彩虹, 等. 油橄榄叶提取物中橄榄苦苷稳定性及对亚铁离子的螯合作用[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4): 133-136.
XIE P J, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Stability of oleuropein in olive leaves extracts and its chelating action to ferrous ions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(4): 133-136.
- [16] 刘飞飞, 刘录, 马晓霞, 等. 橄榄苦苷的热转化产物研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2017, 26(1): 5-8.
LIU F F, LIU L, MA X X, et al. Study on the heat-treatment transformation products of oleuropein[J]. Journal of Yunnan Minzu University (Natural Sciences Edition), 2017, 26(1): 5-8.
- [17] 王强, 王仲明, 谢跃杰, 等. 油橄榄叶提取物橄榄苦苷的酶法水解产物及其抗氧化能力的研究[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(7): 99-104, 109.
WANG Q, WANG Z M, XIE Y J, et al. Assessment of enzymatic hydrolysis produces and its antioxidant activities of oleuropein in olive leaf extracts[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33(7): 99-104, 109.
- [18] CLEWELL AE, BÉRES E, VÉRTESI A, et al. A comprehensive toxicological safety assessment of an extract of *Olea europaea* L. leaves (Bonolive™) [J]. International Journal of Toxicology, 2016, 35(2): 208-221.
- [19] SUSALIT E, AGUS N, EFFENDI I, et al. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-I hypertension: Comparison with Captopril [J]. Phytomedicine, 2011, 18(4): 251-258.
- [20] ARANTES-RODRIGUES R, HENRIQUES A, PIRES M J, et al. High doses of olive leaf extract induce liver changes in mice[J]. Food and Chemical toxicology, 2011, 49(9): 1 989-1 997.
- [21] EDGEcombe S C, STRETCH G L, HAYBALL P J. Oleuropein, an antioxidant polyphenol from olive oil, is poorly absorbed from isolated perfused rat intestine[J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(12): 2 996-3 002.
- [22] 何海荣. 油橄榄叶提取物的抗氧化活性和大鼠尿排泄特征研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2016: 30-37.
HE H R. A Study on antioxidant activity of olive leaf extract and urinary excretion in rats[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2016: 30-37.
- [23] 尹营松. 橄榄苦苷大鼠体内药代动力学研究[D]. 承德: 承德医学院, 2013: 32-43.
YIN Y S. Studies on pharmacokinetics of oleuropein in rats[D]. Chengde: Chengde Medical University, 2013: 32-43.
- [24] 王化, 周丽萍, 李梦莎, 等. 微波辅助提取暴马丁香中紫丁香苷和橄榄苦苷的工艺研究[J]. 植物研究, 2016, 36(1): 141-145.
WANG H, ZHOU L P, LI M S, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of syringin and oleuropein from *Syringa reticulata* [J]. Bulletin of Botanical Research, 2016, 36(1): 141-145.
- [25] 王晓杰, 黄立新, 张彩虹, 等. 微波辅助提取橄榄苦苷及其抗氧化性能研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 140-145.
WANG X J, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Microwave-assisted extraction of oleuropein from olive leaves and its antioxidant properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(7): 140-145.
- [26] CONTRERAS M D M, LAMA-MUÑOZ A, ESPÍNOLA F, et al. Valorization of olive mill leaves through ultrasound-assisted extraction[J]. Food Chemistry, 2020, 314: 126218.
- [27] MARTIN-GARCIA B, PIMENTEL-MORAL S, GÓMEZ-CARAVACA A M, et al. Box-behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves [J]. Industrial Crops and Products, 2020, 154: 112741.
- [28] LORENZO C, LORENZO G, MARIA B, et al. Optimization of the production process of dried unripe olives (*Olea europaea* L.) as a nutraceutical ingredient naturally rich in phenolic compounds[J]. LWT, 2020, 129: 109569.
- [29] 田富林, 黄文晶, 张驰, 等. HPD600 型大孔树脂纯化麦麸多酚及其抗氧化活性和定性分析[J]. 食品与机械, 2022, 38(5): 173-

- 178, 242.
- TIAN F L, HUANG W J, ZHANG C, et al. Antioxidant activity and qualitative analysis of wheat bran polyphenols purified using HPD600 macroporous resin[J]. Food & Machinery, 2022, 38(5): 173-178, 242.
- [30] LIU Y, LIU Y, ZHANG J, et al. Adsorption behaviors for oleuropein from olive leaves extracts by porous materials with carbon nanotubes[J]. Colloid and Polymer Science, 2015, 293(8): 2 395-2 404.
- [31] 田志祥, 李洁, 李振卿, 等. 橄榄叶提取物中橄榄苦苷的分离及工艺优化[J]. 中南药学, 2019, 17(4): 527-531.
- TIAN Z X, LI J, LI Z Q, et al. Separation and optimization of oleuropein from olive leaf extract[J]. Central South Pharmacy, 2019, 17(4): 527-531.
- [32] LIU B, LIU J, HUANG D, et al. Isolation and purification of oleuropein from olive leaves using boric acid affinity resin and a novel solvent system [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2021, 614: 126145.
- [33] 田雨, 包媛媛, 林奇, 等. 橄榄苦苷对核桃油抗氧化稳定性的研究[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(3): 53-60.
- TIAN Y, BAO Y Y, LIN Q, et al. Antioxidative stability of walnut oil with oleuropein[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(3): 53-60.
- [34] LEE O H, LEE B Y. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in olea europaea leaf extract[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(10): 3 751-3 754.
- [35] 吴遵秋, 姜友军, 苏光灿, 等. 油橄榄叶中橄榄苦苷的体外抗氧化和抑菌活性[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 94-99.
- WU Z Q, JIANG Y J, SU G C, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of oleuropein in vitro[J]. Food Science, 2014, 35(21): 94-99.
- [36] 李文杰, 李静. 橄榄苦苷对 H₂O₂ 诱导的 PC12 氧化应激损伤的保护作用[J]. 中医学报, 2019, 47(3): 37-41.
- LI W J, LI J. Protective effect of oleuropein on H₂O₂-induced oxidative stress injury in PC12 cells[J]. Chinese Medicine and Pharmacology, 2019, 47(3): 37-41.
- [37] FARES R, BAZZI S, BAYDOUN S E, et al. The antioxidant and anti-proliferative activity of the Lebanese *Olea europaea* extract[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2011, 66(1): 58-63.
- [38] CORONA G, DEIANA M, INCANI A, et al. Inhibition of p38/CREB phosphorylation and COX-2 expression by olive oil polyphenols underlies their anti-proliferative effects [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 362(3): 606-611.
- [39] 田凤. 橄榄苦苷对胃癌的抑制作用及分子机制研究[D]. 咸宁: 湖北科技学院, 2021: 28-43.
- TIAN F. Study on the inhibitory effect and molecular mechanism of olivepicroside on gastric cancer[D]. Xianning: Hubei University of Science and Technology, 2021: 28-43.
- [40] 许玉黎. 橄榄苦苷抗卵巢癌作用的体内外实验研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2018: 6-20.
- XU Y L. Experimental study on the anti-ovarian cancer effect of oleuropein in vitro and in vivo [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2018: 6-20.
- [41] YAN C M, CHAI E Q, CAI H Y, et al. Oleuropein induces apoptosis via activation of caspases and suppression of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway in HepG2 human hepatoma cell line[J]. Molecular Medicine Reports, 2015, 11(6): 4 617-4 624.
- [42] ASGHARZADE S, SHEIKHSHABANI S H, GHASEMPOUR E, et al. The effect of oleuropein on apoptotic pathway regulators in breast cancer cells[J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 886: 173509.
- [43] LI S, WEI X, HE J, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer research[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 105: 83-94.
- [44] PLACENCIO V R, DECLERCK Y A. Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer: Rationale and insight for future therapeutic testing[J]. Cancer Research, 2015, 75(15): 2 969-2 974.
- [45] TZEKAKI E E, GEROMICHALOS G, LAVRENTIADOU S N, et al. Oleuropein is a natural inhibitor of PAI-1-mediated proliferation in human ER-/PR-breast cancer cells [J]. Breast Cancer Research and Treatment, 2021, 186(2): 305-316.
- [46] FISKE J L, FOMIN V P, BROWN M L, et al. Voltage-sensitive ion channels and cancer[J]. Cancer and Metastasis Reviews, 2006, 25(3): 493-500.
- [47] AKTAS H G, AYAN H. Oleuropein: A potential inhibitor for prostate cancer cell motility by blocking voltage-gated sodium channels[J]. Nutrition and Cancer, 2021, 73(9): 1 758-1 767.
- [48] CHAN S L, YU V C. Proteins of the bcl-2 family in apoptosis signalling: From mechanistic insights to therapeutic opportunities [J]. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology, 2004, 31(3): 119-128.
- [49] NAKANO A, TANI E, MIYAZAKI K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gliomas[J]. Journal of Neurosurgery, 1995, 83(2): 298-307.
- [50] LIU M, WANG J, HUANG B, et al. Oleuropein inhibits the proliferation and invasion of glioma cells via suppression of the AKT signaling pathway[J]. Oncology Reports, 2016, 36(4): 2 009-2 016.
- [51] ULLAH S, PARK C, IKRAM M, et al. Tyrosinase inhibition and anti-melanin generation effect of cinnamide analogues [J]. Bioorganic Chemistry, 2019, 87: 43-55.
- [52] NERYA O, VAYA J, MUSA R, et al. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(5): 1 201-1 207.
- [53] 毕云枫, 宋凤瑞, 刘志强. 天然酪氨酸酶抑制剂的种类及其对酪氨酸酶抑制作用的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版), 2014, 40(2): 454-459.
- BI Y F, SONG F R, LIU Z Q. Research progress on the types of

- naturaltirosinase inhibitors and their inhibitory effects on tyrosinase[J]. *Journal of Jilin University (Medicine Edition)*, 2014, 40(2): 454-459.
- [54] 陈静, 魏鉴腾, 裴辉, 等. 橄榄苦苷对酪氨酸酶抑制作用的研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(12): 1 998-2 003.
CHEN J, WEI J T, PEI D, et al. Study on the inhibitory effect of oleuropein on tyrosinase [J]. *Natural Product Research and Development*, 2021, 33(12): 1 998-2 003.
- [55] 向玥, 陈粼波, 姚辉, 等. 人参皂苷 Rg1 对 D-半乳糖所致衰老小鼠海马的保护机制[J]. *中草药*, 2017, 48(18): 3 789-3 795.
XIANG Y, CHEN L B, YAO H, et al. Protective mechanism of ginsenoside Rg1 on hippocampus of aging mice induced by D-galactose[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(18): 3 789-3 795.
- [56] 孙红艳, 刘洪臣. 晚期糖基化终末产物(AGEs)与衰老[J]. *中华老年口腔医学杂志*, 2010, 8(5): 314-317.
SUN H Y, LIU H C. Advancedglycation end products (AGEs) and aging [J]. *Chinese Journal of Geriatric Dentistry*, 2010, 8(5): 314-317.
- [57] 折丽婷, 赵彩红, 陈春红, 等. 橄榄苦苷对 D-半乳糖诱导衰老小鼠的抗衰老作用研究[J]. *中国中医药科技*, 2020, 27(1): 37-40.
SHE L T, ZHAO C H, CHEN C H, et al. Anti-aging effect of oleuropein on aging mice induced by D-galactose [J]. *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*, 2020, 27(1): 37-40.
- [58] ŞENGÜN İ Y, ÖZTÜRK B. Some natural antimicrobials of plant origin[J]. *Anadolu University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology*, 2018, 7(2): 256-276.
- [59] OMAR S H. Oleuropein in olive and its pharmacological effects[J]. *Scientia Pharmaceutica*, 2010, 78(2): 133-154.
- [60] CASAS-SANCHEZ J, ALSINA M A, HERRLEIN M K, et al. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes[J]. *Colloid and Polymer Science*, 2007, 285(12): 1 351-1 360.
- [61] RAI M, PARALIKAR P, JOGEE P, et al. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2017, 519(1): 67-78.
- [62] LEE-HUANG S, ZHANG L, HUANG P L, et al. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 307(4): 1 029-1 037.
- [63] MICOL V, CATURLA N, PÉREZ-FONS L, et al. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV) [J]. *Antiviral Research*, 2005, 66(2): 129-136.
- [64] FREDRICKSON W R. Method and composition for antiviral therapy: US 6117844[P]. 2000-09-12.
- [65] YELLON D M, HAUSENLOY D J. Myocardial reperfusion injury [J]. *New England Journal of Medicine*, 2007, 357(11): 1 121-1 135.
- [66] HEUSCH G. Critical issues for the translation of cardioprotection [J]. *Circulation Research*, 2017, 120(9): 1 477-1 486.
- [67] TURER A T, HILL J A. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy [J]. *The American Journal of Cardiology*, 2010, 106(3): 360-368.
- [68] TSOUMANI M, GEORGIOULIS A, NIKOLAOU P E, et al. Acute administration of the olive constituent, oleuropein, combined with ischemic postconditioning increases myocardial protection by modulating oxidative defense [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2021, 166: 18-32.
- [69] HE X, ZHU Y, WANG M, et al. Antidepressant effects of curcumin and HU-211 coencapsulated solid lipid nanoparticles against corticosterone-induced cellular and animal models of major depression[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11: 4 975.
- [70] MARIA MICHEL T, PULSCHEN D, THOME J. The role of oxidative stress in depressive disorders[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2012, 18(36): 5 890-5 899.
- [71] BADR A M, ATTIA H A, AL-RASHEED N. Oleuropein reverses repeated corticosterone-induced depressive-like behavior in mice: Evidence of modulating effect on biogenic amines[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 1-10.
- (上接第 232 页)
- [40] HU X, HU W X, LU H Y, et al. Glycosylated cross-linked ovalbumin by transglutaminase in the presence of oligochitosan: Effect of enzyme action time and enhanced functional properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 138: 108462.
- [41] 谭芦兰, 唐宏刚, 杨慧娟, 等. 魔芋胶对咸蛋清蛋白热诱导凝胶特性的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(8): 70-77.
TAN L L, TANG H G, YANG H J, et al. Effect of kgm on the characteristics of heat-induced gelation of white protein from salted duck egg[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2019, 19(8): 70-77.
- [42] HAN T F, XUE H, HU X B, et al. Combined effects of NaOH, NaCl, and heat on the gel characteristics of duck egg white[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 159: 113178.
- [43] 王晨莹. 糖基化蛋清蛋白的制备、性质及其在纳米颗粒中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2019: 1-50.
WANG C Y. The preparation, properties of glycosylated egg white protein and its application in nanoparticles[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019: 1-50.