

脂肪酶 Novozym 435 催化合成羟基酪醇油酸酯

齐焱熠¹, 陈 邦², 赵鹏涛¹, 刘 梁¹, 孟永宏¹

(1. 陕西师范大学 西部果品资源高值利用教育部工程研究中心, 西安 710119;

2. 西北大学 化学与材料科学学院, 西安 710127)

摘要:羟基酪醇是一种标志性多酚, 其油溶性差且容易降解, 将羟基酪醇修饰为油酸酯是提高其油溶性的有效途径。对羟基酪醇油酸酯的酶法合成进行了研究, 考察了脂肪酶种类、酶添加量、醇酸摩尔比、溶剂(2-甲基-2-丁醇)用量、反应时间对合成反应的影响, 并利用 Box-Behnken 中心组合的响应面设计优化了羟基酪醇油酸酯的合成反应条件。另外, 采用质谱和核磁分析对产物进行了表征。结果表明:羟基酪醇油酸酯合成的最佳工艺条件为羟基酪醇 500 mg、油酸 2.474 g(醇酸摩尔比 1:2.7)、脂肪酶 Novozym 435 添加量 2.2%(以整个反应体系的质量为基准)、溶剂用量 2.6 mL、反应温度 37℃ 和反应时间 7 h, 在此条件下羟基酪醇转化率高达 89.6%; 质谱和核磁分析证明成功合成了羟基酪醇油酸酯。脂肪酶催化合成羟基酪醇油酸酯的技术突破, 可为延伸油橄榄产业链及副产物高值利用提供有力支撑。

关键词:脂肪酶; 羟基酪醇油酸酯; 酯化反应; 响应面分析

中图分类号: Q814.9; TS229

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2022)07-0076-07

Synthesis of hydroxytyrosyl oleate catalyzed by lipase Novozym 435

QI Yanyi¹, CHEN Bang², ZHAO Pengtao¹, LIU Liang¹, MENG Yonghong¹

(1. Engineering Research Center of High Value Utilization of Western China Fruit Resource, Shaanxi Normal

University, Xi'an 710119, China; 2. College of Chemistry and Materials Science,

Northwest University, Xi'an 710127, China)

Abstract: Hydroxytyrosol is a major polyphenol, it has poor oil solubility and is prone to degrade. Modifying hydroxytyrosol into hydroxytyrosyl oleate is an effective way to improve hydroxytyrosol's oil solubility. The enzymatic synthesis of hydroxytyrosyl oleate was constructed, and the effects of lipase type, enzyme dosage, molar ratio of hydroxytyrosol to oleic acid, solvent (2-methyl-2-butanol) dosage and reaction time on the synthesis of hydroxytyrosyl oleate were investigated. Then, the enzymatic synthesis conditions of hydroxytyrosyl oleate was optimized by response surface design of Box-Behnken central combination. In addition, the product was characterized by mass spectrometry and nuclear magnetic analysis. The results showed that the optimal synthesis conditions of hydroxytyrosyl oleate were obtained as follows: hydroxytyrosol dosage 500 mg, oleic acid dosage 2.474 g (molar ratio of hydroxytyrosol to oleic acid 1:2.7), lipase Novozym 435 dosage 2.2% (based on the reaction system mass), solvent dosage 2.6 mL, reaction temperature 37℃ and reaction time 7 h. Under the optimal conditions, the conversion rate of hydroxytyrosol was the highest, reaching 89.6%. Mass spectrometry

and nuclear magnetic analysis showed that the hydroxytyrosyl oleate was successfully synthesized. The technological breakthrough in the lipase-catalyzed synthesis of hydroxytyrosyl oleate can not only strengthen the extension of the olive industry chain, but also promote the high-value utilization of the by-products in the olive industry.

收稿日期: 2021-11-30; 修回日期: 2022-02-23

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD1002400, 2019YFD1002405)

作者简介: 齐焱熠(1997), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物与医药(E-mail) 1327941833@qq.com。

通信作者: 孟永宏, 教授, 硕士生导师(E-mail) mengyonghong@snnu.edu.cn。

Key words: lipase; hydroxytyrosyl oleate; esterification reaction; response surface methodology

羟基酪醇化学名为3,4-二羟基苯乙醇,是一种多酚类化合物,为无色或浅黄色油状物,主要以酯化物的形式存在于橄榄油中。大量研究表明,羟基酪醇具有预防糖尿病^[1]、防止神经紊乱^[2]、减少低密度脂蛋白氧化^[3-4]、抗炎^[5-7]、抗癌^[8-10]、抗肿瘤^[11-13]、抗动脉粥样硬化^[14-15]和抗氧化^[16-18]等多种功能。但是,羟基酪醇的油溶性较差,限制了其在食品、医药和化妆品领域的应用。目前,将羟基酪醇修饰为酯类衍生物是一种有效的策略,不仅可显著提高其油溶性,而且可提高其生物利用度^[19-20]。Bouallagui等^[20]以羟基酪醇和醋酸为原料合成了羟基酪醇醋酸酯,并研究了其抗氧化性。Yu等^[21]首次从植物中分离出天然的羟基酪醇丁酸酯。Burattini等^[22]研究了羟基酪醇月桂酸酯对过氧化氢引起细胞氧化损伤的影响。油酸是一种单不饱和

脂肪酸,对软化血管有一定作用。橄榄油中含有丰富的羟基酪醇,尤其是在橄榄油副产物中其含量较高。然而,橄榄油副产物一般被直接丢弃,不仅造成资源浪费,而且污染环境。目前对羟基酪醇油酸酯合成的研究较少。因此,本研究以羟基酪醇和油酸为底物,通过筛选脂肪酶和优化反应体系,合成了羟基酪醇油酸酯,为橄榄油副产物的高值化利用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

羟基酪醇(99%),陕西嘉禾生物科技股份有限公司;油酸(98%)、磷酸(分析纯),天津市天力化学试剂有限公司;2-甲基-2-丁醇(99%),麦克林公司,甲醇(色谱纯),天津市科密欧化学试剂有限公司);脂肪酶,具体信息见表1。

表1 脂肪酶的具体信息

脂肪酶	酶活/(U/g)	来源	固定化载体	生产商
Novozym 435	10 000	南极假丝酵母 B	大孔丙烯酸树脂	诺维信生物技术有限公司
Lipozyme TL IM	250	疏棉状嗜热丝孢菌(TLL)	硅胶	诺维信生物技术有限公司
Novozym 40086	275	米赫根毛霉	树脂	诺维信生物技术有限公司
LS-20		南极假丝酵母		北京凯泰新世纪生物有限公司
PPL	20 000	南极假丝酵母		上海源叶生物科技有限公司

1.1.2 仪器与设备

THZ-C 恒温振荡摇床,苏州培英实验设备有限公司;1260 高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;RVC2-18CDplus 真空离心浓缩仪,上海般诺生物科技有限公司;高分辨率液质联用仪,400 MHz 核

磁共振仪,德国布鲁克公司。

1.2 试验方法

1.2.1 羟基酪醇油酸酯的制备

参考文献[20]采用脂肪酶催化酯化法合成羟基酪醇油酸酯,其反应式如图1所示。

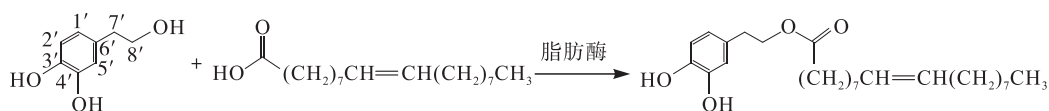


图1 脂肪酶催化羟基酪醇的酯化反应式

称取500 mg 羟基酪醇于锥形瓶中,按一定摩尔比加入油酸,再加入一定体积的2-甲基-2-丁醇溶剂,加入一定量的脂肪酶(以整个反应体系的质量计),在一定温度、200 r/min 的摇床中反应一定时间。反应结束后,将反应液离心分离去除脂肪酶,再置于真空旋转浓缩仪除去溶剂,得到羟基酪醇油酸酯粗品。反应过程中,取样测定反应液中羟基酪醇的含量,按公式(1)计算羟基酪醇转化率(Y)。

$$Y = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: C_0 、 C_1 分别为反应体系中反应前和反应

后羟基酪醇的含量,mg/L。

1.2.2 羟基酪醇油酸酯的纯化

将羟基酪醇油酸酯粗品依次用2倍体积的饱和碳酸氢钠溶液和去除二氧化碳的纯水分别洗涤3次,除去过量的油酸、未反应的羟基酪醇和盐溶液,得到高纯度的羟基酪醇油酸酯。

1.2.3 羟基酪醇含量的测定

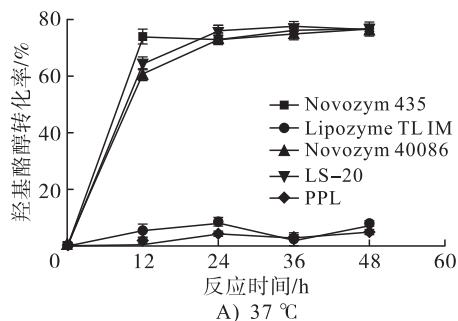
采用高效液相色谱法(HPLC)测定。HPLC 条件^[23]:Agilent 5 TC-C18(2)色谱柱(5 μ m,250 mm \times 4.6 mm);流动相A为100%甲醇,流动相B为10%甲

醇(磷酸调 pH 至 3.0);梯度洗脱程序为 0~10 min 10% A,10~40 min 30% A,40~50 min 40% A,50~55 min 50% A,55~65 min 100% A,65~75 min 10% A;检测波长 280 nm;柱温 35 °C;流速 1 mL/min;进样量 5 μ L。

首先配制一系列不同质量浓度的羟基酪醇标准溶液,进高效液相色谱仪进行分析,以羟基酪醇的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。再将样品溶液进高效液相色谱仪进行分析,根据样品溶液中羟基酪醇的峰面积和标准曲线,计算样品溶液中羟基酪醇的含量。

1.2.4 质谱、核磁分析

将羟基酪醇油酸酯用色谱纯甲醇溶解,然后进行质谱分析。分析条件:阳离子模式,电喷雾离子源,毛细管电压 4 000 V,质量扫描范围(m/z)100~1 100。



以氘代氯仿为溶剂,对羟基酪醇油酸酯进行溶解,然后进行¹H NMR 和¹³C NMR 分析,分析时采用 400 MHz 扫描。

2 结果与讨论

2.1 羟基酪醇油酸酯制备的单因素试验

2.1.1 脂肪酶的选择

脂肪酶是催化甘油三酯进行水解和重新酯化的一类生物酶,不同来源的脂肪酶区域选择性不同,催化效率也不同。在醇酸摩尔比 1:2 (羟基酪醇 500 mg,油酸质量 1.832 g)、脂肪酶添加量 2%、2-甲基-2-丁醇用量 2 mL、反应温度分别为 37 °C 和 50 °C 条件下,考察 5 种不同脂肪酶(Novozym 435、Lipozyme TL IM、Novozym 40086、LS-20 和 PPL)对羟基酪醇酯化反应的影响,结果见图 2。

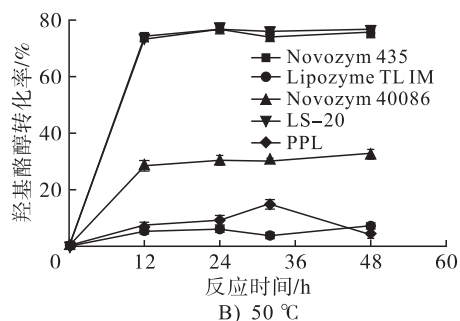


图 2 不同脂肪酶对羟基酪醇酯化反应的影响

从图 2 可以看出,Novozym 435 和 LS-20 在 37 °C 和 50 °C 时均表现出较高的催化活性,Lipozyme TL IM 和 PPL 均表现出较低的催化活性,而 Novozym 40086 在 37 °C 时表现出较高的催化活性,在 50 °C 时则表现出较低的催化活性。在反应时间 12 h 条件下,对比了 5 种脂肪酶对羟基酪醇酯化反应的影响,结果见表 2。

表 2 反应 12 h 不同脂肪酶对羟基酪醇转化率的影响

脂肪酶	羟基酪醇转化率/%	
	37 °C	50 °C
对照	0	0
Novozym 435	78.32 ± 0.09 ^a	75.20 ± 0.11 ^b
Lipozyme TL IM	5.71 ± 0.11 ^d	5.98 ± 0.16 ^c
Novozym 40086	61.03 ± 0.14 ^c	30.41 ± 0.08 ^c
LS-20	64.07 ± 0.07 ^b	76.90 ± 0.11 ^a
PPL	0.69 ± 0.10 ^e	9.18 ± 0.14 ^d

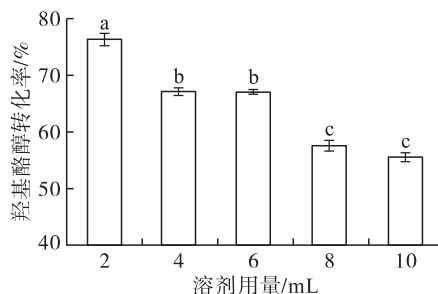
注:同列不同字母表示有显著性差异($p < 0.05$)

由表 2 可见:在 37 °C 时 Novozym 435 催化效率最高,羟基酪醇转化率达到 78.32%;在 50 °C 时 LS-20 催化效率最高,羟基酪醇转化率达到 76.90%;当无脂肪酶作为催化剂时,羟基酪醇转化率为 0,说明在该

反应体系中无催化剂作用反应是很难进行的。Novozym 435 在 37 °C 和 50 °C 反应 12 h 的羟基酪醇转化率变化很小,说明在本试验条件下温度对 Novozym 435 影响不大。综合考虑,在后续的试验中,选择 Novozym 435 在 37 °C 条件下进行反应。

2.1.2 溶剂用量的影响

在醇酸摩尔比 1:2 (羟基酪醇 500 mg,油酸 1.832 g)、脂肪酶添加量 2%、反应温度 37 °C、反应时间 12 h 条件下,考察 2-甲基-2-丁醇用量对羟基酪醇酯化反应的影响,结果见图 3。



注:不同字母表示有显著性差异($p < 0.05$);下同

图 3 溶剂用量对羟基酪醇酯化反应的影响

由图 3 可见,当溶剂用量从 2 mL 增加至 10 mL

时,羟基酯醇转化率逐渐降低,可能是因为溶剂过多会降低羟基酯醇和油酸的浓度,从而减少底物分子间的碰撞概率,导致羟基酯醇转化率下降。当溶剂用量为2 mL时,羟基酯醇转化率达76.39%。试验发现,不加溶剂时,整个反应体系无法混匀,反应无法进行,这说明适量的溶剂有利于脂肪酶催化该反应体系。因此,选择2-甲基-2-丁醇用量为2 mL。

2.1.3 醇酸摩尔比的影响

在羟基酯醇500 mg、脂肪酶添加量2%、2-甲基-2-丁醇用量2 mL、反应温度37℃、反应时间12 h条件下,考察醇酸摩尔比对羟基酯醇酯化反应的影响,结果见图4。

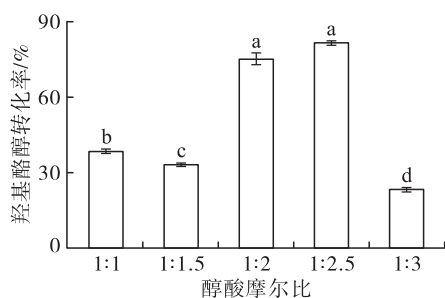


图4 醇酸摩尔比对羟基酯醇酯化反应的影响

由图4可见,在醇酸摩尔比为1:1和1:1.5时,羟基酯醇转化率分别为38%和35%左右,当醇酸摩尔比为1:2.5时,羟基酯醇转化率达81.39%,当醇酸摩尔比为1:3时,羟基酯醇转化率降低。这是因为酯化反应是可逆反应,需要添加过量的脂肪酸使化学平衡向正方向进行,从而提高羟基酯醇转化率。但是,过高的油酸用量会减少羟基酯醇上的羟基与脂肪酶活性中心接触的机会。因此,选择醇酸摩尔比为1:2.5。

2.1.4 脂肪酶添加量的影响

在醇酸摩尔比1:2.5(羟基酯醇500 mg,油酸2.290 g)、2-甲基-2-丁醇用量2 mL、反应温度37℃、反应时间12 h条件下,考察脂肪酶添加量对羟基酯醇酯化反应的影响,结果见图5。

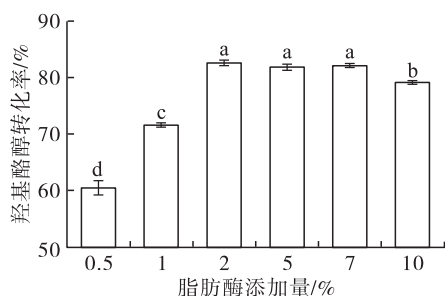


图5 脂肪酶添加量对羟基酯醇酯化反应的影响

由图5可见,在脂肪酶添加量为0.5%时,催化效率是最低的,羟基酯醇转化率仅有60.47%。随着脂肪酶添加量的增加,羟基酯醇转化率逐渐增加,在脂肪酶添加量为2%时达到最高,为83.15%,当脂肪酶添加量从2%增加至10%时,羟基酯醇转化率开始下降。脂肪酶添加量太少,酶活力不够,催化效率比较低;脂肪酶添加量过多,整个反应体系的黏度增大,脂肪酶活性位点与底物不能充分接触,导致羟基酯醇转化率降低。综合考虑,选择脂肪酶添加量为2%。

2.1.5 反应时间的影响

在醇酸摩尔比1:2.5(羟基酯醇500 mg,油酸2.290 g)、脂肪酶添加量2%、2-甲基-2-丁醇用量2 mL、反应温度37℃条件下,考察反应时间对羟基酯醇酯化反应的影响,结果见图6。

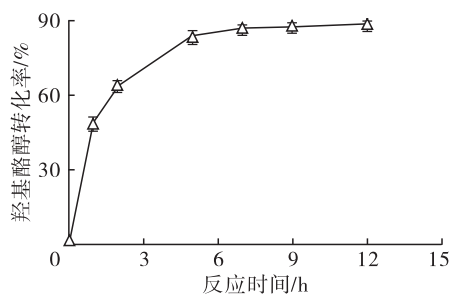


图6 反应时间对羟基酯醇酯化反应的影响

由图6可以看出,在反应时间0~5 h内,羟基酯醇转化率迅速升高,在反应时间7 h后变化较小。因此,选择反应时间为7 h。

2.2 羟基酯醇油酸酯制备的响应面试验

2.2.1 模型的建立与显著性检验

结合单因素试验结果,在Novozym 435为催化剂、反应温度37℃、反应时间7 h条件下,以醇酸摩尔比、溶剂用量、脂肪酶添加量为因素,以羟基酯醇转化率(Y)为考察指标,采用Box-Behnken试验设计,对羟基酯醇油酸酯的合成条件进行优化。Box-Behnken试验因素和水平见表3,Box-Behnken试验设计与结果见表4。

利用Design Expert软件,对表4中数据进行多元回归分析,获得二次多项回归方程: $Y = 82.75 + 28.14A + 6.31B + 4.89C + 6.63AB + 0.23AC - 1.97BC - 46.54A^2 - 8.72B^2 - 7.42C^2$ 。对回归模型进行方差分析,结果见表5。

表3 Box-Behnken试验因素和水平

水平	A 溶剂用量/mL	B 醇酸摩尔比	C 脂肪酶添加量/%
-1	0	1:2.0	1
0	2	1:2.5	2
1	4	1:3.0	3

表4 Box-Behnken 试验设计与结果

试验号	A	B	C	Y/%
1	0	0	0	81.39
2	0	-1	-1	49.08
3	0	0	0	82.06
4	-1	1	0	0.00
5	1	0	-1	57.14
6	0	0	0	83.15
7	-1	0	-1	0.00
8	-1	-1	0	0.00
9	0	1	-1	65.03
10	0	1	1	80.21
11	0	-1	1	72.15
12	1	0	1	58.04
13	-1	0	1	0.00
14	1	1	0	68.24
15	0	0	0	84.41
16	0	0	0	82.73
17	1	-1	0	41.74

由表5可见,模型极显著($p < 0.01$),失拟项不显著,模型的 R^2_{Adj} 为0.975 8,说明该模型能够解释97.58%的响应值变化。因此,模型拟合程度良好,可以用来对脂肪酶催化羟基酪醇和油酸合成羟基酪醇油酸酯进行分析和预测。一次项A和二次项 A^2 影响极显著,一次项B、C,交互项AB和二次项 B^2 、

表5 方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	p
模型	17 149.84	9	1 905.54	72.58	<0.000 1**
A	6 337.13	1	6 337.13	241.38	<0.000 1**
B	318.91	1	318.91	12.15	0.010 2*
C	191.59	1	191.59	7.30	0.030 6*
AB	175.56	1	175.56	6.69	0.036 2*
AC	0.20	1	0.20	0.01	0.932 5
BC	15.56	1	15.56	0.59	0.466 5
A^2	9 119.00	1	9 119.00	347.34	<0.000 1**
B^2	319.81	1	319.81	12.18	0.010 1*
C^2	231.52	1	231.52	8.82	0.020 8*
残差	183.77	7	26.25		
失拟项	178.53	3	59.51	45.41	0.273 2
纯误差	5.24	4	1.31		
总和	17 333.62	16			

注: * 为显著($p < 0.05$), ** 为极显著($p < 0.01$); $R^2 = 0.989 4$, $R^2_{Adj} = 0.975 8$, 变异系数为9.62%

C^2 影响显著。3个因素对羟基酪醇转化率影响大小为溶剂用量 > 醇酸摩尔比 > 脂肪酶添加量。

2.2.2 响应面分析

图7是通过二次回归模型拟合的各因素之间交互作用的响应面分析图。

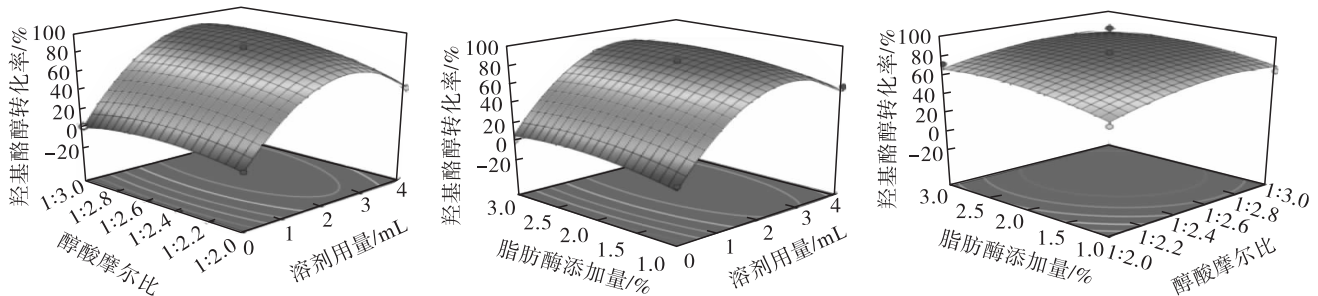


图7 各两因素交互影响羟基酪醇转化率的响应面图

响应面图的曲面越陡峭,两两因素的交互作用就越明显,相反,响应面图的曲面越平缓,两两因素的交互作用就越不显著。当等高线呈圆形时表示两因素交互作用不明显,而呈椭圆形或马鞍形时则表示两因素交互作用显著。由图7可知:各图均开口向下,凸形曲面,都存在极值;交互项AB(溶剂用量和醇酸摩尔比)影响显著($p < 0.05$),AC(溶剂用量和脂肪酶添加量)、BC(醇酸摩尔比和脂肪酶添加量)影响不显著($p > 0.05$);醇酸摩尔比对羟基酪醇转化率的影响小于溶剂用量,脂肪酶添加量对羟基酪醇转化率的影响小于溶剂用量、醇酸摩尔比,因此各因素对羟基酪醇转化率的影响大小依次为A(溶

剂用量) > B(醇酸摩尔比) > C(脂肪酶添加量),该结果与方差分析结果相同,证明了模型可靠性高。

2.2.3 最佳工艺条件确定及验证试验

通过Box-Behnken试验设计可以得到理论最佳工艺条件为醇酸摩尔比1:2.671、溶剂用量2.584 mL、脂肪酶添加量2.247%,此时羟基酪醇理论转化率为91.8%。结合实际操作方便性,将最佳工艺条件修正为醇酸摩尔比1:2.7(羟基酪醇500 mg,油酸2.474 g)、溶剂用量2.6 mL、脂肪酶添加量2.2%,在此条件下羟基酪醇实际转化率达到89.6%。

2.3 羟基酪醇油酸酯的纯化

按1.2.2方法对最佳条件下合成的羟基酪醇油

酸酯粗品进行纯化。经测定,羟基酪醇油酸酯粗品中羟基酪醇含量为43.95 mg/mL,纯化后羟基酪醇含量仅为79.67 $\mu\text{g/mL}$,说明纯化产品中羟基酪醇含量可以忽略不计。

2.4 羟基酪醇油酸酯的特征

2.4.1 质谱分析

对纯化的羟基酪醇油酸酯进行质谱分析,得到羟基酪醇油酸酯的质谱图,见图8。

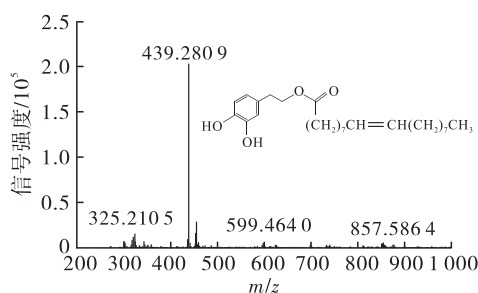


图8 羟基酪醇油酸酯的质谱图

由图8可知,羟基酪醇油酸酯 m/z 为439,与推测的产物一致,其分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_4$ 。

2.4.2 核磁分析

对纯化的羟基酪醇油酸酯进行 ^1H NMR和 ^{13}C NMR分析。 ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3)结果: δ 6.76(1H, d, H-2'), δ 6.67(1H, d, H-5'), δ 6.59(1H, dd, H-1'), δ 5.35(2H, m, H-9和H-10), δ 4.20(2H, t, H-8'), δ 2.78(2H, t, H-7'), δ 2.29(2H, t, H-2), δ 2.04(4H, m, H-8和H-11), δ 1.54(2H, m, H-3), δ 1.28(4H, m, H-7和H-12), δ 1.23(14H, m, H-4~H-6和H-13~H-16), δ 1.22(2H, m, H-17), δ 0.94(3H, t, H-18)。 ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3)结果: δ 130.02, 144.21, 142.84, 174.22(C, C-6', C-4', C-3'和C-1), δ 129.89(CH, C-9/C-10), δ 116.29, 115.80, 120.87(CH, C-5', C-2'和C-1'), δ 65.11(CH_2 , C-8'), δ 34.43(CH_2 , C-7'), δ 34.34(CH_2 , C-2), δ 32.55(CH_2 , C-16), δ 29.78(CH_2 , C-7/C-12), δ 29.35~29.64(CH_2 , C-4~C-6/C-13~C-15), δ 27.23(CH_2 , C-8/C-11), δ 25.35(CH_2 , C-3), δ 22.68(CH_2 , C-17)和 δ 14.10(CH_3 , C-18)。核磁分析结果说明,成功合成了羟基酪醇油酸酯。

3 结论

本研究利用脂肪酶 Novozym 435 催化羟基酪醇与油酸酯化,通过响应面试验优化确定了合成羟基酪醇油酸酯的最佳工艺条件,在最佳条件下羟基酪醇转化率为89.6%。质谱和核磁分析表明,成功合成了羟基酪醇油酸酯。本研究为有效解决橄榄油加工过程中油橄榄果水、渣中羟基酪醇的高值利用,提

供了坚实的技术支撑。

参考文献:

- [1] 张书新, 武宇超. 羟基酪醇的研究进展[J]. 中国卫生产业, 2016(13): 59-61.
- [2] ZHENG A D, LI H, XU J, et al. Hydroxytyrosol improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the brain of db/db mice: role of AMP-activated protein kinase activation[J]. Br J Nutr, 2015, 113(11): 1667-1676.
- [3] Scientific opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865), maintenance of normal blood HDL cholesterol concentrations (ID 1639), maintenance [J/OL]. EFSA J, 2011, 9(4): 2033 [2021-11-30]. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2011.2033>.
- [4] 唐娟, 刘琳, 李承蔓, 等. 羟基酪醇的药理作用和药代动力学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 241-250.
- [5] BERNINI R, MERENDINO N, ROMANI A, et al. Naturally occurring hydroxytyrosol synthesis and anticancer potential[J]. Curr Med Chem, 2013, 20(5): 655-670.
- [6] 申玲, 张璐璐, 陈赛娇, 等. 羟基酪醇对小鼠抑郁样行为的改善作用及机制研究[J]. 营养学报, 2020, 42(4): 388-393.
- [7] CHEN C, AI Q D, WEI Y H. Hydroxytyrosol protects against cisplatin-induced nephrotoxicity via attenuating CKLF1 mediated inflammation, and inhibiting oxidative stress and apoptosis[J/OL]. Int Immunopharmacol, 2021, 96: 107805 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107805>.
- [8] LI S A, HAN Z Y, MA Y, et al. Hydroxytyrosol inhibits cholangiocarcinoma tumor growth: an in vivo and in vitro study[J]. Oncol Rep, 2014, 31(1): 145-152.
- [9] ZHANG S P, ZHOU J, FAN Q Z, et al. Discovery of hydroxytyrosol as thioredoxin reductase I inhibitor to induce apoptosis and G1/S cell cycle arrest in human colorectal cancer cells via ROS generation[J/OL]. Exp Ther Med, 2021, 22: 829 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10261>.
- [10] YUAN L H, SHENG Z J, JING X, et al. Hydroxytyrosol and oleuropein inhibit migration and invasion via induction of autophagy in ER-positive breast cancer cell lines (mcf7 and t47d)[J]. Nutr Cancer, 2021, 73: 350-360.
- [11] VALLI A, RODRIGUEZ M, MOUTSIANAS L, et al. Hypoxia induces a lipogenic cancer cell phenotype via HIF1 α -dependent [J]. Oncotarget, 2014, 6(4): 1920-1941.
- [12] ST-LAURENT-THIBAUT C, ARSENEAULT M,

- LONGPRÉ F, et al. Tyrosol and hydroxytyrosol two main components of olive oil, protect N2a cells against amyloid- β -induced toxicity. Involvement of the NF- κ B signaling[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2011, 8: 543-551.
- [13] TOMOYUKI H, HARUHIKO T, GEN K, et al. Olive polyphenols attenuate TNF- α -stimulated M-CSF and IL-6 synthesis in osteoblasts; suppression of Akt and p44/p42 MAP kinase signaling pathways[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111816 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111816>.
- [14] PEREIRA-CARO G, MATEOS R, TRAKA M H, et al. Hydroxytyrosyl ethyl ether exhibits stronger intestinal anticarcinogenic potency and effects on transcript profiles compared to hydroxytyrosol[J]. *Food Chem*, 2013, 138(2/3): 1172-1182.
- [15] YAO F, JIN Z, LYU X H, et al. Hydroxytyrosol acetate inhibits vascular endothelial cell pyroptosis via the hdac11 signaling pathway in atherosclerosis [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 656272 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.656272>.
- [16] 原姣姣, 叶建中, 王成章, 等. 油橄榄羟基酪醇的生物合成及其衍生物研究进展[J]. *林产化学与工业*, 2015, 35(2): 154-162.
- [17] 王安华, 龙国清, 王东东, 等. 油橄榄果渣中多酚提取及活性研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(5): 219-224.
- [18] ÁFRICA F P, ALEJANDRA B O, CARMEN M M, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activity of hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenylglycol purified from table olive effluents[J/OL]. *Foods*, 2021, 10: 227 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.3390/foods10020227>.
- [19] AKANBI T O, BARROW C J. Lipase-produced hydroxytyrosyl eicosapentaenoate is an excellent antioxidant for the stabilization of *omega*-3 bulk oils, emulsions and microcapsules[J/OL]. *Molecules*, 2018, 23(2): 275 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.3390/molecules23020275>.
- [20] BOUALLAGUI Z, BOUAZIZ M, LASSOUED S, et al. Hydroxytyrosol acyl esters: biosynthesis and activities [J]. *Appl Biochem Biotech*, 2011, 163(5): 592-599.
- [21] YU J D, CHEN M X, WU H, et al. Phytochemical and chemotaxonomic study on *Pholidota pallida* lindl [J/OL]. *Biochem Syst Ecol*, 2021, 97: 104290 [2021-11-30]. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104290>.
- [22] BURATTINI S, SALUCCI S, BALDASSARRI V, et al. Anti-apoptotic activity of hydroxytyrosol and hydroxytyrosyl laurate [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 55: 248-256.
- [23] ROMERO C, BRENES M. Analysis of total contents of hydroxytyrosol and tyrosol in olive oils [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(36): 9017-9022.
-
- (上接第 65 页)
- [42] JIA X Y, ZHENG Y S, GUO Y Z, et al. Sodium butyrate and panobinostat induce apoptosis of chronic myeloid leukemia cells via multiple pathways[J/OL]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(5): e613 [2021-06-08]. <https://doi.org/10.1002/mgg3.613>.
- [43] TAYLOR M A, KHATHAYER F, RAY S K. Quercetin and sodium butyrate synergistically increase apoptosis in rat C6 and human T98G glioblastoma cells through inhibition of autophagy [J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(7): 1715-1725.
- [44] STEEG P S. Targeting metastasis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(4): 201-218.
- [45] PAUL C D, MISTRIOTIS P, KONSTANTOPOULOS K. Cancer cell motility: lessons from migration in confined spaces [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(2): 131-140.
- [46] NARAYANAN A, BASKARAN S A, AMALARADJOU M A R, et al. Anticarcinogenic properties of medium chain fatty acids on human colorectal, skin and breast cancer cells in vitro [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(3): 5014-5027.
- [47] XIAO T F, WU S Y, YAN C, et al. Butyrate upregulates the TLR4 expression and the phosphorylation of MAPKs and NK- κ B in colon cancer cell in vitro [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(4): 4439-4447.
- [48] HØGH R I, MØLLER S H, JEPSEN S D, et al. Metabolism of short-chain fatty acid propionate induces surface expression of NKG2D ligands on cancer cells [J]. *FASEB J*, 2020, 34(11): 15531-15546.
- [49] LI Q R, CAO L J, TIAN Y, et al. Butyrate suppresses the proliferation of colorectal cancer cells via targeting pyruvate kinase M2 and metabolic reprogramming [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2018, 17(8): 1531-1545.