

王佳鸾, 赵俸艺, 张春红, 等. 鞣花酸提取、纯化及其生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(13): 416–424. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060276

WANG Jialuan, ZHAO Fengyi, ZHANG Chunhong, et al. Research Progress of Extraction, Purification and Bioactivity of Ellagic Acid[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(13): 416–424. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060276

· 专题综述 ·

鞣花酸提取、纯化及其生物活性研究进展

王佳鸾, 赵俸艺, 张春红*, 吴文龙

(江苏省中国科学院植物研究所, 江苏南京 210014)

摘要: 植物界富含多种有益于人体健康的天然物质, 并对人体健康起到一定的辅助功能。鞣花酸是一种存在于多种水果与坚果中的天然多酚二内酯, 其具有抗氧化、抗炎、抑制细菌生长等多种生物活性, 并在癌症治疗和疾病预防方面具有很大的应用潜力。国内外众多学者对鞣花酸生物活性进行深入研究, 其在人类疾病、肿瘤治疗以及生产生活中应用前景十分广泛。本文对鞣花酸的提取方法、纯化方法以及抗癌、抗氧化、抗炎等多种生物活性的研究进行了归纳总结, 为后续鞣花酸的研究提供一定的参考。

关键词: 鞣花酸, 提取, 纯化, 生物活性

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)13-0416-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060276



本文网刊:

Research Progress of Extraction, Purification and Bioactivity of Ellagic Acid

WANG Jialuan, ZHAO Fengyi, ZHANG Chunhong*, WU Wenlong

(Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Plant kingdom is rich in many kinds of natural substances which are beneficial to human health and play a certain auxiliary function to human health. Ellagic acid is a natural polyphenol dilactone found in many fruits and nuts. It has antioxidant, anti-inflammatory, inhibition of bacterial growth and other biological activities, and has great application potential in cancer treatment and disease prevention. Many scholars at home and abroad have conducted in-depth studies on the biological activities of ellagic acid, which has a wide application prospect in the treatment of human diseases, tumors and production and life. In this paper, the extraction and purification methods of ellagic acid, as well as the studies on anti-cancer, anti-oxidation, anti-inflammation and other biological activities of ellagic acid were summarized, providing certain reference for the subsequent research on ellagic acid.

Key words: ellagic acid; extraction; purification; bioactivity

植物界储藏着大量具有丰富生物活性的天然化合物, 值得深入挖掘利用。随着社会的发展, 人们越来越注重自身的健康问题, “食补”也成为了人们愈加关注的话题。国内外大量学者的研究表明, 经常食用富含酚酸类化合物的食品, 例如富含鞣花酸的蓝莓、葡萄、核桃等, 可以降低某些慢性疾病的发病率。

鞣花酸(Ellagic acid, EA)又名并没食子酸、胡颓子酸, 是没食子酸的二聚衍生物^[1], 其分子式为

$C_{14}H_{16}O_8$ (见图 1)。鞣花酸是一种多酚二内酯, 具有高度热稳定性。其 4 个环代表它的亲脂结构, 亲水部分有 4 个酚基和 2 个内酯环, 这些结构特性导致鞣花酸的亲水性及亲脂性均较差^[2]。它是一种天然的植物多酚类物质^[3], 通常以黄色针状晶体形式存在, 相对分子量为 302.28, 熔点(吡啶)大于 360 °C, 微溶于水、醇, 溶于碱、吡啶, 不溶于醚^[4]。鞣花酸的水溶液不稳定, 溶解度随着温度的上升相对增大, 不

收稿日期: 2021-07-02

基金项目: 江苏省现代农业重点科技项目 (BE2020344); 江苏现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (JATS[2021]511)。

作者简介: 王佳鸾 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 小浆果果实品质及利用研究, E-mail: wjl163youxiang@163.com。

* 通信作者: 张春红 (1979-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 小浆果种质资源评价与育种研究, E-mail: chzhang@cnbg.net。

同温度处理的鞣花酸水溶液稳定性均有一定程度地下降。溶液 pH 对鞣花酸的稳定有较大影响,鞣花酸在碱性条件下稳定性较差,这可能是因为鞣花酸含有酯基和酚羟基,容易与碱发生反应,同时其内酯结构也容易在碱的作用下发生分解^[5]。鞣花酸对紫外线具有吸收作用,其水溶液经紫外线照射后会发生自身的氧化聚合^[6],因此,在紫外线照射下其稳定性会有一定程度地下降。鞣花酸在乙醇溶液中的最大吸收波长为 255 和 366 nm,遇三氯化铁呈蓝色,遇硫酸呈黄色^[7]。Greiss—meger 反应呈阳性,还易与金属阳离子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 结合。

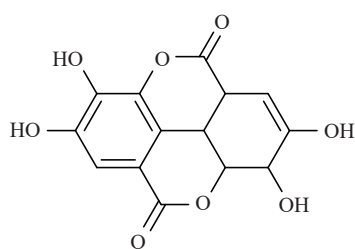


图 1 鞣花酸分子结构式
Fig.1 Molecular formula of ellagic acid

鞣花酸广泛存在于各种水果与坚果中,如石榴^[8]、葡萄^[9]、草莓^[10]、核桃^[11]等,天然鞣花酸多以缩合形式(如鞣花单宁、苷等)存在于自然界中,鞣花酸通常与葡萄糖、西洛糖、阿拉伯糖等缩合成糖苷,但更容易参与鞣花单宁的形成,植物往往通过水解鞣花单宁来产生鞣花酸^[12]。此外,鞣花酸还以游离的形式存在于多种植物的果实中。研究表明鞣花酸具有很强的清除自由基和抗氧化的能力,鞣花酸对于氧自由基和羟自由基都具有清除作用^[13]。鞣花酸对于化学物质诱导的癌变以及其他多种癌变表现出明显的抑制作用,特别是对结肠癌^[14]、肝癌^[15]、肺癌^[16]、乳腺癌^[17]以及皮肤癌^[18]等均有很好的抑制作用。鞣花单宁与鞣花酸的性质相近,也具有抗氧化、抗炎、抗癌以及调节肠道菌群等多种生物活性,对癌症、糖尿病、心血管疾病和神经病变等慢性疾病具有潜在的抑制作用^[19]。

本文对植物体内鞣花酸的提取方法、提取率,纯化方法等进行了归纳总结,对鞣花酸在抗癌、抗氧化、抗炎、抗糖尿病等多方面的生物活性进行了系统归纳。随着对鞣花酸研究的不断深入,发现鞣花酸对维持人体健康具有巨大的潜力,且其作用范围大,在生产生活中也具有一定的应用前景。

1 鞣花酸提取制备研究进展

鞣花酸因其特殊的理化性质导致其在很多溶剂中的溶解度并不高,在目前的研究中,鞣花酸的提取方法主要可分为碱溶酸沉、直接提取法、溶剂提取法和化学合成法等。

1.1 碱溶酸沉法

鞣花酸是一种天然多酚类内酯化合物,含有酯基和酚羟基,容易与碱发生反应,同时其内酯结构也

容易在碱的作用下发生分解,所以鞣花酸在碱性条件下与碱反应,在酸性条件下沉淀产生结晶。Khac 等^[20]在文献中利用碱溶酸沉的方法提取鞣花酸:植物组织匀浆后用浸提液浸泡,减压抽滤过滤残渣将浸提液用 NaOH 调节 pH 至 10~13,后用稀盐酸将溶液调 pH 至 2~4,离心分离沉淀,水洗去杂即可得到鞣花酸粗品。

1.2 超声辅助酸水解法

超声波技术对植物细胞壁有破坏作用,其作用是使细胞内的温度不断升高,外界渗透压逐渐增大,植物细胞壁破碎,提取的产物从细胞中被释放出来。超声波辅助提取技术具有提取作用时间短、效率高、成本低的特点,同时还可以降低对热敏感物质在提取过程中被破坏的程度,能够提高目标物质的产量和质量。邱幼军等^[21]利用超声辅助提高鞣花酸的提取率,发现将 100 g 的样品充分分散于 100 mL 1.5 mol/L 稀盐酸溶液中,在 60 °C 条件下超声萃取 30 min 并重复提取 2 次,粗提液减压过滤,合并滤液,减压浓缩干燥,即可得到鞣花酸粗品,其提取率最高可达 4.3%。

1.3 溶剂提取法

溶剂提取法是鞣花酸提取方法中使用最为广泛的一种,但因鞣花酸的理化性质较为特殊,单纯的溶剂提取率并不理想,所以采用其他提取方法辅助溶剂提取,以达到提升提取效率的效果。

1.3.1 回流提取法 丙酮的极性与鞣花酸较为相似,且相对于其他溶剂最不易与其水解鞣质发生反应。李小萍^[22]利用丙酮作为提取溶剂测得最佳提取方法为:树莓果匀浆后用 80% 丙酮溶液(内含 1.2 mol/L 的盐酸以及 0.2 g 的维生素)料液比为 1 : 12,在 80 °C 的条件下回流提取 90 min,抽滤去除果渣,减压旋蒸去除丙酮,−20 °C 预冷,真空冷冻干燥获得粗提物粉末,在此条件下鞣花酸得率为 323 μg/g。

1.3.2 超声波辅助溶剂提取法 鞣花酸在抗氧化、抗癌及抗炎等方面均有较好的生理活性,但用其制备药物或保健品时,提取溶剂的选择往往备受关注。乙醇是一种毒性较低且被普遍接受的有机试剂,以乙醇为提取溶剂生物安全性更高,也更容易被消费者接受。王佳慧等^[23]将无水乙醇作为鞣花酸的提取溶剂,对树莓进行超声波辅助提取。利用响应面分析法对提取步骤进行优化,最终确定提取最佳工艺为:料液比 1 : 14 g/mL,超声提取 20 min,提取温度为 80 °C,在此条件下鞣花酸为 670.28 μg/g。

1.3.3 酸水解辅助溶剂提取法 园艺果实石榴其果皮不可食用,有研究证明石榴皮中富含多种有效活性物质,因此石榴皮的废弃造成了巨大的浪费。石榴皮具有价低量大的特点,所以加强石榴皮的利用率对部分生物活性物质的生产提取具有一定利用价值。Lu 等^[24]用 60% 乙醇作为提取溶剂来浸泡待提取样品,加热搅拌,减压旋蒸去除乙醇得粗提液,加去离子水混合粗提液至 150 mL 后加 5% 的 H_2SO_4 ,油浴水

解 5 h 或过夜, 在 50 ℃ 的烘箱中间隔搅拌收集沉淀, 深棕色沉淀即为鞣花酸粗品, 在此条件下 100 g 石榴皮中可以提取纯度 90% 鞣花酸 3.5 g。

1.4 发酵制备法

在生活中, 果渣因无法食用而被废弃, 但其中富含许多未被利用的有益活性成分, 果渣中有益成分的利用不仅减少了不必要的浪费, 还可以增大其利用率。例如 Vatterm 等^[25] 利用蔓越莓果渣配制食用真菌固态生长培养基, 真菌发酵处理蔓越莓果渣生成多酚类物质, 使得可萃取鞣花酸的含量增加, 反应后用 HPLC 测定鞣花酸的含量约为 350 μg/g。

1.5 鞣花酸的化学制备法

鞣花酸在植物界分布较为广泛, 但其含量较低, 在工业生产中以植物的营养部分作为样本提取成本较高, 不利于生产。利用单宁以及没食子酸进行化学制备, 更容易得到大量的鞣花酸单体。鞣花酸的化学制备方法可分为单宁降解法和没食子酸氧化聚合。单宁降解法即五倍子单宁氧化法, 五倍子单宁酸在碱性条件下氧化生成鞣花酸。在徐涓等^[26] 的研究中, 利用射流泵作为带气和充气装置, 用 NaOH 将溶于水的单宁酸 pH 调至 8.5, 20 ℃ 反应 8 h, 单宁酸的最佳浓度为 25 g/L。没食子酸氧化聚合: 鞣花酸是没食子酸的二聚体, 所以在过氧化物酶的催化下对没食子酸进行氧化聚合也可以得到鞣花酸^[7]。

2 鞣花酸纯化研究进展

鞣花酸的纯化方法主要有溶剂重结晶法、大孔树脂吸附法、高速逆流色谱(HSCCC)、高效液相色谱法(HPLC)等。

2.1 溶剂重结晶法

溶剂重结晶法是利用饱和溶液重结晶的方法, 得到较纯净的物质的一种纯化方法, 因其操作简单, 得到结晶较为纯净而被广泛利用。徐涓等^[26] 通过对不同提纯方法进行比较后, 确定以溶剂洗涤法为最佳方法, 且可通过调节料液比制备不同纯度的鞣花酸, 当鞣花酸与甲醇料液比为 1:100 g/mL, 65 ℃ 下搅拌 1 h, 洗涤 1 次可获取纯度约为 95% 的鞣花酸; 固定其余条件, 将料液比调为 1:200 g/mL 时即可获得纯度为 98% 的鞣花酸。

2.2 大孔树脂吸附法

大孔树脂的吸附力是依赖大孔树脂与被吸附物质之间的范德华力来进行的物理吸附, 从而达到分离的效果。王佳宁^[27] 将不同树脂对鞣花酸的吸附能力进行了对比, 最终选取大孔树脂 HPD-600 对鞣花酸粗提液进行第一次分离纯化。实验中先将大孔树脂 HPD-600 进行活化^[28] 后备用, 将提取的鞣花酸粗提液上柱动态吸附 6 h 后用蒸馏水冲洗除杂至无色, 再用 60% 的乙醇洗脱, 收集洗脱液后减压旋蒸除去乙醇, 定容测定鞣花酸的浓度为 61.07%, 利用 CG-161 树脂二次纯化后鞣花酸浓度可达 80.18%。

2.3 高速逆流色谱法

高速逆流色谱法是一种连续的高效的液—液色谱分离技术, 其固定相和流动相都是液体, 没有不可逆吸附, 因其具有回收率高、纯度高、制备量高的优点而被逐渐应用到天然化合物的分离实验中。吴梦琪等^[29] 以玫瑰花渣为原料, 75% 乙醇为溶剂, 料液比为 1:10 g/mL 加热回流提取 2 h, 重复提取两次, 抽滤后旋转蒸发去除溶剂, 加水洗涤后再次烘干, 得粗粉末。再通过大孔树脂 HP 200 进行第一次纯化后, 选取正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水(2:7:3.5:7, v/v)溶剂体系进行分离, 在紫外 254 nm 处进行检测。

2.4 高效液相色谱法

高效液相色谱法是目前常用的分离技术, 因其在短时间内快速高效分离检测样品而被广泛应用。杨光等^[30] 利用高效液相色谱法对树莓不同部位的鞣花酸进行了含量测定。在 600 mL 的超纯水中加入 6 mL 的乙酸混匀后, 再加入 400 mL 的甲醇混匀, 以此混合液作为流动相。最终确定色谱条件为流速为 1000 mL/min 柱温 30 ℃, 检测波长为 254 nm, 进样量为 10 μL, 并通过精密度、稳定性、重复性来验证该色谱条件的可行性。用鞣花酸标准品配置标准溶液, 以鞣花酸浓度为纵坐标, 鞣花酸峰面积为横坐标, 建立标准曲线, 用来计算样品中的鞣花酸浓度。

3 鞣花酸的生物活性

3.1 抗炎

3.1.1 抗神经炎症 小胶质细胞是中枢神经固有的免疫细胞。通常, 小胶质细胞存在于一个稳定的休眠状态, 但同时还可以免疫监控危险信号。然而, 小胶质细胞接收到神经元分泌的或外来病原体侵入所分泌的信号中时被刺激激活^[31-32]。神经退行性疾病中观察到经典的促炎激活信号通常与神经炎症有关, 其特征是引起许多细胞表面受体和细胞因子上调的典型炎症信号级联急剧变化^[33]。Gonçalo 等^[34] 的报道指出, 树莓提取物的 GIB(经过体外模拟肠胃消化后的产物)组分有一定的抗炎效果, 并且在细胞实验中也验证了 GIB 组分在生理浓度下无毒性。他们得出了以下结论: a. 经过树莓提取物的 GIB 组分预处理显著促进了脂多糖(LPS)刺激的 N9 小胶质细胞中的 IL-10 的释放; b. 在 ATP 刺激的小胶质细胞下清楚显示 GIB 组分具有抑制 NFATc1 的核易位的潜力; c. GIB 组分通过抑制 p38Thr180/Tyr182 位点的磷酸化而导致的 MAPK 信号转导; d. 树莓提取物的 GIB 组分通过减少 p65 的核易位和 Ser536 磷酸化来抑制 LPS 刺激激活 NF-κB。

3.1.2 抗炎 脂多糖可以显著提高血清中炎症因子的含量, 经鞣花酸处理后可以降低脂多糖引起的血清中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 的浓度。表明鞣花酸可以抑制细胞分泌炎症因子, 从而抑制炎症的发生。在吕广^[35] 的研究中发现, 经过 LPS 处理后 RAW264.7

巨噬细胞, a. 细胞内 NF- κ B 蛋白含量增加, 且呈剂量依赖性地随着鞣花酸浓度的增加含量逐渐减少; b. 细胞内 I κ B 的表达减少, 且呈剂量依赖性地随着鞣花酸浓度的增加含量逐渐增加; c. 细胞内 p-I κ B 蛋白的表达增加, 且呈剂量依赖性地随着鞣花酸浓度的增加抑制该蛋白的表达。

非甾体抗炎药 (ACF) 因其可抑制氧合酶-1 和氧合酶-2 的活性而常用于缓解疼痛和治疗炎症^[36], 但长期服用会引起一些上消化道并发症^[37]。Ashutosh 等^[38] 经过研究发现鞣花酸对长期服用 ACF 造成的氧化应激反应以及炎症具有缓解作用。以大鼠为试验对象, 口服 ACF 21 d 后进行实验, 发现大鼠肝脏出现肝损伤, 鞣花酸对 ACF 造成的体重减轻具有恢复作用。服用 ACF 的大鼠肝脏中的 MDA (丙二醛) 含量增加约为三周前的七倍, 鞣花酸对肝损伤具有较好的恢复作用。提取物鞣花酸 (测试浓度为 10~100 μ g/mL) 对 NO 的清除率为 26%~83%。与对照组相比服用 ACF 组大鼠肝脏中的抗氧化酶活性较低, 而鞣花酸对此具有较好的恢复作用。

3.2 抗氧化

氧化应激代表了生物中氧化/抗氧化反应平衡状态的一种紊乱。抗氧化剂和自由基之间的平衡是非常重要的, 它是通过统称为“氧化还原调节”的机制来调节的, 这种机制保护生物免受氧化应激^[39]。活性氧过量会损伤细胞脂质、蛋白质或 DNA, 抑制细胞正常功能^[40]。多酚的抗氧化活性主要是由羟基的数量和位置变化所引起的, 同时也与羟基的氢原子和氧原子键的解离焓相关^[41]。

崔珊珊等^[42] 利用微波提取法提取的鞣花酸为样品, 验证鞣花酸的总还原能力、DPPH 自由基清除能力以及羟自由基清除能力, 发现微波提取法提取的鞣花酸清除自由基的能力较高。在蒋新龙等^[43] 的研究中, 验证了鞣花酸对植物油的抗氧化作用。文章中以鞣花酸与大豆卵磷脂作为原材料制成鞣花酸磷脂复合物, 并且对核桃油以及葡萄籽油的抗氧化作用进行对比, 结果发现在添加了鞣花酸磷脂复合物之后植物油的氧化反应活化能有所增加, 相对于葡萄籽油鞣花酸磷脂复合物对核桃油的抗氧化效果较好。推测原因可能是两种植物油含有不同的脂肪酸成分, 以及不饱和脂肪酸油脂的氧化敏感程度不同。

3.3 抗癌

3.3.1 抗癌治疗靶点 乙醛酶-1 已经被证明是癌症治疗的潜在靶点。Nizar 等^[44] 经过研究发现多酚类化合物是潜在的乙醛酶-1 (GLO-I) 的抑制剂。乙醛酶系统是一种普遍存在的解毒系统, 由 GLO-I 和 GLO-II 组成, 解毒是将有毒的糖酵解副产物甲基乙二醛转化为 SLG。该过程由 GLO-I 催化硫代半缩醛异构化来进行, 硫代半缩醛由甲基乙二醛和谷胱甘肽自发合成 SLG, 然后 GLO-II 催化 SLG 水解释放无毒的 D-乳酸, 重新生成 GSH 辅助因子。由于甲氧

基乙醛和与其类似的氧醛的积累对细胞活力有害, 当这些有毒产物含量较高时, 有强效抑制剂作用的乙醛酶系统变成了一个潜在的治疗靶点。鞣花酸能与 GLO-I 稳定结合且形成稳定的复合物。鞣花酸的显著活性和效果归因于与 GLO-I 的多种相互作用, 最终导致活性位点的封闭。

3.3.2 抗胰腺癌 胰腺癌是一种具有侵略性的疾病, 死亡率非常高^[45], 且胰腺癌对化学治疗具有很强的抗性, 其中一个原因是胰腺癌对细胞凋亡的抗性^[46], 而细胞凋亡是通过激活半胱氨酸蛋白酶家族 caspase 来实现的。

Mouad 等^[47] 发现鞣花酸通过刺激凋亡细胞核小体 DNA 片段化促进人胰腺癌 PaCa 细胞的凋亡。进一步研究结果表明鞣花酸对人胰腺癌 MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞的增殖均有剂量依赖性的抑制作用, 并且在 50 μ mol/L 时效果最好。鞣花酸诱导线粒体凋亡途径与线粒体去极化、细胞色素 C 的释放和 caspase 下游活化有关。鞣花酸不直接影响胰腺癌细胞的线粒体功能, 根据一系列的实验发现鞣花酸并没有增加细胞色素 C 从分离的线粒体中释放到培养基中, 且鞣花酸对渗透细胞线粒体呼吸几乎没有任何的影响。鞣花酸通过和 NF- κ B 相同的机制来抑制细胞凋亡。NF- κ B 是一个关键的转录因子, 在包括胰腺癌细胞在内的癌细胞中通常被激活, 它具有抗凋亡作用。而鞣花酸剂量依赖性的降低了 MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞的 NF- κ B 结合活性。

3.3.3 抗黑色素细胞瘤 恶性黑色素瘤是最具有侵袭性的恶性肿瘤之一。Tan 等^[48] 通过研究发现, 用鞣花酸处理的 B16F10 细胞 G1 期阻滞, p53 聚集, ATK 失活。在加入 PTNE 抑制剂后, 可以使鞣花酸引起的 ATK 失活和 G1 期阻滞消失, 同时还能减少鞣花酸诱导的 p53 的积累。鞣花酸可明显增加 PTNE 的蛋白磷酸酶活性, 分析表明鞣花酸对 TPNE 的活性有直接调节作用。鞣花酸作为 TPNE 的变构调节剂, 在抑制其脂质磷酸酶活性的同时, 也增强了其蛋白磷酸酶的活性。报道中还指出鞣花酸与化疗药物顺铂联合应用可显著提高 B16F10 细胞的死亡率。

细胞周期的阻滞能力对于细胞维持基因组稳定性时具有很重要的作用, 细胞周期的失调往往会导致癌症的发生。鞣花酸诱导的 G1 期阻滞以及抗增殖作用呈剂量依赖型。用流式细胞仪检测到用不同浓度的纯鞣花酸处理细胞时起初并没有明显的细胞减少现象, 24 h 后观察到细胞数量呈剂量依赖性的减少。

3.3.4 抗肺癌 肺癌是一种常见且致死率很高的癌症, 大部分肺癌是非小细胞肺癌^[49]。段婧^[16] 的研究表明鞣花酸对非小细胞肺癌 HOP62 和 H1975 细胞系均有抑制作用, 并且呈剂量依赖性。进一步研究发现其原理并不是激活 caspase 通路, 而是抑制 mTOR 磷酸化, 从而影响 Akt-mTOR 通路引发细胞自噬, 同

时少量增加 G2/M 细胞周期抑制癌细胞生长。

3.3.5 抗肝癌 肝癌是致死率极高的恶性肿瘤之一^[50]。临床治疗通常采用手术切除、移植、放疗等手段^[51]。但由于现存的治疗手段十分受限,所以研发新型的治疗方法十分必要。鞣花酸对多种肿瘤均具有良好的抑制作用,除了直接影响基因表达及蛋白质功能以外^[52-53],还可以通过调控微小 RNA 来抑制肿瘤^[54]。钟晨^[55]发现鞣花酸对 HepG2 细胞的抑制作用具有剂量和时间依赖性,结果表明鞣花酸可将该细胞周期阻滞在 G₀/G₁,同时也可以引发 DNA 损伤。通过体外实验证明鞣花酸联合盐酸阿霉素或顺铂能够有效的抑制肝癌细胞的生长,并且通过激活线粒体途径引发细胞凋亡。

3.4 解毒作用

3.4.1 缓解亚硝酸盐导致的病变 亚硝酸盐被应用于血管扩充剂、支气管扩充剂以及缓解氰化物中毒等方面,但亚硝酸盐摄入量过多会导致一系列疾病^[56]。亚硝酸盐的主要摄入方式为口服,在胃肠中的酸性环境下亚硝酸盐会被转化为亚硝酸胺,而亚硝酸胺有致癌风险^[57]。长期低剂量摄入亚硝酸盐会对健康造成损伤,如呼吸系统疾病、神经系统损伤、出生缺陷等^[58],长期大量摄入则有致癌的风险^[59]。

Amira 等^[60]的研究表明鞣花酸对摄入亚硝酸盐导致的病变具有缓解功效,未服用鞣花酸壳聚糖颗粒的大鼠在连续摄入亚硝酸盐 2 g/L 水溶液 8 周后造成了部分大鼠出现死亡、偏瘫、腹部肿瘤等,血液中血红蛋白水平明显下降,而在摄入亚硝酸盐的同时服用鞣花酸其血红蛋白含量接近正常水平。大鼠在停止摄入亚硝酸盐时血液中 AST(谷草转氨酶)活性与尿素含量会恢复至原来水平,而在摄入亚硝酸盐的同时服用鞣花酸其血液中 AST 活性显著下降。

3.4.2 缓解马兜铃酸导致的急性肾损伤 马兜铃酸是主要从马兜铃属植物中获得的一类硝基菲羧酸类化合物^[61],而含有这类物质的中药其在临床上常用于肝炎、痛风、高血压等疾病的治疗^[62]。短期大量摄入马兜铃酸会导致肾小管上皮细胞损伤,造成肾纤维化等^[63]。在付千^[64]的研究中发现,鞣花酸对马兜铃酸造成的急性肾损伤有缓解作用,在体外研究中鞣花酸可以抑制由马兜铃酸造成的 HK-2(人肾小管上皮细胞)细胞的凋亡,其通过抑制 NF- κ B/NLRP3 炎性小体的激活来抑制马兜铃酸诱导的细胞凋亡。在体内研究中检测发现小鼠尿液中蛋白浓度以及血清中尿素氮、肌酐均呈剂量依赖性的降低,鞣花酸可以改善肾小管损伤程度,以及肾纤维化等。

3.5 缓解糖尿病

在高糖作用下的 HepG2 细胞中,鞣花酸(15~30 μ mol/L)可加强葡萄糖的利用率,类似于胰岛素增敏药物二甲双胍的最高剂量(150 μ mol/L)。鞣花酸上调胰岛素受体底物, Akt 和细胞外信号调节激酶(ERK)在胰岛素的刺激下磷酸化^[65]。同样的鞣花酸

也促进刺激葡萄糖诱导小鼠离体胰岛的胰岛素分泌,但并没有达到促分泌药物拖布他胺的作用。许多文章报道了鞣花酸和鞣花酸衍生物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用的剂量依赖性效率。链脲佐菌素(STZ)会导致胰岛 β 细胞被破坏,进而影响胰岛素的产生,导致胰岛素依赖性糖尿病。在给 STZ 糖尿病大鼠 OGTT(口服葡萄糖耐量试验)前 60 min 给鞣花酸(25、50、100 mg/kg),鞣花酸以剂量依赖性降低血糖^[66]。鞣花酸以 25、50、100 mg/kg 进行给药,2 d 一次,10 d 后以剂量依赖性降低空腹血糖,同时增加胰岛素水平^[67]。

Jozaa 等^[68]发现 Nrf 2 的激活对由链脲佐菌素(STZ)诱导的大鼠糖尿病肾病具有保护作用,在用鞣花酸对诱导的大鼠进行 8 周的治疗后发现鞣花酸通过抗氧化和抗炎作用来改善糖尿病肾病。鞣花酸可以使 NF- κ B 的降低、GSH 的活性升高 γ -GCL 和 SOD 活性的降低以及 Nrf2 核转运增加有关。鞣花酸还可以抑制 Keap1 的胞浆表达及其与 Nrf2 的相互作用,增加了 Akt 和 GS3K β 的磷酸化,降低了 Fyn 的磷酸化和核积累。在实验给药的同时增加了一组 STZ+EA+三尖杉碱,发现三尖杉碱可以抑制上述鞣花酸的功能,从而发现鞣花酸是通过抗氧化和抗炎作用来改善糖尿病和肾病的。

3.6 抑菌作用

闫莉等^[69]发现鞣花酸对龋齿菌有抑制作用。当鞣花酸浓度在 12.5~50 mg/mL 时,变异链球菌产生了抑菌圈,且抑菌圈直径>15 mm。进一步研究发现鞣花酸对变异链球菌的生长以及生物膜的形成均有抑制作用,其机制可能是通过抑制(细胞外多糖)EPS 产生,降低细菌的黏附,破坏细菌细胞膜,从而降低细菌活性。

3.7 调控细胞周期

郑进萍等^[70]发现鞣花酸对 IPEC-J2(猪肠道上皮细胞)细胞具有增殖作用以及抑制凋亡的作用,且呈剂量依赖型。经实验验证发现鞣花酸对该细胞的增殖作用以及抑制凋亡作用的机制与 Bax、caspase-3、caspase-8、caspase-9 的 mRNA 表达的下调有关。吴家荣^[71]同样进行了鞣花酸对 IPEC-J2 细胞影响的研究。结果表明鞣花酸可增加与其紧密连接相关的基因 *cyclinA*、*cyclinB*、*cyclinC*、*cyclinD*、*cyclinE* 的表达。鞣花酸对细胞膜屏障具有保护作用。Leticia 等^[72]用石榴皮提取物即鞣花酸和鞣花酸衍生物处理 TPH-1 细胞后发现其能够促进 DNA 片段化(主要作用在 G2/M 期),大约为未处理细胞的七倍左右,而 DNA 片段化的细胞的增加预示着细胞凋亡的诱导,是一种早期的应答性细胞死亡,是预测肿瘤及抗肿瘤治疗反应的重要指标。

3.8 保持肠道健康

鞣花单宁很难被生物体的肠道直接吸收,在小肠微生物或者生理 pH 下水解生成鞣花酸,游离的鞣

花酸可以在小肠被吸收^[73]。研究发现鞣花酸对一系列的致病菌具有抑制作用^[74-75],例如:致病性的大肠杆菌、铜绿假单胞菌、霍乱弧菌等,但出乎意料的是鞣花酸对益生菌和双歧杆菌不具有抑制作用,尤其对 *Breve* 双歧杆菌以及 *infantis* 双歧杆菌具有明显的促进作用^[76]。

未被吸收消化的鞣花单宁以及鞣花酸在进入结肠后,由微生物代谢产生一系列的鞣花酸代谢产物——尿石素^[77]。尿石素代谢产物被证明可以抑制病原菌^[78],促进或者不影响益生菌的活性。

3.9 其他作用

鞣花酸的抗癌^[33]、抗炎^[44]、抗氧化^[41]效果较为显著且均已得到验证并有文章报道,而鞣花酸是否具有其他的生物活性有待进一步验证,在徐冰等^[79]的报道中发现鞣花酸对黄褐斑具有一定的抑制作用,自愿受试者连续服用覆盆子提取物 30 d 后,观察结果显示,受试者身体表面黄褐斑的面积以及颜色都有不同程度的减少,且并未产生新的黄褐斑,实验中统计有效率为 68% 左右。

心脑血管类疾病是一种在老年群体中高发的疾病,抗凝血剂可缓解部分的血栓形成或由血栓造成的疾病,对于心血管具有一定的保健作用,赵慧等^[80]的研究发现鞣花酸具有一定的抗凝血效果,以中药地榆为原材料,在正常人抗凝血浆中加入炮制的地榆提取液以及钙离子,钙离子促进血液凝固。实验后发现地榆经过适当炮制后的提取液加入抗凝血浆中,在 5 min 内血红蛋白的吸光度值的变化率最高,表现出较强的抗凝血作用。

阿尔兹海默症(AD)是一种神经退行性疾病,老年人发病率较高,其发病后无法根治,随着社会老龄化加重,逐渐引起人们的广泛关注并成为现今研究热点。其中,一种较为认可的发病机制为 β 淀粉样蛋白的积累,通过缓解其在脑中的大量积累来缓解 AD 的病症。仲丽丽等^[81]发现鞣花酸对阿尔兹海默症(AD)具有缓解作用。用 APP/PS1 双转基因小鼠来模拟 AD 的病理变化以及行为学特征。他们利用水迷宫锻炼小鼠的记忆力,用富含鞣花酸的石榴汁对转基因小鼠进行灌胃,实验结果表明进行灌胃的小鼠的空间学习以及记忆力要高于空白组,且小鼠脑中 β 淀粉样蛋白的堆积减少。

肥胖目前成为全球性的健康问题,过度肥胖会影响身体健康同时也会引起多种疾病。在焦士蓉等^[82]发现鞣花酸具有抑制人脂肪干细胞生长活性的作用,且呈剂量效应关系,当鞣花酸浓度为 4.5 $\mu\text{g/mL}$ 时,对人脂肪干细胞生长的抑制率约为 47.23%。综上所述,鞣花酸在保健方面具有较好的效果,对其进行深入研究对人类健康十分有益。

4 结语与展望

鞣花酸作为一种天然多酚二内酯,广泛分布在自然界中。因其特殊的理化性质导致其很难被提取

纯化,又因游离的鞣花酸含量较低、提取率不高等问题,并未被大量投入到生产生活中。随着科技地不断发展,提取方法地逐渐优化,使得鞣花酸的提取率不断提高,并且可以通过化学合成法大量合成,使其在人类疾病治疗以及生产生活中有了更好的应用前景。目前,对于鞣花酸的生理活性以及如何提高鞣花酸提取率都有较为系统的研究,本文对其进行了系统性的整理,为后期鞣花酸的应用和发展提供部分的理论基础。鞣花酸具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗糖尿病等多种生物活性并对一些慢性疾病具有较好的抑制作用,因鞣花酸对保持人体健康具有一定的辅助作用,其在生物医药中具有巨大发展前景,但其在临床医学中的应用还需深入研究。目前,鞣花酸保健品在一些发达国家中很受欢迎,而国内鞣花酸在生物医药、日常生产生活中应用前景还有很大的发展空间,值得进行更为深入的研究。

参考文献

- [1] ROMMEL A, WROLSTAD R. Ellagic acid content of red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993, 41(11): 1951-1960.
- [2] 骆菊文, 蒋新元, 徐佳敏, 等. 鞣花酸的稳定性及其保护研究[J]. *日用化学工业*, 2020, 50(8): 547-552. [LUO J W, JIANG X Y, XU J M, et al. Study on the stability and protection of ellagic acid[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2020, 50(8): 547-552.]
- [3] 张立华, 郝兆祥, 董业成. 石榴的功能成分及开发利用[J]. *山东农业科学*, 2015, 47(10): 133-138. [ZHANG L H, HAO Z X, DONG Y C. Functional components and development and utilization of pomegranate[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47(10): 133-138.]
- [4] 吴小磊, 钟晨, 史金铭. 鞣花酸的生物学效应[J]. *中国林副特产*, 2019(1): 73-78. [WU X L, ZHONG C, SHI J M. Biological effect of ellagic acid[J]. *Forest by-Product and Speciality in China*, 2019(1): 73-78.]
- [5] MAAS J L, WANG S Y, GALLETTA G J. Evaluation of strawberry cultivars for ellagic acid content[J]. *Hort Science*, 1991, 26(1): 66-68.
- [6] MAR L, ANTONIO G, TERESA G M, et al. Urolithins, ellagic acid-derived metabolites produced by human colonic microflora, exhibit estrogenic and antiestrogenic activities[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(5): 1611-1620.
- [7] 李素琴, 袁其朋, 徐健梅. 鞣花酸的生理功能及工艺开发研究现状[J]. *天然产物研究与开发*, 2001, 13(5): 71-74, 79. [LI S Q, YUAN Q P, XU J M. The physiological function of ellagic acid and the research development on its production process[J]. *Natural Product Research and Development*, 2001, 13(5): 71-74, 79.]
- [8] UST A, OZDEMI R, SCHIARIT I, et al. The pharmacological use of ellagic acid-rich pomegranate fruit[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2013, 64(7): 907-913.
- [9] SAYEDALIREZA M, SAYEDMOJTABA M. Benefits of ellagic acid from grapes and pomegranates against colorectal cancer

- [J]. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 2017, 8(3): 226–227.
- [10] XU Y, CHARLES M T, LUO Z, et al. Preharvest ultraviolet C irradiation increased the level of polyphenol accumulation and flavonoid pathway gene expression in strawberry fruit[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(46): 9970–9979.
- [11] DANH V C, PHUC V H, MARK C V, et al. Identification and characterization of phenolic compounds in black walnut kernels[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(17): 4503–4511.
- [12] BALA I, BHARDWAJ V, HARIHARAN S, et al. Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, 40(1): 206–210.
- [13] KILIC K, YEŞİM Y, BAYRAK Y. Spectroscopic studies on the antioxidant activity of ellagic acid[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, 130: 477–452.
- [14] SYED U, PONNURAJ N, GANAPASAM S. Ellagic acid inhibits proliferation and induced apoptosis via the Akt signaling pathway in HCT-15 colon adenocarcinoma cells[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 399(1-2): 303–313.
- [15] SRIGOPALRAM S, JAYRAAJ I A, KALEESWARAN B, et al. Ellagic acid normalizes mitochondrial outer membrane permeabilization and attenuates inflammation-mediated cell proliferation in experimental liver cancer[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 173(8): 2254–2266.
- [16] 段婧. 鞣花酸对非小细胞肺癌的抑制作用及机制研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018. [DUAN J. Ellagic acid exert anti-non-small cell lung cancer activity *in vitro* and *in vivo*[D]. Beijing: China Agricultural University, 2018.]
- [17] SHI L, GAO X, LI X, et al. Ellagic acid enhances the efficacy of PI3K inhibitor GDC-0941 in breast cancer cells[J]. *Current Molecular Medicine*, 2015, 15(5): 478–486.
- [18] 王丹, 王悦欣, 汪熠, 等. 鞣花酸对皮肤基底细胞癌 A431 和 HSC-2 细胞增殖、凋亡、侵袭能力的影响[J]. *癌症进展*, 2020, 18(4): 356–358, 432. [WANG D, WANG Y X, WANG Y, et al. Effects of ellagic acid on proliferation, apoptosis and invasion of human basal cell carcinoma A431 and HSC-2[J]. *Oncology Progress*, 2020, 18(4): 356–358, 432.]
- [19] SEERAM N P, HENNING S M, ZHANG Y J, et al. Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 h[J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(10): 2481–2485.
- [20] KHAC D D, TRAN-VAN S, CAMPOS A M, et al. Ellagic compounds from *Diplopanax stachyanthus*[J]. *Pergamon*, 1990, 29(1): 251–256.
- [21] 邱幼军, 贾光锋. 超声强化提取石榴皮鞣花酸的工艺研究[J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(19): 3703–3705. [DIY J, JIA G F. Study on the ultrasonic extraction process of ellagic acid from pomegranate husk[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2010, 10(19): 3703–3705.]
- [22] 李小萍. 红树莓果中鞣花酸的提取、纯化及抗氧化性和抑菌活性的初步研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010. [LI X P. Study on extraction, refining and oxidation-resistant and antimicrobial effects of ellagic acid from red raspberry[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2010.]
- [23] 王佳慧, 于欣悦, 廖声玲, 等. 树莓中鞣花酸提取工艺的优化[J]. *中国林副特产*, 2017(4): 14–17. [WANG J H, YU X Y, LIAO S L, et al. Optimization of extraction process of ellagic acid from raspberry[J]. *Forest by-product and Speciality in China*, 2017(4): 14–17.]
- [24] LU J, YUAN Q. A new method for ellagic acid production from pomegranate husk[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2008, 31(4): 443–454.
- [25] VATTEM D A, SHETTY K. Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system[J]. *Process Biochemistry*, 2003, 39(3): 367–379.
- [26] 徐涓, 张弘, 李坤, 等. 液气射流技术改进单宁酸氧化制备高纯度鞣花酸[J]. *精细化工*, 2021, 38(5): 994–1001, 1037. [XU J, ZHANG H, LI K, et al. Improved tannic acid oxidation by liquid-gas jet technology for preparation of high purity ellagic acid[J]. *Fine Chemicals*, 2021, 38(5): 994–1001, 1037.]
- [27] 王佳宁. 蓝靛果鞣花酸分离纯化及对脂质过氧化作用的影响研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2018. [WANG J N. Separation and purification of ellagic acid of and its effect on lipid peroxidation in *Lonicera caerulea* L.[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2018.]
- [28] 郝少莉, 陈小蒙, 仇学农. 苹果渣中多酚物质的纯化及其抑菌活性的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(11): 86–90. [HAO S L, CHEN X M, QIU X N, et al. Study on purification and antimicrobial activity of polyphenols in apple pomace[J]. *Food Science*, 2007, 28(11): 86–90.]
- [29] 吴梦琪, 黄海, 蔡狄宏, 等. 大孔吸附树脂-高速逆流色谱法分离纯化苦水玫瑰花渣中的鞣花酸[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(5): 182–187. [WU M Q, HUANG H, CAI D H, et al. Separation and purification of ellagic acid from *rosa setata* x *rosa rugosa* waste by macroporous resin and high-speed countercurrent chromatography[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(5): 182–187.]
- [30] 杨光, 周双, 孙兰英, 等. HPLC 法测定秋果型树莓不同部位鞣花酸的含量[J]. *黑龙江农业科学*, 2021(3): 86–89. [YANG G, ZHOU S, SUN L Y, et al. Determination of ellagic acid in different part of raspberry by HPLC[J]. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2021(3): 86–89.]
- [31] FERNANDES A, RIBEIRO A R, MONTEIRO M, et al. Secretome from SH-SY5Y APP Swe cells trigger time-dependent CHME3 microglia activation phenotypes, ultimately leading to miR-21 exosome shuttling[J]. *Biochimie*, 2018: 67–82.
- [32] LEHNARDT S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: The role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury[J]. *Glia*, 2010, 58(3): 43–52.
- [33] GRAEBER M B, STREIT W J. Microglia: Biology and pathology[J]. *Acta Neuropathologica*, 2010, 119(1): 89–105.
- [34] GONÇALO G, FARIA P T, PAULA P, et al. Bioaccessible raspberry extracts enriched in ellagitannins and ellagic acid derivatives have anti-neuroinflammatory properties[J]. *Antioxidants*, 2020,

9(10): 790.

[35] 吕广. 鞣花酸对脂多糖诱导的炎症反应的抑制作用和机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2016. [LYU G. Inhibitory effects and mechanisms of ellagic acid on lipopolysaccharide-induced inflammation[D]. Changchun: Jilin University, 2016.]

[36] SIMON J P, PRINCE S E. Aqueous leaves extract of *Madhuca longifolia* attenuate diclofenac-induced hepatotoxicity: Impact on oxidative stress, inflammation, and cytokines[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2018, 119(7): 6125–6135.

[37] ZARAGOZA M A, ALFONSO M V, ROIG C E. NSAID-induced hepatotoxicity: Aceclofenac and diclofenac[J]. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas: Organo Oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva*, 1995, 87(6): 472–475.

[38] ASHUTOSH G, PANDEY A K. Aceclofenac-induced hepatotoxicity: An ameliorative effect of *Terminalia bellirica* fruit and ellagic acid[J]. *World Journal of Hepatology*, 2020, 12(11): 949–964.

[39] VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. *Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 44–84.

[40] HALLIWELL B. Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence[J]. *Lancet*, 1994, 344(8924): 721–724.

[41] KUREK-GÓRECKA A, RZEPECKA-STOJKO A, GÓRECKI M, et al. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis[J]. *Molecules* 2014, 19: 78–101.

[42] 崔珊珊, 毕凯媛, 吴杰, 等. 响应面法优化树莓鞣花酸提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(1): 149–155, 161. [CUI S S, BI K Y, WU J, et al. Optimization of extraction technology and antioxidative activity of ellagic acid in raspberry by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(1): 149–155, 161.]

[43] 蒋新龙, 吴小刚, 郭叶莹, 等. 鞣花酸磷脂复合物制备及其对植物油抗氧化作用[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(2): 81–88. [JIANG X L, WU X G, GUO Y Y, et al. Preparation of ellagic acid phospholipid complex and its antioxidative effect on vegetable oil[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(2): 81–88.]

[44] NIZAR A, QOSAY A, MOHAMMAD A, et al. Ellagic acid: A potent glyoxalase-I inhibitor with unique scaffold[J]. *Acta Pharmaceutica*, 2021, 71(1): 115–130.

[45] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209–249.

[46] GUKOVSKAYA A S, PANDOL S J. Cell death pathways in pancreatitis and pancreatic cancer[J]. *Pancreatology*, 2004, 4(6): 567–586.

[47] MOUAD E, IRINA O, IZUMI O, et al. Ellagic acid induces apoptosis through inhibition of nuclear factor κ B in pancreatic cancer cells[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2008(23): 3672–3680.

[48] TAN Y H, SHUDO T, YOSHIDA T, et al. Ellagic acid, ex-

tracted from *Sanguisorba officinalis*, induces G1 arrest by modulating PTEN activity in B16F10 melanoma cells[J]. *Genes to Cells*, 2019, 24(11): 688–704.

[49] AMANAM I, GUPTA R, MAMBETSARIEV I, et al. The brigatinib experience: A new generation of therapy for ALK-positive non-small-cell lung cancer[J]. *Future Oncol*, 2018: 0545.

[50] KIM D W, TALATI C, KIM R. Hepatocellular carcinoma (HCC): Beyond sorafenib-chemotherapy[J]. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2017, 8(2): 256–265.

[51] WYLLY R G, CECILIA Z. Ellagic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in liver protection[J]. *Pharmacological Research*, 2015, 97: 84–103.

[52] ZHAO M, TANG S, JUSTIN L, et al. Ellagic acid inhibits human pancreatic cancer growth in Balb c nude mice[J]. *Cancer Letters*, 2013, 337(2): 210–271.

[53] YUAN C, LI C, MING H, et al. The inhibitory effect of ellagic acid on cell growth of ovarian carcinoma cells[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 2013: 705–717.

[54] RADHA M, FARRUKH A, MANICKA V, et al. MicroRNA ‘signature’ during estrogen-mediated mammary carcinogenesis and its reversal by ellagic acid intervention[J]. *Cancer Letters*, 2013, 339(2): 175–184.

[55] 钟晨. 鞣花酸抑制肝癌的分子机制及其与两种化疗药物协同作用的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2019. [ZHONG C. The mechanisms of ellagic acid against hepatocellular carcinoma and synergistic effects of its combinations with two chemotherapeutic agents[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2019.]

[56] NARAZHNYI S V, ROZANOVA K D, BOBROVA O M, et al. Antioxidant and antiradical effects of extracts derived from cryopreserved human placenta[J]. *Probl Cryobiol Cryomed*, 2018, 28(4): 322–332.

[57] HIROSHI O, YUMIKO Y, SEBASTIEN A, et al. Antioxidant and pro-oxidant actions of flavonoids: Effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxynitrite and nitroxyl anion[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1998, 25(9): 1057–1065.

[58] NATHAN S B, JOSEPH L. Nitrite and nitrate in human health and disease[M]. Humana Press: 2011-01-01.

[59] ZHOU L, ZAHID M, ANWAR M M, et al. Suggestive evidence for the induction of colonic aberrant crypts in mice fed sodium nitrite[J]. *Nutrition and Cancer*, 2016, 68(1): 105–112.

[60] AMIRA R, TAREK M, EHAB M. Detoxifying and antioxidant effect of ellagic acid nano particles in rats intoxicated with sodium nitrites[J]. *Applied Biological Chemistry*, 2020, 63(1): 322–332.

[61] 王德平, 毛晓春. 中药马兜铃酸的研究进展[J]. *北方药学*, 2014, 11(11): 97–98. [WANG D P, MAO X C. Research progress of aristolochic acid[J]. *Journal of North Pharmacy*, 2014, 11(11): 97–98.]

[62] CHAN C K, LIU Y S, PAVLOVIĆ N M, et al. Etiology of balkan endemic nephropathy: An update on aristolochic acids exposure mechanisms[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2018, 31(11): 1109–1110.

- [63] ZENG Y G, ZHENG L, YANG Z G, et al. Protective effects of cyclic helix B peptide on aristolochic acid induced acute kidney injury[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 94: 1167–1175.
- [64] 付千. 鞣花酸对马兜铃酸 I 诱导急性肾损伤的保护作用及其机制研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2020. [FU Q. Protective effect and mechanism of ellagic acid on aristolochic acid I induced acute renal injury[D]. Wuhan: South-Central University For Nationalities, 2020.]
- [65] DING X, JIAN T, WU Y, et al. Ellagic acid ameliorates oxidative stress and insulin resistance in high glucose-treated HepG2 cells via miR-223/keap1-Nrf2 pathway[J]. *Biomed Pharm*, 2019, 110: 85–94.
- [66] FATIMA N, HAFIZUR R M, HAMEED A, et al. Ellagic acid in *Embllica officinalis* exerts anti-diabetic activity through the action on β -cells of pancreas[J]. *European Journal of Nutrition*, 2017, 56(2): 591–601.
- [67] MANNA K, MISHRA S, SAHA M, et al. Amelioration of diabetic nephropathy using pomegranate peel extract-stabilized gold nanoparticles: Assessment of NF- κ B and Nrf2 signaling system[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2019, 14: 1753–1777.
- [68] JOZAA Z, NORA A, REHAM I, et al. Ellagic acid protects against diabetic nephropathy in rats by regulating the transcription and activity of Nrf2[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 79: 397–407.
- [69] 闫莉, 周晓英. 鞣花酸对变异链球菌的体外抑菌作用及机制研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(5): 607–611. [YAN L, ZHOU X Y. Study on *in vitro* anti-bacterial activity and mechanism of ellagic acid on streptococcus mutans[J]. *China Pharmacy*, 2020, 31(5): 607–611.]
- [70] 郑进萍, 欧正阳, 曾圳, 等. 鞣花酸对 IPEC-J2 细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2021(7): 126–130, 158–159. [ZHENG J P, OU Z Y, ZENG C, et al. Effects of ellagic acid on apoptosis and apoptosis-related gene expression in IPEC-J2 cells[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021(7): 126–130, 158–159.]
- [71] 吴家荣. 鞣花酸对 IPEC-J2 细胞保护作用的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2018. [WU J R. Study on the protective effect of ellagic acid in IPEC-J2 cells[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2018.]
- [72] LETICIA T, ROCCHETTI S, MARIANA C, et al. Characterization of pomegranate peel extracts obtained using different solvents and their effects on cell cycle and apoptosis in leukemia cells[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(10): 5483–5496.
- [73] MAR L, MARÍA T, JUAN C. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2010, 31(6): 513–539.
- [74] 柏宏伟, 成军, 杨柳, 等. 板栗雄花序萃取物抗氧化及抑菌效果[J]. *林业科学*, 2015, 51(5): 145–152. [BO H W, CHENG J, YANG L, et al. Antioxidation and antimicrobial activities of extracts parts of chestnut catkins[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2015, 51(5): 145–152.]
- [75] CARLOS E, BARRIO G, BEGOÑA C, et al. Iberian pig as a model to clarify obscure points in the bioavailability and metabolism of ellagitannins in humans[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(25): 10476–10485.
- [76] BIALONSKA D, SASHI G, KEVIN K, et al. The effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(18): 8344–8349.
- [77] KANG I, BUCKNER T, SHAY N F, et al. Improvements in metabolic health with consumption of ellagic acid and subsequent conversion into urolithins: Evidence and mechanisms[J]. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, 2016, 7(5): 961–972.
- [78] BASTIDA J, TRUCHADO P, LARROSA M, et al. Urolithins, ellagitannin metabolites produced by colon microbiota, inhibit Quorum Sensing in *Yersinia enterocolitica*: Phenotypic response and associated molecular changes[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1465–1477.
- [79] 徐冰, 张聪恪, 王海玉, 等. 覆盆子提取物祛黄褐斑作用研究[J]. *中国实用医药*, 2012, 7(8): 24–25. [XU B, ZHANG C K, WANG H Y, et al. Study on the effect of removing chloasma of Raspberry extract[J]. *China Prac Med*, 2012, 7(8): 24–25.]
- [80] 赵慧, 张学顺, 戴衍朋, 等. 炮制对地榆中鞣质类成分含量及凝血作用的影响[J]. *山东农业科学*, 2018, 50(12): 127–131. [ZHAO H, ZHANG X S, DAI Y P, et al. Effect of processing on content of tannins and blood coagulation in *Sanguisorba officinalis* L. [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2018, 50(12): 127–131.]
- [81] 仲丽丽, 于颖, 易娅静, 等. 鞣花酸对阿尔茨海默病小鼠学习和记忆能力的影响及其分子机制[J]. *山东医药*, 2020, 60(35): 38–41. [ZHONG L L, YU Y, YI Y J, et al. Effect of ellagic acid on learning and memory of mice with Alzheimer's disease and its molecular mechanism[J]. *Shandong Medical Journal*, 2020, 60(35): 38–41.]
- [82] 焦士蓉, 唐子尧, 孙博瑞, 等. 石榴皮提取物和鞣花酸对脂肪干细胞增殖和分化的影响[J]. *西华大学学报(自然科学版)*, 2019, 38(2): 48–51. [JIAO S R, TANG Z R, SUN B R, et al. Effect of pomegranate peel extract and ellagic acid on human adipose-derived cells proliferation and differentiation[J]. *Journal of Xihua University (Natural Science Edition)*, 2019, 38(2): 48–51.]