

## · 专论与综述 ·

## 松树皮提取物 Pycnogenol 的生物学和疾病防治功能研究进展

赖 斐<sup>1</sup>, 谢 衡<sup>2</sup>, 王金发<sup>1\*</sup>

(1. 中山大学生命科学学院 教育部基因工程重点实验室, 广东 广州 510275;

2. 广东嵩珍营养源研究所, 广东 广州 510440)

**摘 要:** 松树皮是一种古老的药材, 其药用价值现今得到了世界范围内的关注。20 世纪 50 年代, 法国海岸松树皮提取物被制成保健品 Pycnogenol。笔者概括了有关松树皮提取物化学成分分析的研究, 总结了作为强抗氧化剂的松树皮提取物在调控一氧化氮的生成、自由基清除及参与细胞抗氧化体系活动等方面的生物学功能, 同时综述了该物质对心血管系统、免疫系统、神经系统、生殖系统疾病及糖尿病、癌症等的防治作用, 并对其今后的发展趋势作了展望。

**关键词:** 松树皮提取物; Pycnogenol; 抗氧化活性

**中图分类号:** R282.71 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2005)01-0127-05

## Functions of biology and disease control with Pycnogenol from pine bark extract

LA I Fei<sup>1</sup>, XIE Heng<sup>2</sup>, WANG Jin-fa<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Gene Engineering of Ministry of Education, School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2. Guangdong Institute of Songzhen Nutritional Research, Guangzhou 510440, China)

**Key words:** pine bark extract; Pycnogenol(PYC); antioxidant activity

以松入药或以松作食在我国已有悠久的历史。据《本草纲目》记载:“久服松针,令人不老,轻身益气,绝谷不饥不渴”,并说松“主治风湿症,生毛发,安五脏,守申,不饥延年,去风痛脚痹,杀米虫,历节岗痛,风牙肿痛,阴囊湿痒”。西方关于松的利用历史也可以追溯到两千年前。最早的记载见于公元前 4 世纪。当时人们已经懂得用松皮治疗免疫疾病。由药学家 M inner 于 1479 年完成的《医药百科全书》中提到松皮对外伤恢复有一定疗效<sup>[1]</sup>。

延至今日,松的药用价值已在世界范围内得到关注和推广。20 世纪 50 年代,取自生长于法国 Gascony 的海岸松 *Pinus maritima* Miller *P. Sylvestris* 的松皮提取物被制成保健品,注册商标名为“Pycnogenol”(PYC)<sup>[2]</sup>。随着 PYC 多种生物学及医学上作为抗氧化剂的功能被陆续发现,松树皮提取物引起了越来越多学者的关注。

### 1 PYC 化学成分

迄今为止,人们对松树皮提取物的化学成分的了解还不十分清楚。目前较广泛的看法认为其是一种多酚类复合物。HPLC 分析结果(图 1)表明,松树皮提取物的成分是一系列多酚聚合物,以由 flavan-3-ol 类单体,如儿茶酸和表儿茶酸等,连结为多聚体的结构单元组成,其中五聚体到七聚体是 PYC 成分的主要结构<sup>[3]</sup>。另通过电子顺磁共振检测,发现 PYC 含有与前花青素二聚体类似的结构<sup>[4]</sup>。到目前为止,对

酚类在动物体内的吸收和消化途径还没有完全研究清楚,对松树皮提取物中黄酮类复合物的代谢及活性发生途径更是知之甚少。一个来自德国的临床实验表明,在服过 PYC 的受试者尿液中残存有矢车菊苷配质 B<sub>3</sub>。但仅服矢车菊苷配质 B<sub>1</sub> 和 B<sub>3</sub> 纯净物的受试者尿液光谱中却没有出现类似的吸收峰,而且服过 PYC 的受试者的尿液光谱与 PYC 自身光谱也并不吻合<sup>[1]</sup>。另一个研究小组进行的人体实验中,HPLC 分析结果表明,受试者服食 200 mg PYC 18 h 的尿液中出现了羟基肉桂酸的吸收峰,24 h 后尿液则含有阿魏酸,且尿液残留量占 PYC 摄入量的 1%。根据这些证据,有人认为 PYC 在人体内为高活性物质,在人体消化和吸收过程中物质结构被修饰,最终的活性形式与提取物成分可能并不相同<sup>[2]</sup>。

### 2 主要生物学功能

2.1 调控一氧化氮(nitrogen monoxide, NO)的生成:在 Virgili 等<sup>[5]</sup>的研究中, PYC 抑制 NO 生成的功能在体外得到验证。分解硝普盐得到 NO 的化学反应体系中加入 PYC 时, NO 的积累被抑制。而且这种抑制效应与 PYC 质量浓度存在相关性:当 PYC 质量浓度为 5 μg/mL 时,仅有 10% 的 NO 积累被抑制(与未经 PYC 处理的反应体系比较);当 PYC 质量浓度达 100 μg/mL 时, NO 积累量则下降到对照体系的 60%。在细胞水平,小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 被脂多糖(LPS)和 γ-干扰素(γ-IFN)连续激活 24 h 后,培养液内从原

\* 收稿日期: 2004-04-01

作者简介: 赖 斐(1979—), 女, 中山大学硕士研究生, 从事天然保健品研究。 Tel/Fax: (020)84039179 E-mail: ls19@zsu.edu.cn

\* 通讯作者

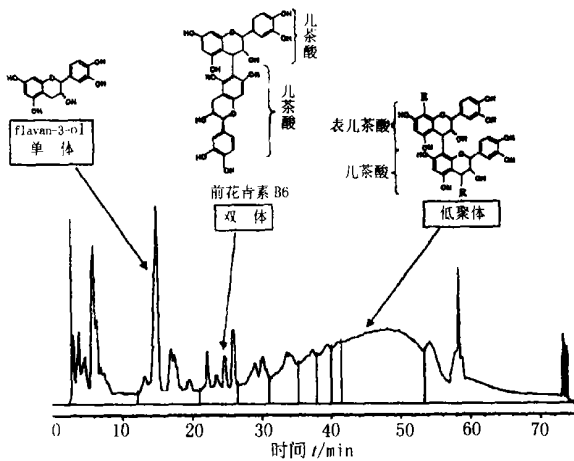


图 1 PYC 在含酸极性溶剂系统中的硅胶 HPLC 分离及 UV 检测

Fig 1 Separation of PYC by silica gel HPLC and UV detection in an acidic polar solvent system

来的每毫克总蛋白释放 5 & 36 3 nmol 由 NO 与 NOO<sup>-</sup> 转化而来的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 上升至 136 2, 216 7 mmol。反应体系添加 PYC 后, 硝化物质量浓度均呈下降趋势, 100 μg/mL PYC 可以使培养液内的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 总量下降到对照体系的 60%。PYC 对 RAW 264 7 细胞 NO 生成的调节可能是在对可诱导型一氧化氮合成酶 (inducible nitrogen monoxide synthetase, NOS) 的转录负调控的基础上实现的。该实验表明被 LPS 和 γNF 激活的 RAW 264 7 细胞经梯度质量浓度 (10~ 200 μg/mL) 的 PYC 处理后, 用相应引物对细胞裂解物进行反转录, 得到表达量与 PYC 质量浓度呈负相关的 NOS 表达产物。酶活力实验也部分证实了以上推测。有趣的是, 当 PYC 质量浓度为 5~ 10 μg/mL 时, NOS 活力达到最活跃水平, 随 PYC 质量浓度上升 (10~ 200 μg/mL), 酶活力逐渐被抑制。因此推断 PYC 对 NOS 酶活力存在双相效应: PYC 质量浓度相对较低时, 黄酮物质对 NOS 活力有激发效应, 促进精氨酸向瓜氨酸转化, 放出 NO; 当 PYC 质量浓度逐渐升高, 这种 NOS 催化效应下降到原来的 50%, NO 生成速度减慢, 生成量减少。

2.2 清除自由基: PYC 具有清除自由基, 自身成为稳定氧化产物的能力。在电子自旋共振 (ESR) 评估体系中, 随着 PYC 质量浓度上升, 羟自由基 (OH·) 震荡曲线的振幅变小; 对超氧阴离子 (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 的相同评估实验也出现类似结果, 表明 PYC 在体外有清除这两种自由基的能力<sup>[5]</sup>。对氧亚硝离子 ONOO<sup>-</sup> 是比上述 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 OH· 及 NO 更活跃的自由基, 在巨噬细胞 RAW 264 7 被激活释放 NO 的同时伴随生成, 过量积累时, 就会攻击在细胞抗氧化体系中具有重要作用的维生素 E, 加快细胞衰老速度。该理论可以在人脐带内皮细胞 ECV 304 和 RAW 264 7 细胞的共同培养体系中得到证明。当该体系加入 250 μmol/L ONOO<sup>-</sup> 时, ECV 304 细胞的 α-生育酚水平比正常水平下降 30%。但该体系经 5~ 25 μg/mL 梯度质量浓度 PYC 预处理 24 h, ECV 304 细胞的 α-

生育酚则仍维持在正常水平, 表明 PYC 在细胞水平上有清除 ONOO<sup>-</sup>、保护维生素 E 的功能<sup>[6]</sup>。

2.3 保护细胞抗氧化系统: 维生素 E 是细胞内抗氧化、抗衰老的重要分子。抗坏血酸 (维生素 C) 也被认为是生物系统内存在的天然抗氧化剂。曾有报道认为维生素 C 在体内会协同产生维生素 E, 加强膜抗氧化能力, 使机体有效避免自由基侵害。黄酮物质可以参与到维生素 C 和维生素 E 的相互转化中。Cossin 等采用 ESR 光谱法研究抗坏血酸-抗坏血酸氧化酶体系内抗坏血酸自由基 (A sc<sup>+</sup>) 滞留时间。发现添加了 PYC 的体系中 A sc<sup>+</sup> 信号滞留时间最长, 达 80 min, 为对照体系的 4 倍。表明黄酮类物质, 尤其是 PYC, 在抗坏血酸-抗坏血酸氧化酶体系内抑制抗坏血酸生成。因此推断细胞内的维生素 E 也可能受益于这种由 PYC 诱导的 A sc<sup>+</sup> 寿命延长, 从而加强细胞的抗氧化能力<sup>[7]</sup>。

嗜铬细胞瘤细胞 PC12 在体外受到 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 攻击, 其造成的氧化压力使细胞活力下降到正常细胞的 30%。Hor ákov á 等<sup>[8]</sup> 发现加入氧化压力 (2 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 前用 PYC 预处理, PYC 处理后撤走氧化压力及 PYC 与氧化压力共存于细胞培养体系等不同情况下, PYC 都可使受损的 PC12 细胞活力恢复到正常水平的 50% 至以上。另外, Kim<sup>[9]</sup> 等人发现在人脐带静脉细胞和牛血清蛋白 BSA 无细胞体系中, 1 mg/mL PYC 即有抑制蛋白质丙二醇修饰 (MDA 修饰) 的作用。在细胞中 PYC 的这种作用更明显, MDA 修饰程度仅为 50%, 明显优于抗坏血酸 (112%), α-生育酚 (89%), 0.2 mg/mL 乙醇当量的红葡萄酒 (92%) 和白葡萄酒 (94%)。这些研究均证实了 PYC 具有保护细胞抗氧化体系的作用。

2.4 影响细胞质脂肪代谢: Hasegawa<sup>[10, 11]</sup> 对 PYC 在细胞脂肪代谢方面的影响作了研究。3T3 L 1-前脂肪细胞被 5 mg/mL 胰岛素在体外诱导分化后, PBE 作用于胞质内面积小于 20 μm<sup>2</sup> 的脂肪滴, 使其被选择性降解, 从而抑制脂肪生成。在临床研究方面, Devaraj<sup>[12]</sup> 等研究了服用 PYC 对脂肪结构的调节及对人体所受的氧化压力带来的影响。受试者以每天服食 150 mg 的 PYC。6 周后, 2/3 受试者血液中, 低密度脂蛋白 (LDL)-胆固醇水平明显降低, 高密度脂蛋白 (HDL)-胆固醇水平则有所提高。停药 PYC 4 周后, LDL-胆固醇回升至原有水平, 而 HDL-胆固醇则仍保持在服用 PYC 时的高水平。另外, 服用 PYC 期间, 受试者血液中多酚含量明显上升, 氧自由基吸收能力得到提高。这项研究显示了 PYC 对细胞质脂肪代谢的调控作用。

2.5 参与细胞内分子互作: 综合目前研究, 已发现 PYC 在细胞内会与多种类型分子发生相互作用, 参与到机体的抗氧化系统、免疫及各种生理活动中, 从而对机体产生各种调节作用, 见表 1。

### 3 PYC 在疾病防治上的功能研究

#### 3.1 血管保护作用

3.1.1 血压效应: Hosseini 等<sup>[21]</sup> 对松树皮提取物 PYC 在高血压患者体内的作用作了一项随机抽样临床实验。测试组和对照组受试者实验前平均血管收缩压均 140 mmHg, 平均舒

表 1 PYC 在分子水平上的作用

Table 1 PYC interacting at molecular level

分子名称	作用方式	浓度依赖性PBE ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	分子来源
NF- $\kappa$ B 依赖基反式激活因 <sup>[13]</sup>		1~ 25	人角质形成细胞 HaCaT
ICAM-1 <sup>[14]</sup>	抑制转录	5~ 50	人角质形成细胞 HaCaT
NOS <sup>[5]</sup>	抑制转录	5~ 100	小鼠单核巨噬细胞 RAW 264 7
内皮 NOS <sup>[15]</sup>	促进酶活力	—	大鼠动脉环
磷酸化酶激酶 PhK <sup>[16]</sup>	抑制酶活力	0~ 80	胎牛胰脏皮层
蛋白激酶 C (PKC) <sup>[16]</sup>	抑制酶活力	0~ 80	人单核细胞 U 937
蛋白激酶 A (PKA) <sup>[16]</sup>	抑制酶活力	0~ 10	胎牛胰脏皮层
过氧化氢酶 <sup>[17]</sup>	促进酶活力	8 75~ 70	J744 细胞系
超氧歧化酶 <sup>[17]</sup>	促进酶活力	17. 5~ 70	J744 细胞系
L-2 <sup>[18]</sup>	提高分泌量	—	实验鼠
L-6 <sup>[18]</sup>	提高分泌量	—	ETOH 喂养实验鼠
	降低分泌量	—	反转录病毒感染实验鼠
L-10 <sup>[18]</sup>	降低分泌量	—	从 ETOH 喂养实验鼠分离所得的分裂原激发脾细胞
TNF- $\alpha$ <sup>[19]</sup>	提高分泌量	—	小鼠单核巨噬细胞 RAW 264 7
人生长因子 (HGH) <sup>[20]</sup>	提高分泌量	—	HGH 基因转化 NHEK 细胞系

张压为 94 mmHg。测试组患者以 200 mg/d 的剂量服用 PYC。8 周后, 测试组患者的平均收缩压下降到 133 mmHg, 对照组患者平均收缩压无明显变化; 但测试组患者的平均舒张压只有轻微下降, 仍达 92 mmHg。对测试组中实验前收缩压高于 140 mmHg 的患者的测试数据进行单独分析, 发现 PYC 对他们血压下降的影响更为明显。实验还对测试组患者实验前后血清血栓素 B<sub>2</sub> 的水平作了比较, 发现服用 PYC 后, 该水平也有明显下降。而来自最近的一项临床实验也证实每天服用 100 mg PYC, 12 周后高血压患者血压恢复到正常水平, 但同时受试患者也出现胃肠道、眩晕、头痛及睡眠方面的不良反应的报道<sup>[22]</sup>。Fitzpatrick 等<sup>[17]</sup>对 PYC 引起的血管效应的机制作了一定的探讨。他们用梯度质量浓度(1~ 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的 PYC 在体外处理小鼠的完整主动脉环, 发现 PYC 可以缓解由肾上腺素、苯乙酸肾上腺素或非肾上腺素引起的动脉环收缩。去除与动脉环相连的内皮组织后, PYC 的这种效应消失了。显示 PYC 的血管效应具有内皮依赖性。当反应体系加入 NO 合成酶(NOS)的抑制剂后, PYC 作用也被抑制, 再加入 NOS 底物则可以消除抑制剂作用。提示 PYC 可能通过增加 NOS 活力最终产生内皮依赖的血管效应。

3.1.2 静脉效应: 在一项有 40 名患有慢性静脉闭锁不全症(chronic venous insufficiency, CVI) 并伴随腿部静脉曲张的病人参与的临床实验中, 患者在 2 个月以内以 100 mg/d, 每天 3 次的剂量服食 PYC。数据表明, 患者在 30~ 60 d 后皮下水肿出现减退, 实验结束时有 60% 的受试者皮下水肿及痛症完全消失; 大多数患者原有的腿部沉重感减退, 33% 的患者

沉重感完全消失。而对照组患者的症状并无改变<sup>[23]</sup>。德国一个研究组在 2002 年针对 PYC 对 CVI 的疗效也作了一个相似的研究, 并比较了 PYC 和一种栗子树种子提取物 Venostasin 的作用效果。实验中 20 名 34~ 71 岁的 CVI 患者服用 360 mg/d PYC, 2 周后两腿水肿开始消退, 4 周后消退进一步增强; CVI 常见症状如皮肤红肿疼痛、痉挛、夜间肿胀及腿部沉重感在 2 周后均有缓解, 4 周后疗效更为明显, 且右腿的效果比左腿明显; 血液中 LDL 和胆固醇水平比试验前分别下降了 13% 和 20%。而另 19 名 38~ 68 岁的 CVI 患者服用 600 mg/d Venostasin, 同期数据显示该药对病情缓解不如 PYC<sup>[24]</sup>。

3.1.3 毛细血管效应: 所有糖尿病患者都有并发视网膜病的潜在危险。慢性血糖水平升高会导致视网膜毛细血管基底膜加厚, 引发微动脉瘤、出血和黄斑水肿等典型病症, 最终造成视力衰退及丧失。PYC 在降低毛细血管通透性和稳定毛细血管管壁方面的作用曾被报道。20 世纪 70 年代初就有若干研究组发现 PYC 对视网膜病的结膜和视网膜出血及其溢分泌物等症有缓解作用。其中糖尿病并发玻璃体出血患者中有大部分在疗程过半时视力即恢复到发病前水平。德国的另一项有 1 169 名并发视网膜病的糖尿病患者参与的临床研究结果也表明, 受试者以 60~ 120 mg/d 的剂量服用 PYC, 6 个月后患者群体视力衰退得到遏制, 并有某种程度的提高<sup>[25]</sup>。

3.1.4 血液效应: Püter 等<sup>[26]</sup>的研究表明 PYC 能抑制人体因吸烟而诱发的血小板凝聚。该研究显示, 100~ 125 mg PYC 即能达到 500 mg 阿司匹林在血小板凝聚上的抑制作用, 200 mg PYC 的血小板凝聚抑制效应能维持 6 d, 而且 PYC 并没有阿司匹林使出血时间明显延长的不良反应。因此, PYC 有可能成为风险较小的药物。

红血细胞的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)缺陷会令这些细胞失去抵抗溶血作用的能力, 对机体产生有害的氧化压力。全球估计总共有 4 亿人携带 G6PD 缺陷。具有这种缺陷的红血细胞不能有效清除超氧化物。当它们在体外暴露于可对细胞产生氧化压力的奎宁或可令还原性谷胱甘肽减少的叔丁基-氢过氧化物(tertbutylhydroperoxide, t-BHP)时, 细胞的溶血作用分别上升了 13 倍和 17 倍。当用 PYC(0~ 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 处理这些细胞 20 min 后, 经奎宁或 t-BHP 处理的细胞的血红蛋白释放分别下降到对照体系的 70% 和 54%。表明 PYC 可以抵消一部分因 G6PD 缺陷带来的细胞伤害<sup>[27]</sup>。

3.2 抗炎及免疫调控作用: 多项研究表明松树皮提取物对由免疫紊乱引起的皮肤疾病有很好的疗效。如黑细胞是女性体表常见的因日晒而产生的皮肤高色素形成紊乱。一项临床实验表明, 此症患者每天进餐时服用 25 mg PYC, 30 d 后血液和尿液中色素含量均回到正常水平, 皮肤上黑细胞面积平均下降 20% 左右, 皮肤痛感、疲乏感、便秘等相关症状也有所缓解<sup>[28]</sup>。另外, 基因芯片杂交结果显示, 在 HaCaT 细胞中, 对照细胞和 PYC 处理细胞有 39 个基因的表达量差异(高或低)在

2 倍以上。其中最引人注意的是 PYC 处理的 HaCaT 细胞中编码钙颗粒体蛋白 A 和 B 的基因表达量比对照细胞下降达 22 倍。这两种蛋白的异二聚体在牛皮癣患者或其他表皮细胞系异常分化的细胞中均有高水平。而且钙颗粒体蛋白在各种炎症皮肤病中参与钙调性的细胞骨架微丝重排。紫外照射也可以使钙颗粒体蛋白 B 的 mRNA 下降到正常水平,这在牛皮癣临床治疗中已被证实有效。因此 PYC 有可能代替紫外照射成为一种更安全的治疗皮肤病的药物<sup>[29]</sup>。

3.3 对神经系统的保护作用: 阿尔茨海默症患者的神经元凋亡与大脑中的老化斑所含的淀粉状蛋白- $\beta$  肽(A beta) 有关, 该机制涉及到活化氧(reactive oxidative species, ROS) 产生的神经毒性。有人发现 A beta 确实引起嗜铬细胞瘤细胞 PC12 产生大量 ROS, 最终使细胞凋亡。PYC 处理能使 PC12 细胞的 ROS 产生被抑制, 细胞内 caspase-3 活性、DNA 降解及多聚 ADP-核糖聚合酶 [poly (ADP-ribose) polymerase] 裂解均有所减弱, A beta 引起的 PC12 细胞凋亡最终得到抑制<sup>[30]</sup>。Veurink<sup>[31]</sup> 等用 PYC 为成分之一的复合抗氧化剂喂养 ApoE 缺陷鼠, 发现原来随鼠龄增长而增加的 PAS 阳性包涵体水平在海马回中显著下降, TUNEL (末端脱氧核糖转移酶介导的 dUTP-地高辛配基切口标记) 染色水平明显下降, 凋亡细胞减少。证明 PYC 复合其他抗氧化剂可以有效治疗由衰老引起的神经系统疾病。

3.4 对糖尿病的治疗作用: Maritim 等<sup>[32]</sup> 用链脲菌素 (streptozotocin) 在大鼠体内诱发糖尿病, 并用 PYC (10 mg/kg 体重) 对其进行为期 14 d 的治疗。经治疗, 患病大鼠的血糖浓度明显下降, 肝脏中的过氧化氢酶活力恢复到正常水平, 而且还原性谷胱甘肽水平和谷胱甘肽还原酶活力也有显著上升, 表明 PYC 具有潜在的糖尿病治疗作用。

3.5 对生殖系统缺陷的修补作用: Roseff<sup>[33]</sup> 对 PYC 在生殖缺陷人群中的作用作了初步的了解。有 19 名低生育力男性参与了该项研究。他们每天 *po* 90 mg PYC, 实验前后均采集精液分析精子数量、游动速率、获能前后形态及甘露糖受体结合情况。结果显示服用 PYC 后, 精子被 Ham's F-10 激活获能后, 其产紧形态比实验前上升了 38%, 甘露糖受体结合提高了 19%, 没有发现 PYC 引起的不良反应。此外, Stanislavov<sup>[34]</sup> 的研究发现, PYC 对阴茎勃起功能性障碍有显著疗效。阴茎勃起需要似巨穴 (cavernous) 平滑肌的松弛, 而后者又需要 NO 的触发。在该临床实验中, 40 名勃起功能障碍患者在第 1 个月内每天服食 1.7 g 精氨酸当量的天门冬氨酸盐, 随后两个月的疗程每天服用 80~120 mg PYC, 结果在疗程的第 2 个月患者已恢复 80% 的性能力; 至实验结束, 92.5% 的受试者恢复正常的阴茎勃起功能。

3.6 诱导癌细胞凋亡: Huynh<sup>[35]</sup> 在体外用 0, 40, 80  $\mu$ g/mL PYC 处理人乳腺癌细胞 MCF-7 及人乳腺细胞 MCF-10, 72 h 后统计细胞凋亡率发现随 PYC 浓度上升, MCF-7 细胞凋亡率呈上升趋势, 而 MCF-10 细胞的凋亡率则有下降趋势。表明 PYC 在体外可以选择性诱导癌细胞凋亡, 并促进正常细胞生长。

#### 4 展望

随着分子生物学的发展, 对 PYC 的研究已经深入到细胞和分子水平。科学家通过细胞模型、动物模型、基因芯片及大量的临床数据多角度地阐明 PYC 的功能及作用机制。PYC 所表现出来的抗氧化活性使其有可能成为调节免疫系统, 防治因氧化损伤造成的心脑血管疾病、神经系统疾病、癌症及生殖系统缺陷疾病的复合型多功能药物。除了对法国海岸松的提取物 PYC 的进行研究外, 葡萄牙人从 2002 年起对在自己本国生长的海岸松的树皮进行了成分分析, 准备对其药用价值进行开发<sup>[36]</sup>。新西兰一家公司也于 1998 起在各大洲推出品牌为 Enzogenol 的辐射松 *Pinus radiata* D. Don 树皮提取物保健品, 并已完成对该提取物在抗红细胞溶血作用、抑制微体氧化、抗肿瘤和心血管疾病治疗等方面的细胞水平或临床研究<sup>[37]</sup>。我国也有研究所提取了中国马尾松 *Pinus massoniana* Lamb 树皮提取物以研究其生物学功能, 以该提取物为主要成分的保健品已在国内开始销售。鉴于此, 松树皮提取物在不久的将来必将成为药物开发中的一大亮点。

#### References

- [1] Packer L, Rimbach G, Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark. *Pycnogenol* [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(5/6): 704-724.
- [2] Virgili F, Pagana G, Bourne L, et al. Ferulic acid excretion as a marker of consumption of a French maritime pine (*Pinus maritima*) bark extract [J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28(8): 1249-1256.
- [3] Cheyrier V, Souquet JM, Le RE, et al. Size separation of condensed tannins by normal phase high performance liquid chromatography [J]. *Methods Enzymol*, 1998, 299: 178-184.
- [4] Bors W, Michel C, Stettmaier K. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 374(2): 347-355.
- [5] Virgili F, Kobuchi H, Packer L. Procyanidins extracted from *Pinus maritima* (Pycnogenol<sup>®</sup>): scavengers of free radical species and modulators of nitrogen monoxide metabolism in activated murine RAW 264.7 macrophages [J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 24(7/8): 1120-1129.
- [6] Virgili F, Kim D, Packer L. Procyanidins extracted from pine bark protect  $\alpha$ -tocopherol in ECV 304 endothelial cells challenged by activated RAW 264.7 macrophages: role of nitric oxide and peroxynitrite [J]. *FEBS Lett*, 1998, 431: 315-318.
- [7] Cossin E, Lee R, Packer L. ESR studies of vitamin C regeneration, order of reactivity of natural source phytochemical preparations [J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1998, 45: 583-597.
- [8] Horáková L, Licht A, Sandig G, et al. Standardized extracts of flavonoids increase the viability of PC12 cells treated with hydrogen peroxide: effects on oxidative injury [J]. *Arch Toxicol*, 2003, 77: 22-29.
- [9] Kim J, Chehade J, Pinna J L, et al. Effect of select antioxidants on malondialdehyde modification of proteins [J]. *J Nutr Health Aging*, 2000, 16(11/12): 1079-1081.
- [10] Hasegawa N. Stimulation of lipolysis by Pycnogenol [J]. *Phytother Res*, 1999, 13: 619-620.
- [11] Hasegawa N. Stimulation of lipolysis by Pycnogenol [J]. *Phytother Res*, 2000, 14: 472-473.
- [12] Devaraj S, Vega-Lopez S, Kaul N, et al. Supplementation

- with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile [J]. *Lipids*, 2002, 37(10): 931-934.
- [13] Saliou C, Rimbach G, Moimi H, et al. Solar ultraviolet-induced erythema in human skin and nuclear factor-kappaB-dependent gene expression in keratinocytes are modulated by a French maritime pine bark extract [J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(2): 154-160.
- [14] Bito T, Roy S, Sen C K, et al. Pine bark extract Pycnogenol downregulates IFN induced adhesion of T cells to human keratinocytes by inhibiting inducible ICAM-1 expression [J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28: 219-227.
- [15] Fitzpatrick D, Bing B, Rohdewald P. Endothelium-dependent vascular effects of Pycnogenol [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, 32: 509-515.
- [16] Nardini M, Scaccini C, Packer L, et al. In vitro inhibition of the activity of phosphorylase kinase, protein kinase C and protein kinase A by caffeic acid and a procyanidin-rich pine bark (*Pinus maritima*) extract [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1474: 219-225.
- [17] Bayeta E, Lau B. Pycnogenol inhibits generation of inflammatory mediators in macrophages [J]. *Nutr Res*, 2000, 20(2): 249-259.
- [18] Cheshire J E, Ardostani-Kaboudanina S, Liang B, et al. Immunomodulation by Pycnogenol<sup>®</sup> in retrovirus-infected of ethanol-fed mice [J]. *Life Sci*, 1996, 58(5): 87-96.
- [19] Park YC, Rimbach G, Saliou C, et al. Activity of monomeric, dimeric, and trimeric flavonoids on NO production, TNF- $\alpha$  secretion, and NF- $\kappa$ B-dependent gene expression in RAW 264.7 macrophages [J]. *FEBS Lett*, 2000, 465: 93-97.
- [20] Buz'Zard A R, Peng Q L, Lau B. Kyoic<sup>®</sup> and Pycnogenol<sup>®</sup> increase human growth hormone secretion in genetically-engineered keratinocytes [J]. *Growth Horm IGF Res*, 2002, 12: 34-40.
- [21] Hosseini S, Lee J, Sepulveda R T, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective, 16 week crossover study to determine the role of Pycnogenol in modifying blood pressure in mildly hypertensive patients [J]. *Nutr Res*, 2001, 21: 1251-1260.
- [22] Liu X, Wei J, Tan F, et al. Pycnogenol<sup>®</sup>, French maritime pine bark extract, improves endothelial function of hypertensive patients [J]. *Life Sci*, 2004, 74: 855-862.
- [23] Arcangeli P. Pycnogenol<sup>®</sup> in chronic venous insufficiency [J]. *Fitterapia*, 2000, 71: 236-244.
- [24] Koch R. Comparative study of Venostasin<sup>®</sup> and Pynogenol<sup>®</sup> in chronic venous insufficiency [J]. *Phytother Res*, 2002, 16: S1-S5.
- [25] Schonlau F, Rohdewald P. Pycnogenol<sup>®</sup> for diabetic retinopathy. Review [J]. *Int Ophthalmol*, 2002, 24: 161-171.
- [26] Püter M, Grottemeyer K H M, W ü rthwein G, et al. Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by aspirin and Pycnogenol [J]. *Thromb Res*, 1999, 95: 155-161.
- [27] Shama S C, Shama S, Gulati O P. Pycnogenol<sup>®</sup> prevents haemolytic injury in G6PD deficient human erythrocytes [J]. *Phytother Res*, 2003, 17: 671-674.
- [28] Ni Z, Mu Y, Gulati O. Treatment of melasma with Pycnogenol<sup>®</sup> [J]. *Phytother Res*, 2002, 16: 567-571.
- [29] Rihn B, Saliou C, Bottin M C, et al. From ancient remedies to modern therapeutics: pine bark uses in skin disorders revisited [J]. *Phytother Res*, 2001, 15: 76-78.
- [30] Peng Q L, Buz'Zard A R, Lau B H. Pycnogenol protects neurons from amyloid-beta peptide-induced apoptosis [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2002, 104(1): 55-65.
- [31] Veurink G, Liu D, Taddei K, et al. Reduction of inclusion body pathology in ApoE-deficient mice fed a combination of antioxidants [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34(8): 1070-1077.
- [32] Maritim A, Dene B A, Watkins J B. Effects of Pycnogenol treatment on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2003, 17(3): 193-199.
- [33] Roseff S J. Improvement in sperm quality and function with French maritime pine tree bark extract [J]. *J Reprod Med*, 2002, 47(10): 821-824.
- [34] Stanislavov R, Nikolova V. Treatment of erectile dysfunction with Pycnogenol and Larginine [J]. *J Sex Marital Ther*, 2003, 29(3): 207-213.
- [35] Huynh H T, Teel R W. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF-7) by Pycnogenol [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20: 2417-2420.
- [36] Fradinho D M, Neto P, Evtugin D, et al. Chemical characterisation of bark and of alkaline bark extracts from maritime pine grown in Portugal [J]. *Ind Crops Prod*, 2002, 16: 23-32.
- [37] Shand B, Strey C, Scott R, et al. Pilot study on clinical effects of dietary supplementation with Enzogenol<sup>®</sup>, a flavonoids extract of pine bark and vitamin C [J]. *Phytother Res*, 2003, 17: 490-494.

(上接第 126 页)

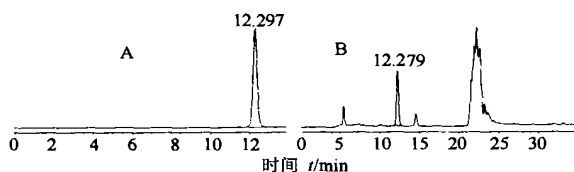


图 1 没食子酸对照品(A)和叶下珠药材(B)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of gallic acid (A) and *P. urinaria* (B)

色谱柱上无法洗脱,严重影响后续的含量测定。所

以,本实验采取梯度洗脱技术,去除大量杂质干扰,保证了后续含量测定。

3.2 色谱峰光谱一致性检测:应用二极管阵列检测器和色谱工作站,对对照品色谱中没食子酸峰与供试品色谱中的相应峰进行光谱扫描,结果两者光谱吸收图谱基本一致。

#### References

- [1] Dou ZH. Internal progress of studies on anti-hepatitis B virus (HBV) of *Phyllanthus urinaria* L. [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(3): 46.
- [2] Zhang L Z, Wang X Q, Jia H, et al. Determination of gallic acid in *Phyllanthus urinaria* by HPLC [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2000, 23(6): 46-47.