

## 葡萄籽提取物原花青素的营养保健功能(综述)

赵超英 姚小曼

(北京市卫生防站,北京 100013)

葡萄籽提取物原花青素(Grape Seed Extract Proanthocyanidin, GSPE)是广泛存在于植物界的属于双黄酮衍生物的天然多酚化合物,<sup>[1~4]</sup>这类化合物是由不同数目的黄烷醇聚合而成,在酸性溶液中加热生成白花色素(leucoanthocyanins)或原花青素(proanthocyanidin),也有称 pycnogenols,<sup>[5,6]</sup>目前研究最广的是存在于葡萄籽的由 5,7,3',4'-四羟基黄烷-3-醇(5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan-3-ol),即(+)-儿茶素((+)-catechin)、(-)-表儿茶素((-)-epicatechin)为单位聚合而成的这类化合物,又称 leucocyanidins 或 procyanidins。<sup>[7]</sup>具有极强的抗氧化特性,一般存在于果实的皮及植物的木实部,其主要作用是保护植物中易氧化的成分。早在 50 年代法国科学家就发现可以从松树皮中提取大量原花青素,其提取物中可含 85% 的原花青素。70 年代则发现葡萄籽是提取原花青素的更好资源,葡萄籽提取物中原花青素含量可高达 95%。

### 理化特性和提取

**理化特性** 葡萄籽提取物原花青素呈白色粉末,溶于水、乙醇、甲醇、丙酮,也可溶于乙酸乙酯,不溶于乙醚、氯仿、苯等。有涩味。UV 在 280nm 有强吸收。在酸性溶液中加热可降解和氧化形成花色素(Bate-Smith 反应)。<sup>[7,8]</sup>

**提取和分离** 可采用甲醇、乙醇、丙酮等极性较大的溶剂冷浸,提取物用乙酸乙酯或其他溶剂萃取,萃取物用柱层析方法分离,包括葡聚糖凝胶柱层析、MCL-gel CHP-20P 柱层析、手性吸附柱层析、高效液相层析等。<sup>[9]</sup>

### 葡萄籽提取物的保健功能

**抗氧化功能** 80 年代自由基对健康的影响日益为人们所认识,现代医学和营养保健学认为,自由基在人体内可直接引起许多疾病,还和另一些疾病的发生有关,法国科学院研究生院曾做了葡萄籽提取物原花青素清除自由基活性实验,结果认为葡萄籽提取物原花青素是迄今为止所发现的最强有效的自由基清除剂之一。尤其是其体内活性,更是其它抗氧化剂所不可比拟的。Bagchi, D<sup>[3]</sup>曾用小鼠进行体内实验,用葡萄籽提取物原花青素、VC、VE、-胡萝卜素对 TPA(12-O-四葵酰波佛醇-13-醋酸盐)诱导的肝、脑组织中脂质过氧化的保护作用进行了比较,发现在 100 mg/kg BW 剂量下葡萄籽提取物原花青素、VC、VE、-胡萝卜素均可降低 TPA 诱导产生的活性氧,使用腹腔巨噬细胞发光法降低率分别为 70%、18%、47%和 16%,使用细胞色素还原法降低率分别为 65%、15%、37%和 19%。同时还发现葡萄籽提取物原花青素对于抑制 TPA 诱导的腹腔巨噬细胞活性氧的产生,具有剂量反应关系。结果表明,葡萄籽提取物原花青素可对氧化损伤起到保护作用。且其保护作用优于其它抗氧化剂。此外 Bagchi, D<sup>[10]</sup>的体外实验也获得了相似的结果。作者分别使用化学发光法和细胞色素 C 还原法测定了葡萄籽提取物原花青素、VC、VE、-胡萝卜素、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶以及甘露醇的清除超氧阴离子自由基和羟基自由基的能力。结果表明,葡萄籽提取物原花青素对自由基的抑制具有浓度反应关系,在 100 mg/L 的浓度时,葡萄籽提取物原花青素对超氧化阴离子和羟基自由基的抑制能力为 78%和 81%,同等条件下,VC 抑制上述两种自由基的能力为 12%和 19%,VE 为 50%和 75%,超氧化物歧化酶和过氧化氢酶联合作用抑制超氧化阴离子的能力约为 83%,而甘露醇抑制羟基自由基的能

力为 87 % ,说明葡萄籽提取物原花青素是一种比 VC、VE 更强的自由基清除剂。

**保护心血管和预防高血压作用** 葡萄籽提取物原花青素被用于提高血管抵抗力,降低毛细血管渗透性,它的抗氧化和抗酶作用已被几个改善毛细血管渗透性的体内试验模型所证明。<sup>[11,12]</sup>随着年龄的增长,动脉中的弹性纤维由于逐渐氧化而变硬,而动脉硬化是导致老年人心脑血管疾病的一个主要原因,机体内的低密度脂蛋白、胆固醇增加也是导致动脉硬化和心脏病的关键因素。动物实验和临床研究发现,葡萄籽提取物原花青素可以有效地降低胆固醇和低密度脂蛋白水平,预防血栓形成,有助于预防心脑血管疾病的发生。<sup>[13]</sup>Preuss HG<sup>[14]</sup>等的研究也表明,葡萄籽提取物原花青素与铜、锌共同作用可以降低正常大鼠因增龄所致的收缩压增加。在他们的实验中,对照组大鼠给予基础饲料,实验组大鼠则在基础饲料中加入 5 mg/kg Gr,18 mg/kg Zn,260 mg/kg 葡萄籽提取物原花青素。两组动物初始血压均为 122mmHg,7 个月后,对照组动物收缩压逐渐升至 140 mmHg,相反,实验组动物则在刚开始的几个月中收缩压降至 110~114 mmHg,后几个月又升至 120 mmHg,明显低于对照组。作者认为衰老现象及与衰老有关的慢性病之机理与蛋白质/核酸的糖基化及自由基的增加所引起的组织损伤有关,而随增龄出现的胰岛素抗性,可能是糖基化及自由基形成的基础。在对葡萄籽提取物原花青素与铜、锌改善胰岛素敏感性的研究中,其作用机制也是降低自由基的形成。此外,随年龄增长,动脉中弹性纤维逐渐氧化而变硬,这种变化是产生老年人高血压的主要原因。葡萄籽提取物原花青素可通过提高血管弹性而降低血压。动物实验和临床研究还表明,它可通过降低胆固醇水平,减少血管壁上的胆固醇沉积和抑制血管紧张酶的活性来降低血压。

**抗肿瘤作用** 葡萄籽提取物原花青素的抗癌功效国外已有许多研究报道,其中 S. S Joshi 等<sup>[15]</sup>的体外研究结果证明,葡萄籽提取物原花青素对某些肿瘤细胞具有细胞毒性。他们在实验中使用了 MCF-7 人类乳腺癌细胞,A-427 人类肺癌细胞,CRL1739 人类胃腺癌细胞和 K562 慢性骨髓白血病细胞,所用葡萄籽提取物原花青素浓度为 25、50 mg/L。观察时间点为 0~72 h,并与正常人类胃粘膜细胞和正常 J774A1 尿道上皮细胞进行比较,结果发现,25 mg/L 的葡萄籽提取物原花青素对 MCF-7 人类乳腺癌细胞,A-427 人类肺癌细胞和 CRL1739 人类胃腺癌细胞具有细胞毒性。在 24、48、72 h 抑制生长率分别为 7%、30%、43%;50 mg/L 时在相同时间点对 MCF-7 人类乳腺癌细胞的抑制率分别为 1%、30%和 47%,对 A-427 人类肺癌细胞和 CRL1739 人类胃腺癌细胞也观察到类似的结果。对 K562 慢性骨髓白血病细胞则无此作用。同时,葡萄籽提取物原花青素可提高正常人类胃粘膜细胞和正常 J774A1 尿道上皮细胞的生长和存活能力。

M. Bagchi 等<sup>[16]</sup>在烟草与肿瘤关系的研究中,也用葡萄籽提取物原花青素对烟草提取物(STE)诱导的人类口腔角化细胞的氧化抑制及细胞凋亡的保护作用进行了研究。在美国据统计约 1/3 的肿瘤与烟草有关,口腔癌约占全部肿瘤的 3%。他们在实验中采用正常人类口腔角化细胞,研究了烟草提取物对脂质过氧化(LP)、细胞色素还原(CCR)、DNA 片段(DF)和细胞凋亡的影响,并对不同抗氧化剂的保护作用进行了评价。(从人类口腔组织分离培养细胞并用 STE(0~300 μg/mL)处理 24 h,用 CCR 检测超氧化阴离子的生成,用 LP 和 DF 检测组织氧化损伤,用流式细胞仪检测程序化细胞死亡)。进而,比较了 75 μmol/L VC,75 μmol/L VE,VC+VE 和 100 μmol/L 葡萄籽提取物原花青素对上述损伤的保护作用。当细胞用 300 μg/mL 的 STE 处理后,可观察到 LP 和 DF 增加了 3.5~6 倍,应用抗氧化剂后,保护率可达 34%~69%,用 100,200,300 μg/mL 的 STE 处理后,观察到程序化细胞死亡分别增加 9%、29%、35%,使用抗氧化剂后,保护率增加 40%~72%。类似的结果亦可见于 LP,CCR 和 DF 实验中。通过比较作者认为,葡萄籽提取物原花青素在所用抗氧化剂中,抗氧化效果最好。

**抗辐射作用** 自由基学说是辐射损伤的基础理论,机体受辐照后可产生内源性自由基,引发脂质过氧化等损伤。而葡萄籽提取物原花青素具有清除自由基,抑制氧化损伤的功效。据一项实验报道,<sup>[17]</sup>将荷 S180 肉瘤小鼠分别给予<sup>60</sup>Co 射线局部照射、口服葡萄籽提取物和局部照射加口服葡萄籽提取物的不同方法处理,接种瘤细胞后第 12 天,检测动物的瘤重、白细胞计数、脾淋巴细胞转化率等指标。结果表明,对照组的平均瘤重高于其他各组;照射加高剂量葡萄籽提取物的肿瘤抑制率高于单纯照射组和单纯口服葡萄籽提取物组;单纯照射组的白细胞计数低于其他各组。经统计学 *t* 或  $\chi^2$  检验,差异均具显著性 ( $P < 0.05$ )。实验结果还表明,同未受照射组比较,受照射各组的 MDA 水平均升高,显然与其体内脂质过氧化反应加强,氧化产物

在体内蓄积有关。而给予葡萄籽提取物可使 MDA 水平降低,且剂量愈大降低幅度愈大。表明葡萄籽提取物可抑制辐照引发的脂质过氧化。这可能是葡萄籽提取物抗辐射损伤的主要原因。

俄国人早就了解到葡萄籽提取物对辐射损伤的保护作用,苏联的宇航员们长期服用一种富含原花青素的植物饮料,以预防他们在太空飞行时所受到的辐射损伤。苏联切尔诺贝利核电站发生爆炸,造成严重核污染,当地许多人遭受核辐射损伤,生活在该地区的人们被建议喝一种叫做 Crimean 的红葡萄酒——一种富含原花青素的葡萄酒,以缓解核泄露对人体的影响。

总之,葡萄籽提取物的抗辐射损伤的作用现在日益为人们所重视,现代高科技的迅猛发展为人们的生活、生产和工作带来了极大的便利,诸如电视、电脑、微波炉、移动电话等,在给人们带来物质享受的同时,也产生一些电磁辐射,危害人类的健康。应用葡萄籽提取物生产开发一些抗辐射保健食品,将会有广泛的应用前景。

#### 抗突变作用

**线粒体抗突变试验** 用 *Saccharomyces cerevisiae* 的 S228C(- prototroph) 细胞株,以 (Respiratory Deficient) 突变体作为线粒体突变型的表现,记录突变体的产生率,试验结果表明,葡萄籽提取物原花青素在 0、0.25、0.5 mg/mL 时,突变发生率分别为  $1.7 \times 10^{-2}$ 、 $0.9 \times 10^{-2}$ 、 $0.6 \times 10^{-2}$ ,对照组与试验组之比分别为 1、0.5、0.35。可以看出,葡萄籽提取物原花青素能有效降低线粒体突变发生率。<sup>[18]</sup>

**细胞核抗突变试验** 用 *Saccharomyces cerevisiae* 的 S228C(- prototroph) 细胞株,记录 L-刀豆氨酸(L-canvanine) 敏感型突变为 L-刀豆氨酸耐受型的数量,试验结果表明,葡萄籽提取物原花青素在 0、0.25、0.5 mg/mL 时,细胞核突变发生率分别为  $1.95 \times 10^{-8}$ 、 $0.25 \times 10^{-8}$ 、 $0.15 \times 10^{-8}$ ;对照组与试验组之比分别为 1、0.12、0.08,试验组细胞核突变率减少 88%~92%。<sup>[19,20]</sup>

**皮肤保健及美容作用** 在欧美等国家葡萄籽提取物享有“皮肤维生素”、“口服化妆品”的美誉。皮肤属于结缔组织,其中所含有的胶原蛋白和弹性蛋白对皮肤的整个结构起重要的作用,胶原蛋白的适度交联,可以维持皮肤的完整性,而体内自由基氧化可使其过度交联,在皮肤上表现为皱纹和囊泡,葡萄籽提取物可促使胶原蛋白的适度交联,有效清除自由基,从而保持皮肤柔顺、光滑。另外,弹性蛋白可使皮肤具有弹性,缺乏弹性蛋白的皮肤松弛无力,使人显得老态龙钟,弹性蛋白可被自由基或弹性蛋白酶所降解,葡萄籽提取物具有清除自由基,阻断弹性蛋白酶的生成并抑制其活性,从而改善皮肤健康状况。有人<sup>[21]</sup>曾对葡萄籽提取物进行过体外抗酶试验,结果表明,葡萄籽提取物原花青素对黄嘌呤氧化酶、弹性蛋白酶、胶原蛋白酶、透明质酸酶、-葡萄糖醛酸糖甙酶的 IC<sub>50</sub>( $\mu\text{mol/L}$ ) 分别为 2.4、4.24、38、80、1.1。可以看出,它对上述各酶具有显著的抑制作用。

**抗过敏及抗炎作用** 葡萄籽提取物原花青素的抗炎及抗过敏作用早在 50 年代就被人们注意到了,它的抗氧化活性使其可抑制诸如组织胺、5-羟色胺、前列腺素及白三烯等炎症因子的合成和释放,抑制嗜碱细胞和肥大细胞释放过敏颗粒,从而有效地改善皮肤过敏症状及过敏性哮喘症状。此外,它还可抑制组胺脱羧酶的活性,限制透明质酸酶的作用,<sup>[21]</sup>因而对各种关节炎及胃、十二指肠溃疡效果显著。

**改善视觉功能** 有人曾对葡萄籽提取物原花青素改善眼疲劳的作用进行了人体试验,<sup>[22]</sup>给予 75 例因长期在显示屏前工作的眼疲劳患者每天服用葡萄籽提取物原花青素 300 mg,2 个月后,其相对敏感性和客观症状均有明显改善。在对近视患者视觉作用的临床试验中,给 200 名近视性视网膜非炎症性改变的患者服用葡萄籽提取物原花青素,每日 150 mg,共 2 月,试验前后比较,受试者视力有明显提高。<sup>[23,24]</sup>

目前在国外,葡萄籽提取物原花青素的应用非常广泛。它的防病保健功效基础就是其清除自由基的能力,此外,它还具有较好的生物利用度,易于与胶原蛋白结合,稳定细胞膜及抗酶活性,这些能力与抗氧化能力协同使其有望成为一种颇具开发前景的保健品。

#### 参考文献:

- [1] Haslam E. Plant polyphenols[J]. Cambridge University Press, 1989, 14~15
- [2] Masquelier J, Michaud J, Laparra J, et al. Intrenat[J]. J Vit Nutr Res, 1979, 49:30
- [3] D. Bagchi, et al. Protection effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidant against TPA-Induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice[J]. Gen. Pharmac, 1998, 30

(5) :771 ~ 776

- [4] 国植,徐莉.原花青素,具有广泛发展前景的植物药[J].国外医学(植物药分册),1996,11(1):196
- [5] Bombardelli E. [Z] GB - 1,541,549
- [6] Indena. S P A. Internal Report (Data on file) [Z]
- [7] DA siva R J M,Rigaud J,Cheynier V,et al. [J]. Phytochemistry,1991,30:1259
- [8] Lawrence J P,Liana N. Hrstich and bock G[J]. Chan Phytochemistry,1986,25:223
- [9] 姚新生.天然药物化学[M].人民卫生出版社,1988,253~273
- [10] D Bagchi ,et al. Oxygen free radical scavenging abilities of Vitamins C and Vitamins E ,and a grape seed proanthocyanidins extract in vitro research[J]. Communications in Molecular Pathology and Pharmacology ,1997,95(2):179~189
- [11] Barbier A ,Maffrand J P. Savi P. in :Endotelonet unite circulatoire[M]. John Libbey (Ed.) Paris - London ,1988,39~41
- [12] Doutremepuich J D ,Baibier A ,Lacheretz F. [Z]. Lymphology ,1991,24:135
- [13] Ross R. [J]. Nature ,1993,362:801
- [14] Preuss HG,et al. Chromium ,Zinc ,and Grape seed extract (Flavonoids) can overcome age - related increases in SPB normotensive rats[J]. Journal of the American College of Nutrition ,1997,16(5):43
- [15] S S Joshi ,et al. Cytotoxicity of a novel grape seed proanthocyanidins extract against elected human cancer cells[R]. Second International conference on Natural Antioxidant and Disease June 24 ~ 27,1998 ,Helsinki ,Finland
- [16] M Bagchi ,et al. Comparative protective abilities of Vitamins C and E and a grape seed proanthocyanidins extract ( GSPE) on smokeless tobacco - induced oxidative stress and apoptopic cell death in Human Oral keratinocytes[J]. Toxicological Sciences ,1998,922:187
- [17] 钟进义,等. 葡多酚与辐照对小鼠  $S_{180}$  肉瘤的协同抑制作用研究[J]. 癌变 畸变 突变 ,1999,11(5):264~266
- [18] Marmioli A ,Restivo F M ,Donnini C ,et al. [Z]Molec. Gen. Genet. 177,581,1980
- [19] Magni G E ,von Borstel R C. [Z]. Genetics. 47,1097,1962
- [20] Puglisi P P. [Z]Molec. Gen. Genet. 103,248,1968
- [21] Codeau R G ,Gavigniet - jeannin G ,Groult N ,et al. [J]. Path. Biol ,38,608,1990
- [22] Fusi L ,Czimeg F ,Pesce F ,et al. [Z]. Ann Ott Clin Ocul. 114,575,1998
- [23] Moriconi S ,Bellezza P G. [Z]. Ann Ott Clin Ocul. 114,585,1998
- [24] Proto F ,Carloni C. Meucci B ,et al. [Z]Ann Ott Clin Ocul. 114,85,1998

中图分类号:R15;Q56 文献标识码:E 文章编号:1004—8456(2000)06—0038—04

## 引发食源性疾患的天然毒素研究概况(综述)

修 桥 郭云峰

(辽宁省卫生防疫站,辽宁 沈阳 110005)

目前普遍认为致病性微生物(有害菌、病毒和寄生虫)和毒素是食源性疾患的直接病原。<sup>[1]</sup>其中毒素的主要来源是:(1)食品中自然存在;(2)有意和无意添加于食品中的添加物及环境污染物;(3)细菌、病毒、真菌和寄生虫产生的病原体等。<sup>[2]</sup>它们或者在肠道中破坏有益菌群引起代谢紊乱,或者通过胃肠道吸收后作用于中枢神经等使摄取者中毒,甚至危及生命。具体表现为:<sup>[3]</sup>(1)胃肠道刺激;(2)在一些重要器官的疾病中充当抗原和病原;(3)辅助抗原,形成辅抗原,改变免疫响应过程;(4)错误地活化巨噬细胞,导致人体对过氧化物的有害选择;(5)干扰细胞外传导;(6)引发细胞内突变;(7)引发肿瘤和癌症;(8)作为表面活性剂诱发细胞内自由基。

因化学加工、人为添加及环境污染所导入食品中的有毒化合物,容易被认识和预防;而许多以食品的天然