北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

新西兰松树皮提取物Enzogenol的特征成分鉴定、活性评价及构效关系

董荣 杜楠 常泽宇 杨海艳 蒋建新 王堃

Identification, bioactivity evaluation, and structure-activity relationship of characteristic components in New Zealand pine bark extract Enzogenol®

Dong Rong, Du Nan, Chang Zeyu, Yang Haiyan, Jiang Jianxin, Wang Kun

引用本文:
董荣, 杜楠, 常泽宇, 杨海艳, 蒋建新, 王堃. 新西兰松树皮提取物Enzogenol的特征成分鉴定、活性评价及构效关系[J]. 北京林业大学学报, 2026, 48(5):191–200. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250485
Dong Rong, Du Nan, Chang Zeyu, Yang Haiyan, Jiang Jianxin, Wang Kun. Identification, bioactivity evaluation, and structure–activity relationship of characteristic components in New Zealand pine bark extract Enzogenol[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(5):191–200. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250485

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250485

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

酶解法对蒙古栎实壳提取物活性成分及抗氧化活性的影响
Effects of extraction methods on extraction components and antioxidant activity of *Quercus mongolica* shell
北京林业大学学报, 2022, 44(5): 150–160. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210352

低共熔溶剂提取马尾松松针抗氧化成分的研究
Antioxidant activities in extracts from *Pinus massoniana* needles by deep eutectic solvents
北京林业大学学报, 2021, 43(7): 149–158. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200030

朝鲜崖柏枝叶精油的最佳提取工艺及其抑菌性
Optimum extraction technology and antibacterial activity of essential oil from the branches and leaves of *Thuja koraiensis*
北京林业大学学报, 2021, 43(6): 141–151. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210076

四产地元宝枫种皮酚类资源及其抗氧化分析
Evaluation of phenolic resources and its antioxidant abilities for seed coats of *Acer truncatum* from four producing areas
北京林业大学学报, 2021, 43(12): 127–135. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210276

沙棘果实中主要活性成分质量分布
A review on mass distribution of active components from *Hippophae rhamnoides* fruits
北京林业大学学报, 2021, 43(1): 144–152. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200236

黑木相思心材形成中细胞生理活性及其次生代谢物变化
Changes in cellular physiological activity and secondary metabolites during formation of heartwood in *Acacia auriculiformis*
北京林业大学学报, 2025, 47(5): 166–176. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240361

DOI:10.12171/j.1000−1522.20250485

新西兰松树皮提取物 Enzogenol®的特征成分鉴定、活性评价及构效关系

董 荣[1] 杜 楠[1] 常泽宇[1] 杨海艳[2] 蒋建新[1] 王 堃[1]
（1. 北京林业大学材料科学与技术学院，北京 100083；2. 西南林业大学材料与化学工程学院，云南 昆明 650224）

摘要:【目的】我国松树皮资源丰富，但高值化利用水平仍然不高，主要存在特征功效成分不明、量化质控标准缺失等问题。为此，本研究选取商业化生产的新西兰松树皮提取物（Enzogenol®）为对象，拟系统解析其多酚组成，并与生物活性进行关联分析，以揭示“化学成分−生物活性”之间的关联，从而为开发标准化的国产松树皮产品提供科学依据。**【方法】**采用 UPLC-QTOF-MS 技术建立 Enzogenol®的化学指纹图谱，并对其主要成分进行定量分析。在体外活性评价方面，通过 DPPH 和 ABTS 自由基清除实验以及 Fe^{2+}/Cu^{2+}螯合实验，评估其抗氧化能力；同时采用微量稀释法测定其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌活性。在此基础上，利用 Pearson 相关性分析方法，进一步探究化学成分与生物活性之间的统计学关联。**【结果】**本研究从 Enzogenol® 中成功鉴定并定量了 8 种特征多酚成分。其中，原花青素 B1（含量为 2.55 mg/g）和儿茶素（含量为 1.17 mg/g）被确定为核心质量标志物，两者在体外表现出较强的自由基清除能力与 Fe^{2+}螯合活性，且对金黄色葡萄球菌的抑菌效果显著优于对大肠杆菌。相关性分析进一步显示，原花青素 B1、原花青素 B2、儿茶素及表儿茶素的含量与上述生物活性指标均呈显著正相关（$p < 0.05$）。基于成分结构与活性的关联分析表明，核心成分（原花青素 B1、儿茶素）的生物活性与其结构特征密切相关：密集分布的酚羟基赋予其突出的自由基清除与金属离子螯合能力，而适中的分子量与疏水性则介导了其选择性抑菌作用。**【结论】**原花青素 B1 和儿茶素是 Enzogenol®发挥抗氧化与抗菌活性的核心物质基础，其含量与上述生物活性呈显著正相关。该研究结果为我国松树皮资源的高值化开发及相应质量控制标准的建立提供了重要的理论依据与数据支撑。

关键词：松树皮提取物；多酚；质量标志物；原花青素 B1；儿茶素；UPLC-QTOF-MS；抗氧化活性；抗菌活性；成分−活性关联
中图分类号：TQ35；TS201.7　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1000−1522(2026)05−0191−10
引文格式：董荣，杜楠，常泽宇，等. 新西兰松树皮提取物 Enzogenol®的特征成分鉴定、活性评价及构效关系［J］. 北京林业大学学报，2026，48(5)：191−200. Dong Rong, Du Nan, Chang Zeyu, et al. Identification, bioactivity evaluation, and structure-activity relationship of characteristic components in New Zealand pine bark extract Enzogenol®［J］. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(5): 191−200.

Identification, bioactivity evaluation, and structure-activity relationship of characteristic components in New Zealand pine bark extract Enzogenol®

Dong Rong[1] Du Nan[1] Chang Zeyu[1] Yang Haiyan[2] Jiang Jianxin[1] Wang Kun[1]
(1. College of Materials Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
2. Southwest Forestry University, School of Materials and Chemical Engineering, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: ［**Objective**］China has abundant pine bark resources, yet their high-value utilization remains underdeveloped, primarily due to unclear characteristic bioactive components and the lack of quantitative quality control standards. This study selected the commercially produced New Zealand pine bark extract

收稿日期: 2025−12−01　**修回日期:** 2026−04−07
基金项目: 国家自然科学基金项目（32471805）。
第一作者: 董荣，博士生。主要研究方向：植物提取及精细化学品。Email: dr0402@163.com　地址：100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学材料科学与技术学院。
责任作者: 王堃，教授，博士生导师。主要研究方向：生物质资源高值转化为能源、化学品及功能材料。Email: wangkun@bjfu.edu.cn　地址：同上。
本刊网址: https://j.bjfu.edu.cn; https://journal.bjfu.edu.cn

(Enzogenol®) to systematically analyze its polyphenol composition and correlate it with bioactivities, aiming to elucidate the relationship between chemical constituents and biological effects. The findings are expected to provide a scientific basis for developing standardized domestic pine bark products. [**Method**] The chemical fingerprint of Enzogenol® was established using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS), and its main components were quantified. In vitro antioxidant activity was evaluated through DPPH and ABTS radical scavenging assays, as well as Fe^{2+}/Cu^{2+} chelation tests. Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was determined using the microdilution method. Pearson correlation analysis was further employed to investigate the statistical relationships between chemical components and bioactivities. [**Result**] Eight characteristic polyphenols were identified and quantified in Enzogenol®. Procyanidin B1 (2.55 mg/g) and catechin (1.17 mg/g) were identified as the core quality markers, demonstrating strong free radical scavenging ability and Fe^{2+} chelating activity in vitro. Moreover, their antibacterial effect against *S. aureus* was significantly stronger than that against *E. coli*. Correlation analysis revealed that the contents of procyanidin B1, procyanidin B2, catechin, and epicatechin were significantly positively correlated ($p < 0.05$) with the measured bioactivities. Structure-activity relationship analysis indicated that the bioactivity of the core components (procyanidin B1 and catechin) is closely related to their structural features: the dense distribution of phenolic hydroxyl groups contributes to their strong free radical scavenging and metal ion chelation abilities, while their moderate molecular weight and hydrophobicity mediate the selective antibacterial action. [**Conclusion**] This study confirms that procyanidin B1 and catechin are the core active substances responsible for the antioxidant and antibacterial effects of Enzogenol®, with their contents showing a significant positive correlation with these bioactivities. The results provide important theoretical foundations and data support for the high-value development of China's pine bark resources and the establishment of corresponding quality control standards.

Key words: pine bark extract; polyphenols; quality marker; procyanidin B1; catechin; UPLC-QTOF-MS; antioxidant activity; antibacterial activity; component-activity relationship

松树(*Pinus* spp.)是我国重要的森林资源，其树皮作为林业加工的主要副产物年产量超过 50 万 t[1]，富含多酚、原花青素与黄酮类化合物，具有开发为高附加值天然活性成分的巨大潜力。目前，我国对松树皮的利用仍以初级利用为主，高值化转化程度不足，其核心瓶颈在于特征性功效成分不明、量化质控标准缺失，导致相关产品质量参差不齐，难以实现标准化与功能化应用。

目前国外对松树皮提取物的研究与开发已较为成熟，例如，法国海岸松(*P. pinaster*)的碧萝芷(Pycnogenol®)以及源自新西兰松(*P. radiata*)的Enzogenol®，因其标准化的生产工艺和明确的抗氧化、抗炎等健康功效，已被广泛用于高端膳食补充剂与功能性食品领域[2−3]。与前者相比，独特的海洋性气候与火山土壤环境使 Enzogenol®富含水溶性好、生物可利用度高、生物安全性出色的类黄酮成分[4−5]。国内学者对樟子松(*P. sylvestris* var. *mongolica*)[6]、马尾松(*P. massoniana*)[7]、油松(*P. tabuliformis*)[8]等本土树种的树皮成分与活性进行了初步探索，证实了其富含原花青素、儿茶素等活性物质[9−13]，但是多局限于粗提物水平的总体活性评价，缺乏对多种关键功效单体(如原花青素 B1、B2、儿茶素、表儿茶素等)的准确定量，以及建立这些特定成分与多靶点生物活性(如多途径抗氧化、选择性抑菌)的关联。这种“成分－活性－构效”链条的断裂，严重阻碍了以功效为导向的标准化松树皮提取物产品的开发。

因此，本研究以成熟商业化产品新西兰松树皮提取物 Enzogenol®为研究对象，旨在：(1)采用 UPLC-QTOF-MS 技术系统鉴定并同步定量其核心多酚成分；(2)通过多模型体外抗氧化实验(DPPH、ABTS、金属离子螯合)评价其生物活性，并选取细胞壁结构上具有代表性的革兰氏阳性金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和革兰氏阴性大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为模型菌株，测试其抑菌效果；(3)利用 Pearson 相关性分析，揭示特定多酚含量与抗氧化、抑菌活性之间的统计关联，筛选可能的关键功效组分，并探讨其构效规律。通过上述研究，建立以特征多酚为核心的质量标志物，以期推动国产松树皮资源的高值化与标准化开发提供理论与数据支撑。

1　材料与方法

1.1　材　料

新西兰松树皮提取物 Enzogenol®购于 Enzo Nutraceuticals LTD。儿茶素、原花青素、没食子酸等（纯度 ⩾ 99.9%，北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司）；甲醇、乙醇、硫酸钾等其余试剂均为分析纯。

1.2　研究方法

1.2.1　Enzogenol®核心多酚成分的定性与定量分析

明确松树皮提取物的物质基础是解析其生物活性的前提。为系统鉴定 Enzogenol®中的关键功效成分，本研究采用超高效液相色谱−四极杆飞行时间质谱（UPLC-QTOF-MS）技术建立其多酚指纹图谱，并准确定量多酚成分的含量。具体方法如下。

精确称取 5 mg 样品溶解于体积分数 50% 的甲醇水溶液，并稀释定容至 2.5 mg/mL，经 0.22 μm 滤膜过滤后转移至样品瓶中以备分析。采用 TripleTOF 6600 超高效液相色谱−四极杆飞行时间质谱联用仪（UPLC-QTOF-MS，安捷伦科技有限公司）进行分析，液相色谱条件为 Waters BEH C_{18} 色谱柱（2.1 × 100 mm, 1.7 μm）、柱温 40 ℃、流动相 A（0.1% 甲酸水溶液）、流动相 B（乙腈）、检测波长 280 nm、流速 0.3 mL/min。梯度洗脱程序为：0 ~ 1 min 保持 95% A / 5% B，1 ~ 7 min 线性变化至 70% A / 30% B 并保持至 10 min，10 ~ 15 min 线性变化至 40% A / 60% B 并保持至 18 min，18 ~ 25 min 线性变化至 0% A / 100% B 并保持至 28 min，28.2 min 快速切换至 95% A / 5% B 并持续平衡至 33 min。质谱检测采用电喷雾离子源，分别在正离子和负离子模式下以灵敏度模式采集数据，扫描质量范围为 50 ~ 5 000 Da，分析参数包括毛细管电压正模式+3.0 kV、负模式−2.5 kV、锥孔电压 40 V、离子源温度 120 ℃、氮气脱溶剂气（温度 400 ℃，流量 800 L/min）和锥孔气（流量 50 L/h）、氩气碰撞气（碰撞能 30 ~ 40 V）。质谱数据结合相关文献及 MassBank、HMDB、Lipid Maps 等数据库进行成分解析与鉴定。

1.2.2　Enzogenol®体外抗氧化活性的多指标评价

抗氧化活性是多酚类物质的核心功效之一，单一评价指标难以全面反映其抗氧化能力。为系统评估 Enzogenol®的多途径抗氧化潜力，本研究采用 DPPH 和 ABTS 自由基清除实验评价其供氢/供电子能力，同时通过 Fe^{2+}和 Cu^{2+}螯合实验评价其金属离子络合能力。具体方法如下。

（1）DPPH 清除率

DPPH 法是基于抗氧化剂提供氢原子使 DPPH 自由基还原褪色的原理，广泛用于评价样品的自由基清除能力。为评估 Enzogenol®的供氢能力，本研究测定其对 DPPH 自由基的清除率并计算半数抑制浓度（half maximal inhibitory concentration，IC_{50}）。将 Enzogenol®用乙醇稀释至 1、5、10、25、50 μg/mL，以维生素 C（Vc）为阳性对照。取 100 μL 样品与 100 μL 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液混合，室温避光反应 30 min，于 517 nm 处测定吸光度。清除率计算公式为

$$S = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \tag{1}$$

式中：S 为清除率，A_1 为样品吸光度，A_2 为背景对照组（样品 + 溶剂）的吸光值，A_0 为空白组（溶剂 + DPPH 工作液）吸光度。

IC_{50} 采用非线性 Logistic 模型进行拟合计算。

$$Z = X\left(\frac{A_{\max} - A_{\min}}{0.5 - A_{\min}} - 1\right)^{-1/p} \tag{2}$$

式中：Z 为 IC_{50}（μg/mL），X 为样品质量浓度（μg/mL），$A_{\max}$ 为最大清除率，$A_{\min}$ 为最小清除率，p 为斜率因子。IC_{50} 为模型拟合所得参数，表示清除率达到 50% 时对应的样品质量浓度。拟合时限定清除率为 50%，以决定系数 $R^2 > 0.99$ 为拟合合格标准。采用 SPSS 19.0 软件完成数据分析。

（2）ABTS 自由基清除能力

ABTS 法可同时评价亲水性和亲脂性抗氧化剂的活性，适用于复杂天然产物的抗氧化能力评估。为全面评价 Enzogenol®的广谱自由基清除能力，本研究测定其对 ABTS 自由基的清除效果。ABTS 储备液由 ABTS 与过硫酸钾反应过夜制得，使用前用乙醇稀释，使 734 nm 处吸光度达到（0.70 ± 0.02），即得工作液。取如上储备溶液 20 μL 与 180 μL $ABTS^+$ 工作液混合避光反应 6 min 后于 734 nm 处测定其吸光度，自由基清除率同公式（1），IC_{50} 值的计算方法同式（2），其中 A_0 空白组为溶剂 + ABTS 工作液。

（3）Fe^{2+}螯合能力

过渡金属离子（如 Fe^{2+}）可催化活性氧生成，加剧氧化损伤。多酚类物质可通过螯合金属离子间接发挥抗氧化作用。为评估 Enzogenol®的 Fe^{2+}络合能力，本研究采用菲啰嗪显色法测定其对 Fe^{2+}的螯合率。取如上的 Enzogenol®储备溶液 100 μL，加入 0.2 mmol/L 新鲜配制的 $FeCl_2$ 溶液 20 μL，混匀静置 1 min 后加入 5 mmol/L 菲啰嗪甲醇溶液 20 μL，室温避光反应 10 min 后于 562 nm 测定吸光度。螯合率（C, %）计算公式为

$$C = \left(1 - \frac{A_s - A_b}{A_c}\right) \times 100\% \tag{3}$$

式中：A_s 为样品吸光度，A_b 为背景对照组（溶剂 + 菲

啰嗪)的吸光值，A_c 为空白组吸光度。

(4)Cu^{2+}螯合能力

Cu^{2+}与 Fe^{2+}的配位偏好不同，多酚对其螯合能力可反映其结构特征的差异。为全面评价 Enzogenol®的金属离子螯合谱，本研究采用新亚铜试剂显色法测定其对 Cu^{2+}的螯合能力。取如上的 Enzogenol®储备溶液 50 μL，依次加入 1.0 mol/L 醋酸铵缓冲液(pH 7.0)50 μL、10 mmol/L $CuCl_2$ 溶液 50 μL 和 7.5 mmol/L 新亚铜试剂甲醇溶液 50 μL，混匀放置 5 min。加入 10 mmol/L 抗坏血酸溶液 50 μL，室温避光反应 30 min 后于 450 nm 处测定吸光度，螯合率计算公式同式(3)，其中空白对照为溶剂 + 缓冲液 + $CuCl_2$ + Nc + 抗坏血酸。

1.2.3 Enzogenol® 抑菌活性评价方法

细胞壁结构的差异可导致抗菌物质对不同细菌的敏感性不同。为探究 Enzogenol®的抑菌谱及其选择性，本研究选取细胞壁结构差异显著的革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性菌大肠杆菌为靶标，采用琼脂稀释法测定最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration，MIC)。将 Enzogenol®用无菌水溶解，分别配制 0、25、50 μg/mL 的溶液。待琼脂平板凝固后，使用微量移液器将 Enzogenol®溶液点种于平板表面，于 37 ℃ 培养 24 h，观察各接种点菌落生长情况。每个质量浓度设置 3 次重复。

1.2.4 相关性分析及构效关系

为揭示 Enzogenol®中特定多酚成分与生物活性之间的内在关联，将 1.2.1 节测得核心多酚含量(mg/g)与 1.2.2 节获得的抗氧化指标(IC_{50} 值、螯合率)及抑菌活性(MIC 值)进行整合。采用 SPSS 19.0 软件进行 Pearson 相关性分析，计算各成分含量与各活性指标之间的相关系数(r)，并以 $p < 0.05$ 为具有统计学显著性。基于相关性矩阵识别结果并结合文献报道的分子结构特征(如酚羟基数量、空间构型)，进一步探讨其构效规律。

1.3 数据处理

每个样品测定实验进行 3 次平行实验后取平均值，采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 进行数据处理和统计分析，测定结果均以平均值 ± 标准差表示。采用 one-way ANOVA 方法进行差异分析，以 $p < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与讨论

2.1 Enzogenol®的活性成分

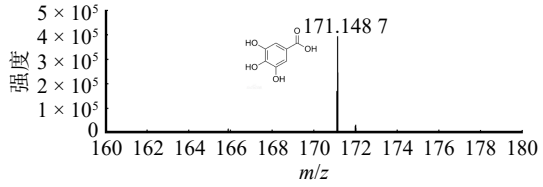
所有成分的保留时间(偏差 ≤ 0.04 min)、一级质谱($[M-H]^-$)及特征碎片离子均与标准品及文献[14–18]一致，验证了鉴定的可靠性(表 1)。以没食子酸为例，其保留时间为 2.29 min，$[M-H]^-$质荷比(m/z)为 171.148 7，特征碎片质荷比为 125.096 2(丢失 CO_2)，与标准品完全吻合(图 1、2)。这些成分共分为以下 3 类。(1)黄烷-3-醇类，包括黄烷-3-醇单体(儿茶素、表儿茶素)、原花青素二聚体(B1、B2)及其没食子酸酯(表没食子儿茶素没食子酸酯 EGCG、表儿茶素没食子酸酯 ECG)；(2)二氢黄酮醇类，主要为二氢槲皮素；(3)酚酸类，主要为没食子酸。其中，原花青素 B1 和儿茶素的特征碎片丰度最高，且后续定量分析(表 2)显示二者为含量最高的组分，表明其可能是 Enzogenol®生物活性的核心贡献者。

原花青素 B1 为含量最高的单一成分((2.550 ± 0.530)mg/g，即每克提取物中该物质的毫克数)，是衡量 Enzogenol®品质的关键标志物；儿茶素次之((1.170 ± 0.020)mg/g)，为原花青素寡聚体的基本单体单元；二氢槲皮素含量为(0.830 ± 0.030)mg/g，其余成分(EGCG、原花青素 B2、没食子酸、ECG、表儿茶素)均为微量。结果表明：Enzogenol®的核心多酚主要由黄烷-3-醇(儿茶素、表儿茶素)、原花青素二聚体(B1、B2)及二氢黄酮醇(二氢槲皮素)三类构成，

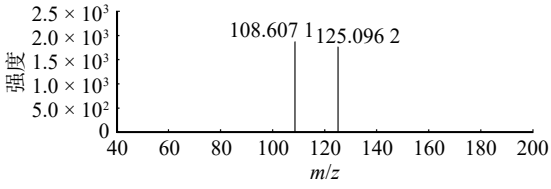
表 1 Enzogenol® 中 8 种核心多酚成分的 UPLC-QTOF-MS 鉴定结果

Tab. 1 UPLC-QTOF-MS identification results for eight core polyphenolic components in Enzogenol®

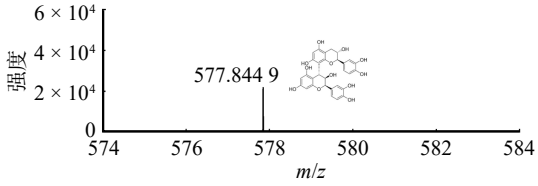
物质	保留时间/min			质荷比(m/z)	分子式	特征碎片
	样品	标准品	偏差			
没食子酸	2.29	2.29	0.00	171.148 7	$C_7H_6O_5$	125.096 2
原花青素B1	3.96	3.96	0.00	577.844 9	$C_{30}H_{26}O_{12}$	288.676 8, 291.836 0, 425.761 7
原花青素B2	3.99	3.98	0.01	579.149 1	$C_{30}H_{26}O_{12}$	288.676 8, 291.836 0, 425.761 7
儿茶素	3.59	3.57	0.02	291.085 5	$C_{15}H_{14}O_6$	247.361 8
表儿茶素	3.77	3.73	0.04	291.005 8	$C_{15}H_{14}O_6$	226.510 1
EGCG	4.87	4.87	0.00	459.165 8	$C_{22}H_{18}O_{11}$	312.797 7
ECG	5.35	5.31	0.04	443.438 6	$C_{22}H_{18}O_{10}$	292.073 6
二氢槲皮素	5.59	5.59	0.00	304.890 6	$C_{15}H_{12}O_7$	153.017 9



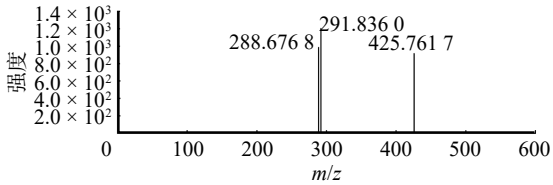
A-1: 没食子酸一级质谱图



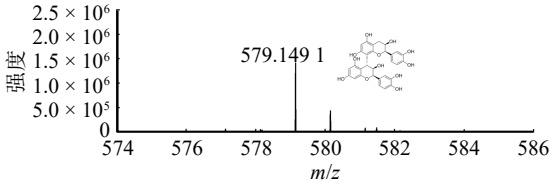
A-2: 没食子酸二级质谱图



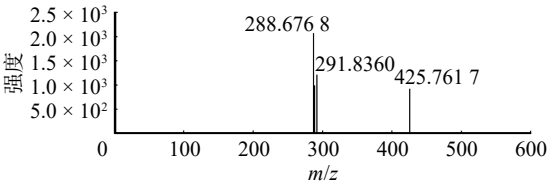
B-1: 原花青素 B1 一级质谱图



B-2: 原花青素 B1 二级质谱图



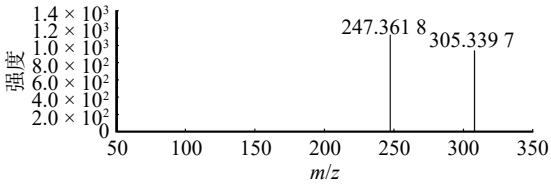
C-1: 原花青素 B2 一级质谱图



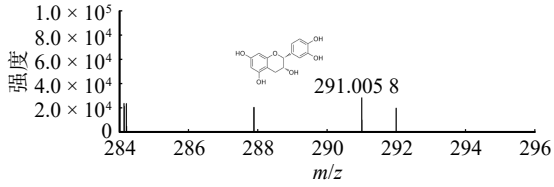
C-2: 原花青素 B2 二级质谱图



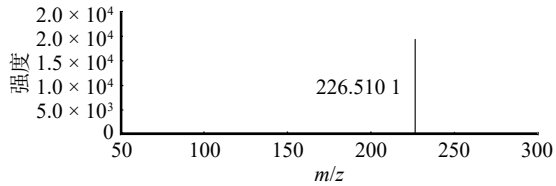
D-1: 儿茶素一级质谱图



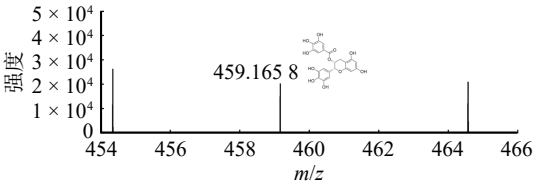
D-2: 儿茶素二级质谱图



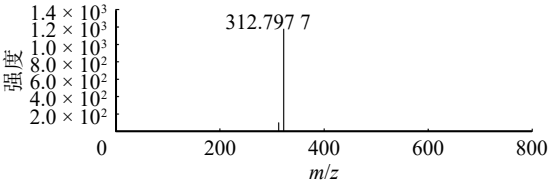
E-1: 表儿茶素一级质谱图



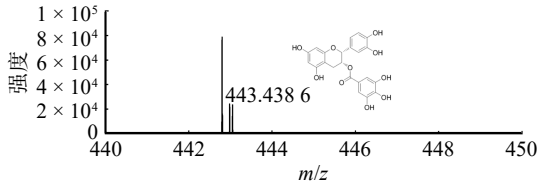
E-2: 表儿茶素二级质谱图



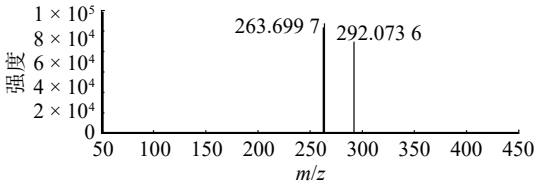
F-1: 表没食子儿茶素没食子酸酯一级质谱图



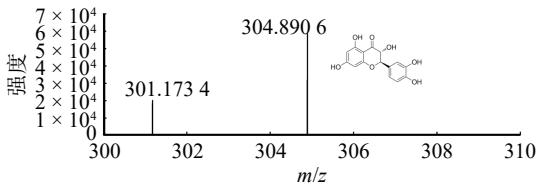
F-2: 表没食子儿茶素没食子酸酯二级质谱图



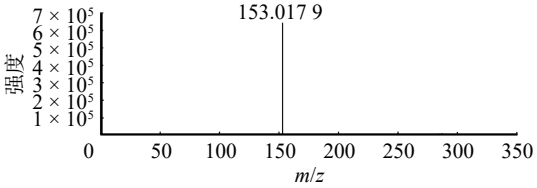
G-1: 表儿茶素没食子酸酯一级质谱图



G-2: 表儿茶素没食子酸酯二级质谱图



H-1: 二氢槲皮素一级质谱图



H-2: 二氢槲皮素二级质谱图

图 1　Enzogenol® 中 8 种核心多酚成分的一级及二级质谱图

Fig. 1　Mass spectra of eight core polyphenolic components in Enzogenol®

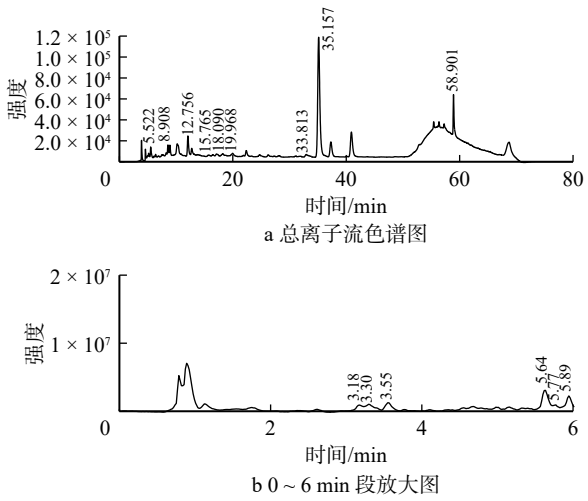


图 2 Enzogenol® 的 UPLC-QTOF-MS 总离子流色谱图

Fig. 2 Enzogenol® UPLC-QTOF-MS total ion chromatogram

其中原花青素 B1 和儿茶素为含量最高的特征性组分。这为后续生物活性与构效关系分析提供了可靠的基础。建议生产环节优化过滤工艺，确保总活性多酚含量稳定可控。

2.2 Enzogenol®的抗氧化活性

Enzogenol®对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除率均随质量浓度升高呈典型 “S” 形增长，符合酚类抗氧化剂的浓度依赖特征[19]。5 μg/mL 时 DPPH 清除率为 39.10%，10 μg/mL 时快速增至 77.44%，25 μg/mL 后趋于平缓(93.80%)；ABTS 清除率增长相对平缓，5 μg/mL 时为 20.00%，50 μg/mL 时达 99.39%(表 3)，体现其在亲水/亲油体系中的广谱抗氧化活性[20]。在 25 μg/mL 时，Enzogenol®的 DPPH 清除率与 Vc 无显著差异，证实其酚类成分可通过供氢高效淬灭自由基。本研究 Enzogenol®的 DPPH 和 ABTS 自由基的 IC_{50}(5.1 和 28.5 μg/mL)与樟子松[3]、黑松(*P. thunbergii*)与欧洲赤松(*P. sylvestris*)[13]的核心多酚组分的 IC_{50} 高度一致，这种跨种属的活性一致性源于松树皮中保守存在的黄烷-3-醇及其寡聚体的结构

表 2 Enzogenol® 中 8 种核心多酚成分的定量分析结果

Tab. 2 Quantitative analysis results of eight core polyphenolic components in Enzogenol®

物质	没食子酸	原花青素B1	原花青素B2	儿茶素	表儿茶素	EGCG	ECG	二氢槲皮素
含量/(mg·g^{-1})	0.060 ± 0.005	2.550 ± 0.530	0.200 ± 0.070	1.170 ± 0.020	0.010 ± 0.001	0.240 ± 0.060	0.080 ± 0.003	0.830 ± 0.030

表 3 Enzogenol®和 Vc 对 DPPH 及 ABTS 自由基的清除能力对比

Tab. 3 Comparation of DPPH and ABTS radical scavenging capacities between Enzogenol® and Vc

指标	样品	质量浓度/(μg·mL^{-1})	清除率/%	IC_{50}/(μg·mL^{-1})	R^2
DPPH自由基清除能力	Vc	0.05	35.62 ± 0.21	0.85 ± 0.03	0.998
		0.10	50.26 ± 0.03		
		0.20	68.35 ± 0.47		
		0.50	71.23 ± 0.64		
		1.00	89.66 ± 0.36		
	Enzogenol®	1	11.84 ± 0.59	5.1 ± 0.20	0.996
		5	39.10 ± 1.95		
		10	77.44 ± 3.87		
		25	93.80 ± 4.69		
		50	93.80 ± 4.69		
ABTS自由基清除能力	Vc	0.2	78.52 ± 0.53	0.15 ± 0.01	0.999
		0.5	92.36 ± 0.31		
		1.0	96.89 ± 0.35		
		5.0	98.45 ± 0.27		
		10.0	100.00 ± 0.00		
	Enzogenol®	1	1.22 ± 0.06	28.5 ± 1.30	0.997
		5	20.00 ± 1.00		
		10	47.55 ± 2.38		
		25	92.04 ± 4.60		
		50	99.39 ± 4.97		

特征：原花青素 B1/B2 富含的邻苯二酚结构和儿茶素的多个酚羟基，是其高效淬灭自由基的共同物质基础[21]。因此，不同来源松树皮提取物抗氧化活性的差异主要源于活性成分的含量高低，而非作用机制的根本改变。

Enzogenol®对 Fe^{2+}和 Cu^{2+}均表现出浓度依赖性螯合活性，但与 EDTA 的规律性响应存在本质差异（表 4）。EDTA 作为小分子螯合剂，通过氨基二乙酸基团与金属离子形成稳定的 1∶1 络合物，螯合率随质量浓度升高单调递增至平台期[22]；而 Enzogenol®为多酚混合物，其螯合活性依赖原花青素 B1、儿茶素等成分中的酚羟基和邻苯二酚结构，高质量浓度下因分子自聚合掩蔽络合位点，导致螯合率呈非典型变化[23−24]。对 Fe^{2+}而言，Enzogenol®在 10 μg/mL 时螯合率达峰值（53.05%），随后下降。其原因是高质量浓度下多酚通过分子间氢键和 π-π 堆积形成聚集体，掩蔽了与 Fe^{2+}配位的邻苯二酚位点，同时多酚−Fe^{2+}络合物稳定性较弱，导致螯合率下降[23,25]。其对 Cu^{2+}的螯合活性整体较弱，1 ~ 25 μg/mL 范围内缓慢上升至峰值 18.26%（25 μg/mL），Cu^{2+}更倾向与没食子酰基等多羟基结构形成多齿络合物，而 Enzogenol®中此类成分（没食子酸、EGCG 等）含量极低（0.06 ~ 0.24 mg/g），有限的特异性位点在高质量浓度聚合后进一步减少，导致螯合活性急剧下降[26]。此外，高质量浓度多酚可能与显色剂（菲啰嗪、新亚铜试剂）发生弱相互作用，轻微干扰测定结果，放大螯合率下降的表观趋势[27]。总体而言，Enzogenol®对 Fe^{2+}的螯合能力显著优于 Cu^{2+}，且在 5 ~ 10 μg/mL 中低质量浓度范围内表现出稳定活性（Fe^{2+}螯合率 50.97% ~ 53.05%）。高质量浓度下螯合率下降主要源于多酚的自聚合效应，提示此类天然产物在应用时存在最佳有效质量浓度范围。

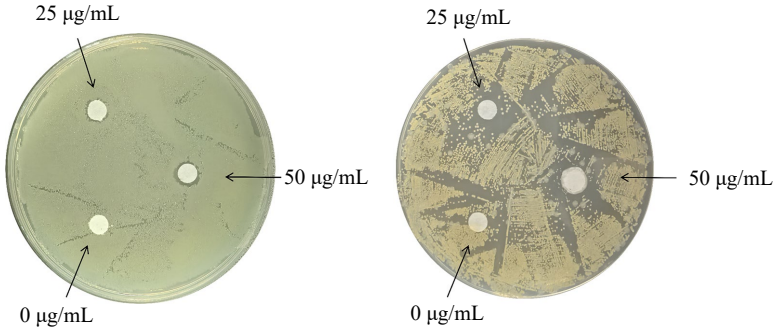
2.3　Enzogenol®的抑菌性

Enzogenol®对金黄色葡萄球菌（革兰氏阳性菌）和大肠杆菌（革兰氏阴性菌）均呈浓度依赖性抑制（图 3），50 μg/mL 时可完全抑制两种菌株生长；但在 25 μg/mL 时，其对金黄色葡萄球菌的抑制作用明显强于大肠杆菌，表明革兰氏阳性菌对该提取物更为敏感。这种选择性抑菌活性与细胞壁结构差异密切相关。革兰氏阳性菌细胞壁为厚肽聚糖层（20 ~ 80 nm），利于原花青素二聚体（577 Da）和儿茶素（290 Da）等分子尺寸适中、疏水性适宜的酚类化合物穿透；而革兰氏阴性菌外膜的脂多糖屏障则阻碍多酚渗透[16]。Enzogenol®的抑菌机制为多靶点协同作用：一方面，原花青素低聚体与儿茶素可通过疏水作用插入细胞膜脂质双层，破坏膜完整性，导致胞内钾离子外流和膜电位去极化[16]；另一方面，原花青素 B1 和儿茶素可穿透细胞膜，通过酚羟基与糖酵解

表 4　Enzogenol® 和 EDTA 对 Fe^{2+}及 Cu^{2+}的螯合能力对比

Tab. 4　Comparation of Fe^{2+} and Cu^{2+} chelating capacities between Enzogenol® and EDTA

质量浓度/(μg·mL^{-1})	Fe^{2+}螯合率/%		Cu^{2+}螯合率/%	
	EDTA	Enzogenol®	EDTA	Enzogenol®
1	96.35 ± 0.36	50.06 ± 1.23	92.67 ± 0.03	2.50 ± 0.21
5	97.65 ± 0.01	50.97 ± 0.58	93.78 ± 0.45	7.32 ± 0.04
10	99.45 ± 0.08	53.05 ± 3.46	95.01 ± 0.16	13.44 ± 0.39
25	99.51 ± 0.12	43.19 ± 1.11	95.21 ± 0.07	18.26 ± 1.28
50	99.65 ± 0.04	35.15 ± 0.48	96.33 ± 0.05	3.30 ± 0.06



a 大肠杆菌 *Escherichia coli*　　b 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*

图 3　不同质量浓度 Enzogenol® 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性测定结果

Fig. 3　Results of antibacterial activity assays for Enzogenol® at different concentrations against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

关键酶(如磷酸果糖激酶)的氨基酸残基形成氢键，抑制酶活性，阻断 ATP 生成，干扰能量代谢[28–29]。综上，Enzogenol®对革兰氏阳性菌具有更强的抑制作用，其核心成分原花青素 B1 和儿茶素凭借适中的分子尺寸(290 ~ 577 Da)和疏水性，可有效穿透革兰氏阳性菌的肽聚糖层，并通过多靶点机制发挥抗菌作用；而革兰氏阴性菌的脂多糖外膜则形成有效渗透屏障。这一发现为其作为靶向革兰氏阳性菌的天然抗菌剂提供了依据，多靶点作用机制也有助于降低细菌耐药性风险。

2.4 松树树皮提取物（Enzogenol®）活性成分及抗氧化能力相关性分析

相关性分析结果表明，Cu^{2+}螯合能力与所测酚类物质之间未表现出显著相关性($p > 0.05$)。其余 3 种抗氧化能力与酚类物质均存在显著相关性($p < 0.05$)。由表 5 的相关系数矩阵可知，原花青素 B1、原花青素 B2、儿茶素及表儿茶素与 DPPH、ABTS 自由基清除能力及 Fe^{2+}螯合能力呈极显著正相关，表明这些酚类物质在抗氧化机制中发挥积极作用。相反，没食子酸、EGCG、ECG 和二氢槲皮素与上述 3 种抗氧化能力呈显著负相关，说明这些成分通过其他机制影响抗氧化活性，或在特定条件下表现出抗氧化抑制效应[27]。综上所述，不同酚类物质与抗氧化能力之间的关系存在差异，表明其抗氧化机制具有结构依赖性，值得进一步深入研究。

2.5 构效关系

2.5.1 抗氧化活性的构效关系

本研究表明，原花青素 B1、B2、儿茶素及表儿茶素是 Enzogenol®抗氧化活性的核心贡献者，其构效关系主要取决于酚羟基的数量、位置与空间构型，自由基清除能力活性与酚羟基总数呈正相关。原花青素 B1(含 8 ~ 10 个酚羟基)的活性高于儿茶素(5 个酚羟基)，B 环均具有邻苯二酚结构(3′,4′-二羟基)，这种结构不仅提供氢原子的能力强，而且其氧化生成的半醌式自由基中间体因共轭效应而稳定，从而高效淬灭 DPPH 与 ABTS 自由基[23]。Fe^{2+}的螯合高度依赖于邻苯二酚双齿配位位点，原花青素 B1/B2 富含此类位点，故螯合活性显著。相反，Cu^{2+}偏好与没食子酰基(三羟基)形成多齿络合物[24]，由于 Enzogenol®中没食子酸酯类成分含量低，导致其 Cu^{2+}螯合能力整体较弱。高质量浓度下，多酚分子通过 π-π 堆积和氢键发生自聚合，掩蔽了关键的配位酚羟基，进一步解释了表 4 中高质量浓度下螯合率下降的现象[23–24]。没食子酸、EGCG 等成分与部分抗氧化指标的负相关，可能源于其空间位阻效应(没食子酰基体积大)或条件性促氧化倾向(邻苯三酚结构在金属离子存在时可能生成活性氧)[28–29]，其在复杂体系中的净抗氧化效应取决于具体的微环境。

2.5.2 抑菌活性的构效关系

在抑菌活性方面，化学成分的协同作用与细菌细胞结构差异共同决定了其抑菌效果。Enzogenol®对金黄色葡萄球菌的抑制作用强于大肠杆菌，且核心活性成分(原花青素 B1、儿茶素)的结构决定了抑菌特异性与多途径机制。首先，是结构影响穿透能力：分子尺寸(原花青素二聚体(577 Da)大于儿茶素(290 Da))和疏水性适中的成分(原花青素二聚体、儿茶素)，更易穿透革兰氏阳性菌的厚肽聚糖细胞壁，而革兰氏阴性菌的脂多糖外膜阻碍了多酚渗透[25]。

表 5 Enzogenol® 核心多酚成分与抗氧化活性的 Pearson 相关性系数矩阵

Tab. 5 Pearson correlation coefficient matrix of core polyphenolic components in Enzogenol® and antioxidant activity

项目	没食子酸	原花青素B1	原花青素B2	儿茶素	表儿茶素	EGCG	ECG	二氢槲皮素	DPPH自由基清除率	ABTS自由基清除率	Fe^{2+}螯合率	Cu^{2+}螯合率
没食子酸	1											
原花青素B1	−1	1										
原花青素B2	−1	1	1									
儿茶素	1	−1	−1	1								
表儿茶素	−1	1	1	−1	1							
EGCG	1	−1	−1	1	−1	1						
ECG	1	−1	−1	1	−1	1	1					
二氢槲皮素	1	−1	−1	1	−1	1	1	1				
DPPH自由基清除率	−0.999 8	0.999 8	0.999 8	−0.999 8	0.999 8	−0.999 8	−0.999 8	−0.999 8	1			
ABTS自由基清除率	−0.998 9	0.998 9	0.998 9	−0.998 9	0.998 9	−0.998 9	−0.998 9	−0.998 9	0.997 9	1		
Fe^{2+}螯合率	−0.999 3	0.999 3	0.999 3	−0.999 3	0.999 3	−0.999 3	−0.999 3	−0.999 3	0.998 5	1.000 0	1	
Cu^{2+}螯合率	0.982 7	−0.982 7	−0.982 7	0.982 7	−0.982 7	0.982 7	0.982 7	0.982 7	−0.979 3	−0.990 3	−0.989 0	1

其次，结构影响作用靶点——酚羟基密度高的成分（原花青素 B1）更易破坏细胞膜（与膜脂质双层结合）[30]。最后，协同作用增强活性：原花青素 B1、儿茶素分别作用于细菌的细胞膜、能量代谢、生物合成靶点，协同发挥抑菌作用。这也解释了 Enzogenol® 作为混合物的抑菌效果优于单一成分的潜在原因。

3　结　　论

本研究针对国产松树皮高值化利用中关键功效成分不明与量化质控标准缺失的核心问题，以商业化产品新西兰松树皮提取物（Enzogenol®）为研究对象，通过系统成分分析与多指标活性评价，旨在明确其物质基础与主导功效的构效关系，为开发标准化国产原料提供科学依据。主要结论如下。

（1）明确了核心功效成分及其含量。UPLC-QTOF-MS 分析确定 Enzogenol®关键功效组分原花青素 B1（2.55 mg/g）和儿茶素（1.17 mg/g）两个特征成分。

（2）证实了其体外抗氧化活性。Enzogenol®具有极强的自由基清除能力，其对 DPPH 自由基的 IC_{50} 为 5.1 μg/mL，对 ABTS 自由基的 IC_{50} 为 28.5 μg/mL；同时对 Fe^{2+} 也表现出显著的螯合能力，在 10 μg/mL 时螯合率达 53.05%，体现了多途径的抗氧化机制。

（3）揭示了其抑菌特性及成分–活性关联。Enzogenol®对金黄色葡萄球菌（革兰氏阳性菌）的抑制作用显著强于大肠杆菌（革兰氏阴性菌），且通过多途径机制发挥抑菌作用（细胞膜损伤、能量代谢干扰、生物合成抑制）。Pearson 相关性分析证实，其卓越的抗氧化活性（DPPH、ABTS、Fe^{2+} 螯合）与原花青素 B1、原花青素 B2、儿茶素及表儿茶素的含量呈显著正相关（$p < 0.05$），明确了这 4 种成分为核心功效组分。

（4）明确了核心构效规律。多酚成分的自由基清除活性依赖酚羟基数量与邻苯二酚/间苯三酚结构；Fe^{2+} 螯合活性取决于邻苯二酚配位位点数量；抑菌活性与分子尺寸、疏水性及酚羟基密度相关，且通过多靶点协同发挥作用。

本研究通过成分–活性的系统性解析，确认原花青素 B1 与儿茶素为 Enzogenol®的核心功效成分，为建立以二者为质量标志物的标准化松树皮提取物生产工艺与质控体系提供了关键数据支撑。基于本研究数据，建议在相关产品质控中以二者总含量 ≥ 3.5 mg/g 作为参考指标，以推动国产松树皮提取物的标准化与高值化应用。本研究成果对于突破高端原料进口依赖，推动林业副产物高值化具有积极意义。后续研究可围绕本品在人体内的吸收代谢规律、活性成分间的协同作用以及制剂稳定性等方面进行深入开展，以加速其在高品质口服抗氧化保健产品中的应用转化。

参　考　文　献

[1] 李可. 基于抗氧化和自噬探究姜黄松树皮黄芪提取物配方产品对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用 [D]. 天津: 天津医科大学, 2022.
Li K. Study on anti-aging effect of the formulation of *Curcuma*, pine's bark and *Astragalus* extracts on *Caenorhabditis elegans* based on antioxidation and autophagy[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2022.

[2] Robertson N U, Schoonees A, Brand A, et al. Pine bark (*Pinus* spp.) extract for treating chronic disorders [J]. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2020, 9(9): CD008294−CD008294.

[3] Murningsih T, Praotiwi P, Interested, et al. TLC profiling and antioxidant activity of phenolic compound from *Sterculia oblongata* bark extract [J]. Nusantara Bioscience, 2019, 11(1): 44−48.

[4] 徐捷, 冒晓香, 朱晓玲. 低聚原花青素对 DNCB 诱导的小鼠皮肤损伤的保护机制 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2022, 36(5): 530−536.
Xu J, Mao X X, Zhu X L. The mechanism of protective effect of oligomeric procyanidins on DNCB-induced skin lesions in mice [J]. The Chinese Journal of Dermatovenereology, 2022, 36(5): 530−536.

[5] Semerdjieva I, Cantrell C L, Zheljazkov V D, et al. Chemical profile, antioxidant and antimicrobial activity of *Pinus heldreichii* Christ. distributed in *Bulgaria* [J]. Heliyon, 2024, 10(1): e22967.

[6] Woo S H, Kim J C, Eslenur N, et al. Modulations of cardiac functions and pathogenesis by reactive oxygen species and natural antioxidants [J]. Antioxidants, 2021, 10(5): 760.

[7] Kurtiš A, Antić-Stanković J, Bufan B, et al. Quantitative analysis of polyphenols and *in vitro* antioxidant, antimicrobial and toxicity assessments in needles of five *Pinus* species from Montenegro [J]. Microorganisms, 2026, 14(1): 170.

[8] Xiao Y C, Shi Z F, Yan C Q, et al. Isolation, X-ray crystal structure of the new diterpene and identification of others lignans and flavonoids from the fresh needles of *Pinus massoniana* [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2020, 22(8): 707−715.

[9] Zhao Y, Sun T, Liu J, et al. The key role of plant hormone signaling transduction and flavonoid biosynthesis pathways in the response of Chinese pine (*Pinus tabuliformis*) to feeding stimulation by pine caterpillar (*Dendrolimus tabulaeformis*) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(12): 6354.

[10] Ranjitha D V S, Mythili S. A Comparative study on phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial capacities of leaf extracts from medicinal plants [J]. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2019, 12(1): 361−366.

[11] Ferreira-Santos P, Ibarz R, Fernandes J M, et al. Encapsulated pine bark polyphenolic extract during gastrointestinal digestion: bioaccessibility, bioactivity and oxidative stress prevention [J].

Foods, 2021, 10(2): 328.

[12] Kashiwada M, Nakaishi S, Usuda A, et al. Analysis of anti-obesity and anti-diabetic effects of *Acacia* bark-derived proanthocyanidins in type 2 diabetes model KKAy mice[J]. Journal of Natural Medicines, 2021, 75(4): 1: 14.

[13] Nisca A, Ştefănescu R, Stegăruş D I, et al. Comparative study regarding the chemical composition and biological activity of pine (*Pinus nigra* and *P. sylvestris*) bark extracts [J]. Antioxidants, 2021, 10(2): 327.

[14] Ponomarenko J, Pals M, Radovska K, et al. Sustainable glycerol-based extraction of bioactive compounds from tree bark for transdermal applications [J]. Industrial Crops and Products, 2026, 242: 122989.

[15] 唐海飞. 莲房原花青素 B1 分子结构及反应活性位点的量子化学研究 [J]. 广东化工, 2024, 51(22): 57−59.
Tang H F. Quantum chemistry study on the molecular structure and reactive sites of procyanidin B1 from Lotus seedpod [J]. Guangdong Chemical Industry, 2024, 51(22): 57−59.

[16] Sánchez-Moya T, López-Nicolás R, Peso-Echarri P, et al. Effect of pine bark extract and its phenolic compounds on selected pathogenic and probiotic bacterial strains [J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1381125.

[17] Akca M, Gur M, Guder A. Phytochemical composition and biological activities of bark extracts from seven industrially relevant tree species [J]. European Journal of Wood and Wood Products, 2025, 83(6): 199.

[18] Cho Y R, Lee S, Kim H, et al. Pinuseldarone, a clerodane-type diterpene from *Pinus eldarica* needles and phytochemicals as novel agents for regulating brown adipogenesis and thermogenesis [J]. Journal of Natural Products, 2024, 87(1): 58−67.

[19] Molole G J, Gure A, Abdissa N. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin [J]. BMC Chemistry, 2022, 16(1): 48.

[20] Schoss K, Pečar Fonović U, Kočevar Glavač N. Exploring techniques for extraction of silver fir (*Abies alba*): phytochemical composition, antioxidant activity and cell viability [J]. Pharmaceutical Biology, 2026, 64(1): 168−184.

[21] Li Z, Liu J, You J, et al. Proanthocyanidin structure-activity relationship analysis by path analysis model [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(7): 6379.

[22] Levdanskiy V A, Korol'kova I V, Levdanskiy A V, et al. Isolation and study of proanthocyanidins from bark of pine *Pinus sylvestris* L [J]. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2021, 47(7): 1445−1450.

[23] Bayer J, Högger P. Development and validation of a LC–MS/MS method for the quantification of phenolic compounds in human saliva after intake of a procyanidin-rich pine bark extract [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2024, 239: 115914.

[24] Bayer J, Högger P. Review of the pharmacokinetics of French maritime pine bark extract (Pycnogenol®) in humans [J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1389422.

[25] 胥鑫萌, 王文权, 孙洁怡, 等. 原花青素在化妆品中的应用 [J]. 中国洗涤用品工业, 2021(2): 56−60.
Xu X M, Wang W Q, Sun J Y, et al. Application of proanthocyanidins in cosmetics [J]. China Cleaning Industry, 2021(2): 56−60.

[26] Choi S S, Jung Y S, Hwang G H, et al. Correlation between antioxidant capacity and phenolic compounds of Korean red pine (*Pinus densiflora* sieb. et zucc.) bark fractions under *in vitro* gastrointestinal digestive conditions [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2025, 80(1): 29.

[27] Popescu Stegarus D, Frum A, Dobrea C, et al. Comparative antioxidant and antimicrobial activities of several conifer needles and bark extracts [J]. Pharmaceutics, 2023, 16(1): 52.

[28] Taylor P W. Interactions of tea-derived catechin gallates with bacterial pathogens [J]. Molecules, 2020, 25(8): 1986.

[29] Mgbeahuruike E E, Salih E, Prévost-Monteiro S, et al. Polyphenol analysis and antibacterial potentials of twig extracts of *Salix aurita, S. pyrolifolia*, and *S. caprea* growing naturally in Finland [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(22): 11978.

[30] Zhang M, Ma W, Wang C, et al. Optimization of enzyme-assisted extraction and purification of flavonoids from *Pinus koraiensis* nut-coated film and antioxidant activity evaluation [J]. Molecules, 2021, 26(7): 1950.

（责任编辑 吴 娟
责任编委 许 凤）