

# 厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 提取工艺优化及提取物抗氧化活性研究

杨 岩<sup>1,3</sup>, 肖佳妹<sup>1,3</sup>, 易子漾<sup>1</sup>, 罗彩玉<sup>1</sup>, 王圣楠<sup>1</sup>, 李 娇<sup>1</sup>, 杨岩涛<sup>1,2,3\*</sup>, 裴 刚<sup>1\*</sup>

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

3. 湖南中医药大学 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208

**摘要:** 目的 优选超临界 CO<sub>2</sub> 提取厚朴有效成分的工艺并探讨厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 提取物的抗氧化活性。方法 采用 HPLC 法测定厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 提取物中厚朴酚与和厚朴酚的含量, 正交试验优选厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 提取工艺, MTT 法检测提取物抗氧化活性。结果 厚朴酚优化工艺为萃取压力 25 MPa, 萃取温度 55 °C, CO<sub>2</sub> 用量 30 kg; 和厚朴酚最佳提取工艺压力 15 MPa、萃取温度 50 °C、CO<sub>2</sub> 用量 25 kg。厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 提取物具有抗氧化活性, 且分离参数不同, 抗氧化活性有显著差异。结论 在所优选的提取工艺条件下, 厚朴酚、和厚朴酚的提取效率较高, 重复性较好, 工艺稳定可行, 提取物具有良好的抗氧化活性。

**关键词:** 厚朴; 超临界 CO<sub>2</sub> 提取; 厚朴酚; 和厚朴酚; 正交试验; 抗氧化活性; HPLC; MTT 法

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2020)02 - 0381 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.014

## Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction process of *Magnoliae Officinalis Cortex* and anti-oxidant activities of extracts

YANG Yan<sup>1,3</sup>, XIAO Jia-mei<sup>1,3</sup>, YI Zi-yang<sup>1</sup>, LUO Cai-yu<sup>1</sup>, WANG Sheng-nan<sup>1</sup>, LI Jiao<sup>1</sup>, YANG Yan-tao<sup>1,2,3</sup>, PEI Gang<sup>1</sup>

1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Key Laboratory of Druggability and Preparation of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract: Objective** To optimize the supercritical CO<sub>2</sub> extraction process of active ingredients from *Magnoliae Officinalis Cortex* (MOC) and explore the antioxidant activity of the extracts. **Methods** The content of magnolol and honokiol of the supercritical CO<sub>2</sub> extracts of MOC was determined by HPLC, and the extraction process was optimized by orthogonal experiment. The antioxidant activities of the extracts were determined by MTT. **Results** The optimum extraction pressure of magnolol was 25 MPa, the extraction temperature was 55 °C, the amount of CO<sub>2</sub> was 30 kg, and the optimum extraction parameters mentioned above of honokiol were 15 MPa, 50 °C, and 25 kg, respectively. **Conclusion** Under the optimum extraction conditions, magnolol and honokiol have high extraction efficiency, good repeatability, stability and feasibility, and the extract have good antioxidant activity.

**Key words:** *Magnoliae Officinalis Cortex*; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; magnolol; honokiol; orthogonal experiment; anti-oxidant activities; HPLC; MTT method

厚朴首见于《神农本草经》, 为木兰科木兰属植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 或凹叶厚朴 *M. officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮、根皮及枝皮<sup>[1]</sup>, 主要分布在我国

收稿日期: 2019-08-02

基金项目: 湖南省重点研发计划项目 (2018NK2041); 湖南省科技厅重点实验室建设项目 (2016TP1017); 湖南省教育厅优秀青年基金项目 (2015B172); 湖南省“十二五”省级药学重点学科 (1007) 开放基金项目; 湖南中医药大学化学工程与技术一流学科建设项目

作者简介: 杨 岩 (1995—), 男, 湖北武汉人, 在读硕士研究生, 主要从事中药药剂学、中药药理学、中药制药工程等研究。

Tel: (0731)88458223 E-mail: 1043624698@qq.com

\*通信作者 杨岩涛, 男, 博士, 副教授, 硕士研究生导师。Tel: (0731)88458223 E-mail: xdyt1@163.com

裴 刚, 教授, 博士研究生导师。Tel: (0731)88458240 E-mail: 1625870283@qq.com

长江流域<sup>[2]</sup>，为国家二级保护植物，是我国特有的、常见的大宗中药材<sup>[3]</sup>。厚朴性温，味苦、辛，入脾、胃、肺、大肠经，具有燥湿消痰、下气除满的功能<sup>[4]</sup>，用于湿阻脾胃、脘腹胀满、气滞胸腹胀痛、便秘腹胀、痰多咳嗽等症<sup>[5]</sup>。现代研究表明，厚朴的化学成分主要有木脂素类、挥发油类、生物碱类<sup>[6]</sup>，木脂素类成分是厚朴中最丰富的一类化学成分<sup>[7]</sup>，迄今已分离出厚朴酚、和厚朴酚、和厚朴新酚、6'-O-甲基和厚朴酚等 20 多种化合物<sup>[8]</sup>，其主要有效活性成分为厚朴酚及和厚朴酚，厚朴酚具有抗炎、抗菌、抗哮喘、抗溃疡、抗氧化、抗肿瘤、激素调节等药理作用<sup>[9-12]</sup>，还可用于糖尿病、神经系统疾病、胃肠道疾病的治疗；和厚朴酚具有抗白内障、抗血管新生、抗肿瘤、抗惊厥、抗癫痫、神经保护、抗菌等作用<sup>[10-11]</sup>，也可用于心血管疾病及糖尿病的治疗。

厚朴的常规提取方法多采用乙醇回流提取、碱提、超声辅助提取等<sup>[13-14]</sup>。随着提取技术的创新与发展，超临界流体萃取作为一种新型分离技术，其具有高效且选择性好<sup>[15-17]</sup>、较低温度下提取对热敏性物料影响小、对易氧化成分的影响小<sup>[18]</sup>等一系列优点，特别对于含氧化合物、生物碱等成分提取分离效果好<sup>[19]</sup>，可在很大程度上避免传统提取工艺效率低、有机溶剂残留、资源浪费等缺陷。已有研究表明超临界流体萃取厚朴成分的效率是传统醇回流法的数倍之多<sup>[20]</sup>。同时厚朴酚与和厚朴酚二者互为异构体，均为脂溶性成分，适合采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取，本实验尝试优化厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 提取工艺，并探讨其提取物的体外抗氧化活性，以期为厚朴资源的合理利用奠定基础。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

HL-CQE3L/50MPa-IIC 型超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置，杭州华黎泵业有限公司；2200 型中药材粉碎机，常州五谷农庄食品有限公司；SPD-16 高效液相色谱仪，紫外-可见检测器，岛津仪器有限公司；UV-9100 型紫外分光光度计，北京瑞利分析仪器公司；SB-5200 DTD 超声波清洗机，宁波新芝生物科技股份有限公司；New Classic MF 天平，Mettler Toledo 公司；DGF-4AB 型立式电热鼓风干燥箱，天津市泰斯特仪器有限公司；EKUP-II-20T 型超纯水系统，长沙市科临电子科技有限公司；SHEL-LAB CO<sub>2</sub> 培养箱，美国 Sheldon Manufacturing 公司；Varioskan Flash 酶联免疫检测仪，美国 Thermo Scientific 公司；

Microfuge 20R 高速冷冻离心机，德国 Beckman Coulter 公司。

### 1.2 试药

厚朴饮片购自湖南福泰中药饮片有限公司，经湖南中医药大学刘塔斯教授鉴定为木兰科木兰属植物凹叶厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. (MOB) 的干燥干皮、根皮及枝皮。对照品厚朴酚（批号 KS0912CB14）、和厚朴酚（批号 28O6B5149），质量分数均≥98%，上海源叶生物科技有限公司；MTT，批号 M2128，美国 Sigma 公司；DMEM 高糖培养基，AB216498，美国 Hyclone 公司；30% 的过氧化氢溶液，批号 F1825154，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；二甲基亚砜为分析纯；甲醇为进口色谱纯，Tedia 公司；蒸馏水为二次重蒸馏水；其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil® C<sub>18</sub> (2) (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-水 (70:30)；检测波长 294 nm；柱温 30 °C；体积流量 1 mL/min；进样量 10 μL；在此色谱条件下，厚朴酚、和厚朴酚分离度均大于 1.5，理论塔板数按厚朴酚峰计算不低于 3 800。

### 2.2 对照品及供试品溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取厚朴酚对照品 2.01 mg、和厚朴酚对照品 2.32 mg，分别置于 25 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，制成含厚朴酚 80.40 μg/mL 与和厚朴酚 92.80 μg/mL 混合对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 厚朴饮片粉碎，过 40 目筛，置于 60 °C 的烘箱中烘干后装入料筒，置入超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置进行提取，收集分离釜 1 和 2 的提取物并均匀混合，精密称取提取物适量，置于 25 mL 量瓶中，加甲醇使之溶解并稀释至刻度，超声 5 min，静置，过 0.45 μm 的微孔滤膜，即得供试品溶液。

### 2.3 HPLC 分析方法学考察

**2.3.1 色谱条件的选择** 分别采用甲醇-水的不同配比 (78:22、70:30、65:35) 进行筛选，在甲醇-水 (70:30) 的流动相比例下目标峰不受其他杂质峰的干扰，峰形对称。用紫外分光光度计测定厚朴酚对照品的吸光度，确定检测波长 294 nm。在上述色谱条件下，和厚朴酚、厚朴酚分离良好，保留时间分别为 8.4、11.2 min。色谱图见图 1。

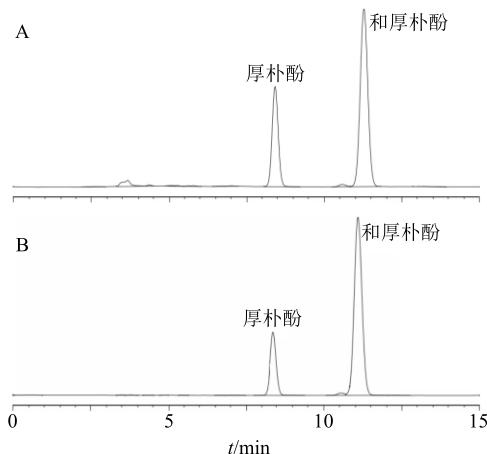


图 1 厚朴酚、和厚朴酚对照品 (A) 及凹叶厚朴供试样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of magnolol, honokiol reference substances (A) and *Magnolia officinalis* test sample (B)

**2.3.2 标准曲线的制备** 分别精密吸取厚朴酚与和厚朴酚对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 置于 5 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摆匀, 制成不同质量浓度梯度的系列对照品溶液, 按“2.3.1”项下方方法进样 10  $\mu$ L 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标 ( $Y$ )、质量浓度为横坐标 ( $X$ ) 绘制标准曲线, 得回归方程, 厚朴酚的线性回归方程分别为  $Y=12\ 554.8 X+30\ 696.6$ ,  $r=0.999\ 3$ ; 和厚朴酚为  $Y=16\ 703.9 X+70\ 459.8$ ,  $r=0.999\ 1$ ; 结果表明, 厚朴酚与和厚朴酚进样质量浓度分别在 8.04~80.4  $\mu$ g/mL 和 9.28~92.8  $\mu$ g/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

**2.3.3 精密度试验** 分别取厚朴酚、和厚朴酚对照品溶液各 10  $\mu$ L, 依法连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果厚朴酚与和厚朴酚峰面积的 RSD 分别为 2.41% 和 1.86%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.4 重复性试验** 取厚朴饮片按“2.2.2”项下方方法平行配制 6 份, 进样测定样品中厚朴酚与和厚朴酚的含量, 结果表明厚朴酚与和厚朴酚质量分数的 RSD 分别为 2.62%、2.78%, 说明所建立的分析方法重复性较好。

**2.3.5 稳定性试验** 精密吸取“2.3.4”项重复性试验 1 号供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、12、24 h 时测定峰面积。结果厚朴酚、和厚朴酚峰面积的 RSD 分别为 1.63% 和 2.13%, 表明所配制的供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.6 加样回收率试验** 精密称取 6 份已测定厚朴酚与和厚朴酚含量的厚朴粗提取物, 置于 5 mL 量瓶中, 每份精密加入取厚朴酚与和厚朴酚对照品溶

液各 1 mL, 加甲醇至近刻度线, 摆匀, 超声 30 min, 放冷后定容至刻度线, 微孔滤膜滤过。按“2.3.1”项下色谱条件测定, 分别计算加样回收率, 结果厚朴酚与和厚朴酚的平均加样回收率分别为 99.15%、99.07%, RSD 分别为 2.06%、3.10%。

## 2.4 正交试验

**2.4.1 正交试验结果及分析** 超临界流体萃取过程受多种因素影响, 如萃取目标成分本身性质、超临界流体的状态、溶剂用量、提取时间等。作为连续流加溶剂的萃取过程, 超临界  $\text{CO}_2$  萃取过程温度低且在  $\text{CO}_2$  保护下进行, 可有效降低目标组分的氧化破坏和组分之间的化学反应, 而提取过程中提取时间受  $\text{CO}_2$  体积流量的影响很大, 但因萃取过程中  $\text{CO}_2$  的状态不断改变, 故提取过程中  $\text{CO}_2$  体积流量并不稳定, 因此以  $\text{CO}_2$  用量作为一个考察因素。根据前期试验初步筛选结果选择萃取压力 (A)、萃取温度 (B)、 $\text{CO}_2$  用量 (C) 3 因素, 选用  $L_9(3^4)$  因素水平表进行正交试验, 每个试验号平行 2 次, 取平均值。以厚朴粗提取率 ( $Y_1$ ,  $Y_1=\text{提取物质量}/\text{厚朴量}$ )、厚朴酚提取量 ( $Y_2$ ,  $Y_2=\text{提取物中厚朴酚质量}/\text{厚朴量}$ )、和厚朴酚提取量 ( $Y_3$ ,  $Y_3=\text{提取物中和厚朴酚质量}/\text{厚朴量}$ )、厚朴酚与和厚朴酚总提取量 ( $Y_4$ ,  $Y_4=Y_2+Y_3$ ) 为评价指标。因素水平及正交试验结果见表 1, 极差分析结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

由表 2、3 结果可知, 对于厚朴粗提取率及以厚朴酚提取量为优化目标的优化工艺均为  $A_3B_3C_2$ , 即萃取压力 25 MPa, 萃取温度 55  $^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  用量 30 kg, 其中压力对其影响最大, 温度影响最小。压力越大, 超临界流体的密度越大, 则溶解能力越强, 温度越高, 超临界流体的黏度降低, 则扩散能力越强, 这符合超临界  $\text{CO}_2$  萃取的基本规律, 但考虑到生产成本、工业化生产的实施以及对药材中热敏性物料的保护等问题, 未继续考察进一步升高压力和温度所带来的影响, 以  $A_3B_3C_2$  为优化提取工艺。

对于以单位质量生药材的和厚朴酚提取量为优化目标所获得的优化工艺为  $A_1B_2C_1$ , 即萃取压力 15 MPa, 萃取温度 50  $^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  用量 25 kg, 其中  $\text{CO}_2$  用量对其影响最大, 压力影响最小。此外, 对于厚朴酚与和厚朴酚总提取量为指标的最终优化工艺亦同厚朴酚提取优化工艺, 这源于提取物中厚朴酚的含量要比和厚朴酚大近 1 倍, 这也符合文献报道<sup>[21]</sup>的超临界  $\text{CO}_2$  萃取厚朴提取物中的成分分布,

表 1 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验因素水平与结果 (n = 2)Table 1 Results and factor level of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal experiments (n = 2)

实验号	A/MPa	B/℃	C/kg	D(误差)	Y <sub>1</sub> /%	Y <sub>2</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> )	Y <sub>3</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> )	Y <sub>4</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> )
1	15 (1)	45 (1)	25 (1)	(1)	3.40	15.36	3.14	18.51
2	15 (1)	50 (2)	30 (2)	(2)	5.16	18.45	2.71	21.16
3	15 (1)	55 (3)	35 (3)	(3)	4.65	16.34	1.39	17.73
4	20 (2)	45 (1)	30 (2)	(3)	7.15	21.45	1.71	23.16
5	20 (2)	50 (2)	35 (3)	(1)	6.35	18.84	1.57	20.41
6	20 (2)	55 (3)	25 (1)	(2)	6.91	23.06	2.34	25.40
7	25 (3)	45 (1)	35 (3)	(2)	7.06	21.90	1.22	23.12
8	25 (3)	50 (2)	25 (1)	(3)	7.70	26.65	3.30	29.95
9	25 (3)	55 (3)	30 (2)	(1)	8.29	27.46	2.21	29.67

表 2 正交试验极差分析

Table 2 Range analysis of orthogonal experiments

水平	Y <sub>1</sub>				Y <sub>2</sub>				Y <sub>3</sub>				Y <sub>4</sub>			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
K <sub>1</sub>	13.20	17.61	18.01	18.04	50.15	58.71	65.08	61.67	7.24	6.07	8.78	6.92	57.40	64.78	73.86	68.59
K <sub>2</sub>	20.41	19.21	20.61	19.13	63.35	63.94	67.36	63.41	5.62	7.58	6.63	6.27	68.97	71.52	73.99	69.68
K <sub>3</sub>	23.05	19.85	18.06	19.50	76.02	66.87	57.08	64.44	6.73	5.94	4.18	6.40	82.74	72.81	61.27	70.84
R	3.28	0.75	0.87	0.36	8.62	2.72	3.42	0.93	0.54	0.55	1.53	0.22	8.45	2.67	4.24	0.75
最佳组合	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>				A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>				A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>				A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>			

表 3 正交试验方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis of orthogonal experiments

误差来源	自由度	Y <sub>1</sub>				Y <sub>2</sub>				Y <sub>3</sub>				Y <sub>4</sub>			
		偏差平方和	方差	F 值	偏差平方和	方差	F 值	偏差平方和	方差	F 值	偏差平方和	方差	F 值	偏差平方和	方差	F 值	
A	2	17.293	8.846	45.03	107.18	53.590	58.41	0.457	0.229	5.78	107.288	53.644	127.12				
B	2	0.887	0.443	2.31	11.526	5.763	6.28	0.554	0.277	7.01	12.343	6.172	14.62				
C	2	1.462	0.731	3.81	18.469	9.235	10.06	3.532	1.766	44.71	35.648	17.824	42.24				
D(误差)	2	0.384	0.192		1.385	0.693		0.079	0.040		0.844	0.422					

 $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$   $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 

因此, 提取物中以厚朴酚为主导, 体现出与厚朴酚相同的提取工艺参数。

**2.4.2 验证试验** 分别以厚朴酚与和厚朴酚最优提取工艺为条件, 以厚朴酚质量分数与和厚朴酚质量分数为指标, 厚朴酚: 萃取压力控制在 25 MPa, 萃取温度为 55 ℃, CO<sub>2</sub> 用量是 30 kg; 和厚朴酚: 萃取压力控制在 15 MPa, 萃取温度为 50 ℃, CO<sub>2</sub> 用量是 25 kg。分别进行 3 次重复试验, 测定厚朴酚与和厚朴酚含量, 计算出厚朴提取物中厚朴酚的质量分数分别为 38.21%、39.56%、40.04%, 平均质量分数为 39.37%, RSD 为 2.57%; 和厚朴酚质量分数分别为 12.28%、12.71%、12.30%, 平均质量分数为

12.43%, RSD 为 2.0%。结果表明, 在优选出的提取工艺条件下, 厚朴酚、和厚朴酚的提取效率较高, 重复性较好, 工艺稳定可行。

## 2.5 MTT 法检测抗氧化活性

将人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 细胞按  $8 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板, 置于 RPMI1640 培养基 (含 10% 胎牛血清、青霉素和链霉素 100 kU/L) 中, 于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养 24 h 后, 分空白对照组、正常对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 干预 (模型) 组以及 6 组药物组, 每组设 5 个平行复孔, 实验重复 3 次, 空白组与模型组加等量培养基, 各给药组加相应浓度的含药培养基预先干预 2 h 后, 模型组与药物组

加入 400  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导 2 h 后, 每孔加入 MTT 溶液, 继续培养 4 h 后取出 96 孔板, PBS 冲洗 3 遍, 加入 DMSO, 摆床上低速振荡 10 min, 采用酶联免疫检测仪测定 490 nm 处的吸光度 ( $A$ ) 值<sup>[22]</sup>。为揭示不同分离条件下厚朴提取物的抗氧化活性差异, 分离釜 1 以 10 MPa、40 °C 分离得样品 1, 分离釜 2 以 5 MPa、35 °C 分离得样品 2, 分别用 DMSO 将样品 1 和样品 2 制成 0.125、0.25、0.75、1、2、5 mg/mL 6 个不同质量浓度梯度的厚朴提取物溶液, 分别进行细胞实验, 测定 490 nm 处的  $A$  值, 计算厚朴超临界  $\text{CO}_2$  提取物对  $\text{H}_2\text{O}_2$  致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤的抑制率, 结果见图 2。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{药物}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

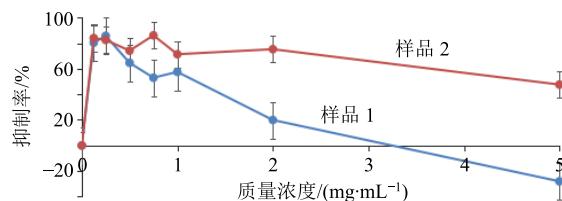


图 2 不同质量浓度的样品对  $\text{H}_2\text{O}_2$  致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤的抑制率

Fig. 2 Inhibitory rate of different concentrations of samples on oxidative damage of SH-SY5Y cells induced by hydrogen peroxide

由图 2 可知, 样品 1 和 2 对  $\text{H}_2\text{O}_2$  致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤的抑制率存在明显差别, 说明超临界流体萃取过程中不同的分离压力和温度获得的产物有效成分存在明显差别, 样品 1 获得的厚朴提取物随着质量浓度上升, 其抑制率升高, 0.25 mg/mL 时最大, 达 85.80%, 进一步增大其质量浓度, 则抑制率明显降低, 当样品质量浓度增大至 5 mg/mL 时, 出现了抑制率为负的情况。说明在此质量浓度时, 提取物具有抑制肿瘤细胞生长的作用, 呈现出细胞毒性。样品 2 获得的厚朴提取物则呈现出相对较温和的抗氧化作用, 其细胞毒性相对较弱, 除质量浓度为 5 mg/mL 时抑制率降低至 47.64% 外, 其他质量浓度样品的抑制率均在 70% 以上。

### 3 结论

厚朴入药已有 2 000 多年的历史, 传统提取工艺采用有机溶剂回流提取, 多项研究发现超临界二二氧化碳萃取技术效率高于传统提取<sup>[23-24]</sup>, SFE- $\text{CO}_2$  提取厚朴成分效率理应更高, 对厚朴多种提取方法比较的研究<sup>[25]</sup>结果表明采用 SFE- $\text{CO}_2$  工艺提取量

最高。相较于传统提取工艺, SFE- $\text{CO}_2$  具有一系列优势, 尤其是其绿色环保方面优势明显。可通过调整提取分离的压力和温度获得不同的目标产物。正交实验优化结果提示, 对同一味中药, 提取及分离工艺变化, 目标组分不同。因此, 优化提取工艺需依据目标组分的性质进行筛选, 实验结果还表明。超临界  $\text{CO}_2$  萃取的工艺参数不但会影响到提取效率, 还会影响提取产物的化学成分, 这也符合超临界  $\text{CO}_2$  萃取过程中可以通过萃取及分离温度、压力的改变以调整其溶解能力的基本原理。同时, 也提示可以根据所要提取目标组分的性质优化提取及分离参数。在本研究的基础上, 可进一步采用加入不同极性的溶剂作为夹带剂可将厚朴中的组分按不同极性段进行提取、分离, 为中药提取过程优化提供参考, 并为中药药效成分活性实验提供基础。亦可根据中药药效成分活性实验结果, 针对性地设计提取及分离工艺过程, 以获得目标明确、作用确切的中药活性成分。

厚朴超临界  $\text{CO}_2$  提取物抗氧化活性细胞实验结果表明, 厚朴超临界  $\text{CO}_2$  提取物具有明显的抗氧化活性, 但受浓度影响也可能具有一定的抑制细胞生长的作用, 这也符合厚朴酚、和厚朴酚抗肿瘤的药理作用<sup>[26]</sup>。同时对于 2 种不同提取工艺条件得到的提取物呈现不同的抑制率, 可认为随着分离压力及分离温度的变化, SFE- $\text{CO}_2$  的溶解能力和黏度均会发生较大变化, 因此, 样品 1、2 化学成分与含量差异明显, 故存在较大的活性差异。根据相关文献报道<sup>[27]</sup>, 其超临界提取物主要为厚朴酚、和厚朴酚、magnaldehyde B、lignans、crytomeridiol, 该结果亦提示在后续研究过程中可以根据活性需要针对目标成分的性质筛选合适的分离工艺。但其具体作用物质、质量浓度及机制有待于进一步研究阐明。此外, 即使是在同一工艺参数下提取获得的提取物, 分离过程的工艺参数对所获得的成分类别影响巨大, 不同分离参数下获得的产物呈现出截然不同的药物效应, 因此在超临界流体提取工艺优化过程中, 应根据目标组分的性质, 合理设计提取、分离的工艺参数, 才能真正发挥超临界流体萃取提取分离的优势, 为阐明中药药效物质及其作用机制提供支撑。

### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 斯金平, 张志松, 潘心平. 厚朴研究综述 [J]. 浙江林业科技, 1994, 14(1): 51-54.

- [3] 罗金旺. 不同地理种源高厚朴酚厚朴的筛选 [J]. 福建林业科技, 2015, 42(4): 64-67.
- [4] 朱培芳, 孙海林, 李文军, 等. HPLC 测定云厚朴中厚朴酚及和厚朴酚含量 [J]. 光谱实验室, 2013, 30(5): 2155-2159.
- [5] 殷帅文, 何旭梅, 郎锋祥, 等. 厚朴化学成分和药理作用研究概况 [J]. 贵州农业科学, 2007, 35(6): 133-135.
- [6] 盛永成, 王晶, 张世洋, 等. 厚朴药理研究进展 [J]. 成都中医药大学学报, 2018, 41(2): 109-114.
- [7] 荆文光, 杜杰, 王继永, 等. 厚朴化学成分研究进展 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(6): 764-774.
- [8] 殷帅文, 何旭梅, 郎锋祥, 等. 厚朴化学成分和药理作用研究概况 [J]. 贵州农业科学, 2007, 35(6): 133-135.
- [9] 陈雄, 虞伟慧, 龚小花, 等. 厚朴酚通过 MAPK/NF- $\kappa$ B 信号通路改善 1 型糖尿病模型小鼠的心肌损伤 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4719-4725.
- [10] 秦洁, 李晓庆, 赵春娟, 等. 厚朴酚与和厚朴酚抗鼻咽癌作用机制研究 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 226-230.
- [11] 刘可云, 董志, 朱毅. 厚朴酚与和厚朴酚的药理学研究现状 [J]. 中成药, 2006, 28(5): 716-718.
- [12] 卢弢, 许隽, 俞斐. 厚朴酚对抑郁模型大鼠海马神经可塑性的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4844-4850.
- [13] 王雯丽, 司盈盈, 生依灵, 等. 闪式硅胶柱色谱法分离纯化高纯度厚朴总酚的研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(7): 721-724.
- [14] 邓先清, 宋明霞. 厚朴果实中厚朴酚、和厚朴酚的提取工艺比较 [J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2014, 35(6): 84-87.
- [15] 刘毅, 刘素香, 龚苏晓, 等. 当归超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的 GC-MS 成分分析 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(5): 391-392.
- [16] 付玉杰, 施晓光, 刘晓娜, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 提取甘草地  
上部分总黄酮 [J]. 植物研究, 2007, 27(3): 372-375.
- [17] 张在娟, 任晓文, 王博, 等. 超临界萃取技术在中药有效成分提取中的应用 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 444-447.
- [18] 魏泽英, 朱培芳, 孙海林, 等. 云厚朴 SFE-CO<sub>2</sub> 萃取物中厚朴酚与和厚朴酚的热稳定性考察 [J]. 重庆大学学报, 2015, 38(3): 154-158.
- [19] 李大婧, 刘荣, 方桂珍. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物玉米黄色素着色成分和脂肪酸成分的研究 [J]. 食品科学, 2005, 26(12): 62-65.
- [20] 李平, 何文妮, 孙博航, 等. 厚朴的提取方法及质量分析考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(9): 736-739.
- [21] 李卫民, 牛志强, 王治平, 等. 超声强化超临界提取厚朴酚与和厚朴酚的工艺研究 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 680-683.
- [22] 陈龙菊, 吴建清, 吴太鼎, 等. 葛根素保护双氧水诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(3): 343-347.
- [23] 陆慧, 贾晓斌, 施峰, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取白花蛇舌草中三萜类成分的工艺研究 [J]. 中成药, 2011, 33(8): 1429-1432.
- [24] 钱华丽, 陶文沂, 王利平, 等. 温郁金超临界萃取物的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(5): 814-818.
- [25] 苏子仁, 雷正杰, 曾健青, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取在厚朴提取工艺中的应用研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(1): 32-34.
- [26] 王颖, 陈文强, 邓百万, 等. 厚朴酚与和厚朴酚的药理作用及提取合成研究进展 [J]. 陕西理工大学学报: 自然科学版, 2018, 34(2): 58-64.
- [27] 李平. 厚朴提取工艺及化学成分的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.