

超临界流体萃取在中草药研究中的应用

陈 磊¹, 刘 晔¹, 康鲁平¹, 秦路平² (1. 南京军区福州总医院药剂科, 福建 福州 350025; 2. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433)

摘要 目的: 介绍超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)在中草药研究中的应用, 供研究者参考。方法: 查阅国内外文献, 概述 SFE 的原理、特点、影响因素及其在中草药研究中的应用情况。结果: 超临界流体萃取是近年来发展起来的一项新型萃取技术, 具有提取速度快、效率高、操作简单等特点, 越来越多的应用于中草药成分的提取分离和含量分析中。结论: 超临界流体萃取技术在中药领域中具有无限广阔的发展前景, 对实现中药现代化和参与国际竞争, 具有重要的作用和地位。

关键词 超临界流体萃取; 中草药研究; 提取分离; 含量分析

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2004)04-0193-04

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)是近 20 年来发展起来的一项新型物理萃取技术, 国外已广泛用于食品工业、化工、环保等领域。随着基础理论和应用技术研究的进一步深入, 它在制药工业, 尤其是在中草药研究方面显示出越来越广阔的发展潜力。本文就 SFE 的原理、影响因素及其在中草药研究领域方面的应用作一介绍。

1 SFE 的原理

任何流体都有临界温度(T_c)和临界压力(P_c)这两个物理参数, 点(T_c, P_c)就叫该流体的临界点。当流体处于其临界点之上时, 称之为处于超临界状态, 这时的流体为单一相态, 称之为超临界流体。19 世纪, 科学家们发现这种流体既非液体, 也非气体, 而是一种介于液、气两态之间的状态, 同时发现超临界流体既具有液态时的密度, 又具有气态时所具有的低黏度和极强的渗透性, 这使得超临界流体对许多物质都有良好的溶解能力。同时, 由于传统的提取方法耗费大量的溶剂, 提取速度慢, 选择性能差, 而且使用的有机溶剂有毒, 极易造成污染, 因此, 长期以来人们都试图找到一种高效、低毒、选择性好的提取方法来代替传统的溶剂提取方法, 而超临界流体萃取法正满足了这种需求, 尤其是在提取效能方面比传统的溶剂萃取要优越得多。超临界流体萃取就是利用在临界点附近, 体系温度和压力发生微小变化即可改变萃取剂极性, 从而导致物质溶解度发生显著变化的特性进行分离和提取的技术。

可用作超临界流体的物质有二氧化碳、氧化二氮、乙烯、三氟甲烷、六氟化硫、氮气、氩气等, 但目前人们较多选用的流体是二氧化碳。二氧化碳流体具

有下列优点: ①临界点低($P_c = 7.374 \times 10^1 \text{ kPa}$, $T_c = 304.1 \text{ K}$), 设备技术易于满足; 同时较低的操作温度又能保证被提取物质不受破坏; ②无毒, 无污染, 不会在被提取物中造成残留; ③属于惰性溶剂, 与绝大部分被提取物不发生化学反应; ④廉价易得, 操作费用低。

2 影响 SFE 的几个主要因素^[1]

2.1 温度 温度的影响比较复杂。在一定压力下, 升高温度, 增加了被萃取的物质的挥发性, 利于提高其在超临界流体中的浓度, 使萃取数量增大。但另一方面, 温度升高使超临界流体密度降低, 其溶解能力下降, 导致萃取数量的减少。因此萃取时的温度要综合考虑这两方面的影响。

2.2 压力 萃取温度一定时, 压力增大, 流体的密度增大, 溶剂的强度增加, 溶质的溶解度就增加。对于不同的物质, 其萃取压力有很大不同。

2.3 萃取物颗粒的大小 溶质的粒度越小, 与流体的接触面积越大, 利于提高萃取速度。但同时, 粒度太小会堵塞筛孔, 造成摩擦生热, 体系温度升高, 使活性物质遭到破坏。因此粒度大小要适宜。

2.4 流体流量 流体在萃取器中停留时间增长, 则与被萃取物质接触时间增加, 利于提高萃取效率。但另一方面, 流体流量减少了, 萃取过程的传质推动力减小, 传质速率下降, 又会影响流体的萃取能力。因此流体流量应综合考虑这两方面因素。

2.5 夹带剂(改性剂) 由于超临界流体大多是弱极性溶剂, 限制了其对极性大的物质的提取应用。因此, 夹带剂的使用成为必不可少的要求。夹带剂是在流体中加入少量化合物, 调节溶剂极性的物质。常用的极性夹带剂有甲醇、乙醇、水、丙酮、乙酸乙

酯、乙氰等。夹带剂的正确选择对萃取效果的影响很大,但目前还缺乏足够的理论指导,可预测性较差。

3 SFE 在中草药研究中的应用

将 SFE 技术用于中草药化学成分的提取分离,是 20 世纪 80 年代中期逐步发展起来的。CO₂-SFE 技术具有提取速度快、效率高、操作简单等特点,可以在低温下提取,防止热敏性成分的氧化和逸散,同时适用于挥发及不挥发物质的萃取,因此被广泛应用。

3.1 SFE 在挥发油成分研究中的应用

3.1.1 茵陈挥发油的超临界 CO₂ 萃取 张永明等^[2]采用超临界 CO₂ 萃取法与水蒸气蒸馏法从茵陈中提取挥发油,用 GC-MS 法测定其化学成分和相对含量,对两种提取方法所得的挥发油进行比较,水蒸气蒸馏法提取茵陈挥发油的产率为 0.03% (w),主要成分为匙叶桉油烯醇、吉玛烯 D、反式-石竹烯、2,4-戊二炔苯、β-金石欢烯等;超临界 CO₂ 萃取法提取的产率为 0.15% (w),主要成分为百里酚、β-红没药烯、2-异丙基-4-甲基-1-甲氧基苯、异百里酚、2-特丁基-4-(2,4,4-三甲基戊基)苯酚、β-杜松烯等。

3.1.2 测定脑立清丸中薄荷脑与冰片 朱梅等^[3]用超临界流体萃取(SFE)技术和毛细管气相色谱法的联用技术测定脑立清丸中薄荷脑与冰片的方法。结果表明:SFE 的最佳萃取条件为:压力 40MPa,温度 60℃,改性剂量 0.2mL,动态萃取体积为 6mL,静态萃取时间 9min。该方法快速简便、准确可靠。

3.1.3 测定六应丸中的冰片和丁香酚的含量 陈斌等^[4]建立了用超临界流体萃取(SFE)技术和毛细管气相色谱的联用技术测定中成药六应丸中主要成分冰片和丁香酚的含量的方法。SFE 的最佳萃取条件为:压力 48.2MPa,温度 60℃,改性剂量 0.2mL,静态萃取时间 5min。结果表明:用超临界流体萃取(SFE)技术和毛细管气相色谱联用法测定六应丸中冰片和丁香酚快速简便、准确灵敏。

3.1.4 挥发油的提纯 Poiana-M 等^[5]为使挥发油中香柠檬油的含量降低,用 CO₂-SFE 法对传统冷压过程得到的含香柠檬油 0.2%~0.3% 的挥发油进行了分馏。由于 CO₂ 流体的高选择性,使得副产品香柠檬油的含量减为最低,与传统方法比较,可以得到较高质量的挥发油。

3.2 SFE 在生物碱成分研究中的应用

3.2.1 测定百合中秋水仙碱 何纯莲等^[6]分别用超临界二氧化碳流体和有机溶剂萃取百合中的秋水

仙碱,然后用高效液相色谱法直接测定萃取物中秋水仙碱的含量,从而测得百合中秋水仙碱的含量。超临界流体萃取的条件是:用乙醇作提携剂,萃取压力为 18MPa,萃取温度为 40℃,高效液相色谱测定条件为:ODS 柱,甲醇:磷酸二氢钾溶液作流动相,检测波长为 220nm,此法快速,简便,准确,可应用于秋水仙碱原料、制剂及其它植物中秋水仙碱含量的测定。

3.2.2 分析延胡索中延胡索乙素的含量 原永芳等^[7]采用超临界流体萃取法提取延胡索及其成方制剂中的延胡索乙素,以苯作改性剂,于 40℃、42 MPa 压力下,二氧化碳静态萃取 5min,动态萃取 3mL。该法操作简便快速,提取完全,也为其它中药及其制剂中有效成分的定量分析建立了一种简便、快速、有效的提取方法。应用硅胶柱一反相洗脱系统的高效液相色谱法测定延胡索及其成方制剂中延胡索乙素的含量,方法简便、快速、精密度高。此色谱系统同样适于其它中药及其制剂中生物碱的定量分析。

3.2.3 萃取洋金花中东莨菪碱 卞俊等^[8]对二氧化碳超临界流体(CO₂-SFE)萃取洋金花中东莨菪碱进行研究,确立最佳萃取条件。方法:采用二氧化碳超临界流体萃取法,在温度 40℃,压力 3.492 4 × 10⁴ Pa 下,以 0.1mL 氨水作碱化剂,0.2mL 甲醇作夹带剂,二氧化碳静态萃取 5min,动态萃取 5min,并用反相离子对 HPLC 对东莨菪碱定量。结果:所得样品萃取完全且含较少杂质,反相离子对 HPLC 专一、重现性好,加样回收率为 98.78%,RSD = 2.33%,日内及日间变异分别为 0.95% 和 0.86%。结论:此法简便快速、无环境污染,为洋金花质量控制提供了可行的分析手段。

3.2.4 测定黄柏皮中小檗碱和非洲防己碱的含量 Suto 等^[9]采用离子对超临界流体色谱法(IP-SFC)和离子对超临界流体萃取法(IP-SFE)联用技术对黄柏皮中的小檗碱和非洲防己碱进行测定。在流体中加入 DSS 可以提高生物碱的萃取效率。实验表明此种测定方法所需样品量少,测量时间短,是测定黄柏皮中小檗碱和非洲防己碱含量的最优化方法。

3.3 SFE 在其他成分研究中的应用

3.3.1 对独活化学成分的萃取与分离 古维新等^[10]采用超临界 CO₂-分子蒸馏技术对独活化学成分进行萃取与分离,并对其提取物和蒸出物进行 GC-MS 分析,结果从超临界 CO₂ 萃取物和蒸出物中分别得到 37 种和 29 种成分,表明用超临界 CO₂-分子蒸馏技术提取独活化学成分是一种先进合理的提取方法。

3.3.2 用于大黄素的定量测定研究 苟奎斌等^[11]建立超临界流体萃取中成药首乌喘息灵胶囊中大黄素的方法。他们用正交试验法优选 SFE 提取工艺,并用反相高效液相色谱法进行测定。在 SFE 中,确定萃取压力为 38.5MPa,温度 60℃,改性剂量 0.4mL,静态萃取时间 5min 及动态萃取体积 5mL。首乌喘息灵中大黄素的平均回收率为大黄素 97.31%(RSD1.214%)。结果表明本法是一种快速,准确及效率较高的提取方法。

3.3.3 测定何首乌中磷脂成分 袁海龙等^[12]建立超临界流体萃取中药何首乌中的磷脂类成分的方法。他们采用系统观察法考察了 SFE 的提取工艺,并用反相高效液相色谱法进行分离测定。结果确定萃取压力为 31.5MPa,温度 50℃,改性剂加入量 0.6mL/g,静态萃取时间 5min 及动态萃取体积 7mL。在 HPLC 中,以 Waters Symmetry C₁₈ 为固定相,甲醇:1.0%磷酸溶液(90:10)为流动相,检测波长 206nm。结果表明:SFE-HPLC 法测定何首乌中的磷脂类成分,为何首乌及其制剂的质量控制提供依据。

3.3.4 测定补骨脂中的主要成分 陈斌等^[13]利用超临界流体萃取技术和 CGC/FID 非在线偶合的方法测定了中药补骨脂中的补骨脂素和异补骨脂素,并对超临界流体萃取过程中影响萃取效果的主要因素采用正交设计法和方差分析法进行了考察,确定了主效应和适宜的操作条件,与传统萃取比较,认为 SFE 具有经济、快速、简便、选择性好、环境污染小等优点。

3.3.5 分析厚朴药材中厚朴酚和厚朴酮的含量 缪海均等^[14]采用超临界流体萃取法提取厚朴药材中厚朴酚和厚朴酮含量。从压力、温度、改性剂等多方面探索了萃取的最佳条件,并用大孔径毛细管柱气相色谱法进行含量测定。结果证明:该法简便快速,萃取完全,为中药有效成分的提取和质量控制提供了一种有效可靠的方法。

3.3.6 分析牡丹皮及制剂中丹皮酚的含量 缪海均等^[15]采用超临界流体萃取法提取中药牡丹皮及其成方制剂中丹皮酚,以氯仿作改性剂,在温度 90℃,压力 28 MPa 下,二氧化碳动态萃取体积 3mL,静态萃取时间 5min。此法简便快速,萃取完全。用大孔径毛细管柱气相色谱法作含量监测,结果:相关性好($r=0.9999$),中药与制剂的回收率分别为 97.8%, $RSD=2.35\%$ ($n=3$);100.3%, $RSD=1.89\%$ ($n=3$)。为中药有效成分的提取和质量控制提供了一种有效可靠的方法。

3.3.7 萃取月见草油 崔刚等^[16]采用超临界 CO₂

萃取技术从月见草种子中萃取月见草油,在 50℃,25MPa 时萃取率为 20%,油中 γ -亚麻酸含量为 10.6%,测定了月见草油的酸价和皂化值。

3.3.8 苍术属根茎中苍术酮的提取与分析 Suto 等^[17]用 SFE-SFC 法对苍术属植物中的苍术酮进行了提取分析。结果显示,SFE 法萃取活性成分只需 15s 即可完成;苍术酮在连接装置中被洗脱分离 5min 即可直接转移到 SFC 柱层中进行分析,表明 SFE 法提取物质纯度高,活性较好;SFE 法的回收率比溶剂萃取法高 30%,并且样品损失量较少。

3.3.9 菊科植物中倍半萜内酯小白菊内酯(parthenolide)的测定 Smith 等^[18]用 CO₂-SFE 法对龙牙草(*Tanacetum parthenium*)中的活性成分倍半萜内酯、小白菊内酯进行提取并用气-液色谱法进行了分析。提取时的压力密度及样品的收集方式都是影响萃取效果的因素。以甲醇或甲氰为夹带剂可以使样品提出量增多,但另一方面却降低了选择性。

3.3.10 洋地黄糖苷的提取 Moore 等^[19]用 CO₂-SFE 加入改性剂提取洋地黄糖苷,发现对量化地分离组分发生影响。这种在高夹带剂含量下的量化的固相组分的萃取和样品在分离器中的损失量,取决于体系的温度和流速。这进一步说明最佳的温度和流速结合,大量夹带剂,高温,不断沸腾,低流速,最长的接触时间利于萃取的进行。

4 展望

超临界技术应用于中药或天然药物,具有极大的应用价值和巨大的发展潜力。中药的研究和开发具有特殊性,即必须具有良好的药理临床效果,所以,SFE 技术用于中药必须结合药理临床效果研究。目前,在国内外有人已系统地用 SFE-CO₂ 技术对几十种中草药进行研究与开发,包括萃取分离研究和药理活性、毒理研究及新药的开发研究。SFE 技术的优越性已越来越充分地展现出来,今后的发展方向应从中间原料的提取转向对单味、复方中药新药的开发应用;同时还要加强基础理论和实践应用的研究;提高和改进超临界色谱在中药分析中的应用;进一步加强 SFE 技术在中药制剂、工艺改革方面的运用及开发,以及质量标准的制定。

由此可见,超临界流体萃取技术在中药领域中具有无限广阔的发展前景,对实现中药现代化和参与国际竞争具有重要的作用和地位,将使中药的研究与开发迈向一个崭新的阶段。

参考文献:

- [1] 张忠义,邹恒琴,黄昌全.超临界流体萃取技术及其在中药

- 化学成分研究中的应用[J]. 中成药, 1997, 19(1): 45.
- [2] 张永明, 陶玲, 茵陈挥发油的超临界 CO₂ 萃取法与水蒸气蒸馏法提取的比较[J]. 分析测试学报, 2003, 22(2): 84.
- [3] 朱梅, 陈斌, 程兵, 等. SFE-CGC 法测定脑立清丸中薄荷脑与冰片的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7): 515.
- [4] 陈斌, 陈伟, 方慧生, 等. 超临界流体萃取法测定六应丸中的冰片和丁香酚的含量[J]. 军队医药, 1999, 9(3): 31.
- [5] Poiana M, Sicari V, Mincione B. Prospects for the use of the supercritical fluid extraction technique for bergamot fractions [J]. *Essenze Deriv Agrum*, 1997, 67(1): 27.
- [6] 何纯莲, 李谷才. 超临界流体萃取-高效液相色谱法测定百合中秋水仙碱[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(1): 5.
- [7] 原永芳, 李修禄, 柳正良, 等. 超临界流体萃取法及高效液相色谱法分析延胡索中延胡索乙素的含量[J]. 药学学报, 1996, 31(4): 282.
- [8] 卞俊, 蔡定国, 顾明媚, 等. 二氧化碳超临界流体萃取洋金花中东莨菪碱的研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(10): 588.
- [9] Suto K, Kakinuma S, Ito Y, et al. Determination of berberine and palmatine in phellodendri cortex using ion-pair supercritical fluid chromatography online coupled with ion-pair supercritical fluid extraction by on-column trapping[J]. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1997, 786(2): 371.
- [10] 古维新, 张忠义. 超临界 CO₂-分子蒸馏对独活化学成分的萃取与分离[J]. 广东药学院学报, 2002, 18(2): 85.
- [11] 苟奎斌, 袁海龙, 李仙义, 等. 超临界流体萃取法用于大黄的定量测定研究[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(9): 619.
- [12] 袁海龙, 李仙逸, 张纯, 等. 超临界流体萃取-高效液相色谱法测定何首乌中磷脂成分[J]. 药理学报, 1999, 34(9): 702.
- [13] 陈斌, 陈伟, 刘荔荔, 等. 应用超临界流体萃取-毛细管气相色谱法测定补骨脂中的主要成分[J]. 军队医药杂志, 1998, 8(5): 27.
- [14] 缪海均, 柳正良, 李云华. 超临界流体萃取法-毛细管气相色谱法分析厚朴药材中厚朴酚、和厚朴酚的含量[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(3): 182.
- [15] 缪海均, 柳正良, 李云华. 超临界流体萃取法-毛细管气相色谱法分析牡丹皮及制剂中丹皮酚的含量[J]. 药理学报, 1997, 32(12): 928.
- [16] 崔刚, 李春光, 郑云花. 月见草油的超临界流体萃取及质量研究[J]. 中草药, 1996, 27(1): 15.
- [17] Suto K, Kakinuma S, Ito Y, et al. Determination of atractylone in atractylodes rhizome using supercritical fluid chromatography online coupled with supercritical fluid extraction by the direct introduction method[J]. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1998, 810(2): 252.
- [18] Smith Roger M, Burrford Mark D. Supercritical fluid extraction and extraction and gas chromatographic determination of the sesquiterpene lactone parthenolide in the medical herb feverfew (*Tanacetum parthenium*) [J]. *J Chromatogr*, 1992, 627(1): 255.
- [19] Moore WN, Taylor LT. Solid phase trapping mechanisms involved in the supercritical fluid extraction of digitalis glycosides with modified carbon dioxide[J]. *Anal Chem*, 1995, 67(13): 2030.

收稿日期: 2004-02-10

巴戟天化学成分及其生理活性研究进展

胡疆, 张卫东, 柳润辉, 张川 (第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 介绍传统中药巴戟天化学成分及其生理活性的研究进展。方法: 以国内外相关文献作为基础, 综述了巴戟天化学成分以及药理活性的研究成果, 并展望应当采用现代科学手段对其化学成分和药理活性进行系统研究, 以拓宽其应用前景。结果与结论: 目前, 已从巴戟天中分离得到 11 类化合物及 24 种无机元素, 其生理活性除具有补肾壮阳、祛风湿等作用外, 还有抗抑郁、提高细胞免疫功能、防治冠心病和抗癌作用。

关键词 巴戟天; 化学成分; 研究进展; 生理活性

中图分类号: R284 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-0111(2004)04-0196-05

巴戟天 (*Morinda officinalis* How) 又名巴戟、鸡眼藤、黑藤钻、糠藤、三角藤, 为茜草科多年生攀援木质藤本植物, 肉质根入药, 是我国著名的四大南药之一。巴戟天始载于《神农本草经》, 列为上品, 但未记载其形态和产地。乔智胜等通过对古今文献的分

析及实地考察认为: 南北朝以前使用之主流巴戟天药材的原植物可能为五味子科植物铁箍散 (*Schisandra propingua* (Wall.) Bail. var. *sinensis* Oliv.), 药材现称川巴戟或香巴戟; 唐代至清末广为运用的品种为归州巴戟天, 原植物为茜草科植物四川虎刺 (*Damnacanthus officinarum* Huang), 药材现称鄂西巴戟天或恩施巴戟天^[1]。自 20 世纪以来,

作者简介: 胡疆 (1976-), 男, 在读硕士研究生. Tel: (021) 25070387
Fax: (021) 65495819 E-mail: hujiang1976@sohu.com