

· 论著 ·

## 五味子提取工艺优化及乙醇提取物的皮肤细胞抗氧化作用研究

王妍<sup>1</sup>, 舒鹏<sup>2</sup>, 沈丽<sup>3</sup>, 丁明<sup>4</sup>, 胡振林<sup>5</sup>, 吴明江<sup>1</sup> (1. 温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325035; 2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 51066; 3. 莱博药妆技术(上海)股份有限公司, 上海 200233; 4. 齐鲁工业大学化学与制药工程学院, 山东济南 250353; 5. 温州大学生命科学研究院, 浙江温州 325035)

**[摘要]** **目的** 探究五味子提取物对人皮肤细胞氧化损伤的保护作用, 开发其在皮肤抗氧化方面的应用。**方法** 分别采用热水蒸煮和水蒸气蒸馏的方法进行脱色和除味; 另外, 采用叔丁基过氧化氢(tBHP)诱导的 HaCaT 细胞氧化应激模型评价五味子提取物对人皮肤细胞氧化损伤的保护作用, 采用 CCK-8 试剂盒检测细胞存活率, AnnexinV-FITC/PI 双标记流式细胞仪检测细胞凋亡率, 2,7-二氯荧光黄双乙酸盐法检测细胞内活性氧的水平。**结果** 采用优化后的提取工艺得到了气味变淡且颜色明显变浅的五味子提取物; 用北五味子提取物预处理 HaCaT 细胞 6 h 后, 可有效降低 tBHP 引起的细胞凋亡, 提高细胞存活率, 降低细胞内 ROS 水平。**结论** 优化后的乙醇提取工艺显著改善了五味子提取物的颜色和气味, 并保持了提取物的抗氧化活性, 因而有望成为一种应对皮肤氧化损伤的外用保护剂。

**[关键词]** 五味子; 乙醇提取工艺; HaCaT 细胞; 抗氧化作用

**[中图分类号]** R285.5; R963; Q255 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)03-0231-06

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.03.008

## Study on optimized extraction of *Schisandra chinensis* and cutaneous cell antioxidative effect of its extract

WANG Yan<sup>1</sup>, SHU Peng<sup>2</sup>, SHEN Li<sup>3</sup>, DING ming<sup>4</sup>, HU Zhenlin<sup>5</sup>, WU Mingjiang<sup>1</sup> (1. College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China; 2. Infinitus (China) Company Ltd., Guangzhou 510663, China; 3. LB Cosmeceutical Technology Co., Ltd., Shanghai 200233, China; 4. School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Qilu University of Technology, Jinan 250353, China; 5. Wenzhou Life Sciences Research Institute, Wenzhou 325035, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the anti-oxidative effects of the *Schisandra chinensis* extract in skin cells and develop the application as skin anti-oxidant. **Methods** The ethanol extraction process of *Schisandra chinensis* was optimized with hot water pre-treatment and steam distillation to improve the color and odor of the extract. The tert-butyl hydroperoxide (tBHP)-induced cell oxidative injured model in HaCaT keratinocytes was used as a cellular model to study the protective effects of the extract. The cell viability was assayed with CCK-8 kit. Cell apoptosis was detected with flow cytometry by AnnexinV-FITC and PI staining. The intracellular level of reactive oxygen species (ROS) was measured by 2,7-dichlorodi-hydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) assay. **Results** The Schisandra extract prepared by optimized extraction technology exhibited significant improvements in color and odor. The HaCaT cells pretreated with Schisandra extract effectively reduced the cell apoptosis induced by tBHP. The extract increased the survival rate of HaCaT cells and decreased intracellular ROS level. **Conclusion** The extract with optimized technology improved the color and odor. Its antioxidant activity was still maintained. It could be developed into a novel skin protectant against oxidative damage.

**[Key words]** *Schisandra chinensis*; ethanol extracting technology; HaCaT keratinocytes; anti-oxidative effects

中药五味子为木兰科植物五味子(*Schisandra chinensis*)的干燥成熟果实, 在传统用药方面主要用于保肝降酶, 与其他中药配伍, 可用于急、慢性肝损

伤、高血压、冠心病、病毒性心肌炎、肺心病以及心力衰竭等疾病的防治<sup>[1-2]</sup>。近年来, 五味子的抗氧化作用引起了越来越多的关注, 逐渐成为五味子研究与开发的热点。研究发现, 五味子提取物的有效成分不仅具有直接清除自由基的活性<sup>[3-5]</sup>, 而且对皮肤细胞的氧化应激也表现出很好的保护作用, 例如, 五味子的乙醇提取物可通过其抗氧化活性抑制 UVB 辐射引起的皮肤细胞氧化应激凋亡, 减轻 UVB 辐射

**[基金项目]** 2016年温州大学研究生创新基金项目(3162016040)

**[作者简介]** 王妍, 硕士研究生, 研究方向: 活性大分子化学生物学, Tel: 15868723807, Email: 1143965728@qq.com

**[通讯作者]** 吴明江, 博士, 教授, 研究方向: 活性大分子化学生物学, Tel: 13736996466

造成的皮肤损伤<sup>[6]</sup>。五味子乙素(Sch B)能够减轻阳光照射所致的大鼠皮肤损伤,逆转阳光照射所致的氧化损伤性变化<sup>[7]</sup>。在以 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 造成 HaCaT 细胞(一种永生化的皮肤角质形成细胞)氧化损伤模型上进行的体外实验发现,Sch B 还可以显著提高 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后的 HaCaT 细胞存活率,对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 造成细胞的氧化损伤具有显著的保护作用<sup>[8]</sup>。上述研究提示五味子提取物有可能作为皮肤氧化损伤的天然保护剂,但由于五味子富含色素和有气味的成分,在一定程度上限制了五味子提取物在皮肤中的应用。

本研究的目的在于优化五味子的乙醇提取工艺并得到适用于皮肤的五味子提取物,同时评价其对人皮肤细胞氧化损伤的保护效应,为开发基于五味子的皮肤抗氧化产品奠定基础。目前对五味子的提取工艺已有大量的研究报道,常用的提取工艺包括醇提法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法、水提法、乙醚萃取法等,其中,乙醇提取是五味子作为传统中药在中药制剂中运用最为广泛的工艺步骤。已有多项研究对五味子的乙醇提取工艺进行了优化,尽管由于所选用的指标不同,最终的优选参数有所差别,但总体上大同小异,基本结论是:使用 70%~90%乙醇、8 倍量、提取 3 次、每次提取 1~2 h,可获得较为满意的提取效果<sup>[9-13]</sup>。本研究中,课题组在已有的五味子醇提工艺研究基础上,以五味子乙素提取率为指标,对提取温度、乙醇浓度、乙醇用量、提取时间等工艺参数做出进一步优化,同时主要考虑到皮肤外用制剂对颜色和气味的要求,增加了热水蒸煮脱色和水蒸气蒸馏除味的工艺步骤;对所得的五味子提取物通过 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除实验和 tBHP 诱导的 HaCaT 皮肤细胞氧化应激模型进行了抗氧化作用评价研究。

## 1 实验部分

### 1.1 主要试剂与仪器

五味子药材(安徽谓博中药股份有限公司);五味子乙素、五味子酯甲标准品(中国食品药品检定研究院);五味子醇甲、五味子醇乙标准品购自阿拉丁试剂(上海)有限公司,五味子甲素标准品(美国 Sigma 公司);CCK-8 试剂盒和细胞凋亡检测试剂盒(日本同仁化学研究所);活性氧 DCFH-DA 检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司);HaCaT 细胞(中科院上海生化所细胞库)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 北五味子乙醇提取工艺优化

称取 1 倍量的五味子药材,粉碎后加入 10 倍量水,(50~60)°C 加热蒸煮 2 h,过滤,弃滤液,得药渣;对药渣进行进一步乙醇提取,采用不同的提取温度、乙醇浓度、乙醇用量和提取时间,以探索最佳的提取条件;所得的乙醇提取液过滤(滤渣留样检测五味子乙素残留量),滤液中加入壳聚糖,絮凝大分子杂质,并精滤;所得滤液反复蒸馏,以除去挥发性烯烃及酚类等气味成分;对滤液进行浓缩除醇,测定滤液及滤渣中五味子乙素含量,考察各提取因素对提取效率的影响。

### 1.2.2 北五味子提取物中木脂素类成分的测定

色谱条件:色谱柱 Unitary C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);以甲醇(A)-水(B)为流动相,采用梯度洗脱,梯度程序如下:0~20 min,70% 流动相 A 等度洗脱;20~40 min,70% A~90% A;40~50 min,90% A~95% A;流速 1.0 ml/min。检测波长 220 nm,柱温 30 °C,进样量 5 μl。

标准品溶液的配制:按照各活性成分在提取物中大致所占含量,分别精密称取五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素 9.38、2.65、1.95、2.48、6.24 mg,混合并用乙醇溶解定容至 25 ml,配制成标准品混合储备液,分别精密量取上述木脂素标准品混合储备液适量,分别按 50%、20%、10%、5%、2.5%、1.25% 的比例用乙醇稀释成系列浓度的标准品混合溶液,从低浓度至高浓度分别进样 5 μl 分析,以进样浓度(μg/ml)为横坐标,峰面积(μV × s)为纵坐标绘制标准曲线。

供试品的制备:分别精密称取五味子浸膏和滤渣样品适量(5~6 mg),置于 50 ml 容量瓶中,加乙醇超声 30 min,完全溶解,放冷,定容至 50 ml,过 0.45 μm 滤膜后进样分析。

样品的测定:取制备的样品 5 μl 进样分析,依据本研究色谱条件下测定的组分保留时间,根据回归方程计算五味子乙素的含量。

### 1.2.3 提取物清除 DPPH 自由基能力的测定

精密称取五味子浸膏适量,用乙醇配制成 0.0 078 125、0.015 625、0.03 125、0.0 625、0.125、0.25、0.5、1、2、4 mg/ml 系列浓度,按照参考文献[4]描述的方法测定其对 DPPH 的清除率。

### 1.2.4 细胞培养

HaCaT 细胞在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中常规传代培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基。

### 1.2.5 CCK-8 法检测细胞存活率

取对数生长期的 HaCaT 细胞,按  $1 \times 10^4$  个/孔的密度接种于 96 孔培养板,培养 24 h 后,加入系列浓度的 tBHP ( $200 \sim 600 \mu\text{mol/L}$ ),每个剂量组 6 复孔,继续培养 6 h,使用 CCK-8 试剂盒检测 tBHP 对细胞存活率的影响(按厂家说明书操作)。为检测五味子乙醇提取物对 tBHP 所致的氧化损伤的保护作用,在加入 tBHP 前先加入不同浓度的五味子提取物 ( $0 \sim 10 \mu\text{g/ml}$ ),每个剂量组 6 复孔,预处理 6 h 后再加入  $400 \mu\text{mol/L}$  的 tBHP,继续作用 6 h,使用 CCK-8 试剂盒检测 HaCaT 细胞存活率。

### 1.2.6 细胞凋亡率检测

取对数生长期的 HaCaT 细胞,按  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板,培养 24 h,按照“1.2.5”项下方法加入药物处理细胞,离心收集 HaCaT 细胞,使用日本同仁化学研究所的细胞凋亡检测试剂盒进行荧光标记(按厂家说明书操作),在流式细胞仪(FACS Calibur 美国 BD 公司)上测定各实验组 HaCaT 细胞凋亡率。

### 1.2.7 细胞内活性氧(ROS)水平测定

取对数生长期 HaCaT 细胞,按  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板,培养 24 h 后,按照“1.2.5”项下方法加入药物处理细胞,离心收集 HaCaT 细胞,去除培养液,加入含有 DCFH-DA ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) 荧光探针的无血清培养基,充分混匀后,置于  $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%$   $\text{CO}_2$  培养箱中培养,每 5 min 颠倒混匀一次,培养 20 min 后,将细胞离心收集,PBS 清洗 2 遍后,重悬于  $500 \mu\text{l}$  PBS 中,在流式细胞仪上检测荧光强度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 五味子乙醇提取工艺的进一步优化

五味子的有效成分复杂多样,不同提取方法获得的提取物的有效成分及药理活性并不完全相同。目前常用的提取工艺包括醇提法、超临界  $\text{CO}_2$  萃取法、水提法、乙醚萃取法等,这些提取方法各有其不同特点和应用价值,如水提醇沉法多用于五味子粗多糖的提取,超临界  $\text{CO}_2$  萃取法提取的主要为五味子挥发油。采用超临界提取法得到五味子油脂类成分具有工艺简便、产品质量稳定、有效成分不被破坏等优点,但其提取物也同时具有颜色较深、气味不佳等缺点,不太适用于皮肤外用(如作为化妆品原料添加)。乙醇提取法具有操作简易、生产成本低、易于投入工业化生产等优点,但也存在明显的缺点,如提

取液的体积较大,溶液中存在大量色素、鞣质、蛋白质、黏液质、果胶等大分子物质及许多微粒和絮状物等,影响产品的质量。溶剂提取法的共同特点是可以根据实际需要设计多变的工艺流程,最大限度地保存有效成分,通过各种附加的纯化步骤,有效减少杂质的产生。

为开发五味子提取物在皮肤产品中的应用,课题组在现有的乙醇提取工艺基础上增加了醇提前对粉碎的药材进行 10 倍量、 $(50 \sim 60)^\circ\text{C}$  热水蒸煮 2 h 的工艺步骤,以除去水溶性色素和鞣质、蛋白质、黏液质、果胶等大分子物质杂质,过滤的药渣做进一步乙醇提取,并且对所得醇提滤液采用水蒸气蒸馏法,除去挥发性烯烃及酚类等气味成分。在乙醇提取环节,通过检测乙醇提取滤液中五味子乙素含量来判断活性成分的提取效率,对采用乙醇提取的温度、浓度、用量和提取时间等参数进一步优化。由图 1A 可知,随着乙醇浓度增加,滤液中五味子乙素含量逐渐升高,当乙醇浓度达到 70% 时,滤液和滤渣中五味子乙素含量均为峰值,表明乙醇浓度 70% 时五味子药材提取较充分,提取效率较高。由图 1B 可以看出,温度较低或较高都会影响五味子乙素的提取效率,经综合考虑,为节省能源,选择  $60^\circ\text{C}$  为较佳提取温度。由图 1C 可知,随着乙醇倍量的增加,五味子乙素的提出率增加,因此选择 10 倍量乙醇进行五味子药材的提取。由图 1D 可知,随着加热时间的延长,五味子乙素的提出率也增加,但加热 60 min 和 120 min 相比,五味子乙素提出率增加并不显著,考虑生产周期,选择 60 min 为较佳加热时间。

采用增加醇提前水提和醇提后水蒸气蒸馏除味步骤的醇提工艺制备的提取物与单纯醇提的传统工艺制备的提取物,从两者外观对比可以看出,本研究优化工艺所得的提取物颜色明显变浅(图 2),主观评测气味也显著变淡。

### 2.2 五味子提取物中木脂素类成分的测定

研究发现,从五味子中提取到的成分多为木脂素类化合物,主要的活性成分包括:五味子乙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素等。本实验采用 HPLC 法检测样品中含有的木脂素类成分,五味子提取物样品及混合标准对照品的色谱图见图 3,可见在本研究的色谱条件下,从五味子提取物样品中明确检出五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素,表明优化的工艺能够有效提出五味子中的活性成分。

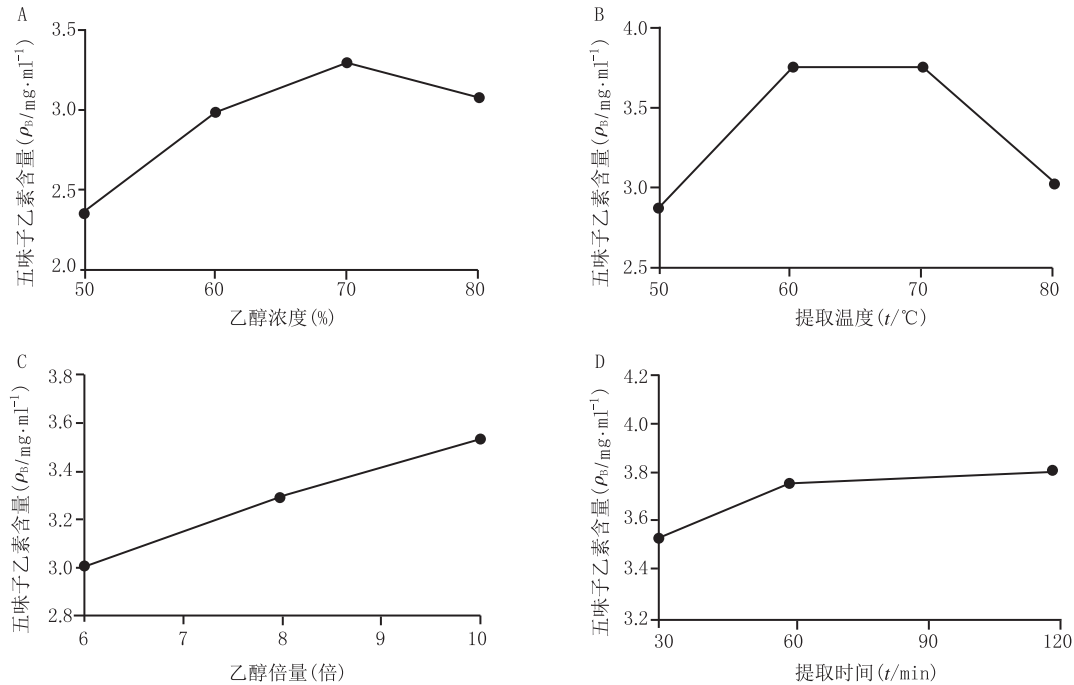


图1 不同提取因素对提取物中五味子乙素含量的影响

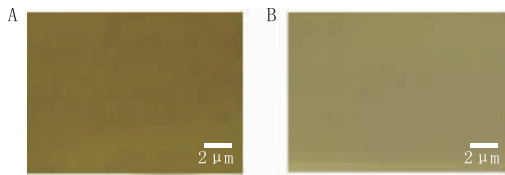


图2 工艺优化前后五味子提取物颜色对比  
A. 工艺优化前; B. 工艺优化后

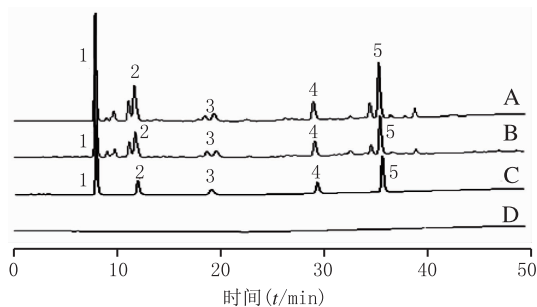


图3 五味子提取物样品及混合标准对照品色谱图  
A. 五味子提取物(批号:20170421); B. 五味子提取物(批号:20170509); C. 混合标准对照品; D. 溶剂;  
1. 五味子醇甲; 2. 五味子醇乙;  
3. 五味子酯甲; 4. 五味子甲素; 5. 五味子乙素

### 2.3 五味子提取物对 DPPH 自由基的清除能力

采用目前最常用的 DPPH 清除实验检测五味子提取物的自由基清除能力,结果如图 4 所示。

五味子提取物对 DPPH 具有极好的清除作用,且随着提取物浓度的增加, DPPH 清除率随之增加,当提取物浓度为 1 mg/ml 时, DPPH 清除率达到 78.3%,与李振等<sup>[5]</sup>的结论相比,优化工艺后的

五味子提取物具有更强的 DPPH 清除效果,而当浓度达到 4 mg/ml 时,五味子提取物对 DPPH 清除率可达 95.4%。

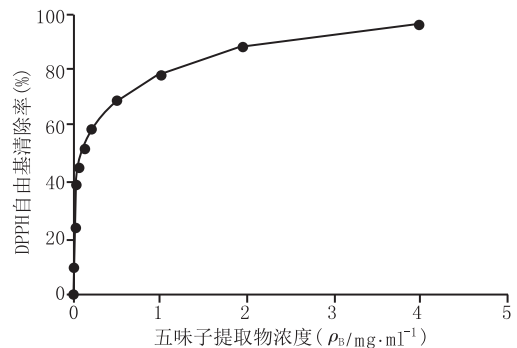


图4 五味子提取物的 DPPH 清除作用

### 2.4 五味子提取物对 tBHP 所致的 HaCaT 细胞氧化损伤的保护作用

tBHP 是一种烷基氢有机过氧化物,具有热稳定性好、使用安全等特点,是常用的自由基反应引发剂,作用于细胞后可引起典型的细胞氧化应激反应,是目前常用的应激源之一。为了检测 tBHP 对 HaCaT 细胞造成的氧化性损伤,课题组将 HaCaT 细胞用系列浓度的 tBHP 处理 6 h,采用 CCK-8 法检测细胞的存活率,结果发现 tBHP 在 200~600  $\mu\text{mol/L}$  剂量范围内剂量依赖性地诱导 HaCaT 细胞,导致细胞存活率下降,表明 tBHP 处理细胞可有效降低 HaCaT 细胞活性(图 5A);为检测五味子

提取物对 tBHP 所致的氧化损伤是否有保护作用, 将 HaCaT 细胞用系列浓度的五味子提取物预处理 6 h, 然后加入 400  $\mu\text{mol/ml}$  的 tBHP 继续处理 6 h, 用 CCK-8 法检测各实验组的细胞存活率。结果发现, 与正常对照组相比, tBHP 单独处理组细胞存活率显著降低, 而五味子提取物预处理组与 tBHP 单独处理组相比, 细胞存活率显著增加(图 5B), 表明五味子提取物能够减少 tBHP 对细胞生长的抑制作用。

细胞凋亡可以通过细胞形态的变化或生物化学的变化来检测, 目前常用的指标包括 Caspase 活性、DNA 碎片、磷脂酰丝氨酸的外翻等。AnnexinV 是一种依赖性磷脂结合蛋白, 可与凋亡早期细胞的胞膜发生特异性结合, 用绿色荧光 FITC 标记后通过流式细胞仪可以检测到细胞凋亡的发生。PI 是一种核酸染料, 只能透过凋亡晚期和死细胞的细胞膜, 因此 AnnexinV 和 PI 结合可区分凋亡早/晚期的细胞和死细胞。为检测五味子提取物对 tBHP 所致的 HaCaT 细胞凋亡的影响, 按“1.2.5”项下方法处理 HaCaT 细胞, 检测各实验组的细胞凋亡率。结果发现, 与正常对照组相比, tBHP 单独处理组细胞凋亡率显著增加, 表明 tBHP 可以显著诱导细胞凋亡; 五味子提取物预处理组与 tBHP 单独处理组相比, 细胞凋亡率显著降低(图 6), 表明五味子提取物能够

减少 tBHP 所致的细胞凋亡。

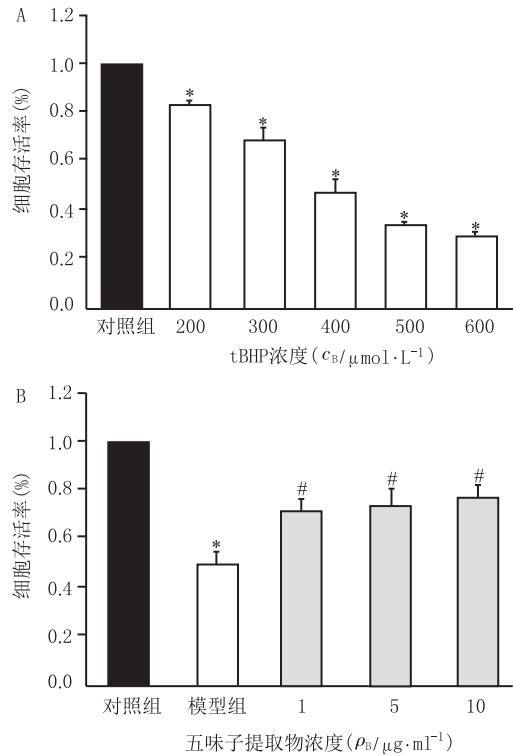


图 5 五味子提取物对 tBHP 所致的 HaCaT 细胞死亡的影响  
A. tBHP 对 HaCaT 细胞存活率的影响;  
B. 北五味子提取物对 HaCaT 细胞氧化损伤的保护作用  
\* $P < 0.05$ , 与对照组比较; # $P < 0.05$ , 与模型组比较

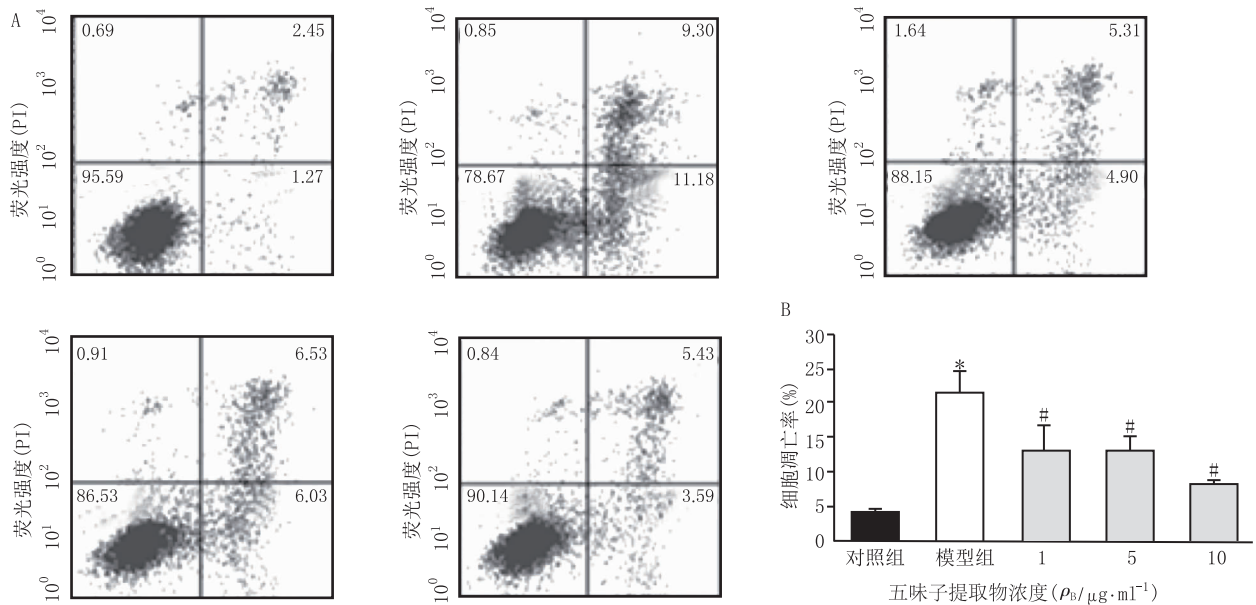


图 6 五味子提取物对 tBHP 诱导的 HaCaT 细胞凋亡的影响

A. 流式细胞术检测 AnnexinV-FITC/PI 双染法染色情况; B. AnnexinV 阳性细胞在总细胞中的定量分析  
\* $P < 0.05$ , 与对照组比较; # $P < 0.05$ , 与模型组比较

正常生理状态下, 细胞内的 ROS 处于低水平的动态平衡, 当氧化应激发生时, 细胞内会产生大量的 ROS, 进而会导致一系列氧化损伤的发生<sup>[14]</sup>。因

此, ROS 水平是反映细胞生理状况的重要指标。按“1.2.5”项下方法同样处理 HaCaT 细胞, 检测各实验组的细胞内的 ROS 水平, 结果发现与正常对照组

相比, tBHP 单独处理组细胞内 ROS 含量明显提高, 五味子提取物预处理组与 tBHP 单独处理组相比, 细胞内的 ROS 水平显著降低(图 7), 表明五味子提取物能够减少 tBHP 所致的氧化应激细胞内的 ROS 水平。综合图 5~7 的结果表明, 五味子提取物能够有效减轻 tBHP 诱导的 HaCaT 细胞氧化损伤。

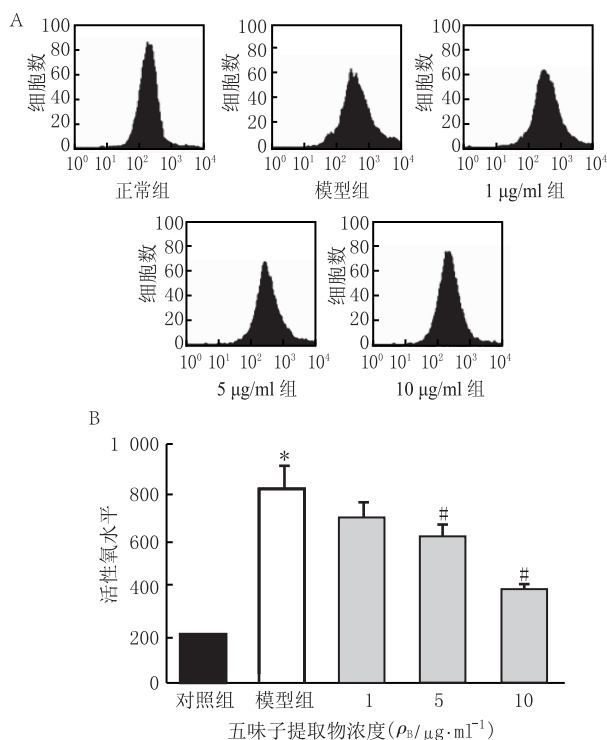


图 7 五味子提取物对 tBHP 诱导的 HaCaT 细胞内 ROS 水平的影响

A. 流式细胞术检测结果; B. HaCaT 细胞内 ROS 水平的定量分析  
\* $P < 0.05$ , 与对照组比较; # $P < 0.05$ , 与模型组比较

### 3 结论

优化工艺制备的五味子提取物不仅保留了其中具有突出抗氧化活性的木质素类有效成分五味子乙素、五味子醇甲等, 并且在颜色、气味方面有非常明显的改善, 为五味子提取物在皮肤产品中的开发和利用奠定了基础。本研究通过体外 DPPH 自由基清除实验证实五味子提取物具有直接清除自由基的能力; 同时, 细胞实验进一步证明五味子提取物在

1~10 µg/ml 范围内能够有效减少 tBHP 所致的 HaCaT 细胞死亡和凋亡, 减少氧化应激细胞内的 ROS 水平, 进而有效减轻皮肤细胞的氧化损伤。因而, 五味子提取物有望发展为一种应对皮肤氧化损伤的天然防护剂。

### 【参考文献】

- [1] 陈玮莹, 温博贵, 郑瑞明, 等. 五味子对 CCl<sub>4</sub> 中毒大鼠肝细胞核基质蛋白和结构的保护作用[J]. 免疫学杂志, 2006, 22(4): 455-459.
- [2] 李坦城, 安丽萍, 滕昊林, 等. 五味子提取物的研究现状与进展[J]. 中国医药科学, 2014, 4(19): 80-82.
- [3] 孙建晨, 尹水日, 崔泰花, 等. 北五味子提取液清除 DPPH 自由基的作用[J]. 食品科技, 2012, 37(6): 247-250.
- [4] 高翔, 陈晓宇, 田振坤, 等. 北五味子萃取物清除 DPPH 自由基作用研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2016, 32(5): 546-548.
- [5] 李振, 孟宪纬, 管延珍, 等. 南、北五味子提取物的抑菌及抗氧化作用研究[J]. 中国调味品, 2017, 42(1): 28-30.
- [6] 曹波, 路婷婷, 魏菲, 等. 南五味子提取物对 UVB 辐射的防护作用观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2016, 30(8): 771-775 + 798.
- [7] LAM PY, YAN CW, CHIU PY, et al. Schisandrin B protects against solar irradiation-induced oxidative stress in rat skin tissue[J]. Fitoterapia, 2011, 82(3): 393-400.
- [8] 侯微, 魏忠宝, 高薇, 等. 五味子甲素·乙素及丙素对 HaCat 细胞氧化损伤的保护作用研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(3): 1047-1049.
- [9] 田双, 严铭铭, 邵帅, 等. 五味子醇提物的提取工艺优化及其体外抗氧化作用评价[J]. 中国药房, 2016, 27(28): 3976-3978.
- [10] 李霞, 贾晓斌, 陈彦, 等. 五味子提取工艺的优化研究[J]. 中国药房, 2007, 18(6): 424-426.
- [11] LEE HJ, KIM CY. Simultaneous determination of nine lignans using pressurized liquid extraction and HPLC-DAD in the fruits of *Schisandra chinensis* [J]. Food Chem, 2010, 120(4): 1224-1228.
- [12] 金银萍, 侯微, 高薇, 等. 五味子抗氧化活性组分筛选[J]. 中国药房, 2016, 27(19): 2622-2625.
- [13] 蒋益萍, 张巧艳, 张宏, 等. 正交试验优选五味子木脂素类成分的提取工艺[J]. 中成药, 2013, 35(11): 2390-2394.
- [14] 高明清. 扇贝多肽经由 ROS/JNK/caspase-3 通路抑制紫外线诱导的 HaCaT 细胞凋亡[D]. 青岛: 青岛大学, 2007.

【收稿日期】 2018-10-08 【修回日期】 2018-11-26

【本文编辑】 李睿曼