

# 关黄柏的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物成分分析及抗氧化活性研究

滕杨<sup>1</sup>, 谭天<sup>1</sup>, 罗时旋<sup>1</sup>, 张宇<sup>1</sup>, 胡新海<sup>2</sup>, 江德田<sup>1</sup>, 高金波<sup>1\*</sup> (1.佳木斯大学, 黑龙江 佳木斯 154007; 2.鹤岗市食品药品检测药监中心, 黑龙江 鹤岗 154101)

**摘要:** 目的 分析关黄柏萃取物的化学成分并考察其体外抗氧化活性。方法 采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术获得关黄柏萃取物, 应用 GC-MS 分析其主要化学成分。利用邻苯三酚自氧化体系, 考察萃取物对超氧自由基的清除能力。结果 关黄柏萃取物得率为 4.68%, 主要有 1,5-二甲基-1,5-环辛二烯(9.55%)、顺-1-醋酸基-7-癸烯(7.44%)、反,反-2,4-癸二烯醛(7.28%)等 30 个成分。该萃取物对超氧自由基有一定的清除作用, 其 IC<sub>50</sub> 值为 1.44 g·L<sup>-1</sup>。结论 关黄柏超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的化学成分种类多, 且有一定的抗氧化活性。

**关键词:** 关黄柏; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 气相色谱-质谱联用; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)07-0824-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.07.013

---

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12523059)

作者简介: 滕杨, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0454)8610778  
(0454)8610778 E-mail: gaojinbo2009@163.com

E-mail: tengyang19820405@163.com

\*通信作者: 高金波, 女, 教授 Tel:

# Study on Component Analysis and Antioxidant Activity of Extractions by Supercritical CO<sub>2</sub> from *Phellodendri Amurensis* Cortex

TENG Yang<sup>1</sup>, TAN Tian<sup>1</sup>, LUO Shixuan<sup>1</sup>, ZHANG Yu<sup>1</sup>, HU Xinhai<sup>2</sup>, JIANG Detian<sup>1</sup>, GAO Jinbo<sup>1\*</sup> (1. Jiamusi University, Jiamusi 154007, China; 2. Food and Drug Inspection Center in Hegang City, Hegang 154101, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To analyze the main components and determine the *in vitro* antioxidant activity of volatile from *Phellodendri Amurensis* Cortex. **METHODS** The volatile was obtained from *Phellodendri Amurensis* Cortex by supercritical CO<sub>2</sub> extraction technology, and analyzed the components by GC-MS. The scavenging activity on O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical of volatile was assayed by the adjacent benzene three phenolic autoxidation system. **RESULTS** The extraction rate was 4.68% of volatile oil from *Phellodendri Amurensis* Cortex by supercritical CO<sub>2</sub>. Thirty components were identified from the volatile of *Phellodendri Amurensis* Cortex. The IC<sub>50</sub> value of scavenging effects of the volatile oil on the O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radical was 1.44 g·L<sup>-1</sup>. **CONCLUSION** The volatile from *Phellodendri Amurensis* Cortex by supercritical CO<sub>2</sub> extraction technology has varied components and exhibits certain antioxidant activity.

**KEY WORDS:** *Phellodendri Amurensis* Cortex; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; GC-MS; antioxidant activity

黄柏(*Phellodendri* Cortex), 为芸香科植物黄皮树 (*Phellodendron chinense* Schneid.) 或 黄檗 (*Phellodendron amurense* Rupr.) 的干燥树皮。前者习称“川黄柏(*Phellodendri Chinensis* Cortex)”, 主产于四川和贵州; 后者习称“关黄柏(*Phellodendri Amurensis* Cortex)”, 主产于东北三省。黄柏可入药, 有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮之功效, 临床用于治疗流行性脑脊髓膜炎<sup>[1]</sup>、肺炎等病症, 具有抗癌<sup>[2]</sup>、降血糖<sup>[3-4]</sup>、心脑血管和免疫系统影响<sup>[5]</sup>等作用。本研究采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法 (supercritical CO<sub>2</sub> extraction, SCE-CO<sub>2</sub>) 得到关黄柏的萃取物, 用 GC-MS 联用技术对关黄柏萃取物进行分析, 在初步确定其中的化学成分后, 测定其对超氧自由基的清除作用, 旨在为 SCE-CO<sub>2</sub> 用于关黄柏萃取物的提取可行性及关黄柏的进一步开发与应用提供实验基础。

## 1 仪器与材料

UV 757 型紫外分光光度计 (上海精密仪器有限公司); 气质联用仪 (GC: 7890A, MS: 5975C.EI/CI MSD, 美国 Agilent 公司)。关黄柏 (黑龙江省佳木斯市民生药行, 经佳木斯大学药学院生药学教研室刘娟教授鉴定为关黄柏); CO<sub>2</sub> (≥95%, 食品级, 佳木斯市金鼎气体有限公司); 邻苯三酚, 乙醇等均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 关黄柏超临界萃取物的制备

关黄柏饮片烘干, 粉碎, 过 20 目筛, 并称 160 g 投入 1 L 萃取釜中。在 CO<sub>2</sub> 流速为 20 L·h<sup>-1</sup>, 萃取压力为 30 MPa, 温度为 35 °C, 分离釜 I 的压力为 10 MPa, 分离釜 II 的压力为 5 MPa, 萃取 120 min, 然后从分离釜 I 和分离釜 II 收集关黄柏超临界萃

取物, 经无水硫酸钠干燥后放置冰箱中备用。

### 2.2 气相色谱-质谱分析

GC 条件: HP-5MS 毛细管柱 (30 m×0.32 mm, 0.25 μm), 进样口温度 240 °C, 载气为氮气, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 分流比 40:1, 采用程序升温对柱温进行控制: 初始温度为 50 °C, 以 5 °C·min<sup>-1</sup> 升温至 240 °C, 保持 10 min。

MS 条件: 离子源电压 70 eV, 扫描范围 30~450 *m/z*, 四极杆温度 150 °C, 离子源温度 230 °C, GC-MS 接口温度 280 °C<sup>[6]</sup>。用微量进样器吸取关黄柏超临界萃取物 10 μL, 放入 1.5 mL 离心管中, 用正己烷定容到 1.0 mL, 进样 1 μL, 通过 GC-MS 分离出的各组分提取质谱图和谐谱图数据库 (NIST, WILEY) 检索及标准图谱对照分析。

### 2.3 关黄柏超临界萃取物清除超氧阴离子自由基能力的考察<sup>[7-8]</sup>

样品溶液的配制: 精密称取关黄柏萃取物 5.03 g 于烧杯中, 用无水乙醇溶解定容至 100 mL, 再分别移取 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 mL 的样品乙醇溶液至 25 mL 量瓶中, 用乙醇定容, 得 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 g·L<sup>-1</sup> 的样品溶液, 摇匀, 备用。

取 4 mL pH 8.2 的 4 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl 缓冲溶液、2 mL 蒸馏水和不同浓度样品溶液 1 mL 于比色管中, 混合后在 25 °C 水浴中保温 20 min, 取出立即加入事先预热到 25 °C 的 3 mmol·L<sup>-1</sup> 邻苯三酚 0.5 mL, 用蒸馏水定容至 8 mL<sup>[9]</sup>, 置 25 °C 下水浴中 4 min, 然后立即取出, 加入 2 滴浓盐酸终止反应。然后在 320 nm 下测吸光度 *A*<sub>1</sub>, 每份样品溶液平行测定 3 次。以无水乙醇代替邻苯三酚溶液, 同法操作, 在 320 nm 下测吸光度 *A*<sub>2</sub>, 平行测定 3 次。以无水乙醇代替样品溶液, 同法操作, 在

320 nm 下测吸光度  $A_0$ ，平行测定 3 次；同时以维生素 C 作为对照。

关黄柏的超临界萃取物对  $O_2^-$  自由基的清除率计算公式： $C(\%) = 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100\%$ 。

3 结果与讨论

3.1 关黄柏超临界萃取物的得率

按“2.1”项下方法采用超临界  $CO_2$  萃取法从 160 g 关黄柏粉末中得到萃取物总得率为 4.68%。

3.2 GC-MS 分析

按“2.2”项下方法操作，得到关黄柏超临界萃取物的总离子流色谱图，结果见图 1。

从萃取物中鉴定出 30 个成分，用峰面积归一化法通过化学工作站数据处理系统得出各化学成分在挥发油中的相对百分含量。其中含有酸类(11 种)占 36.67%、酯类(2 种)占 6.67%、醛类(4 种)占

13.33%、醇类(1 种)占 3.33%，烯类(8 种)占 28.89%，其它(4 种)占 11.23%，共占总检出量的 96.79%。主要成分(相对含量>5.00%)为 1,5-二甲基-1,5-环辛二烯(9.55%)、顺-1-醋酸基-7-癸烯(7.44%)、反,反-2,4-癸二烯醛(7.28%)、2-氯亚油酸(6.35%)、硬脂酸(6.28%)、正癸酸(5.78%)、异油酸(5.66%)，见表 1。

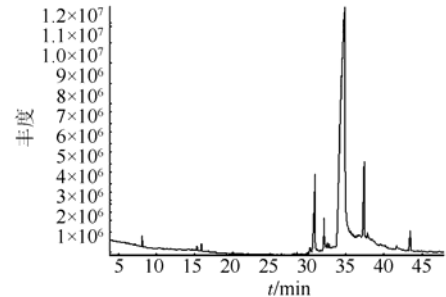


图 1 关黄柏萃取物总离子流色谱图  
Fig. 1 Totalion chromatogram figures of extractions from Phellodendri Amurensis Cortex

表 1 关黄柏萃取物 GC-MS 分析结果

Tab. 1 Analysis of constituents of volatile in Phellodendri Amurensis Cortex

| 序号 | 保留时间/min | 化合物英文名                                  | 化合物中文名                  | 分子式                                              | 相对分子质量 | 相对含量 |
|----|----------|-----------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------|--------|------|
| 1  | 8.732    | limonene                                | 柠檬烯                     | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                  | 136    | 1.95 |
| 2  | 9.230    | 1,5-di-methyl-1,5-cyclooctadiene        | 1,5-二甲基-1,5-环辛二烯        | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                  | 136    | 9.55 |
| 3  | 15.945   | trans, trans-2,4-decadienal             | 反,反-2,4-癸二烯醛            | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O                | 152    | 7.28 |
| 4  | 16.454   | trans, trans-2,4-nonadienal             | 反,反-2,4-壬二烯醛            | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O                 | 138    | 1.12 |
| 5  | 17.005   | 2-methyl-1,5 hexadiene                  | 2-甲基-1,5-己二烯            | C <sub>7</sub> H <sub>12</sub>                   | 96     | 1.92 |
| 6  | 30.268   | cis-9-hexadecenoic acid                 | 顺-9-十六碳烯酸               | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 254    | 2.92 |
| 7  | 30.606   | cis-11-vaccenic acid                    | 顺-11-十八碳烯酸(异油酸)         | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 282    | 5.66 |
| 8  | 30.904   | hexadecanoic acid                       | 棕榈酸(十六烷酸)               | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 256    | 0.58 |
| 9  | 31.304   | tetradecanoic acid                      | 十四烷酸                    | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>   | 228    | 2.55 |
| 10 | 31.440   | pentadecanoic acid                      | d-十五烷酸                  | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>   | 242    | 0.94 |
| 11 | 31.501   | n-decanoic acid                         | 正癸酸                     | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>   | 172    | 5.78 |
| 12 | 31.108   | tridecanoic acid                        | 十三烷酸                    | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>   | 214    | 1.96 |
| 13 | 32.315   | 1-hexadecene                            | 1-十六碳烯                  | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>                  | 224    | 4.57 |
| 14 | 32.526   | heptadecanoic acid                      | 十七烷酸                    | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 270    | 2.36 |
| 15 | 32.668   | octadecanoic acid                       | 硬脂酸(十八烷酸)               | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>   | 284    | 6.28 |
| 16 | 32.755   | 2-octyl-cycloprol caprylic aldehyde     | 2-辛基环丙基辛醛               | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O                | 280    | 1.33 |
| 17 | 33.265   | 2-methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol        | 顺,顺-2-甲基-3,13-十八二烯醇     | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O                | 280    | 3.33 |
| 18 | 34.819   | 9,12-octadecadienoic acid(Z,Z)          | 顺,顺-9,12-十八碳二烯酸         | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 280    | 1.29 |
| 19 | 35.017   | cis-7-dodecen-1-ylacetate               | 顺-1-醋酸基-7-癸烯            | C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>   | 226    | 7.44 |
| 20 | 35.101   | 9,12-octadecadienoic acid, methyl ester | 9,12-十八碳二烯酸乙酯           | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>   | 294    | 4.14 |
| 21 | 35.261   | 9,17-octadecadienal,(Z)                 | (Z)-9,17-十八碳二烯醛         | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O                | 264    | 3.60 |
| 22 | 35.528   | 2-chloroethyl linoleate                 | 2-氯亚油酸                  | C <sub>20</sub> H <sub>35</sub> ClO <sub>2</sub> | 342    | 6.35 |
| 23 | 35.758   | 9-eicosyne                              | 顺-9-二十炔                 | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>                  | 278    | 2.52 |
| 24 | 36.142   | 1-hexadecyne                            | 1-十六炔                   | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub>                  | 222    | 0.81 |
| 25 | 36.257   | cyclodecano                             | 1 羟基环癸烷                 | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O                | 156    | 3.68 |
| 26 | 36.417   | E,Z-1,3,12-Nonadecatriene               | E,Z-1,3,12-十九碳三烯        | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub>                  | 262    | 0.98 |
| 27 | 36.533   | 11,14-eicosadienoic acid, methyl ester  | 11,14-二十碳二烯酸甲酯          | C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>   | 322    | 2.53 |
| 28 | 36.664   | 1,11-dodecadiene                        | 1,11-十二碳二烯              | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>                  | 166    | 1.85 |
| 29 | 36.720   | 7-methyl-3,4-octadiene                  | 7-甲基-3,4-辛二烯            | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>                   | 124    | 0.63 |
| 30 | 36.811   | 2-methyl-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane  | 2-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷 | C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub>    | 126    | 4.22 |

3.3 超临界萃取物清除超氧阴离子自由基的考察

不同浓度的关黄柏超临界萃取物乙醇溶液对  $O_2^-$ ·自由基有一定的清除能力,挥发油乙醇溶液的浓度在  $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时清除率为 19.5%,  $3.20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时清除率为 63.9%。随着挥发油乙醇浓度的递增,对  $O_2^-$ ·自由基清除能力呈现递增趋势,用  $IC_{50}$  计算软件计算所得的  $IC_{50}$  值为  $1.44\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 证明关黄柏萃取物对  $O_2^-$ ·自由基有一定的清除作用,应该是与含 1,5-二甲基-1,5-环辛二烯、顺-1-醋酸基-7-癸烯、反、反-2,4-癸二烯醛、2-氯亚油酸和异油酸等成分有关,因其分子中都含有不饱和基团,特别是反、反-2,4-癸二烯醛、2-氯亚油酸,据资料[10]显示,在储存时都需加入强还原剂,以防止氧化变质。结果见表 2。

表 2 不同浓度关黄柏萃取物对  $O_2^-$ ·自由基的清除率  
Tab. 2 Results of the scavenging activity on  $O_2^-$ · free radical of extractions from *Phellodendron Amurensis* Cortex

| 序号 | 浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ | 萃取物的清除率/% | VC 的清除率/% |
|----|----------------------------------|-----------|-----------|
| 1  | 0.2                              | 19.5      | 38.6      |
| 2  | 0.4                              | 30.6      | 43.5      |
| 3  | 0.8                              | 42.3      | 58.7      |
| 4  | 1.6                              | 49.1      | 72.6      |
| 5  | 3.2                              | 63.9      | 96.9      |

4 结论

本实验应用 SCE- $CO_2$  获得关黄柏的萃取物得率为 4.68%,通过气质联用技术分析萃取物得到匹配度在 80%以上的 30 种化合物,考察其对超氧自由基的清除率  $IC_{50}$  值为  $1.44\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 说明关黄柏超临界萃取物有一定的抗氧化活性,为今后进一步开发利用关黄柏的药用价值提供一定的理论基础,特别是在抗衰老方面有很好的研究前景。

REFERENCES

[1] GUO Z J, GUO S H, HE K M, et al. Determination of contents of flavonol glycosides in the leaves of *Phellodendron chinense* Schneid and investigation of their fungistasis [J]. J Jinan Univ (Nat Sci)(暨南大学学报: 自然科学版), 2002, 23(5): 64.

[2] JUNG H W, JIN G Z, KIM S Y, et al. Neuropro-TECTIVE effect of methanol extract of *Phellodendron* Cortex against methyl-4-phenylpyridinium (MPP<sup>+</sup>)-induced apoptosis in PC-12 cells [J]. Cell Biol Int, 2009, 33(9): 957-963.

[3] KIM S J, KIM Y Y, KO K H, et al. Butanol extract of 1 : 1 mixture of *Phellodendron* Cortex and *Aralia* Cortex stimulates PI3-kinase and ERK2 with increase of glycogen levels in HepG2 cells [J]. Phytother Res, 1998, 12(4): 255-260.

[4] MESKHELI M B, ANTELAVA N A, BAKURIDZE AD, et al. Antidiabetic activity of berberin and extract obtained from the bark of *Phellodendron lavalei*, introduced in subtropic regions of Georgia, in streptozotocin induced diabetic rats [J]. Georgian Med News, 2011(191): 53-60.

[5] PARK S D, LAI Y S H, KIM C H. Immunopotentiating and antitumor activities of the purified polysaccharides from *Phellodendron chinense* Schneid [J]. Life Sci, 2004, 75(22): 2621-2632.

[6] ZHU S L, DOU S S, LIU R H, et al. Qualitative and quantitative analysis of alkaloids in Cortex *Phellodendron* by HPLC-ESI-MS/MS and HPLC-DAD [J]. Chem Res Chin Univ(高等学校化学研究: 英文版), 2011, 27(1): 38-44.

[7] WANG Y L, WANG X W, PEI X L, et al. Supercritical  $CO_2$  extraction of volatile components of *Polygala tenuifolia* Willd. and analysis of characteristics through fingerprint [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 983-987.

[8] MA W F, ZHU X Y, CAI Y, et al. Extraction of the volatile compounds from *Folium glycosmis parviflorae* by steam distillation and supercritical fluid extraction [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2013, 33(15): 1244-1246.

[9] HE Y J, YUEY D, TANG F. Detection of antioxidative capacity of essential oils from the bamboo leaves by scavenging organic free radical DPPH [J]. J Anhui Agricult Univ(安徽农业大学学报), 2009, 36(3): 408-412.

[10] ZHANG X W, HU D R, YANG L, et al. Synthesis of *trans*, *trans*-2, 4-decadienal [J]. J Cap Norm Univ(Nat Sci Edit)(首都师范大学: 自然科学版), 2008, 29(6): 39-40.