

# 化妆品中功效生物碱提取纯化及功效评价的研究进展

邱倩倩<sup>1</sup>, 王海燕<sup>2\*</sup>, 孙建博<sup>1\*</sup>, 路勇<sup>2</sup>

<sup>1</sup>中国药科大学, 南京 210009;

<sup>2</sup>中国食品药品检定研究院 国家药品监督管理局化妆品研究与评价重点实验室, 北京 100010

**摘要:**生物碱是存在于自然界(主要为植物)的一类重要的天然产物。其中甜菜碱、茶碱、辣椒碱等一些生物碱常常被添加进化妆品中以达到抗氧化、保湿、减少皮肤刺激等功效。由于化妆品具有一定的基体干扰效应,对生物碱进行最大程度地提取纯化是使其发挥功效的关键步骤。本文综述了目前对于化妆品原料目录里的功效生物碱提取纯化的不同方法以及总结了对其抗氧化功效的评价方法及应用。以期从化妆品中提取纯化功效生物碱提供参考,进一步推动功效生物碱在化妆品中的应用。

**关键词:**化妆品;生物碱;提取;纯化;功效评价

中图分类号:TQ658;Q946

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)Suppl-0172-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.S.026

## Research progress on extraction and purification of active alkaloids in cosmetic products and evaluation of their efficacy

QIU Qian-qian<sup>1</sup>, WANG Hai-yan<sup>2\*</sup>, SUN Jian-bo<sup>1\*</sup>, LU Yong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; <sup>2</sup>NMPA Key Laboratory for

Researching and Evaluation of Cosmetics, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100010, China.

**Abstract:** Alkaloids are an important class of natural products found mainly in plants. In pursuit of the multiple efficacy like antioxidant, moisturizing, and skin irritation reduction, some biologically active alkaloids, such as betaine, theophylline and capsaicin, are often added to cosmetics. Since cosmetics have certain matrix-disrupting effects, the extraction and purification of alkaloids is the key step to maximize their efficacy. This paper reviews the different methods of alkaloids extraction and purification currently applied in the catalogue of cosmetic raw materials, and summarizes the methods for evaluating their antioxidant efficacy. It provides a reference for the extraction and purification of active alkaloids in cosmetics and can further promote the application of active alkaloids in cosmetics.

**Key words:** cosmetics; alkaloids; extraction; purification; efficacy evaluation

生物碱是一类重要的天然产物,广泛存在于植物、动物、微生物等生物有机体内。大多数具有显著的生物活性,例如甜菜碱<sup>[1]</sup>具有保湿、强化皮肤屏障、对头发和头皮有较好的护理效果;四氢胡椒碱<sup>[2]</sup>是由生物碱胡椒碱氢化而来,可促进天然成分快速有效渗透,使皮肤组织对功效成分的吸收利用得到显著改善和促进,可协助药品、化妆品功效成分快速渗透皮肤;茶碱<sup>[3]</sup>具有很高的生物活性和穿透皮肤屏障的能力,具有很强的抗氧化作用,有助于保

护细胞免受紫外线辐射,减缓皮肤的光老化过程等。这些生物碱均被收纳于已使用化妆品原料目录中。虽然从天然植物中提取分离获取生物碱已有很多报道,但是对于在化妆品中使用到的生物碱的提取纯化并没有一个系统的归纳整理。因此去探究在已收录至化妆品原料目录里的生物碱的提取纯化以及如何进行功效评价变得十分有意义。

### 1 生物碱的提取技术

植物中有效成分的提取分离技术是根据其在不同条件下的存在状态、形状、溶解性等物理和化学性质来确定的<sup>[4]</sup>。生物碱的溶解性能是提取与纯化的重要依据,生物碱提取方法较多,目前大多数生物碱是利用溶剂提取法、渗漉法等传统技术和超临界

收稿日期:2022-04-02 接受日期:2022-05-05

基金项目:十四五基地与人才专项(2022FY101202)

\*通信作者 Tel:86-013693221288; E-mail:summerwhy163@163.com

流体萃取法、微波辅助法等现代提取技术进行提取分离。

### 1.1 传统提取技术

绝大多数生物碱的提取均采用溶剂法。该法利用生物碱大多数易溶于水、醇类溶剂、有机溶剂等溶剂的性质,即根据生物碱的溶解性,选择相应的溶剂通过溶解使总碱与植物组织脱离。常选用的溶剂有水或酸水、醇类溶剂和亲脂性有机溶剂等。

专利 JP2016119882A 公开了一种用 85 °C 热水浸泡提取绿茶中咖啡因的方法;专利 CN105432862A 公开了一种采用 70 ~ 80 °C 的纯净水浸泡提取茶鲜叶中咖啡因的方法<sup>[5]</sup>。Chen 等<sup>[6]</sup>采用 95% 的无水乙醇提取茶叶粉末中的咖啡因,最佳提取时间为 3 h,提取率为 0.18%。Shen 等<sup>[7]</sup>采用环境友好溶剂非索氏提取直接升华法从茶叶中提取咖啡因,提取率为 0.66%。Wu 等<sup>[8]</sup>采用乙醇作溶剂提取茶叶中提取咖啡因,提取时间为 2 h,最高收率为 1.433%。Li 等<sup>[9]</sup>采用乙醇溶液提取甜菜碱,平均提取率为 99.8%,且与乙醇的浓度无关,其不同浓度的乙醇溶液中均有良好的贮藏稳定性。Shi 等<sup>[10]</sup>采用纯水作溶剂提取甜菜碱,其提取率为 4.05%。Ou 等<sup>[11]</sup>采用 80% 乙醇回流提取延胡索药材中的延胡索,再经调 pH 等一系列操作提取海罂粟碱,实验表明 pH 值为 10 时萃取出的总碱部位中海罂粟碱含量最高,占浸膏中海罂粟碱总量的 92.51%。Guo 等<sup>[12]</sup>采用 60% 乙醇作溶剂提取苦参碱,其提取率达 2.192%。

### 1.2 现代提取技术

#### 1.2.1 超临界流体萃取法

超临界流体可以定义为温度和沸点高于临界点的任何物质。超临界流体萃取比使用有机溶剂的传统方法具有更好的性能。用作超临界萃取剂的物质很多,分为极性和非极性两类,极性萃取剂如甲醇、乙醇、丙酮、水等,非极性萃取剂如二氧化碳、乙烷、乙烯、丙烷等<sup>[13]</sup>。二氧化碳(CO<sub>2</sub>)因具有廉价、化学惰性、易燃、纯度高且易于回收等特点是超临界萃取天然产物最理想的萃取剂<sup>[14]</sup>。

Yin 等<sup>[15]</sup>采用 SFE-CO<sub>2</sub> 提取黑茶中的茶多酚和咖啡碱,采用正交试验优化最佳萃取条件:萃取温度 40 °C,萃取压力 20 MPa,夹带剂为 70% 乙醇,咖啡碱提取率为 0.457%。Deng 等<sup>[16]</sup>以黄灯笼辣椒为原料,通过单因素试验确定的最佳萃取条件为:萃取压力 30 MPa,萃取时间 90 min,粉碎粒度 80 目、萃

取温度 35 °C,该条件下外加 5% 水(V:V)为夹带剂,辣椒碱一次萃取率为 93%。Liu 等<sup>[17]</sup>运用单因素和正交试验法探讨超临界-CO<sub>2</sub>法萃取苦参中苦参碱最佳工艺为选择 75% 的乙醇作为夹带剂,萃取压力 25 MPa、萃取温度 60 °C、萃取时间 3 h、CO<sub>2</sub>为流量 40 kg/h。萃取物中苦参碱含量最高,为 22.97 ~ 24.23 mg/g。

#### 1.2.2 微波辅助萃取法

微波辅助萃取是将微波和传统溶剂萃取相结合的一种萃取技术<sup>[18]</sup>。微波加热植物细胞最深处的水分会导致蒸发,并对细胞壁产生巨大压力。由于这种压力,细胞壁从内部变弱并破裂<sup>[19]</sup>。通过这种方式,从而将细胞内生物碱等有效成分成功释放到浸提液中。因此,它有助于提高植物成分的提取率。

Laba 等<sup>[20]</sup>比较了冷浸法、加热回流法、超声提取法和密闭微波辅助提取法对苦参生物碱提取效果的影响,发现密闭微波辅助提取法效果最好。Chen 等<sup>[21]</sup>用水作提取剂,在 110 °C、压力为 15 MPa、功率为 780 W 的条件下进行微波提取(PMAE)5 min。可使苦参碱和氧化苦参碱获得较高的提取率。Dang 等<sup>[22]</sup>研究了从枸杞叶中提取甜菜碱的最佳工艺为固液比(g:mL)为 1:10,20 min,微波功率 200 W。此时其提取率平均值可高达 4.48%。

#### 1.2.3 超声波辅助提取法

超声波辅助提取法<sup>[23]</sup>利用超声波振动能量大的特点,使溶剂以很高速度穿透植物细胞组织,植物体中的有效成分与溶剂充分接触,强化传质过程,从而提高萃取率。

Chen 等<sup>[24]</sup>采用超声波辅助提取苦参中的苦参碱,当超声时间为 45 min,温度为 80 °C 时,苦参碱的浸出率为 80.27%。Huang 等<sup>[25]</sup>建立了从枸杞子中提取甜菜碱的最优方法:料液比 1:30(g/mL)投料、甲醇超声提取 45 min。Dang 等<sup>[26]</sup>研究当实验条件为固液比(g/mL)为 1:60、60 °C、浸提 4 h、超声 10 min 时,枸杞叶中的甜菜碱可实现最优提取。Chui-chulcher 等<sup>[27]</sup>比较了超声辅助法和微波辅助法对辣椒碱提取效果的影响,提取率分别为 0.528% 和 0.401%,超声波辅助乙醇法提取效果最佳。Ouyang 等<sup>[28]</sup>研究出从肉苁蓉中提取甜菜碱的最优工艺条件为提取温度 40 °C,超声功率 1 000 W,提取时间 10 min。Jia 等<sup>[29]</sup>探究出咖啡碱提取最佳条件为:95% 乙醇浓度,30 min 超声时间,120 W 超声功率,液固比为 25:1。咖啡碱的提取率达到 1.32%。

## 2 生物碱的纯化方法

经溶剂提取后的生物碱溶液除生物碱及其盐类之外还存在大量其他脂溶性或水溶性杂质,需要进一步纯化处理。制备型色谱以分离、富集和纯化组分为目的<sup>[30]</sup>。目前常用高效制备液相色谱和高速逆流色谱来纯化生物碱,但是关于对已使用化妆品原料目录里生物碱的纯化方法的文献提及较少。高效制备液相色谱<sup>[31]</sup>(preparative high performance liquid chromatography, Prep-HPLC)是一种强大、通用且通常快速的技术,通过它可以从复杂混合物中纯化化合物。其原理是利用混合物中各组分物理化学性质的差异,使它们以不同程度分布在两个不相溶的相中,且各组分可在两相的相对运动过程中,在两相中发生多次分配,从而达到分离的目的<sup>[32]</sup>。高速逆流色谱<sup>[33]</sup>(high-speed counter-current chromatography, HSCCC)作为一种全液相技术,基于液-液分配原理,不涉及固相,而是依赖于溶质在两种不可混合溶剂(固定相和流动相)之间的分配,这两种溶剂在旋转盘管中经历复杂的流体动力学运动。HSCCC具有溶剂消耗低、重复性高、回收率高和溶质负载能力强的优点。

Ai等<sup>[34]</sup>采用C<sub>18</sub>硅胶(ODS)柱,流动相为甲醇/水(75/25,V/V)的实验条件,用反相制备液相色谱法从辣椒碱类化合物中分离得到的辣椒碱单体纯度为95.23%。Dong等<sup>[35]</sup>在PRC-ODS色谱柱(250 mm × 21.5 mm, 13 μm)上,以甲醇-水(70:30)为流动相从80%的辣椒素类物质中制备了纯度为99.93%的辣椒素单体。Yuan等<sup>[36]</sup>用高速逆流色谱纯化苦参中的总生物碱,以三氯甲烷-甲醇-磷酸二氢钠缓冲液(pH=4.5)(27:20:13)溶剂系统,上相为固定相,下相为流动相,一次性从苦参总生物碱中分得10个单体成分,并用质谱法证实了其中的苦参碱成分。Wang等<sup>[37]</sup>利用高速逆流色谱从胡椒粗提物中分离制备其主要成分胡椒碱,实验中的两相溶剂系统为石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比1:0.8:1:0.8),上相为固定相,下相为流动相,经过分离后得到胡椒碱的纯度为99.1%。

除了已使用原料目录中的生物碱,一些生物碱因其具有良好的生物活性,也可考虑作为以后的化妆品新原料。有研究表明荷叶碱是荷叶中的一种阿朴啡型生物碱,其具有良好的抗炎作用和抗氧化活

性<sup>[38]</sup>。Liu等<sup>[39]</sup>用Prep-HPLC分离制备荷叶碱,反相Waters Prep Nova-pak HR C<sub>18</sub>柱(300 mm × 19 mm, 6 μm),以乙腈-0.2%三乙胺水溶液(3:7)为流动相,所得荷叶碱质量分数大于98%,制备收得率大于49%。金黄色葡萄球菌常存在于皮肤表面,有可能会使皮肤受到损伤。岩黄连碱是岩黄连的生物碱主要成分,其对金黄色葡萄球菌有一定的抑制作用,并有一定的止痛作用。Jiang等<sup>[40]</sup>采用制备色谱系统AKTA Explorer 100从岩黄连中分离纯化其活性单体岩黄连碱,实验采用600 mm × 16 mm,以SOURCE 30 RPC为柱填充料的色谱柱,以0.2 mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(pH 8.5)-乙腈为流动相,纯度测定结果表明其质量分数达到了99%以上。

## 3 生物碱成分的功效评价

化妆品中的生物碱成分大多具有抗氧化的功效,抗氧化实验是最普遍也是最易开展的功效评价实验。DPPH自由基清除试验、超氧阴离子自由基的清除能力测定、总抗氧化能力测试(ABTS法)等体外方法是评价生物碱功效的主要方法。DPPH自由基清除试验基于抗氧化剂提供电子以中和DPPH自由基。该反应伴随着在517 nm处测量的DPPH颜色的变化,当抗氧化剂存在时,孤对电子被配对,DPPH自由基被还原成黄色DPPH-H非自由基形式。其抗氧化活性通常被称为EC<sub>50</sub>,EC<sub>50</sub>是指将DPPH初始浓度降低50%所需的抗氧化剂的有效浓度。此外,可以使用TEC<sub>50</sub>,这是达到EC<sub>50</sub>平衡状态所需的时间<sup>[41]</sup>。DPPH分析已成为抗氧化剂测试中最常用的方法之一,主要是因为它具有高度灵敏度、技术简单、快速、准确、重现性好、可靠,并且不需要任何特殊的样品预处理<sup>[42]</sup>。还原型的ABTS[2,2-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐]分子(λ<sub>max</sub>=342 nm)可被K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>,MnO<sub>2</sub>等试剂氧化成呈现蓝绿色的自由基阳离子。在414、645、734、805 nm处有最大吸收峰。具有供氢能力的抗氧化剂与其反应,使之变成无色的ABTS<sup>[43]</sup>。以414 nm或734 nm处的吸光度来表示褪色的程度,以百分率表示自由基阳离子ABTS的抑制率。该法简便,快速,适合于大量样品的检测<sup>[44]</sup>。

Zhao<sup>[45]</sup>通过进行DPPH自由基清除试验和酪氨酸酶抑制活性试验,发现花椒果皮中的生物碱具有良好的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶的效果,其

IC<sub>50</sub> 分别为 0.059 9、1.212 0 mg/mL。Reyanggu 等<sup>[46]</sup>以 DPPH 自由基及 OH 自由基的清除能力为指标评价各品种喀什石榴籽总生物碱的抗氧化活性,其中甜石榴籽生物碱对 DPPH 自由基清除能力比酸石榴强。酸、甜石榴籽生物碱 IC<sub>50</sub> 值分别为 0.18、0.53 mg/mL,而酸石榴总还原力及对 OH 自由基的清除能力比甜石榴强,酸、甜石榴籽生物碱 IC<sub>50</sub> 值分别为:0.28、0.66 mg/mL。结果表明喀什石榴籽总生物碱具有良好的抗氧化能力。Wang 等<sup>[47]</sup>通过体外抗氧化实验探讨了辣椒碱对超氧阴离子自由基与羟基自由基的清除能力,研究了其抗氧化能力。结果表明,当浓度为 1.0 mg/mL 时,辣椒碱单体对超氧阴离子自由基清除能力高达 95%,其具有明显的抗氧化能力。Tao 等<sup>[48]</sup>通过实验测得辣椒碱类物质的 DPPH 自由基清除 IC<sub>50</sub> 为 32.271 μg/mL,说明辣椒碱类物质具有较好的抗氧化活性。Duan 等<sup>[49]</sup>发现辣椒碱对 DPPH、ABTS<sup>+</sup> 的清除能力呈现出较好的量效关系,EC<sub>50</sub> 在 40.68、84.30 μg/mL 时清除率分别为 82.4%、86.7%。Wang 等<sup>[50]</sup>用 DPPH 法研究其抗氧化活性,并对其抑制酪氨酸酶的活性进行了研究。结果表明花椒生物碱对 DPPH 自由基清除的 IC<sub>50</sub> 值为 0.059 9 mg/mL,抑制酪氨酸酶活性的 IC<sub>50</sub> 为 1.212 mg/mL,说明花椒生物碱有一定的抗氧化和抑制酪氨酸酶活性的能力。

#### 4 结语和展望

生物碱是许多植物中主要的活性成分,其良好的生物活性不仅在医药、卫生、食品中等应用广泛,在化妆品领域也占有着举足轻重的地位。苦参碱、辣椒碱、甜菜碱、茶碱等生物碱已被用作重要的化妆品原料。基于生物碱有如此大的应用价值,如何提高生物碱的提取效率和纯度,成为被关注的热点问题。目前已有报道关于生物碱提取纯化的相关文献,主要是以溶剂提取为代表的传统提取技术和以超临界流体萃取、微波辅助萃取法为代表的现代提取技术,以及运用高效液相制备色谱、高速逆流色谱等制备色谱对生物碱进行分离纯化。但是关于被纳入到已使用化妆品原料目录里的生物碱的文献报道较为分散。化妆品与人们的生活息息相关,为了保障其使用的安全有效性,建立一个关于化妆品有益生物碱的提取纯化方法十分必要。此外,在面对“成分党”的新背景下,不同生物碱成分的添加也影

响着化妆品产生的功效。因此我们更要着重于建立对不同生物碱功效的评价方法。以期对生物碱在化妆品中的应用提供参考。

#### 参考文献

- 1 Yang XS. Application of betaine in shampoo and hair care products[J]. Guangdong Chem Ind(广东化工),2020,47(5):110-111.
- 2 Ma WJ, et al. A study on the influencing factors in the hydrogenation synthesis procedure of tetrahydropiperine[J]. Clin J Chin Med(中医临床研究),2016,8(30):126-127.
- 3 Herman A, et al. Caffeine's mechanisms of action and its cosmetic use[J]. Skin Pharmacol Physiol,2013,26(1):8-14.
- 4 Zhou JR, et al. Progress in extraction and separation of effective components from natural plants[J]. J Inner Mongolia Minzu Univ: Nat Sci(内蒙古民族大学学报:自科版),2018,33(1):14-18.
- 5 Shen XJ, et al. Review on patent technology of caffeine extraction from tea leaves[J]. Mod Food(现代食品),2020(2):79-80.
- 6 Chen WJ, et al. Method for the extraction of caffeine from tea[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2019,47(24):174-176.
- 7 Shen XJ, et al. experimental method and improvement of extracting caffeine from tea leaves[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2019,47(23):180-182.
- 8 Wu RT, et al. Extraction of caffeine from tea[J]. Jiangxi Chem Ind(江西化工),2019(3):87-88.
- 9 Li W, et al. Advancement on extraction and isolation as well as quantitative determination of betaine[J]. Med Recapit(医学综述),2006,12:506-508.
- 10 Shi R, et al. Betaine detection method and extraction process optimization[J]. Food Ind(食品工业),2020,41(6):115-120.
- 11 Ou LT, et al. Preparation of glaucine and dehydrocorydaline from Corydalis Rhizoma[J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源),2018,37(3):24-26.
- 12 Guo CW, et al. Extraction and purification of matrine alkaloid and its antibacterial activity[J]. Guangdong Chem Ind(广东化工),2021,48(14):58-61.
- 13 Yang J. Study on extracting active componets from two kinds of natural plants with supercritical CO<sub>2</sub>[D]. Tianjin:Tianjin University(天津大学),2004.
- 14 Kultys E, et al. Green extraction of carotenoids from fruit and

- vegetable byproducts: a review [J]. *Molecules*, 2022, 27(2): 518.
- 15 Yin ZF, et al. Extraction of tea polyphenols and caffeine from black tea with supercritical CO<sub>2</sub> [J]. *J Hunan City Univ; Nat Sci (湖南城市学院学报: 自科版)*, 2012, 21(3): 56-59.
- 16 Deng CB, et al. Study on extraction technology of food capsaicin with SFC-CO<sub>2</sub> [J]. *Food Mach (食品与机械)*, 2012, 28(3): 135-138.
- 17 Liu XS, et al. Optimization of extracting process of matrine in *sophorae flavescens* radix by supercritical CO<sub>2</sub> [J]. *Mod Chin Med (中国现代中药)*, 2012, 14(11): 46-48.
- 18 Delazar A, et al. Microwave-assisted extraction in natural products isolation [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 864: 89-115.
- 19 Bagade SB, et al. Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: a review [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2021, 51(2): 138-149.
- 20 Laba CD, et al. Progress on extraction optimization and purification of matrine alkaloids [J]. *Prog Vet Med (动物医学进展)*, 2021, 42(3): 119-122.
- 21 Chen HH, et al. Pressurized microwave-assisted extraction and determination of matrine and oxymatrine extracted from *Sophora flavescens* Ait by HPLC [J]. *Mod Sci Instrum (现代科学仪器)*, 2010(2): 108-111.
- 22 Dang J, et al. Study on microwave extraction technology of betaine from *Lycium barbarum* leaves [J]. *Biotic Resour (氨基酸和生物资源)*, 2011, 33(3): 27-29.
- 23 Huang Q, et al. Methods in extraction technologies of matrine from natural products [J]. *Guangzhou Chem Ind (广州化工)*, 2016, 44(19): 6-7.
- 24 Chen J, et al. Ultrasonic extraction of matrine and oxymatrine from *Sophora flavescens* [J]. *Guangdong Chem Ind (广东化工)*, 2017, 44(5): 62-63.
- 25 Huang YX, et al. Establishment of the content determination method of betaine in *Lycium barbarum* and optimization of the extraction method [J]. *China Pharm (中国药房)*, 2020, 31: 1700-1703.
- 26 Dang J, et al. Extraction of betaine in leaf of *Lycium barbarum* [J]. *Chin J Spectrosc Lab (光谱实验室)*, 2011, 28: 2194-2197.
- 27 Chuichulcherm S, et al. Optimization of capsaicin purification from *Capsicum frutescens* Linn. with column chromatography using taguchi design [J]. *Ind Crops Prod*, 2013, 44: 473-479.
- 28 Ouyang J, et al. Circulating extraction of polysaccharides and betaine from *Cistanche deserticola* enhanced with ultrasonic wave [J]. *Chin J Process Eng (过程工程学报)*, 2003, 3: 227-230.
- 29 Jia YX, et al. Using ultrasonic wave method to extract caffeine from lingyun pekoe tea [J]. *J Youjiang Med Univ Natl (右江民族医学院学报)*, 2019, 41(1): 34-36.
- 30 Yu LL, et al. Application of preparative high performance liquid chromatography in the isolation of natural medicines [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊)*, 2009, 27: 1465-1467.
- 31 Latif Z, et al. Isolation of natural products by preparative high performance liquid chromatography (prep-HPLC) [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 864: 255-274.
- 32 Chen YY, et al. Application of high performance preparative chromatography to the separation of natural products [J]. *Prog Pharm Sci (药学进展)*, 2010, 34(8): 337-343.
- 33 Li L, et al. High-speed countercurrent chromatography as an efficient technique for large separation of plant polyphenols: a review [J]. *Food Res Int*, 2022, 153: 110956.
- 34 Ai XZ, et al. Separation and purification of capsaicin by reversed-phase preparative liquid chromatography [J]. *J Chem Eng Chin Univ (高校化学工程学报)*, 2008, 22: 774-778.
- 35 Dong XR, et al. Preparation of three capsaicinoid components using preparative high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr (色谱)*, 2008, 26: 366-369.
- 36 Yuan LM, et al. Separation of alkaloids from the root of *Sophora flavescens* Ait by high-speed countercurrent chromatography [J]. *Trans Beijing Inst Technol (北京理工大学学报)*, 1997, 17: 244-247.
- 37 Wang X, et al. Preparative separation and purification of piperine from *Piper nigrum* Linn. by high-speed counter-current chromatography [J]. *Chem Ind For Prod (林产化学与工业)*, 2008, 28(1): 6-10.
- 38 Chen C, et al. Advance of pharmacological studies on nuciferine [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med (南京中医药大学学报)*, 2021, 37: 619-624.
- 39 Liu JJ, et al. Isolation and purification of nuciferine by preparative HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2006, 37(1): 55-57.
- 40 Jiang WZ, et al. Separation of dehydrocavidine from *Corydalis saxicola* by preparative chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2006, 37: 1017-1019.
- 41 Munteanu IG, et al. Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7): 3380.
- 42 Nwachukwu ID, et al. A concise review of current *in vitro*

- chemical and cell-based antioxidant assay methods[J]. *Molecules*,2021,26(16):4865.
- 43 Wang H, et al. The method of ABTS assay for screening and evaluating antioxidant [J]. *Guangzhou Chem Ind (广州化工)*,2012,40(22):41-43.
- 44 Liu ZD, et al. Methods to determine antioxidative activity [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*,2008,20:563-567.
- 45 Zhao CM. Screening of tyrosinase inhibitors and the preliminary research on the antioxidant and tyrosinase inhibition activities of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim [D]. Lanzhou; Lanzhou University of Technology (兰州理工大学),2014.
- 46 Reyanggu ABL, et al. Evaluation of antioxidant activity of total alkaloids from different varieties of pomegranate seeds [J]. *Guangdong Chem Ind (广东化工)*,2021,48(14):14-15.
- 47 Wang M, et al. Antioxidant effect of capsaicin monomer, dihydrocapsaicin monomer, and nordihydrocapsaicin monomer [J]. *Chem Bioeng(化学与生物工程)*,2019,36(2):8-11.
- 48 Tao H, et al. Optimization of molecular distillation separation conditions for capsicum oleoresin by response surface methodology and antioxidant activity of its separated components [J]. *Food Sci(食品科学)*,2013,34(20):87-93.
- 49 Duan FE, et al. Synergistic antioxidant effect of capsaicin with quercetin or rutin [J]. *Food Sci Technol(食品科技)*,2019,44(10):294-299.
- 50 Wang Y, et al. Ultrasonic assisted extraction technology and its antioxidant and tyrosinase inhibition activities of the alkaloid from *Zanthoxylum bungeanum* [J]. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)*,2014,35(20):303-307.
- 
- (上接第 171 页)
- 27 Zhang XQ, et al. C-Phycocyanin elicited antitumor efficacy via cell-cycle arrest, apoptosis induction, and invasion inhibition in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Recept Signal Transduct Res*,2019,39(2):114-121.
- 28 Stuelten CH, et al. Cell motility in cancer invasion and metastasis; insights from simple model organisms [J]. *Nat Rev Cancer*,2018,18(5):296-312.
- 29 Dorudi S, et al. Mechanisms underlying invasion and metastasis [J]. *Curr Opin Oncol*,1993,5(1):130-135.
- 30 Hanahan D. Hallmarks of cancer; the next generation [J]. *Cell*,2011,144:646-674.