

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2015.04.028

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取霉酚酸解析 过程参数的响应面法优化<sup>①</sup>

邓 君, 程 波, 夏胜男

西南大学药学院, 重庆 400716

**摘要:** 采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取霉酚酸, 通过调节分离釜 I 的压力和温度, 增加萃取物的解析选择性, 提高分离釜 I 中解析物的霉酚酸纯度. 采用 2 因素 5 水平的星点设计试验, 考察了分离釜 I 的压力和温度对萃取物的霉酚酸含量 (C<sub>MPA</sub>) 和霉酚酸萃取回收率 (RR) 的影响; 响应面分析显示, RR 与分离釜 I 的压力和温度符合二次模型, 压力的一次项和二次项均对 RR 有极显著影响, 温度的一次项也对 RR 有较显著影响; 而 C<sub>MPA</sub> 与分离釜 I 的压力和温度符合线性方程, 压力对 C<sub>MPA</sub> 有极显著影响. 根据拟合方程预测分离釜 I 的最佳压力和温度, 综合考虑 RR 和 C<sub>MPA</sub>, 确定为 14.69 MPa 和 69.99 °C. 验证实验中设定分离釜 I 的压力为 14.5 MPa、温度为 70 °C, RR 为 (91.57 ± 1.31)%, C<sub>MPA</sub> 为 (77.50 ± 1.03)%, 与预测值 90.96% 和 76.49% 接近.

**关键词:** 霉酚酸; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 解析压力; 解析温度; 响应面分析

**中图分类号:** R979.5; TQ465

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2015)04-0170-07

霉酚酸 (Mycophenolic acid, MPA) 又称麦考酚酸, 是次黄嘌呤单核苷酸脱氢酶的竞争性抑制剂, 可高效抑制 T 细胞和 B 细胞生长, 从而抑制免疫反应<sup>[1]</sup>; 故被用于器官移植手术——包括肾移植、肝移植、心脏移植、肺移植等, 以抑制器官受体的免疫排斥反应<sup>[2]</sup>. MPA 代替硫唑嘌呤成为三联疗法的组成药物, 使移植肾的 1 年存活率从原来的 80% 左右提高到约 90%, 并降低了术后感染率, 心脏毒性、肝毒性和肾毒性均低于硫唑嘌呤<sup>[3]</sup>. MPA 还被越来越多地用做免疫介导疾病——如免疫球蛋白 A 型肾病、小血管脉管炎、牛皮癣等的非甾体药治疗<sup>[4]</sup>. MPA 用于红斑狼疮性肾炎的控制和维持治疗, 不论是疗效还是副反应, 表现都优于大剂量的环磷酰胺<sup>[4-5]</sup>. 故 MPA 的临床应用越来越广泛.

为了提高口服生物利用度, MPA 被衍生化为前药以供临床应用, 如 Roche 公司推出其吗啉乙醇衍生物吗替霉酚酸酯 (商品名: 骁悉, Cellcept), Novartis 公司生产的霉酚酸钠 (Myfortic).

目前, MPA 均采用微生物发酵生产, 发酵单位一般超过 10 000 μg/mL, 故提取纯化工艺较简单. 但迄今报道的 MPA 提取收率均不超过 70%<sup>[6-8]</sup>. 不论采用何种提取工艺路径, MPA 提取纯化的最后工序均为结晶, 但该步骤的 MPA 回收率一般只有 75%, 还有约 25% 的 MPA 留在母液中. 而结晶母液因含有大量脂溶性杂质而难以回收, 一般都在回收溶剂后作为“三废”予以处理, 造成极大的浪费. 所以, 采用简单低耗的方法使 MPA 和脂溶性杂质分离, 将有效降低 MPA 的提取成本.

本项目组研究了 MPA 的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺, 并采用响应面分析法优化了工艺参数, 确定最佳工艺

① 收稿日期: 2014-06-04

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项“原料药的技术升级和再创新”(2011ZX09203-001-11).

作者简介: 邓 君(1971-), 女, 四川新都人, 理学博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事天然产物研究.

参数为:用 95%乙醇为夹带剂,萃取压力 20 MPa、萃取温度 40 °C、萃取 150 min<sup>[9]</sup>. 在前期实验中发现,当分离釜 I、II 的压力、温度配合适当,在分离釜 I、II 中均有萃取物析出,且分离釜 I 中萃取物的 MPA 含量高于分离釜 II 中的萃取物. 故我们推测,可通过调节分离釜 I、II 的压力、温度,提高萃取物从 CO<sub>2</sub> 中解析的选择性,降低萃取物中低极性杂质的含量.

## 1 仪器与试剂

XMJ1/500-UB 型增强聚丙烯厢式压滤机(杭州贝特过滤机有限公司); LC2010A/C 液相色谱仪, LC-20AT 输液泵, SPD-20AV 检测器, CTO-10A svp 柱温箱, Class-VP 色谱工作站, AU Y120 分析天平(日本岛津公司); HA100-50-0.5 型超临界萃取装置(瑞安市飞宇机械厂).

霉酚酸对照品, 纯度 99.8%(美国 Sigma 试剂公司); 乙腈(LC, Fisher 试剂公司); 超纯水(本实验室自制); 浓盐酸(AR); 磷酸(AR); 95%乙醇(医用级); 硅藻土; CO<sub>2</sub>, 工业级瓶装气; 微孔滤膜.

## 2 实验方法

### 2.1 发酵液预处理

取菌丝浓度为 40%~45%、残糖(还原糖)含量≤1%的发酵液(由北大国际医院集团重庆大新药业股份有限公司提供), 用 2 M HCl 调 pH 值为 3.0~3.5, 边加边搅拌, 加入 2%左右硅藻土, 搅拌 30 min 后, 用板框压滤, 弃滤液, 收集湿菌丝.

湿菌丝采用 100~120 °C 气流干燥至含水量 20%~30%.

### 2.2 MPA 的 HPLC 含量测定方法

色谱条件: 色谱柱为 Phenomenex C18(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈/0.05%磷酸=45/55; 检测波长 249 nm; 流速为 1 mL/min; 柱温为室温. 理论塔板数按 MPA 计算不低于 4 000, MPA 与相邻峰的分度度≥1.5. MPA 的保留时间为 6.5 min 左右.

采用外标工作曲线法定量 MPA.

工作曲线绘制: 精密称取 MPA 对照品, 用甲醇配成 1 000 μg/mL 的对照品母液, 再用甲醇稀释成质量浓度分别为 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 μg/mL 的对照品溶液, 分别进样 10 μL, 记录色谱峰面积. 以溶液质量浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标, 绘制工作曲线, 对工作曲线进行线性拟合, 求取线性方程.

样品溶液制备: ① 精密称取待提干燥菌丝 1 g 左右, 加入甲醇 10 mL, 测定质量, 超声提取 15 min 后, 用甲醇补足原质量, 混匀后取 1 mL, 用甲醇稀释 10 倍, 混匀后过微孔滤膜, 取续滤液 10 μL 进样分析. ② 精密称取提取物 10 mg, 用甲醇 10 mL 溶解混匀, 微孔滤膜过滤后, 取续滤液 10 μL 进样分析.

将样品溶液分析所得 MPA 色谱峰面积带入线性方程, 计算样品溶液的 MPA 质量浓度; 再乘以稀释倍数, 计算样品的 MPA 质量浓度.

### 2.3 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取 MPA

称取约 300 g 干燥菌丝, 放入萃取釜(0.5 L). 固定的工艺条件为: CO<sub>2</sub> 流速, 10 L/min(存储罐出口压力 5~6 MPa, 温度 25~30 °C); 以 95%乙醇为夹带剂, 流速 2 mL/min; 萃取压力, 20 MPa; 萃取温度, 40 °C. 对于萃取物的解析, 本文采用降压升温法.

鉴于 MPA 的分子量较大, 且具有强极性官能团羧基和酚羟基, 性质与 CO<sub>2</sub> 相差甚远, 推测其在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度极低. 在预实验中发现, 不加夹带剂而用纯超临界 CO<sub>2</sub> 萃取 MPA, 即使升高萃取压力至 40 MPa, 萃取温度 70 °C, 萃取 3 h, MPA 的萃取回收率均低于 30%, 证实了 MPA 在超临界 CO<sub>2</sub> 中溶解度低的推测. 进一步推断, MPA 在气态的 CO<sub>2</sub> 中几乎不溶, 即当压力低于临界压力(7.4 MPa)时, 萃取出的 MPA 将全部与溶剂 CO<sub>2</sub> 相分离. 故在设置分离釜 II 的压力时, 兼顾 CO<sub>2</sub> 的循环利用, 为降低能耗,

使其与钢瓶压力相当,即5~6 MPa,以保证萃取出的MPA能全部解析出来。

分别收集分离釜I和分离釜II的析出物。分离釜I中的析出物含乙醇,减压蒸干,称质量(W-I),测定MPA质量浓度( $C_{\text{MPA-I}}$ )。用乙酸乙酯冲洗分离釜II的内表面,洗涤液回收乙酸乙酯至干,称质量(W-II),测定MPA质量浓度( $C_{\text{MPA-II}}$ )。

采用单因素试验,考察分离釜II的温度对MPA总萃取回收率( $RR_t$ )的影响。分离釜I的压力设为7 MPa,温度与萃取温度相同,为40℃。

$$RR_t = \frac{(W-I)(C_{\text{MPA-I}}) + (W-II)(C_{\text{MPA-II}})}{\text{投料菌丝质量} \times \text{菌丝MPA质量浓度}} \times 100\%$$

确定了分离釜II的压力和温度后,采用响应面优化法,考察分离釜I的压力和温度对萃取物选择性析出MPA的影响。以分离釜I中收集的解析物作为提取终产品,测定质量(W),测定其中的MPA质量浓度( $C_{\text{MPA}}$ ),计算MPA的提取回收率( $RR$ )。

$$RR = \frac{W \cdot C_{\text{MPA}}}{\text{投料菌丝质量} \times \text{菌丝MPA质量浓度}} \times 100\%$$

采用Design Expert 7.0软件进行星点设计并分析数据。二考察因素均设置5水平,分别用0、±1、±1.414表示。考察因素及水平见表1;试验设计见表2,以 $RR$ 和 $C_{\text{MPA}}$ 为响应值。

表1 响应面分析因素及水平

分析因素	代码	水平				
		-1.414	-1	0	+1	+1.414
分离釜I的压力	X1	8	9.5	13	16.5	18
分离釜I的温度	X2	40	44	55	66	70

## 3 结果与分析

### 3.1 MPA的HPLC定量

MPA的定量采用外标工作曲线法,对工作曲线进行线性拟合,得回归方程:

$$Y = 2.146 C + 0.8035$$

Y,峰面积;C,MPA的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$ ;  $r^2 = 0.9998$ ,  $p < 0.001$ ,线性范围:100~1000  $\mu\text{g/mL}$ 。

取某批发酵菌丝干燥品,测得其中MPA质量浓度为 $86.35 \pm 3.72 \text{ mg/g}$  ( $n=3$ )。

以该菌丝为原料进行下述的超临界CO<sub>2</sub>提取工艺考察。

### 3.2 分离釜II的温度对 $RR_t$ 的影响

单因素试验结果(图1)显示,当分离釜II的压力为5~6 MPa时,不论其温度是多少,对 $RR_t$ 都无显著影响。且分离釜II的收集物中检测不到MPA,表明MPA在分离釜I中几乎全部解析,即7.4 MPa以下的解析压力(分离釜I中压力为7 MPa)能使MPA与气态CO<sub>2</sub>完全分离,验证了我们对MPA几乎不溶于气态CO<sub>2</sub>的推断。

### 3.3 响应面法优化分离釜I的压力和温度

采用星点设计试验优化分离釜I的压力和温度,进行了2因素5水平共13次试验,以 $RR$ 和 $C_{\text{MPA}}$ 为响应值,结果如表2所示。

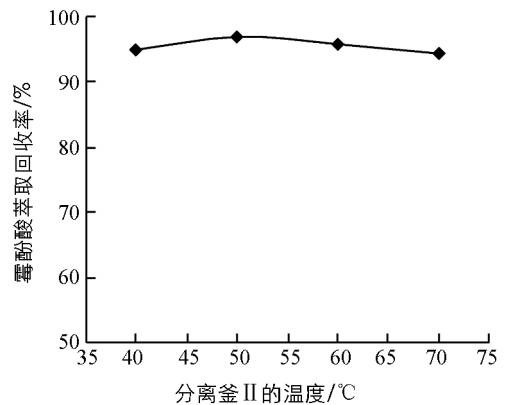


图1 分离釜II的温度对霉酚酸的超临界CO<sub>2</sub>萃取回收率的影响

表 2 星点设计-响应面法试验安排及结果

试验	$X_1$ / MPa	$X_2$ / °C	$W$ / g	$C_{MPA}$ / %	$RR$ / %	$W-II$ / g	$C_{MPA-II}$ / %
1	-1	-1	34.34	71.48	94.75	0.63	—
2	+1	-1	28.22	78.11	85.08	6.56	5.21
3	-1	+1	34.38	72.07	95.64	—	—
4	+1	+1	28.91	77.34	86.31	5.15	5.87
5	-1.414	0	34.66	71.92	96.23	—	—
6	+1.414	0	25.83	82.26	82.03	9.04	5.64
7	0	-1.414	30.95	76.55	91.46	4.28	2.53
8	0	+1.414	32.11	75.13	93.12	2.58	1.03
9	0	0	31.61	75.89	92.59	3.07	2.15
10	0	0	31.91	74.72	92.05	2.14	2.09
11	0	0	31.42	75.40	91.44	2.88	1.31
12	0	0	31.57	76.54	93.27	2.29	1.88
13	0	0	31.33	76.01	91.93	2.61	2.13

注:  $W$ , 提取物质量(分离釜 I 中收集物);  $C_{MPA}$ , 提取物的 MPA 质量浓度;  $RR$ , MPA 的提取回收率;  $W-II$ , 分离釜 II 中收集物质量;  $C_{MPA-II}$ , 分离釜 II 中收集物的 MPA 质量浓度。

对试验结果进行多元回归拟合, 得  $RR$  与分离釜 I 的压力和温度相关的二次响应面模型:

$$RR = 92.0437 + 0.6554 X_1 + 4.6535 \times 10^{-2} X_2 + 1.1333 \times 10^{-3} X_1 X_2 - 6.5186 \times 10^{-2} X_1^2 - 2.1851 \times 10^{-4} X_2^2$$

而  $C_{MPA}$  与分离釜 I 的压力和温度的关联模型为一次方程:

$$C_{MPA} = 68.0301 + 0.6631 X_1 - 1.8235 \times 10^{-2} X_2$$

方差分析结果(表 3 和表 4)显示, 所得两个模型的  $p$  值均  $< 0.0001$ , 表明它们均能高度拟合分离釜 I 中压力和温度对  $RR$ 、 $C_{MPA}$  的影响。该二模型的  $r^2$  分别为 0.9895 和 0.8879, 表明  $RR$  和  $C_{MPA}$  与分离釜 I 的压力和温度有良好和较好的相关性。两个方程的失拟项的  $p$  值分别为 0.8913 和 0.1351, 即失拟项相对于纯误差而言不显著( $p > 0.05$ ), 表明两个模型均选择适当。

方程中各项系数绝对值的大小直接反映了各项因素对响应值的影响程度, 系数的正负反映了影响的方向。由回归方程可知, 分离釜 I 的压力不论是对  $RR$ , 还是对  $C_{MPA}$ , 影响效果都远远大于温度。

表 3 霉酚酸萃取回收率对分离釜 I 的压力和温度的响应面模型方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方差	$F$ 值	$p$ 值
Model	212.10	5	42.42	132.10	$< 0.0001$
$X_1$	190.92	1	190.92	594.56	$< 0.0001$
$X_2$	2.49	1	2.49	7.77	0.0270
$X_1 X_2$	0.029	1	0.029	0.090	0.7729
$X_1^2$	18.47	1	18.47	57.51	0.0001
$X_2^2$	0.017	1	0.017	0.052	0.8256
Residual	2.25	7	0.32		
Lack of fit	0.29	3	0.098	0.20	0.8913
Pure error	1.95	4	0.49		
Cor total	214.35	12			

注: \*,  $p < 0.05$ , 差异有统计学意义; \*\*,  $p < 0.01$ , 差异有统计学意义; \*\*\*,  $p < 0.001$ , 差异有统计学意义。

逐项对拟合方程各项系数进行显著性检验, 结果显示, 分离釜 I 的压力的一次项和二次项对  $RR$  有极显著的影响( $p \leq 0.0001$ ), 而其温度的一次项对  $RR$  也有较显著影响( $p < 0.05$ ); 分离釜 I 中解析物的  $C_{MPA}$  也受到其压力的极显著影响, 而与其温度无明显相关。

为直观描述分离釜 I 的压力和温度对  $RR$  和  $C_{MPA}$  的影响, 用 Design Expert 软件绘制了响应面曲线图 2。

表 4 萃取物的霉酚酸含量对分离釜 I 的压力和温度的响应面模型方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	p 值
Model	88.53	2	44.27	39.61	<0.000 1
X <sub>1</sub>	87.93	1	87.93	78.69	<0.000 1
X <sub>2</sub>	0.60	1	0.60	0.54	0.481 1
Residual	11.17	10	1.12		
Lack of fit	9.29	6	1.55	3.28	0.135 1
Pure error	1.89	4	0.47		
Cor total	99.71	12			

注: \*,  $p < 0.05$ , 差异有统计学意义; \*\*,  $p < 0.01$ , 差异有统计学意义; \*\*\*,  $p < 0.001$ , 差异有统计学意义。

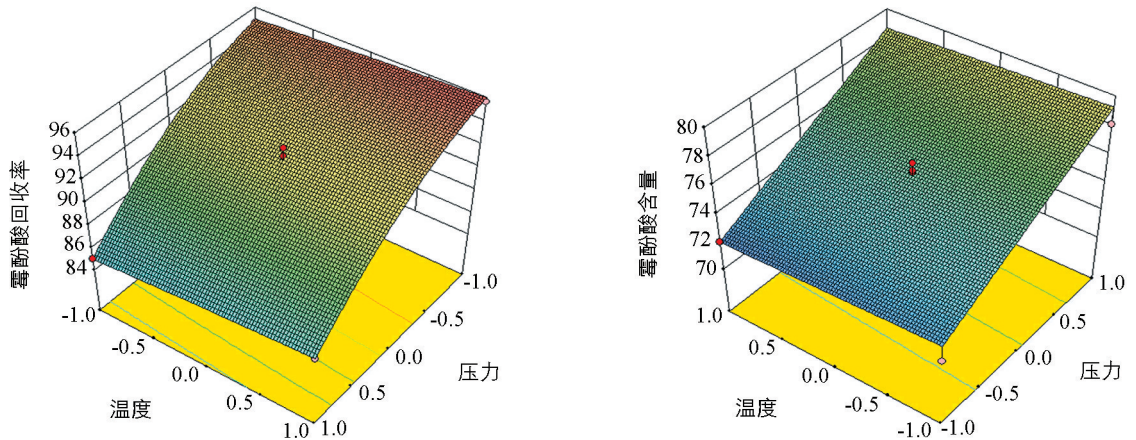


图 2 分离釜 I 的压力和温度对霉酚酸萃取回收率和萃取物中霉酚酸含量影响的响应面图

图 2 显示, 分离釜 I 的压力越高, 在其中析出的 MPA 越少, 而析出物的 MPA 质量浓度却有较大幅度的上升. 这是由于 MPA 在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度与溶剂密度呈正相关, 而相同温度下, CO<sub>2</sub> 的密度随压力增大而增加, 故当分离压力在 CO<sub>2</sub> 临界压力之上时, 压力越大, MPA 从溶剂 CO<sub>2</sub> 中析出越不充分; 所以, 随着分离釜 I 压力的升高, 从中收集到的萃取物的 MPA 回收率降低<sup>[10]</sup>. 同样, 伴随 MPA 一起萃取出来的低极性杂质在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度也与压力有很大关系, 而且很多低极性杂质在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度较 MPA 更大, 故它们在较高的分离压力下, 析出的比例较 MPA 更少; 所以, 当分离釜 I 的压力较高时, 尽管 MPA 没能完全析出, 但析出的低极性杂质更少, 更多的低极性杂质被带入分离釜 II 中, 使分离釜 I 中收集的 MPA 纯度升高.

分离釜 I 的温度降低, 也使其中析出的 MPA 减少, 但由不同温度引起的 RR 差异很小, 而且分离釜 I 的温度对  $C_{\text{MPA}}$  无显著影响. 文献报道, 温度对溶质在超临界流体中的溶解度的影响, 存在所谓的“交叉压力”现象: 当压力低于交叉压力时, 溶解度随温度的升高而降低; 当压力高于交叉压力时, 溶解度随温度的升高而增加. 这是因为温度升高有两个效应, 一是使超临界流体的密度降低, 从而降低溶质的溶解度; 二是使溶质的蒸汽压升高, 增加溶质在超临界流体中的溶解度. 当压力低于交叉压力时, 前种效应占主导地位, 故温度升高使溶质的溶解度降低; 当压力高于交叉压力时, 后种效应起主要作用, 故温度升高使溶质溶解度增加<sup>[11]</sup>. 但在本实验中, 提取过程中加入了夹带剂, 温度对 MPA 及杂质成分在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度影响较小<sup>[12]</sup>, 所以分离釜 I 取不同温度时, 在其中析出的 MPA 及杂质量差别不大, 尽管 RR 与温度有显著的相关性.

### 3.4 分离釜 I 的最佳压力和温度确定

用 MATLAB 7.5.0 软件的 fmincon 函数进行优化计算, 在考察的范围内, 当分离釜 I 的压力为 8 MPa、温度为 70 °C 时, 可使 RR 取最大值 95.94%; 预计该条件下分离釜 I 中收集物的 MPA 质量分数为 72.06%; 当分离釜 I 的压力为 18 MPa、温度为 40 °C 时, 可使  $C_{\text{MPA}}$  质量分数取最大值 79.24%; 预计该

条件下从分离釜 I 中收集的萃取物, MPA 的回收率为 85.19%。

综合考虑  $RR$  和  $C_{MPA}$ , 确定分离釜 I 的最佳压力为 14.69 MPa, 最佳温度为 69.99 °C, 根据拟合的响应面模型预测, 该条件下分离釜 I 中析出物的 MPA 萃取回收率为 90.96%, 萃取物的 MPA 质量分数为 76.49%。

### 3.5 验证试验

为检验模型预测的准确性, 采用上述优化参数开展了验证试验, 设定分离釜 I 的压力为 14.5 MPa、温度为 70 °C, 收集分离釜 I 中的析出物, 平行试验 3 次, 结果见表 5。

表 5 中数据显示, 超临界  $CO_2$  萃取 MPA, 采用两级分离, 分离釜 I 的压力 14.5 MPa、温度 70 °C 时, 分离釜 I 中收集到的析出物, MPA 质量分数可达 77.5%, MPA 的萃取回收率超过 91.5%, 与理论预测值接近。验证试验表明, 该工艺条件的提取收率稳定, 且所得产品质量稳定。

表 5 验证试验结果

	试验 1	试验 2	试验 3	平均值	RSD/%
$RR/\%$	91.82	90.16	92.74	91.57	1.43
$C_{MPA}/\%$	77.92	78.25	76.33	77.50	1.32

注:  $RR$ , MPA 的萃取回收率;  $C_{MPA}$ , 萃取物中 MPA 的质量分数。

采用超临界  $CO_2$  萃取含水量为 20%~30% 的 MPA 发酵菌丝, 用 95% 乙醇为夹带剂, 萃取压力 20 MPa、萃取温度 40 °C, 分离釜 I 的压力 14.5 MPa、温度 70 °C, 萃取 150 min 后, 从分离釜 I 中收集萃取物, 降温至 4~10 °C 静置析晶, 粗晶 A 再经一次乙醇重结晶, 所得精制 MPA 质量分数可达 99%; 分离粗晶 A 后的母液浓缩至 1/2 体积, 降温静置析晶, 滤出晶体 B; 用乙醇加热溶解 B, 与 A 的重结晶母液合并, 适当浓缩后降温静置析晶, 所得晶体再经二次乙醇重结晶, 可得质量分数不低于 99% 的精制 MPA。在结晶工序, 前后所得精制 MPA 的总回收率超过 85%。

我们之前优化了 MPA 的超临界  $CO_2$  萃取工艺, 使 MPA 的萃取回收率达到 95% 左右, 所得萃取物的 MPA 质量分数超过 70%<sup>[9]</sup>; 本文充分利用超临界流体萃取设备配置的两级分离装置, 在不增加能耗和时耗的情况下, 通过调节分离釜 I 的压力和温度, 使绝大多数萃取出的 MPA 在分离釜 I 中解析出来, 而减少低极性杂质在其中的析出量, 使更多低极性杂质进入分离釜 II 后再解析; 只收集分离釜 I 中析出的萃取物, 可提高产品的 MPA 质量分数到  $(77.50 \pm 1.03)\%$ 。虽然该解析工艺使 MPA 的提取回收率略有降低, 但纯度的提高, 尤其是除去较多低极性杂质, 使产品在结晶、重结晶工序中的回收率从原来的 75% 提高到 85%, 而且脂溶性杂质的减少也有利于母液的回收, 可进一步提高后续工序的收率。采用我们优化的超临界  $CO_2$  萃取 MPA 的工艺条件和分离条件, 加上萃取前的发酵液固液分离以及萃取后的结晶、重结晶步骤, 整个提取流程中 MPA 的总回收率计算如下:

发酵液固液分离, 回收率  $\geq 95\%$ ;

超临界  $CO_2$  萃取, 回收率  $\geq 90\%$ ;

结晶、重结晶, 回收率  $\geq 85\%$ ;

所得质量分数为 99% 的精制 MPA 的总回收率为:  $\geq 95\% \times 90\% \times 85\% = 72.675\%$ 。

该收率超过迄今文献报道的各种 MPA 提取工艺的提取回收率<sup>[6-8]</sup>。

### 参考文献:

- [1] RANSOM J T. Mechanism of Action of Mycophenolate Mofetil [J]. Therapeutic Drug Monitoring, 1995, 17(6): 681-684.
- [2] ROSSIS S EDITOR. Australian Medicines Handbook 2006 [M]. Adelaide: Australian Medicines Handbook, 2006.
- [3] 王三斌, 童 燕. 新型免疫抑制剂霉酚酸酯的作用机理及临床应用 [J]. 国外医学: 免疫学, 2001, 24(4): 30-32.
- [4] MOORE R A, DERRY S. Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Trials and Cohort Studies of Mycophen-

- nolate Mofetil in Lupus Nephritis [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2006, 8(6): R182.
- [5] D'CRUZ D P, KHAMASHTA M A, HUGHES G R. Systemic Lupus Erythematosus [J]. *Lancet*, 2007, 369(9561): 587-596.
- [6] 陈振河, 李友明, 吕阳爱, 等. 麦考酚酸发酵液采用溶媒萃取法和酸碱法的比较 [J]. *发酵科技通讯*, 2010, 39(4): 8-10.
- [7] 石磊, 蒋沁, 王素卿, 等. 大孔吸附树脂提取麦考酚酸的研究 [J]. *中国药学杂志*, 2007, 42(6): 454-457.
- [8] 张斌, 王普. 膜分离技术应用于霉酚酸生产的工艺研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(7): 98-102.
- [9] 夏胜男, 程波, 邓君. 响应面法优化超临界CO<sub>2</sub>萃取霉酚酸的工艺参数 [J]. *中国抗生素杂志*, 2014, 39(6): 422-428.
- [10] 吴红军, 聂明, 杨水平, 等. 油茶油脂的超临界CO<sub>2</sub>萃取及效果研究 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2009, 31(11): 61-66.
- [11] WANG L, YANG B, DU X, et al. Optimisation of Supercritical Fluid Extraction of Flavonoids from Pueraria Lobata [J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(2): 737-741.
- [12] POURMORTAZAVI S M, HAJIMIRSADEGHI S S. Supercritical Fluid Extraction in Plant Essential and Volatile Oil Analysis [J]. *J Chromatography A*, 2007, 1163(1-2): 2-24.

## Optimization of Pressure and Temperature in Separation Tank I in Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Mycophenolic Acid with the Response Surface Methodology

DENG Jun, CHENG Bo, XIA Sheng-nan

*School of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China*

**Abstract:** In supercritical CO<sub>2</sub> extraction of mycophenolic acid (MPA), to improve the separation selectivity of MPA in separation tank I, central composite design was used to study the effects of pressure and temperature in separation tank I on the recovery rate (RR) and the content of MPA ( $C_{\text{MPA}}$ ) collected in separation tank I. A quadratic formula was obtained by response surface analysis to describe the relationships between RR and pressure and temperature in separation tank I, and a linear formula to describe the relationships between  $C_{\text{MPA}}$  and the two independent variables. The linear term and quadratic term of pressure had highly significant effects on RR, and the linear term of temperature influenced RR significantly, too; whereas only the linear term of pressure had highly significant effect on  $C_{\text{MPA}}$ . Taking RR and  $C_{\text{MPA}}$  into account simultaneously, the optimum pressure and temperature in separation tank I were determined, according to the fitting polynomial models, to be 14.69 MPa and 69.99 °C, respectively. Three verification tests were carried out under the condition of 14.5 MPa and 70 °C in separation tank I, and the RR and  $C_{\text{MPA}}$  were  $(91.57 \pm 1.31)\%$  and  $(77.50 \pm 1.03)\%$ , respectively, which well matched the predicted values, 90.96% and 76.49%, respectively.

**Key words:** mycophenolic acid; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; separation pressure; separation temperature; response surface analysis