

doi:10.11835/j.issn.1000-582X.2015.03.022

云厚朴 SFE-CO₂ 萃取物中厚朴酚与和厚朴酚的热稳定性考察

魏泽英, 朱培芳, 孙海林, 李丽梅, 杨文标

(云南中医学院 药学院, 昆明 650500)

摘要: 温度是影响云厚朴提取物稳定性的主要因素, 本研究考察云厚朴提取物的热稳定性。采用高效液相色谱法, 测定云厚朴 SFE-CO₂ (二氧化碳超临界流体萃取) 工艺萃取物中的和厚朴酚、厚朴酚在不同温度干燥时的含量变化并得出降解规律, 干燥时降解为一级反应, 在 100 °C 降解较快。采用恒温加速实验, 得出 SFE-CO₂ 萃取液中的和厚朴酚、厚朴酚室温 25 °C 贮存期分别为 1 125.6 h 和 975.7 h。在制剂生产中, 云厚朴 SFE-CO₂ 萃取物不宜长时间贮存, 以减少有效成分损失; 由于热不稳定性, 高温干燥会导致制剂质量不稳定, 降低药效, 应在较低温度下干燥。

关键词: 厚朴酚; 和厚朴酚; 化学动力学; 高效液相色谱法; 超临界流体萃取

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1000-582X(2015)03-0155-05

The thermal stability of magnolol and honokiol in the SFE-CO₂ extract of *Magnolia rostrata*

WEI Zeying, ZHU Peifang, SUN Hailin, Li Limei, Yang Wenbiao

(Pharmacy School, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract: Temperature is the main factor that affects the stability of *magnolia rostrata* extract. The thermal stability of *magnolia rostrata* extract is studied. The contents of honokiol and magnolol in the extract obtained by CO₂-supercritical fluid extraction (SFE-CO₂) were determined by HPLC during the drying process at different temperatures, and the degradation equations of these two ingredients were explored. The degradation reactions of magnolol and honokiol in the drying process were first-order, and the rate of degradation was faster at 100 °C. Higher temperatures were selected to examine the accelerated degradation isothermally, and the shelf lives of honokiol and magnolol were found to be 1125.6 h and 975.7 h at 25 °C. In order to guarantee the preparation quality lower temperature and shorter time during drying and storage for the SFE-CO₂ extract of *magnolia rostrata* is preferable.

Key words: magnolol; honokiol; chemical kinetics; high performance liquid chromatograph; supercritical fluid extraction

中国药典收录的厚朴药材是木兰科植物厚朴 (*Magnolia officinalis* Rehd. et wils.) 或者凹叶厚朴 (*Magnolia officinalis* Rehd. et wils. var. *biloba* Rehd. et wils.) 的干燥干皮、根皮及枝皮^[1], 临床多用于治疗细菌感染、胃肠道疾病等, 现代药理学研究表明厚朴活性成分具有抗炎^[2-3]、抗氧化^[4-5]、抗肿瘤^[6-8]、抗抑

收稿日期: 2015-01-20

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金理工类重点项目 (2012Z128C)

Supported by Yunnan Provincial Education Department Scientific Research Fund Key Project of Science and Technology (2012Z128C).

作者简介: 魏泽英 (1964-), 女, 云南中医学院副教授, 主要从事化学动力学研究, (E-mail) janewei7@hotmail.com.

郁^[9]、抗内毒素^[10]及神经保护^[11]等作用,厚朴药材将会有更加广泛的用途^[12]。厚朴是国家保护药材,但近年来,由于资源紧缺,厚朴药材的采收期被大大提前,造成厚朴药材质量达不到要求。为解决厚朴药材资源不足的问题,可以从地方习用药材中寻找替代品。云厚朴为木兰科植物滇缅厚朴(*Magnolia rostrata* W. W. Smith),主产于四川、云南西北部等地。云厚朴为地方习用药材,在当地常作为厚朴替代品使用,其所含主要成分与正品中药厚朴相似,药效也相似。但有关云厚朴的研究报道不多,为了进一步开发利用云厚朴药材,有必要对其进行系统研究。

不同于传统的醇提、水提,二氧化碳超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction-CO₂, SFE-CO₂)技术在中药有限成分提取中有明显优势:提取和分离几乎同步完成,整个提取过程是在较低温度下进行,对热敏性、易氧化成分的影响小,保持了原药品质;并且提取效率高,提取时间短,有机溶剂残留少,提取物纯度高^[13]。厚朴提取物用于多种复方药,如藿香正气水、保济丸等,在贮放、干燥等生产工序中,由于酚类物质的热不稳定性,主要成分厚朴酚、和厚朴酚的氧化分解^[14]使生产出的药物制剂质量不稳定。笔者用化学动力学方法研究了贮放、干燥时云厚朴 SFE-CO₂ 萃取液的含量变化和稳定性,为药物制剂质量标准的制定提供动力学数据支撑。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪(HPLC, Agilent 1200 系列, 美国);二氧化碳超临界流体萃取装置(HA221-50-06 型, 江苏);旋转蒸发器(BUCHI-R-200, 瑞士);电子天平(Mettler Toledo AL204, 上海);电热鼓风干燥箱(DHG-9055A, 上海一恒科技);数显恒温水浴锅(HH-6, 常州国华电器)。

1.2 试药

云厚朴药材在昆明菊花村药材市场采购,由云南中医学院杨树德教授鉴定为木兰科植物滇缅厚朴(*Magnolia rostrata* W. W. Smith)的干燥干皮;和厚朴酚对照品(批号:110730-201112, 99.8%)来源于中国食品药品检定研究院,厚朴酚对照品(批号:110729-201411)来源于中国药品生物制品检定所;甲醇(色谱纯, Fisher);CO₂ 气体(昆明氧气厂, 食品级纯度 $\geq 99.9\%$);水为超纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

前期研究进行了高效液相色谱法含量测定的方法学考察,并得出回归方程,表明和厚朴酚与厚朴酚的峰面积与含量呈良好线性关系^[15]。

2.2 SFE-CO₂ 萃取液的制备

取云厚朴药材 150 g 粉碎过 10 目筛,采用二氧化碳超临界流体萃取法制备 SFE-CO₂ 萃取液。萃取条件:萃取压力 30 MPa,萃取温度 45 °C,分离压力 7 MPa,分离温度 35 °C,CO₂ 流量 20 L/h,85%乙醇夹带剂 600 mL,萃取时间 2.5 h^[16]。

2.3 干燥工序的降解动力学

干燥箱温度分别设置为 60 °C、70 °C、80 °C、90 °C、100 °C,锥形瓶精确称重,取云厚朴 SFE-CO₂ 萃取液适量稀释后,精密移取 1 mL 于锥形瓶中,挥干溶剂乙醇后,分别放入干燥箱中干燥,设置不同的干燥时间,干燥后的样品冷却至室温后,精确称重并用甲醇溶解,转移至 25 mL 容量瓶中,甲醇定容,摇匀,过滤(滤头直径 0.45 μm),得供试品溶液。HPLC 测定含量^[17]。不同实验温度设置 5 个平行样。

分析实验结果,云厚朴 SFE-CO₂ 萃取液在实验的不同干燥温度,和厚朴酚及厚朴酚干燥时的降解动力学均为一级反应,见表 1、图 1 和表 2、图 2。由不同温度的动力学方程得出 Arrhenius 方程并计算出和厚朴酚干燥工序的降解活化能为 79.66 kJ/mol,厚朴酚干燥工序的降解活化能为 73.00 kJ/mol。

表 1 和厚朴酚干燥工序回归方程及 Arrhenius 方程

Table 1 Regression and Arrhenius equations for honokiol in the drying process

温度 T/K	回归方程	r	k/h^{-1}	$t_{1/2}/h$
333	$\ln c = 3.7561 - 0.0006t$	-0.9592	0.0006	1154.4
343	$\ln c = 3.7523 - 0.0007t$	-0.9854	0.0007	991.2
353	$\ln c = 3.7538 - 0.0020t$	-0.9952	0.0020	345.6
363	$\ln c = 3.7587 - 0.0052t$	-0.9933	0.0052	134.4
373	$\ln c = 3.7612 - 0.0106t$	-0.9935	0.0106	64.8

Arrhenius 方程: $\ln k = -9581.0 \times 1/T + 21.045$, $r = -0.9783$

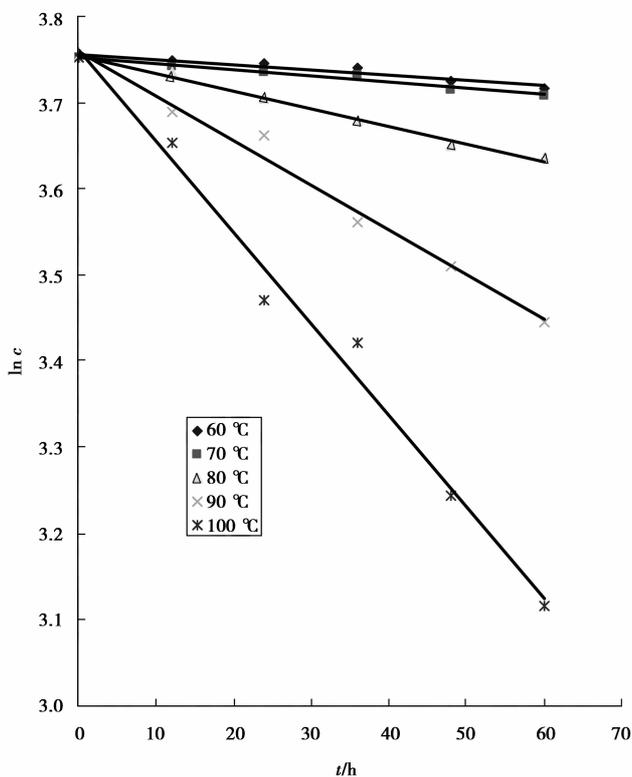


图 1 和厚朴酚干燥工序 $\ln c-t$ 图

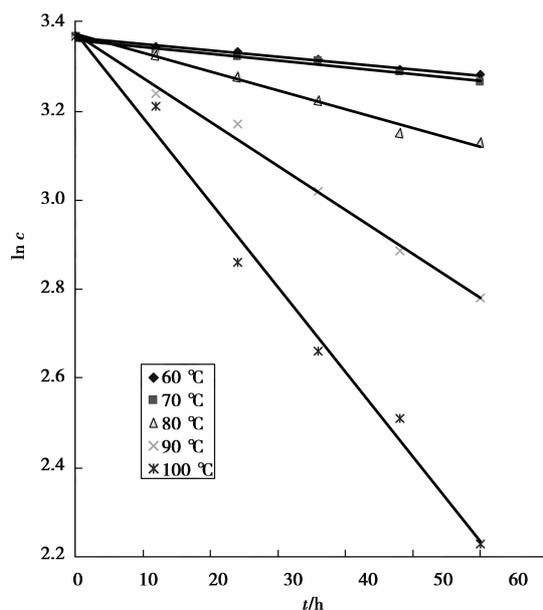
Fig.1 Dependence of concentration (c) on time (t) for honokiol in the drying process

表 2 厚朴酚干燥工序回归方程及 Arrhenius 方程

Table 2 Regression and Arrhenius equations for magnolol in the drying process

温度 T/K	回归方程	r	k/h^{-1}	$t_{1/2}/h$
333	$\ln c = 3.3644 - 0.0014t$	-0.9966	0.0014	494.4
343	$\ln c = 3.3593 - 0.0015t$	-0.9782	0.0015	463.2
353	$\ln c = 3.3735 - 0.0042t$	-0.9916	0.0042	165.6
363	$\ln c = 3.3725 - 0.0099t$	-0.9965	0.0099	69.6
373	$\ln c = 3.3764 - 0.0190t$	-0.9941	0.0190	36.0

Arrhenius 方程: $\ln k = -8780.5 \times 1/T + 19.489$, $r = -0.9740$

图2 厚朴酚干燥工序 $\ln c-t$ 图Fig.2 Dependence of concentration (c) on time (t) for magnolol in the drying process

2.4 初均速法预测云厚朴 SFE-CO₂ 萃取液的贮存期

精密量取稀释后 SFE-CO₂ 萃取液 2 mL, 灌封于安瓿中, 按表 3 所示置于不同温度的水浴中加热不同时间, 取出后迅速冷却。制备供试品溶液, HPLC 测定含量。实验设置 5 个平行组。

反应初均速法是恒温加速实验预测药物室温贮存期的常用方法。反应开始时单位时间内反应药物浓度的变化即为反应初均数。实验研究表明: Arrhenius 指数规律可用于处理温度对反应初均速的影响, 将得到的直线外推至室温 (298 K), 可以求出药物分解 10% 的时间, 即该药物的室温贮存期 ($\tau_{0.9}$)^[18]。

初均速 $v_{0,i} = \frac{c_0 - c_i}{t_i}$, 式中 c_0 为起始浓度, c_i 为 t_i 时间对应的浓度。以 $\ln v_0 - 1/T$ 进行线性回归:

1) 对 SFE-CO₂ 萃取液中的和厚朴酚, 得回归方程

$$\ln v_0 = -10\,236 \frac{1}{T} + 29.889, (r=0.990\,3),$$

$$E_{\text{和厚朴酚}} = 85.1 \text{ kJ/mol},$$

$$\tau_{0.9} = 1\,125.6 \text{ h}.$$

2) 对 SFE-CO₂ 萃取液中的厚朴酚, 得回归方程

$$\ln v_0 = -10\,088 \frac{1}{T} + 28.121, (r=0.990\,1),$$

$$E_{\text{厚朴酚}} = 83.9 \text{ kJ/mol},$$

$$\tau_{0.9} = 975.7 \text{ h}.$$

3 小结与讨论

在室内常温下存放, 云厚朴二氧化碳超临界流体萃取液中的主要成分厚朴酚与和厚朴酚均有不同程度的降解, 25 °C 下贮存期分别为 975.7 h 和 1 125.6 h, 降解反应活化能分别为 83.9 kJ/mol 和 85.1 kJ/mol, 与中药典型活化能文献值 83.6 kJ/mol 相近。云厚朴 SFE-CO₂ 萃取物在不同温度干燥时, 厚朴酚与和厚朴酚的降解动力学符合一级反应方程; 云厚朴 SFE-CO₂ 萃取物长时间高温干燥, 会导致有效成分不同程度的降解, 在 90 °C、100 °C 干燥时, 和厚朴酚的半衰期分别为 134.4 h、64.8 h, 厚朴酚的半衰期分别为 69.6 h、36.0 h。

云厚朴中的酚类属热敏性物质, 高温是致其降解的主要原因。传统醇提法, 需要在较高温度下长时间加热, 导致有效成分损失严重。SFE-CO₂ 萃取法在较低温度下进行, 且提取时间短, 萃取物较醇提物厚朴总酚

表3 恒温加速实验

Table 3 Isothermal acceleration experiment

温度 T/K	323	328	333	338	343	348	353	358	363
时间 t/h	9	8	7	6	5	4	3	2	1

含量高、质量好、纯度高,无有机溶剂残留,重金属及农药也很难萃取出来。但 SFE-CO₂ 萃取物不宜久贮,且应在较低温度下干燥,以减少有效成分损失,确保制剂质量。厚朴酚与和厚朴酚含量是中国药典规定的厚朴药材质量检测指标,除酚类物质外,云厚朴 SFE-CO₂ 萃取物中还含有多种挥发油,这些挥发油仍是云厚朴药材的活性成分,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S].一部. 北京:中国医药科技出版社,2010: 235.
The State Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China[S]. vol I. Beijing: China Medical Science Press, 2010: 235.
- [2] Fried L E, Arbiser J L. Honokiol, a multifunctional antiangiogenic and antitumor agent[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2009, 11(5): 1139-1148.
- [3] Schuhly W, Khan S I, Fischer N H. Neolignans from north American magnolia species with cyclooxygenase 2 inhibitory activity[J]. *Inflammopharmacology*, 2009, 17(2): 106-110.
- [4] ZHAO Chao, LIU Zaiqun. Comparison of antioxidant abilities of magnolol and honokiol to scavenge radicals and to protect DNA[J]. *Biochimie*, 2011, 93(10): 1755-1760.
- [5] Kim S J, Kwon D Y, Kim Y S, et al. Peroxyl radical scavenging capacity of extracts and isolated components from selected medicinal plants[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2010, 33(6): 867-873.
- [6] Lee D H, Szczepanski M J, Lee Y J. Magnolol induces apoptosis via inhibiting the EGFR/PI₃K/Akt signaling pathway in human prostate cancer cells[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2009, 106(6): 1113-1122.
- [7] Chuang T C, Hsu S C, Cheng Y T, et al. Magnolol down-regulates HER₂ gene expression, leading to inhibition of HER₂-mediated metastatic potential in ovarian cancer cells[J]. *Cancer Letters*, 2011, 311(1): 11-19.
- [8] Seo J U, Kim M H, Kim H M, et al. Anticancer potential of magnolol for lung cancer treatment[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2011, 34(4): 625-633.
- [9] Qiang L Q, Wang C P, Wang F M, et al. Combined administration of the mixture of honokiol and magnolol and ginger oil evokes antidepressant-like synergism in rats[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2009, 32(9): 1281-1292.
- [10] Tsai Y C, Cheng P Y, Kung C W, et al. Beneficial effects of magnolol in a rodent model of endotoxin shock[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2010, 641(1): 67-73.
- [11] Matsui N, Takahashi K, Takeichi M, et al. Magnolol and honokiol prevent learning and memory impairment and cholinergic deficit in SAMP8 mice[J]. *Brain Research*, 2009, 1305: 108-117.
- [12] 李平,何文妮,孙博航,等. 厚朴的提取方法及质量分析考察[J]. 沈阳药科大学学报,2009, 26(9): 736-739.
LI Ping, HE Wenni, SUN Bohang, et al. Extraction processes and quality analysis of root bark and stem bark of *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils[J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2009, 26(9): 736-739.
- [13] 李卫民. 中药现代化与超临界流体萃取技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002: 96.
LI Weimin. Traditional Chinese medicine modernization and supercritical fluid extraction technology[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2002: 96.
- [14] Su Z R, Dong T X, Lo C K, et al. Heat-induced degradation of magnolol and honokiol in supercritical fluid CO₂ extraction of Cortex *Magnolia officinalis* (Houpo)[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2002, 37(11): 870-875.
- [15] 朱培芳,孙海林,李文军,等. HPLC测定云厚朴中厚朴酚及和厚朴酚含量[J]. 光谱实验室,2013, 30(5): 2155-2159.
ZHU Peifang, SUN Hailin, LI Wenjun, et al. Determination of magnolol and honokiol in extracts of *Magnolia rostrata* W. W. Smith by HPLC simultaneously[J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*, 2013, 30(5): 2155-2159.
- [16] 邓义德,刘海周,曹玮娟,等. 云厚朴两种提取方法的比较研究[J]. 云南中医学院学报,2009, 32(2): 32-33.
DENG Yide, LIU Haizhou, CAO Weijuan, et al. Comparative study of two extraction methods for *Magnolia rostrata* [J]. *Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine*, 2009, 32(2): 32-33.
- [17] 孙海林,朱培芳,李文军,等. 云厚朴提取物中厚朴酚与和厚朴酚降解动力学研究[J]. 环球中医药,2014, 7(10): 761-765.
SUN Hailin, ZHU Peifang, LI Wenjun, et al. Study on degradation kinetics of magnolol and honokiol in the ethanol extraction of *Magnolia rostrata* [J]. *Global Traditional Chinese Journal*, 2014, 7(10): 761-765.
- [18] 庞贻慧,鲁纯素. 药物稳定性预测方法[M]. 北京:人民卫生出版社,1984: 76-80.
PANG Yihui, LU Chunsu. Predicting Methods for Pharmacy Stability[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 1984: 76-80.