

# 苍术-厚朴药对超临界萃取工艺研究及质量控制

王姿媛<sup>1\*</sup>, 何泽民<sup>2</sup>

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; 2. 广东康裕医药有限公司, 广州 510623)

**[摘要]** **目的:** 优选超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取苍术-厚朴药对的最佳工艺并对萃取物进行质量控制。**方法:** 采用正交设计法, 以得油率为指标, 考察萃取压力、萃取温度、解析压力、解析温度等因素对萃取效果的影响; 采用 HPLC 建立提取物中厚朴酚、和厚朴酚及苍术素的含量测定方法。**结果:** 最佳工艺为萃取压力 26 MPa, 萃取温度 50 °C, 解析压力 8 MPa, 解析温度 35 °C。萃取物中和厚朴酚、厚朴酚及苍术素的平均含量为 9.81%, 12.52%, 7.26%。**结论:** 所得最佳萃取工艺条件切实可行, 萃取物质量稳定可控。

**[关键词]** 苍术-厚朴; 超临界二氧化碳提取; 正交设计

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0155-04

## Extraction Technology Optimization of Cangzhu and Houpu Compatibility by SFE-CO<sub>2</sub> and Quality Control

WANG Zi-yuan<sup>1\*</sup>, HE Ze-min<sup>2</sup>

(1. First Affiliated Hospital Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;  
2. Gangdong Kangyu Pharmaceuticals Corporation, Guangzhou 510623, China)

**[Abstract]** **Objective:** To choose the optimal extraction conditions of Rhizoma Atractylodis and Cortex Magnoliae Officinalis compatibility by supercritical CO<sub>2</sub> and control the quality of the extract. **Method:** The orthogonal design experiments were used to choose the optimal conditions and the factors were extraction temperature, extraction pressure, resolution temperature and resolution pressure. The extraction rate was used as inspection index. The assaying by HPLC was established. **Result:** The optimal conditions were as follows: extraction temperature at 50 °C, extraction pressure of 26 MPa, resolution temperature of 35 °C, resolution pressure of 8 MPa. The average content of honokiol, magnolol and atisine chloride atractyadin was 9.81%, 12.52%, 7.26%. **Conclusion:** The method of supercritical CO<sub>2</sub> extraction is reliable and feasible; it can be used in industry. The

**[收稿日期]** 20120617(010)

**[基金项目]** 广州中医药大学创新基金项目(08CX45)

**[通讯作者]** \* 王姿媛, 副主任药师, 从事医院药学研究, Tel: 020-33398088, E-mail: wzyuan2004@163.com

果选择以 50% 甲醇作溶剂的超声提取方法。

比较了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1% 冰醋酸等 3 种流动相系统, 结果以甲醇-水作为流动相效果较好, 保留时间适当, 主峰与其他杂质峰能较好分离。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 593.
- [2] 黄雯, 苏子仁, 毕文川, 等. HPLC 法测定女贞子药材中女贞苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29

(5): 824.

- [3] 靳晓明, 董琳, 范峰, 等. 女贞子化学成分与药理作用的研究进展[J]. 中医药信息, 2008, 25(1): 40.
- [4] 章光文, 周国平, 杨香菊, 等. HPLC 法同时测定山香圆片中女贞苷和野漆树苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 912.
- [5] 张学兰, 候杰, 李慧芬, 等. 炮制对女贞子中特女贞苷含量的影响[J]. 中药材, 2009, 32(4): 498.

[责任编辑 顾雪竹]

quality of extract is stable and controlled.

[Key words] Rhizoma Atractylodis and Cortex Maguoliae Officinalis compatibility; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; orthogonal design

苍术、厚朴均可苦温化湿,苍术苦温性燥主升,善除湿运脾。厚朴苦温辛散主降,可温中下气、化湿除满。苍术燥湿走表,表湿用苍术,厚朴行气走里,里湿用厚朴,表里俱湿,则两味同用。苍术-厚朴药对为伍,可升脾气,降胃气,化湿浊,健脾胃。目前,对苍术、厚朴单味药材的超临界提取研究报道较多<sup>[1-6]</sup>,但未见对苍术-厚朴药对进行研究的报道。我们在以苍术-厚朴药对为基础的新药研发过程中,为了更好的提取出有效成分,对影响苍术厚朴药对超临界萃取工艺的主要因素采用正交设计实验法优化,并建立了提取物的质量控制方法。

### 1 仪器与试药

HA231-50-06 型超临界萃取装置(江苏南通华安超临界实业公司),二氧化碳(99%,广州气体制造厂)。Agilent 1200 型高效液相色谱仪,配有在线脱气机、四元泵、VWD 检测器、自动进样器、Chemstations 色谱工作站。

和厚朴酚(批号 20111471)、厚朴酚(批号 20118006)购自中国药品生物制品检定所;苍术素对照品(自制,按 HPLC 面积归一化法计,不低于 98%),甲醇为色谱纯,水为双蒸水。苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylode Lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎,购于广州致信药业有限公司;厚朴为木兰科凹叶厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮,购于广州致信药业有限公司。两药材粉碎成 10 目粉后等量混合投料。

### 2 方法与结果

**2.1 超临界提取正交试验设计** 根据以往经验,影响超临界萃取的主要因素为萃取压力、萃取温度、解析 I 压力、解析 I 温度。正交设计中,固定药材投料量为 200.0 g,以萃取压力 A、萃取温度 B、解析 I 压力 C、解析 I 温度 D 为因素,设计 3 个水平,以 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验表设计,因素水平设计见表 1。

表 1 超临界萃取正交试验因素水平

水平	萃取压力 /MPa	萃取温度 /℃	解析 I 压力 /MPa	解析 I 温度 /℃
1	22	45	6	30
2	24	50	8	35
3	26	55	10	40

称取一定量的混合药材粉末,投入萃取釜,固定分离釜 II 压力为 6 MPa、温度为 30 ℃,流量为 24 ~ 26 L·h<sup>-1</sup>,按表 2 设定的工艺参数进行萃取,待萃取温度、压力达到设定值后开始计时,动态循环 2 h,得到棕黄色油状浸膏,称重,计算收率。

**2.2 超临界提取正交试验结果** 苍术-厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 萃取正交试验结果及方差分析见表 2,3。

表 2 苍术-厚朴超临界 CO<sub>2</sub> 萃取正交实验

实验号	A	B	C	D	得油率/%
1	1	1	1	1	1.36
2	1	2	2	2	4.28
3	1	3	3	3	1.85
4	2	1	2	3	3.23
5	2	2	3	1	4.04
6	2	3	1	2	0.84
7	3	1	3	2	3.66
8	3	2	1	3	2.27
9	3	3	2	1	3.07
K <sub>1</sub>	2.497	2.750	1.490	2.823	
K <sub>2</sub>	2.703	3.530	3.527	2.927	
K <sub>3</sub>	3.000	1.920	3.183	2.450	
R	0.503	1.610	2.037	0.477	

表 3 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	F	P
A	0.384	2	1.000	
B	3.889	2	10.128	P < 0.05
C	7.133	2	18.576	P < 0.05
D	0.377	2	0.982	
误差	0.38	2		

注: F 检验临界值 F<sub>0.05(2,2)</sub> = 19.0。

由表 2 可以看出,影响因素大小顺序为 C > B > A > D,各因素最优的组合为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即萃取压力 26 MPa、萃取温度 50 ℃、解析 I 压力 8 MPa、解析 I 温度 35 ℃。最佳萃取条件下连续萃取 3 批药材,萃取率平均值为 4.31%,RSD 2.16%。说明最佳工艺稳定可行。

### 2.3 含量测定

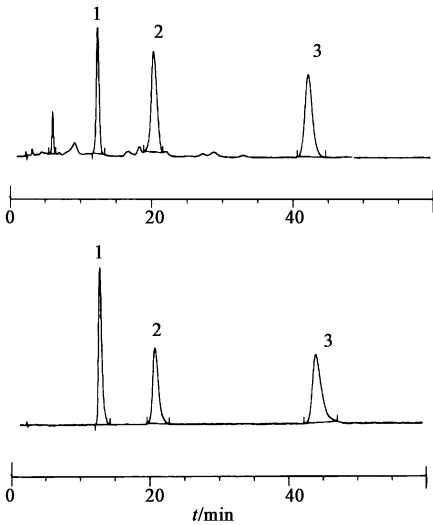
**2.3.1 色谱条件** Diamonsil<sup>TM</sup> 十八烷基键合硅胶

柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(70:30),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长294 nm,柱温30℃,进样量10 μL。

**2.3.2 对照品溶液制备** 精密称取和厚朴酚、厚朴酚及苍术素各对照品适量,加甲醇溶解,制得浓度各为1.0 g·L<sup>-1</sup>对照溶液。分别精密吸取1.0 g·L<sup>-1</sup>的各对照液2,2,1 mL,置20 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得100,100,50 mg·L<sup>-1</sup>混合对照液。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 精密称取萃取物35 mg,置50 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得。

**2.3.4 系统适应性** 取约含0.7 g·L<sup>-1</sup>样品液10 μL,注入高效液相色谱仪,按上述条件测定,和厚朴酚、厚朴酚及苍术素出峰时间分别约为12,20,43 min,待测组分前后峰分离度R均>1.5,见图1。由图1结果可以看出,在此条件下,和厚朴酚、厚朴酚及苍术素与其他相邻的峰已达到有效分离,故在此设定该系统理论塔板数以厚朴酚计不得小于2000,和厚朴酚、厚朴酚及苍术素与其他峰的分度应符合要求。

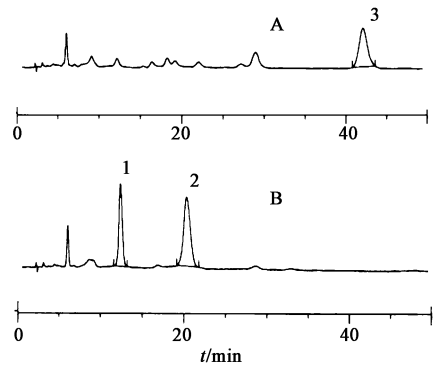


A. 样品;B. 混标对照品;1. 和厚朴酚;2. 厚朴酚;3. 苍术素

图1 苍术-厚朴药对色谱

**2.3.5 空白干扰试验** 按比例配制缺厚朴提取物的阴性空白对照及缺苍术油的阴性空白对照,照上述高效液相色谱含量测定方法测定,结果表明本品中其他成分峰对和厚朴酚、厚朴酚及苍术素测定均无明显干扰,见图2。

**2.3.6 线性关系考察** 分别精密吸取101.1, 103.2,51.6 mg·L<sup>-1</sup>的和厚朴酚、厚朴酚及苍术素混合对照品溶液2,6,10,12,16,20 μL进样。以峰面积对和厚朴酚、厚朴酚及苍术素含量回归,得下述方程:



A. 厚朴阴性;B. 苍术阴性

图2 苍术-厚朴空白色谱

和厚朴酚: $Y = 1\,471.49X + 57.66 (r = 0.999\,4)$

厚朴酚: $Y = 1\,232.96X + 10.05 (r = 0.999\,3)$

苍术素: $Y = 3\,593.53X + 1.97 (r = 0.999\,8)$

以上结果表明和厚朴酚、厚朴酚及苍术素分别在0.20~2.0,0.20~2.06,0.10~1.03 μg与峰面积呈良好线性关系。

**2.3.7 精密度试验** 分别精密吸取浓度为101.1, 103.2,51.6 mg·L<sup>-1</sup>的和厚朴酚、厚朴酚、苍术素混合对照品溶液10 μL,分别连续进样6次。峰面积RSD分别为1.58%,1.63%,1.44%,符合要求。

**2.3.8 稳定性试验** 精密称取适量的提取物,按上述条件,24 h内测定6次,计算和厚朴酚、厚朴酚及苍术素百分含量。结果表明供试品溶液24 h内较为稳定,其RSD分别为2.74%,2.52%,2.79%,符合要求。

**2.3.9 重复性试验** 取提取物,分别精确称取6份,按上述测定条件,测定其和厚朴酚、厚朴酚、苍术素的百分含量。结果待测组份平均含量分别为9.81%,16.52%,7.26%,RSD 2.86%,2.57%,2.71%。

**2.3.10 加样回收率** 精密称取6份提取物约17 mg,加入适量对照品,按上述样品溶液的制备项下处理,取10 μL进样。结果见表4~6。

表4 和厚朴酚回收率试验(n=6)

称样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
17.55	1.722	1.664	3.328	96.51	97.04	1.39
16.87	1.655	1.664	3.247	95.67		
16.77	1.645	1.664	3.302	99.58		
17.72	1.738	1.664	3.351	96.94		
17.85	1.751	1.664	3.368	97.18		
17.26	1.693	1.664	3.296	96.33		

表 5 厚朴酚回收率试验 (n = 6)

称样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
17.55	2.899	2.328	5.306	103.39	101.16	2.65
16.87	2.787	2.328	5.225	104.73		
16.77	2.770	2.328	5.108	100.43		
17.72	2.927	2.328	5.247	99.66		
17.85	2.949	2.328	5.213	97.25		
17.26	2.851	2.328	5.214	101.5		

表 6 苍术素回收率试验 (n = 6)

称样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
17.55	1.274	1.110	2.385	100.09	98.17	2.95
16.87	1.225	1.110	2.331	99.64		
16.77	1.218	1.110	2.353	102.25		
17.72	1.286	1.110	2.347	95.59		
17.85	1.296	1.110	2.366	96.40		
17.26	1.253	1.110	2.308	95.05		

结果表明,所测得的回收率均在 95% ~ 105%,符合方法学要求。

**2.3.11 样品测定** 取连续 3 批提取物,依法处理,制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液和混合对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积,外标一点法计算含量。结果见表 7。

表 7 和厚朴酚、厚朴酚及苍术素含量测定结果 %

批号	和厚朴酚	厚朴酚	苍术素
1	7.15	16.41	7.15
2	7.30	16.16	7.20
3	7.22	15.94	7.28

### 3 讨论

参考相关文献<sup>[7-10]</sup>,采用高效液相色谱法测同时定萃取物中和厚朴酚、厚朴酚和苍术素的含量,对流动相甲醇和水的比例进行了优化。在分离度符合要求的前提下尽量缩短分离时间,最终确定采用甲醇-水(70:30)作为流动相。通过对测定方法精密

度、稳定性、重复性和加样回收率考察显示,所建立的含量测定方法符合方法学要求。

通过对苍术厚朴药对有效成分提取及质量控制研究可以揭示药对作用的物质基础,进一步结合药理研究可揭示其作用机制,为以该药对为基础的药物的研发提供实验依据,同时更好的指导临床用药。另外,对于苍术-厚朴药对单味药之间的相互影响将进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 梁汉明,郭晓玲,冯毅凡. 苍术超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的质量标准研究 [J]. 广东药学院学报, 2002, 18(4):267.
- [2] 杨凌,欧阳臻,宿树兰. 茅苍术挥发油超临界萃取工艺及气质联用分析 [J]. 江苏大学学报:医学版, 2007, 17(5):393.
- [3] 赵颖,宋丹,江怀仲,等. GC-MS 联用技术分析苍术超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物成分 [J]. 中成药, 2008, 30(12):1819.
- [4] 芮雯,郭晓玲,冯毅凡,等. 厚朴超临界提取物大鼠体内化学成分的上层液/TOF-MS 分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6):649.
- [5] 李卫民,牛志强,王治平,等. 超声强化超临界提取厚朴酚与和厚朴酚的工艺研究 [J]. 中草药, 2011, 42(4):680.
- [6] 苏子仁,雷正杰,曾健青,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取在厚朴提取工艺中的应用研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(1):31.
- [7] 李慧,陈宝田,刘莉,等. HPLC 法测定抱龙丸中厚朴酚及和厚朴酚的含量 [J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(6):808.
- [8] 王琰. HPLC 测定二妙丸中苍术素 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24):65.
- [9] 艾路,邱落,杜箐,等. 高效液相色谱法测定调胃舒肝丸中厚朴酚、和厚朴酚的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14):87.
- [10] 冯华,王祥培,聂明华,等. HPLC 测定半夏厚朴汤不同煎液中厚朴酚 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10):82.

[责任编辑 顾雪竹]