

[15] 阿孜古丽·阿里木, 王启文, 刘 阳, 等. 高效液相色谱结合 Box-Behnken 响应面法优选新疆鼠尾草根萜类成分提取纯化工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(8): 855-862.

[16] 陶彩霞, 肖锬钰, 涂济源, 等. Box-Behnken 响应面法优化姜半夏产地加工炮制一体化工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(19): 2002-2007.

[17] Hamed Y S, Abdin M, Akhtar H M S, et al. Extraction, purification by macrospores resin and *in vitro* antioxidant activity of flavonoids from *Moringa oliefera* leaves[J]. *S Afr J Bot*, 2019, 124: 270-279.

[18] 李淑芳, 王淑美, 梁生旺, 等. AB-8 大孔吸附树脂纯化双黄连中金银花、连翘提取物工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 4-7.

[19] 于鹤云, 刘汉清, 刘 嘉, 等. D-101 型大孔吸附树脂纯化黄蜀葵花总黄酮的工艺研究[J]. 中成药, 2014, 36(3): 520-525.

[20] 栗 敏, 汤 婷, 唐玮蔚, 等. 大孔树脂富集纯化黄蜀葵花总黄酮的工艺研究[J]. 中药材, 2017, 40(6): 1402-1405.

[21] 马小琴, 王晓敏, 周 凡. 大孔吸附树脂法分离纯化葡萄籽中原花青素[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(16): 54-57.

厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的超临界 CO₂ 提取工艺优化

黄红琴¹, 冉小青¹, 杨 欢², 谈文林³, 陈 坤¹, 李 敏^{1*}
(1. 达州中医药职业学院, 四川 达州 635000; 2. 重庆市粮油质量监督检验站, 重庆 400026; 3. 达州职业技术学院, 四川 达州 635000)

摘要: **目的** 优化厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的超临界 CO₂ 提取工艺。**方法** 在单因素试验基础上, 设计四因素三水平 L₉ (3⁴) 正交试验, 根据极差比较分析, 得到最优提取实验条件。**结果** 最佳实验条件为萃取温度 50 ℃, 萃取压力 35 MPa, 萃取时间 3 h, 料液比 10 : 14。厚朴酚、和厚朴酚平均萃取率分别为 1.47%、2.63%, RSD 分别为 1.42%、1.74%。**结论** 该方法可用于厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的大量提取。

关键词: 厚朴; 厚朴酚; 和厚朴酚; 超临界 CO₂ 提取工艺; 正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)05-1636-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.036

厚朴为木兰科植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 或凹叶厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮、根皮及枝皮^[1-2], 主产于四川、重庆、湖北和浙江^[3]。据《本草纲目》记载, 厚朴味苦辛、性温, 具有行气化湿、温中止痛、降逆平喘的功效^[4-6], 主要活性成分为木脂素类厚朴酚与和厚朴酚^[7-8], 两者互为同分异构体。2015 年版《中国药典》规定, 厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的含量不得少于 2.0%^[9]。厚朴酚具有较强的抗氧化活性, 同时具有抗菌、抑制血小板凝集和抗肿瘤等作用^[10-12]。和厚朴酚具有抗焦虑活性, 同时对肿瘤细胞有很好的疗效, 可抑制癌细胞生长, 并诱导癌细胞凋亡^[13-15]。因此, 对厚朴中的厚朴酚与和厚朴酚进行提取研究, 具有重要的应用前景。

目前, 厚朴酚与和厚朴酚的提取方法主要有溶剂浸提法、索氏提取法、超声提取法、微波提取法等^[16-19], 但存在提取时间长、提取温度高、厚朴酚与和厚朴酚容易氧化

变质、提取效率低等缺点。超临界 CO₂ 萃取技术作为一种新型天然产物提取技术, 适合含有酚羟基等易氧化、热敏性物质的萃取分离^[20-22]。本研究采用超临界 CO₂ 提取厚朴中的厚朴酚与和厚朴酚, 正交试验获得最优提取工艺, 为两者提取及进一步深入研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器 SFE-650M 超临界萃取仪 [适安佳 (北京) 生物科技有限公司]; LC-20AT 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); RE-5299 旋转蒸发器 (上海耀特仪器设备有限公司); SHZ-D (Ⅲ) 循环水真空泵 (郑州华辰仪器有限公司); AB135-S 电子分析天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; BZF-30 真空干燥箱 (上海博迅医疗生物仪器股份有限公司); BJ-2500A 拜杰多功能粉碎机 (浙江德清拜杰电器有限公司)。

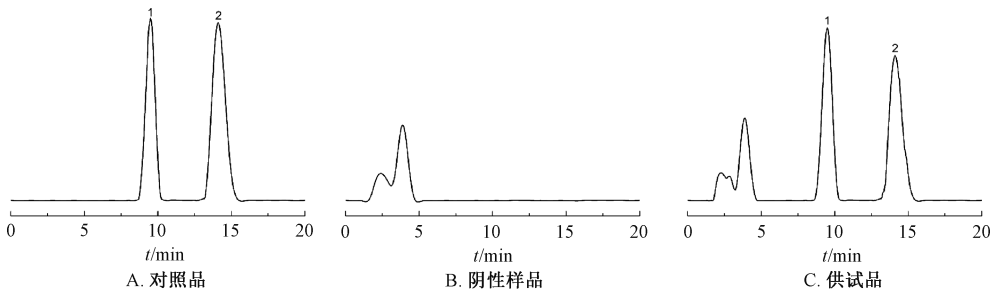
1.2 试剂与药物 厚朴 (四川省龙森中药业有限公司) 经达州中医药职业学院唐荣伟教授鉴定为正品。厚朴酚、

收稿日期: 2023-12-14
基金项目: 四川省科技厅应用基础研究项目 (2019YJ0307); 达州市科技局应用基础研究项目 (21YYJC0005)
作者简介: 黄红琴 (1987—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为天然产物分析与检测。Tel: (0818) 3319955, E-mail: 757738145@qq.com
* 通信作者: 李 敏 (1978—), 女, 硕士, 教授, 研究方向为天然药物化学。Tel: (0818) 7232166, E-mail: liminh7812@163.com

和厚朴酚对照品（上海阿拉丁生化科技股份有限公司）。
甲醇为色谱纯（美国 Tedia 公司）；其他试剂均为分析纯；
水为超纯水。

2 方法

2.1 超临界 CO₂ 提取 将药材于 45 ℃ 真空干燥箱中恒温
干燥 24 h，粉碎，过 60 目筛，得到细粉，准确称取 100 g，
添加少量甲醇作为夹带剂，采用超临界 CO₂ 进行萃取，合
并提取液，过滤，滤液定容至 500 mL，采用 HPLC 法检测
厚朴酚、和厚朴酚的含量，计算提取率。



1. 和厚朴酚 2. 厚朴酚

图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.3 标准曲线 称取厚朴酚、和厚朴酚对照品各 0.020 0 g，
加入少量甲醇溶解，定容至 100 mL，使两者质量浓度均为
0.2 mg/mL，得到贮备液，分别吸取 0.5、2.0、4.0、6.0、
8.0、10.0 mL，甲醇定容至 25 mL，得到不同质量浓度的对
照品溶液。以质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标
（Y）进行回归，得厚朴酚方程为 $Y = 3\,942.610\,2X + 8.810\,5$
（ $r = 0.999\,9$ ），和厚朴酚方程为 $Y = 4\,252.052\,7X + 4.474\,9$
（ $r = 0.999\,8$ ），在 0.004 ~ 0.080 mg/mL 范围内线性关系
良好。

2.4 单因素试验 超临界 CO₂ 提取效率主要受温度、压
力、时间和料液比的影响，同时原料颗粒大小和夹带剂种
类、用量也会产生一定的影响。根据厚朴中厚朴酚与和厚
朴酚的化学结构及其高温容易分解的性能，选择萃取温度、
萃取压力、萃取时间和料液比为影响因素，厚朴酚、和厚
朴酚萃取率为评价指标，进行单因素试验。

2.5 正交试验 参照单因素试验确定的萃取温度（A）、萃
取压力（B）、萃取时间（C）和料液比（D），设计四因素
三水平 L₉（3⁴）正交试验，具体见表 1。

表 1 因素水平

水平	因素			
	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 萃取时间/h	D 料液比
1	45	30	2.0	10 : 10
2	50	35	2.5	10 : 12
3	55	40	3.0	10 : 14

3 结果

3.1 单因素试验

3.1.1 萃取温度 固定萃取压力 30 MPa、萃取时间 2.0 h
和料液比 10 : 10，考察不同萃取温度对厚朴酚与和厚朴酚

2.2 色谱条件 InerSustain C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，
5 μm）；流动相甲醇-水（78 : 22）；体积流量 1.0 mL/min；
柱温 30 ℃；检测波长 294 nm；进样量 20 μL。在上述色谱
条件下，厚朴酚、和厚朴酚得以完全分离，其保留时间分
别为 9.5、14.1 min，见图 1。以峰面积外标法进行定量分
析，从而得到厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量，计算其提取
率。公式为提取率 = $(C \times V) / M \times 100\%$ ，其中，C 为提取
液中厚朴酚（和厚朴酚）含量，V 为萃取液体积，M 为药
材质量。

提取率的影响，平行 3 次，结果见图 2。由此可知，厚朴酚
与和厚朴酚的提取率均随温度的升高而先增大后减小，当
温度为 50 ℃ 时达到最大值，这是因为萃取初期温度越高，
分子运动越快，厚朴酚与和厚朴酚迅速从厚朴中分离出来，
萃取效率明显增加；但超过 50 ℃ 时 CO₂ 密度下降，厚朴酚
与和厚朴酚不容易从厚朴中分离出来，萃取效率明显下降。
另外，厚朴酚与和厚朴酚属于酚类物质，稳定性较差，在
高温下容易氧化成其他化合物，导致两者含量进一步下降，
萃取效率降低。因此，选择 50 ℃ 作为厚朴酚与和厚朴酚的
最佳萃取温度。

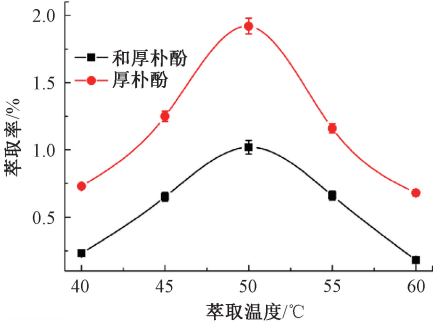


图 2 不同温度下萃取率曲线

3.1.2 萃取压力 固定萃取温度 50 ℃、萃取时间 2.0 h 和
料液比 10 : 10，考察不同萃取压力对厚朴酚与和厚朴酚提
取率的影响，平行 3 次，结果见图 3。由此可知，厚朴酚与
和厚朴酚的萃取率随压力的增大呈上升趋势，在较低压力
时两者萃取率增大趋势较小；增大为 30 MPa 后，萃取率急
剧升高；达到 35 MPa 时，萃取率基本趋于稳定，这是因为
CO₂ 密度随压力的增大而增大，对厚朴酚与和厚朴酚的溶
解能力也随之增大，当压力低于 30 MPa 时，CO₂ 以亚临界

状态存在,两者溶解能力相对较低,达到 35 MPa 时,CO₂ 以临界状态存在,两者溶解能力急剧增强;超过 35 MPa 后,原料由于较大的压力被压实结块,两者难以进一步溶出,其萃取率趋于稳定。因此,选择 35 MPa 作为厚朴酚与和厚朴酚的最佳萃取压力。

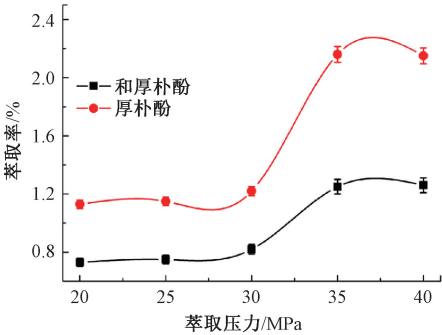


图 3 不同压力下萃取率曲线

3.1.3 萃取时间 在固定萃取温度 50 ℃、萃取压力 35 MPa 和料液比 10 : 10,考察不同萃取时间对厚朴酚与和厚朴酚提取率的影响,平行 3 次,结果见图 4。由此可知,随着萃取时间的延长,厚朴酚与和厚朴酚的提取率都在不断的增大;在 2.5 h 后,两者萃取率基本趋于稳定,说明基本萃取完全。因此,选择 2.5 h 作为厚朴酚与和厚朴酚的最佳萃取时间。

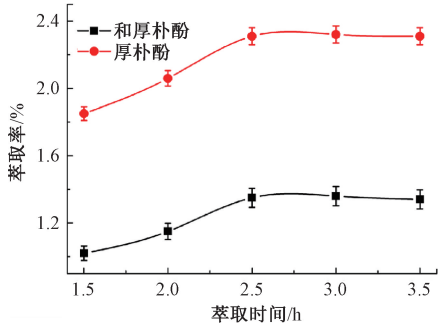


图 4 不同时间下萃取率曲线

3.1.4 料液比 固定萃取温度 50 ℃、萃取压力 35 MPa 和萃取时间 2.5 h,考察不同料液比对厚朴酚与和厚朴酚提取率的影响,平行 3 次,结果见图 5。由此可知,厚朴酚与和厚朴酚的提取率随着料液比的增加而不断增大;在 10 : 12 后,两者的萃取率基本趋于稳定,说明改性剂的用量不能使萃取率进一步增加。因此,综合考虑萃取率、能耗等因素,选择料液比 10 : 12 作为厚朴酚与和厚朴酚的最佳萃取料液比。

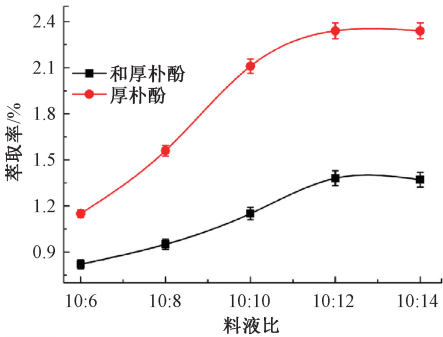


图 5 不同料液比下萃取率曲线

3.2 正交试验 参照单因素试验所确定的萃取温度 (A)、萃取压力 (B)、萃取时间 (C) 和料液比 (D),进行四因素三水平 L₉ (3⁴) 正交试验,测定厚朴酚与和厚朴酚的提取率 (Y),结果见表 2。由此可知,提取和厚朴酚的影响因素顺序为萃取温度>萃取压力>料液比>萃取时间,最佳工艺为萃取温度 50 ℃,萃取压力 35 MPa,萃取时间 2.0 h,料液比 10 : 14;提取厚朴酚的影响因素顺序为萃取温度>料液比>萃取压力>萃取时间,最佳萃取工艺为萃取温度 50 ℃,萃取压力 35 MPa,萃取时间 3.0 h,料液比 10 : 14。由于适当延长萃取时间不会对和厚朴酚萃取率产生较大的负面影响,因此确定最优提取条件为萃取温度 50 ℃,萃取压力 35 MPa,萃取时间 3.0 h,料液比 10 : 14。

3.3 验证试验 在优化工艺条件下进行 3 次验证,结果见

表 2 正交试验设计与结果

试验号		因素				Y 和厚朴酚 萃取率/%	Y 厚朴酚 萃取率/%
		A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 萃取时间/h	D 料液比		
1		45	30	2.0	10 : 10	0.525	0.743
2		45	35	2.5	10 : 12	0.776	1.153
3		45	40	3.0	10 : 14	0.663	1.234
4		50	30	2.5	10 : 14	1.364	2.526
5		50	35	3.0	10 : 10	1.463	2.627
6		50	40	2.0	10 : 12	1.392	2.492
7		55	30	3.0	10 : 12	0.926	1.976
8		55	35	2.0	10 : 14	1.215	2.263
9		55	40	2.5	10 : 10	0.727	1.848
和厚朴酚萃取率极差分析		k ₁	0.655	0.938	1.044	0.905	—
		k ₂	1.406	1.151	0.956	1.031	—
		k ₃	0.956	0.927	1.017	1.081	—
		R	0.751	0.224	0.088	0.176	—
厚朴酚萃取率极差分析		k ₁	1.043	1.748	1.833	1.739	—
		k ₂	2.548	2.014	1.842	1.874	—
		k ₃	2.029	1.858	1.946	2.008	—
		R	1.505	0.266	0.113	0.269	—

表 3。由此可知，和厚朴酚与厚朴酚平均萃取率分别为 1.47% 和 2.63%，RSD 分别为 1.42% 和 1.74%，表明该工 艺萃取效率较高，重复性较好，可应用于工业上的大量 提取。

表 3 验证试验结果 (n=3)

试验号	因素				和厚朴酚萃取率/%	厚朴酚萃取率/%
	萃取温度/℃	萃取压力/MPa	萃取时间/h	料液比		
1	50	35	3.0	10 : 14	1.49	2.67
2	50	35	3.0	10 : 14	1.46	2.64
3	50	35	3.0	10 : 14	1.45	2.58

4 讨论与结论

超临界 CO₂ 萃取技术是近年来发展起来的，用于中药材有效成分提取、分离和纯化的一项新技术，与传统的溶剂浸提法相比，具有分离效果好、提取效率高、无污染环境、不破坏提取物结构、不影响提取物活性等特点，尤其适合天然产物中多酚类物质的分离和提取。结果表明，在最佳提取工艺条件下，厚朴酚与和厚朴酚的平均萃取率分别为 1.47% 和 2.63%，RSD 分别为 1.42% 和 1.74%，满足 2020 年版《中国药典》“厚朴药材中厚朴酚与和厚朴酚的含量应不少于 2.0%”的要求。该方法实现了中药材厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的有效萃取，并获得了满意的提取率，为两者大量提取提供了新方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 349.

[2] 曹 佳, 兰 星, 邱晨旭, 等. 厚朴酚药理作用及增溶研究进展[J]. 动物医学进展, 2023, 44(2): 103-106.

[3] 蹇顺华, 苗丽坤, 李 星, 等. 厚朴挥发油萃取工艺优化、成分分析及抗氧化性分析[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(3): 165-174.

[4] 张明发, 沈雅琴. 厚朴提取物、厚朴酚及和厚朴酚的抗氧化和抗衰老药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(3): 596-604.

[5] Tan L H, Zhang D, Yu B, *et al.* Antioxidant activity of the different polar solvent extracts of *Magnolia officinalis* leaves and purification of main active compounds [J]. *Eur Food Res Technol*, 2015, 240(4): 815-822.

[6] 钱锦秀, 孟武威, 刘晖晖, 等. 经典名方中厚朴的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(10): 306-317.

[7] 张晓娟, 左冬冬, 胡妮娜, 等. 厚朴的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2023, 40(2): 85-89.

[8] 刘瑞连, 鲁翠香, 蒋孟良, 等. 不同产地厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量比较研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(8): 1996-1997.

[9] 张碧瑶, 刘利根, 石心红. 正交试验优化厚朴酚与和厚朴酚的提取工艺[J]. 西北药学杂志, 2018, 33(2): 174-177.

[10] Chen G, Xu X J, Zhu Y Z, *et al.* Determination of honokiol and magnolol in cortex *Magnoliae officinalis* by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(4): 1479-1484.

[11] Wang R Q, Ge X, Chen X, *et al.* Ballpoint tip-protected oil-in-salt liquid-phase microextraction with high performance liquid chromatography for the determination of magnolol and honokiol from cortex *Magnoliae officinalis* [J]. *Instrum Sci Technol*, 2020, 48(3): 254-268.

[12] 刘 畅, 王 潇, 刘 芳, 等. 厚朴酚对便秘型肠易激综合征大鼠 5-HT 通路及肠道菌群的影响[J]. 中成药, 2023, 45(9): 3067-3072.

[13] Wang X, Wang Y Q, Geng Y L, *et al.* Isolation and purification of honokiol and magnolol from cortex *Magnoliae officinalis* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1036(2): 171-175.

[14] Pyo M K, Lee Y Y, Yun-Choi H S. Anti-platelet effect of the constituents isolated from the barks and fruits of *Magnolia obovata* [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(3): 325-328.

[15] 殷思敏, 王思怡, 黄东升, 等. 和厚朴酚调控 Klotho 改善顺铂诱导小鼠急性肾损伤的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(19): 2798-2802.

[16] Guo H Z, Pang X M, Zhang W Q, *et al.* Dissolution determination of five components in Huoxiang Zhengqi tablets using partitioned dispersive liquid-liquid microextraction combined with HPLC-UV [J]. *Anal Methods*, 2013, 5(11): 2674-2678.

[17] 王 潇, 王 婷, 成颜芬, 等. 厚朴乙醇提取物固体分散体的制备[J]. 中成药, 2020, 42(2): 283-289.

[18] Li M M, Hu S, Chen X, *et al.* Development of a novel hollow-fiber liquid-phase microextraction based on oil-in-salt and its comparison with conventional one [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(14): 2941-2949.

[19] Li M M, Chen X, Hu S, *et al.* Determination of blood concentrations of main active compounds in Zi-Cao-Cheng-Qi decoction and their total plasma protein binding rates based on hollow fiber liquid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1072(1): 355-361.

[20] 宋 乐, 王 红, 李振凯, 等. 银柴胡超临界 CO₂ 萃取工艺优化及其萃取物成分分析[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(19): 2498-2504.

[21] 邓 祥, 黄小梅, 吴 狄. 川佛手中总黄酮的超临界 CO₂ 萃取工艺优化[J]. 重庆文理学院学报 (社会科学版), 2014, 33(5): 94-98.

[22] 王雪英, 陈洪涛, 包志红, 等. 超临界二氧化碳流体萃取植物药活性成分的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(2): 227-232.