

黄蜀葵花黄酮类成分提取、纯化工艺优化

陈 范^{1,2}, 宿树兰^{2*}, 郭 龙¹, 安福丽³, 尚尔鑫², 段金廛²

(1. 河北中医药大学, 河北省中药炮制技术创新中心, 河北 石家庄 050200; 2. 南京中医药大学, 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210023; 3. 河北省中医院, 河北 石家庄 050013)

摘要: **目的** 优化黄蜀葵花黄酮类成分提取、纯化工艺。**方法** 在单因素试验基础上, 以乙醇体积分数、提取时间、料液比为影响因素, 黄酮类成分(芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-*O*-葡萄糖苷、杨梅素、槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷、槲皮素)含量为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。再以树脂型号、洗脱剂(乙醇)体积分数、上样质量浓度、洗脱体积为影响因素, 绘制泄漏曲线, 优化大孔吸附树脂纯化工艺。**结果** 最佳提取工艺为 15 倍量 70% 乙醇提取 2 次, 每次 60 min; 最佳纯化工艺为每 1 g AB-8 型树脂上样 0.38 g 生药, 上样质量浓度 1.0 g/mL, 60% 乙醇洗脱 3 BV, 黄酮含量达 51.78%。**结论** 该方法稳定合理, 简便可行, 可为提取、纯化黄蜀葵花黄酮类成分奠定基础。

关键词: 黄蜀葵花; 黄酮类成分; 提取工艺; 纯化工艺; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1631-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.035

黄蜀葵花为锦葵科植物黄蜀葵 *Abelmoschus Manihot* (L.) Medic. 的干燥花冠, 其味甘、性寒, 具有清利湿热、消肿解毒的功效, 可治疗淋浊、水肿等病证^[1], 被誉为“疮家要药”, 黄酮类成分是其活性成分, 具有显著的抗炎、抗氧化等活性^[2-3], 可改善肾脏功能, 治疗肠道相关疾病^[4-5]。黄葵胶囊由黄蜀葵花乙醇提取物制备而成, 在治疗慢性肾病中具有显著效果^[6-7], 是临床常用中成药之一。

目前, 鲜有针对黄蜀葵花黄酮类成分提取、纯化工艺的研究。本实验以芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-*O*-葡萄糖苷、杨梅素、槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷、槲皮素 7 种黄酮类成分含量^[8]为评价指标, 采用 Box-Behnken 响应面法优化该药材黄酮类成分提取、纯化工艺, 以期对相关产品的质量控制和深入开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters Acquity 型 UPLC 超高效液相色谱仪, 配置二极管阵列检测器, 购自美国 Waters 公司; Milli-Q 型超纯水制备仪, 购自美国 Millipore 公司; Anke GL-16G II 型离心机, 购自上海安亭科学仪器厂; KH-500DV 型超声波清洗器, 购自昆山禾创超声仪器有限公司; BT125D 型电子分析天平, 购自德国赛多利斯公司; FW80 型高速万能粉碎机, 购自天津市泰斯特仪器有限公司; Buchi R-210 型旋转蒸发仪, 购自巩义市予华仪器有限公司。

1.2 试剂与药物 芦丁(批号 M09HB177693)、金丝桃苷

(批号 J16GB143379)、杨梅素(批号 YM0311YA13)、槲皮素(批号 C01J10Y91727)对照品均购于上海源叶生物科技有限公司; 棉皮素-8-*O*-葡萄糖苷(批号 CFN70410)、槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷(批号 CFN95271)对照品均购于武汉天植生物科技有限公司; 异槲皮苷对照品(批号 FY03B3078)购于南通飞宇生物科技有限公司, 纯度均 $\geq$ 98%。D101、HDP-100、X-5、AB-8、NKA-9 型大孔吸附树脂均购于北京索莱宝科技有限公司。黄蜀葵花(批号 220301)购于马鞍山井泉中药饮片有限公司, 经南京中医药大学段金廛教授鉴定为锦葵科植物黄蜀葵 *Abelmoschus manihot* (L.) Medic. 的干燥花冠。甲酸、乙腈均为色谱纯, 购于安徽天地高纯溶剂有限公司; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄酮类成分含量测定 采用 UPLC 法。

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取对照品适量, 甲醇定容, 制成分别含芦丁 590 μ g/mL、金丝桃苷 620 μ g/mL、异槲皮苷 485 μ g/mL、棉皮素-8-*O*-葡萄糖苷 250 μ g/mL、杨梅素 480 μ g/mL、槲皮素-3'-*O*-葡萄糖苷 475 μ g/mL、槲皮素 205 μ g/mL 的溶液, 即得。

2.1.2 供试品溶液制备 取药材提取液 1 mL, 定容至 2 mL, 混匀后离心 10 min, 取上清液, 即得。

收稿日期: 2023-11-12

基金项目: 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目(ZYYCXTDD-202005)

作者简介: 陈 范(1998—), 女, 硕士生, 研究方向为中药质量评价与控制。E-mail: chenfan9806@163.com

*通信作者: 宿树兰(1974—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药、方剂功效物质基础与作用机制。Tel: (025) 85811917, E-mail: sushulan1974@163.com

2.1.3 色谱条件 ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~1 min, 95%~88% A; 1~2 min; 88%~85% A; 2~4 min, 85% A; 4~10 min, 85%~83% A; 10~13 min, 83%~80% A; 13~15 min, 80%~75% A; 15~18 min, 75%~70% A; 18~19 min, 70%~20% A; 19~20 min, 20%~95% A); 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 35 ℃; 检测波长 360 nm; 进样量 2 μL。色谱图见图 1。

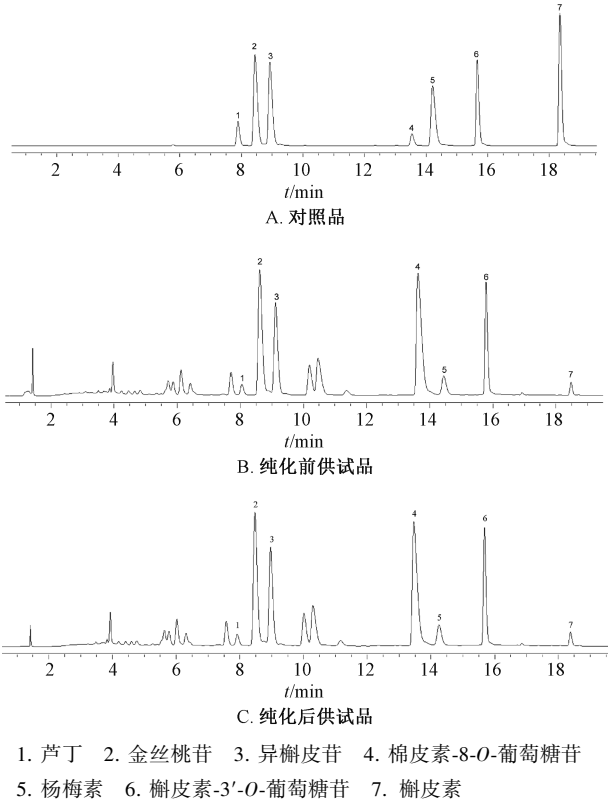


图 1 各成分 UPLC 色谱图

2.1.4 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液适量, 依次稀释 2、4、8、16、32、64 倍, 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定。以对照品峰面积 (Y) 对其质量浓度 (X) 进行回归, 结果见表 1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系				
成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)	
芦丁	$Y=9\,027.9X+54\,161$	0.999 8	9.22~590.00	
金丝桃苷	$Y=22\,958X+154\,965$	0.999 8	9.69~620.00	
异槲皮苷	$Y=25\,174X+141\,931$	0.999 6	7.58~485.00	
棉皮素-8-O-葡萄糖苷	$Y=15\,677X+37\,079$	0.999 7	3.91~250.00	
杨梅素	$Y=35\,366X+163\,326$	0.999 8	7.50~480.00	
槲皮素-3'-O-葡萄糖苷	$Y=24\,429X+116\,420$	0.999 6	7.42~475.00	
槲皮素	$Y=41\,732X+108\,986$	0.999 7	3.20~205.00	

2.1.5 精密度试验 取对照品溶液适量, 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-O-葡萄糖苷、杨梅素、槲皮素-3'-O-葡萄糖苷、槲皮素峰面积 RSD 分别为 0.52%、0.43%、0.58%、

0.34%、0.51%、0.51%、0.57%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取药材适量, 按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定, 测得芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-O-葡萄糖苷、杨梅素、槲皮素-3'-O-葡萄糖苷、槲皮素峰面积 RSD 分别为 2.57%、2.76%、1.72%、1.93%、1.90%、2.55%、1.73%, 表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取供试品溶液适量, 于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定, 测得芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-O-葡萄糖苷、杨梅素、槲皮素-3'-O-葡萄糖苷、槲皮素峰面积 RSD 分别为 2.71%、2.32%、2.30%、2.26%、2.29%、1.78%、2.55%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验 取药材适量, 按 100% 水平精密加入对照品, 按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、棉皮素-8-O-葡萄糖苷、杨梅素、槲皮素-3'-O-葡萄糖苷、槲皮素平均加样回收率分别为 99.18%、99.41%、100.48%、100.19%、101.09%、100.10%、99.25%, RSD 分别为 2.22%、2.46%、1.74%、2.75%、2.68%、2.79%、2.74%。

2.1.9 样品含量测定 平行称取 3 份药材粉末 (过 4 号筛), 每份 5.0 g, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1.3”项色谱条件下进样测定, 计算含量。

2.2 单因素试验

2.2.1 提取方法 参考文献 [9] 报道, 精密称取药材粉末 (过 4 号筛) 5.0 g, 在料液比 1:15 条件下分别以 70% 乙醇超声提取 2 次, 每次 25 min; 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 50 min; 70% 乙醇回流提取 1 次, 过滤, 药渣水煎 1 次 (各 50 min), 合并 2 次药液, 测定黄酮类成分含量, 结果见图 2A。

2.2.2 料液比 精密称取药材粉末 (过 4 号筛) 5.0 g, 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 50 min, 分别在料液比 1:8、1:10、1:15、1:20、1:25 下测定黄酮类成分含量, 结果见图 2B。

2.2.3 提取次数、溶剂、时间 其他参数一致, 分别在不同提取次数 (1、2、3、4 次)、溶剂 (水、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、90% 乙醇)、时间 (30、40、50、60、70 min) 下测定黄酮类成分含量, 结果见图 2C~2E。

2.2.4 结果分析 最优提取工艺为 70% 乙醇回流提取 2 次。

2.3 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 选择乙醇体积分数 (A)、提取时间 (B)、料液比 (C) 作为影响因素, 黄酮类成分含量 (Y) 作为评价指标, 设计三因素三水平共 17 组试验, 因素水平见表 2, 结果见表 3。

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 3 数据进行回归分析, 得方程为 $Y=4.51+0.52A+0.014B-0.17C+0.11AB+0.075AC-0.01BC-1.61A^2-0.19B^2-0.090C^2$ ($r=0.943\,2$),

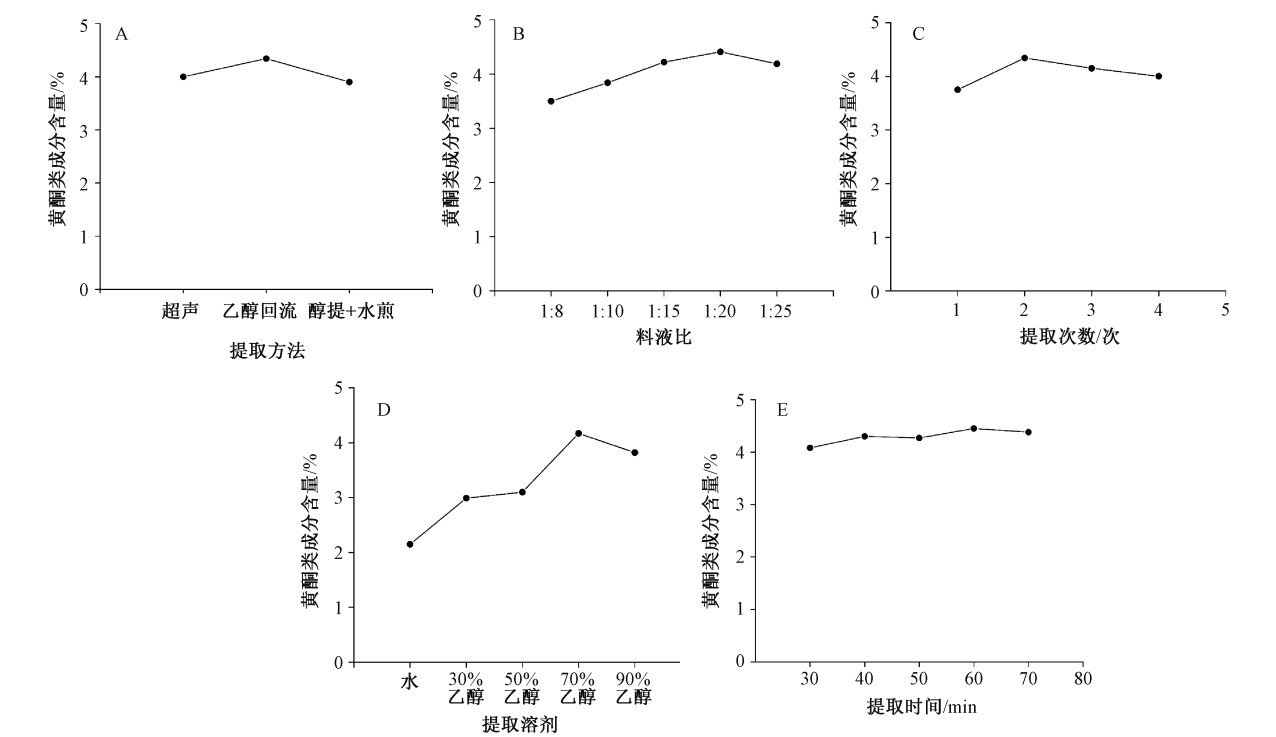


图 2 单因素试验结果

方差分析见表 4。由此可知，模型 $P<0.05$ ，具有高度显著性，拟合度良好；失拟项 $P>0.05$ ，表示模型能较准确地预测响应值；各因素影响程度依次为 $A>C>B$ ，其中 A 有极显著影响 ($P<0.01$)，而 B 、 C 无显著影响 ($P>0.05$)。响应面分析见图 3。

表 2 Box-Behnken 响应面法因素水平			
水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取时间/min	C 料液比
-1	50	50	1 : 15
0	70	60	1 : 20
1	90	70	1 : 25

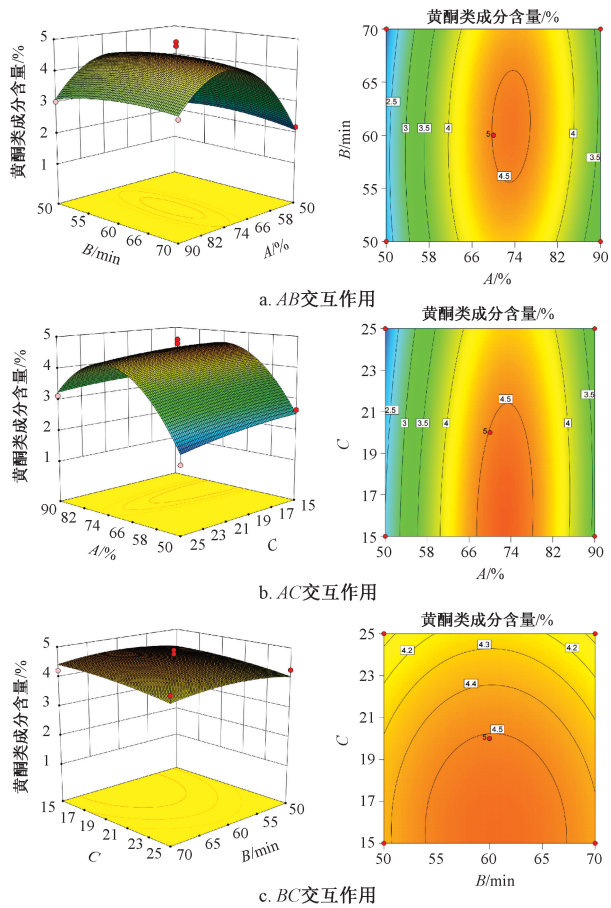
表 3 Box-Behnken 响应面法设计与结果				
试验号	A 乙醇体积分数/%	B 提取时间/min	C 料液比	Y 黄酮类成分含量/%
1	70	70	1 : 25	4.29
2	90	50	1 : 20	3.25
3	90	60	1 : 15	4.91
4	90	70	1 : 20	2.64
5	70	60	1 : 20	3.73
6	50	50	1 : 20	4.15
7	50	70	1 : 20	1.73
8	70	70	1 : 15	4.78
9	90	60	1 : 25	4.21
10	70	60	1 : 20	4.22
11	50	60	1 : 25	4.33
12	50	60	1 : 15	2.18
13	70	50	1 : 15	3.12
14	70	60	1 : 20	4.27
15	70	50	1 : 25	3.02
16	70	60	1 : 20	2.38
17	70	60	1 : 20	4.30

表 4 方差分析结果					
来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	13.90	9	1.54	12.91	0.001 4
A	2.19	1	2.19	18.34	0.003 6
B	0.001 5	1	0.001 5	0.013	0.913 6
C	0.22	1	0.22	1.82	0.219 3
AB	0.046	1	0.046	0.39	0.554 0
AC	0.023	1	0.023	0.19	0.677 6
BC	0.000 4	1	0.000 4	0.003 3	0.955 5
A ²	10.95	1	10.95	91.51	<0.000 1
B ²	0.15	1	0.15	1.24	0.302 2
C ²	0.034	1	0.034	0.29	0.609 0
残差	0.84	7	0.12	—	—
失拟项	0.44	3	0.15	1.51	0.341 8
纯误差	0.39	4	0.098	—	—
总离差	14.74	16	—	—	—

最终确定，最优工艺为乙醇体积分数 72.92%，料液比 1 : 15.71，提取时间 61 min，黄酮类成分含量为 4.62%，结合实际情况并方便实验操作，将其修正为料液比 1 : 15，提取时间 60 min，乙醇体积分数 70%、75%。再按上述优化工艺分别进行 3 批验证试验，结果见表 5，可知 2 种体积分数乙醇提取时黄酮类成分含量相近，而且均与预测值 4.62% 接近，表明该工艺稳定可行，具有实际应用价值，考虑到生产成本，最终选择 70% 乙醇进行提取。

2.4 纯化工艺优化

2.4.1 树脂预处理 取 NKA-9、HDP-100、D101、AB-8、X-5 型树脂适量，95% 乙醇浸泡 24 h，待其充分溶胀后用纯水不断冲洗至无醇味，抽滤。



注：A、B、C 分别为乙醇体积分数、提取时间、料液比。左图为三维曲面图，右图为等高线图。

图 3 各因素响应面图

试验号	黄酮类成分含量/%	
	70% 乙醇提取	75% 乙醇提取
1	4.40	4.44
2	4.41	4.29
3	4.37	4.24
平均值	4.39	4.32

2.4.2 树脂筛选 采用静态吸附实验，称取经预处理的 5 种树脂各 5.0 g，置于 100 mL 锥形瓶中，分别加入 10 mL 药液（生药量 1.0 g/mL），在水平摇床上振摇 24 h，过滤，在滤出树脂中加入 20 mL 70% 乙醇，在水平摇床上振摇 24 h，测定滤液中黄酮类成分含量，计算吸附率和解吸率。结果见表 6。由此可知，AB-8 型树脂吸附、解吸性能均较好，故选择其进行后续研究。

表 6 吸附率、解吸率测定结果

型号	极性	吸附率/%	解吸率/%
D101	非极性	68.48	72.42
HDP-100	非极性	75.04	75.17
X-5	非极性	74.67	74.40
AB-8	弱极性	75.97	81.02
NKA-9	强极性	62.15	73.74

2.4.3 洗脱剂体积分数筛选 称取 AB-8 型树脂 5.0 g，置于锥形瓶中，加入 5 mL 药液（生药量 1.0 g/mL），在水平摇床上振摇 24 h，过滤，分别加入 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 乙醇 20 mL，在水平摇床上振摇 24 h，测定解吸液中黄酮类成分含量，结果见图 4。由此可知，乙醇体积分数小于 60% 时解吸率呈上升趋势，80% 时黄酮类成分含量最高，但 60%、80% 时解吸率接近，考虑到实验成本 and 安全性，最终选择 60% 作为洗脱剂体积分数。

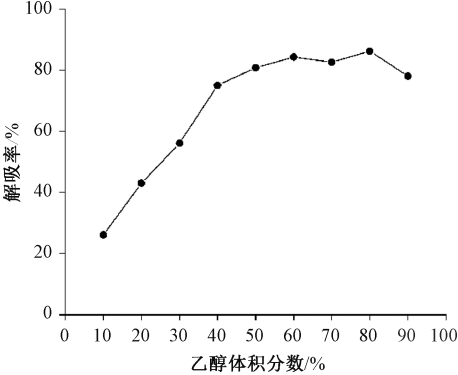


图 4 洗脱剂体积分数对解吸率的影响

2.4.4 上样质量浓度筛选 取等量 AB-8 型树脂至锥形瓶中，分别精密加入 0.5、0.75、1.0、1.25、1.5 g/mL 药液 15、10、7.5、6、5 mL（生药量均为 7.5 g，黄酮类成分含量为 344.45 mg），在水平摇床上振摇 24 h，收集滤液，加入 70% 乙醇，在水平摇床上解吸，收集滤液，测定黄酮类成分含量，结果见图 5。由此可知，上样质量浓度为 1.0 g/mL 时黄酮类成分解吸率最高，可能是由于上样质量浓度过低时不利于该类成分吸附，但过高时容易提早泄漏，导致吸附效果下降，甚至造成柱床堵塞，最终选择 1.0 g/mL 作为上样质量浓度。

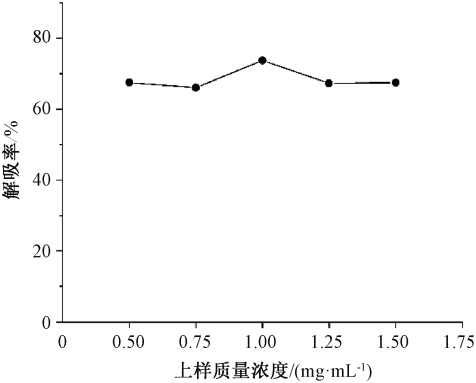


图 5 上样质量浓度对解吸率的影响

2.4.5 洗脱体积筛选 称取 AB-8 型树脂 30.0 g，湿法装柱，取 1.0 g/mL 药液 5.0 mL，上样，3 BV 水除杂，70% 乙醇洗脱（体积流量 1 mL/min），洗脱液以 1 BV 为 1 份进行收集，测定黄酮类成分含量，结果见图 6。由此可知，洗脱体积为 3 BV 时洗脱液中黄酮类成分基本洗脱完全，最终选择 3 BV 作为洗脱剂体积。

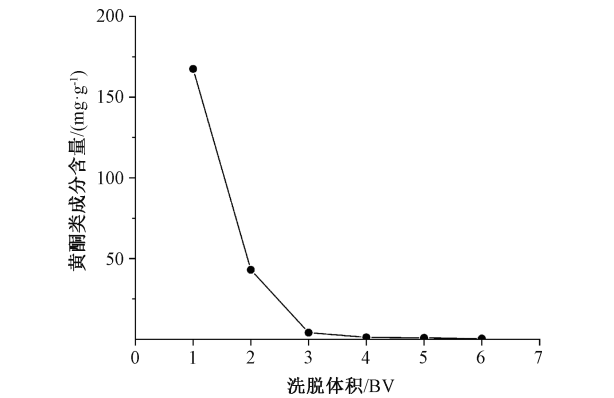


图 6 洗脱体积对黄酮类成分含量的影响

2.4.6 泄漏曲线绘制 称取 AB-8 型树脂 20.0 g，湿法装柱，取 0.25 g/mL 药液 70 mL，上样，每 10 mL 收集 1 管流出液，测定黄酮类成分泄漏量，绘制泄漏曲线（以 5% 为界限），结果见图 7。由此可知，上样液为 40 mL（4 BV）时黄酮类成分开始大量泄露，扣除树脂间水分 1 BV，最终确定上样量为 3 BV。

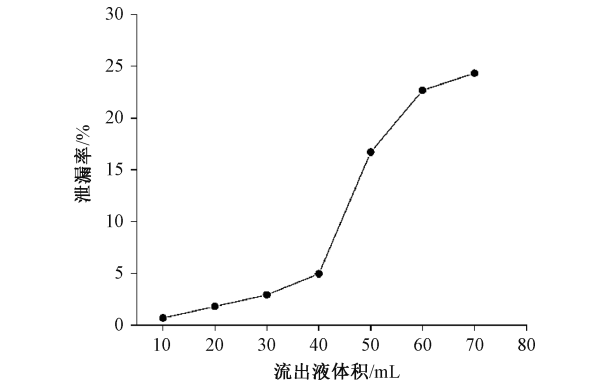


图 7 泄漏曲线

2.4.7 验证试验 根据上述结果，确定最优工艺为每 1 g AB-8 型树脂上样 0.38 g 生药，上样质量浓度 1.0 g/mL，用 3 BV 水洗除杂后 60% 乙醇洗脱 3 BV。称取 3 份经预处理的 AB-8 型树脂，每份 100 g，湿法装柱，按上述优化工艺纯化，结果见表 7，可知该工艺富集效果明显，稳定可行，可用于黄蜀葵花黄酮类成分的纯化。

表 7 纯化工艺验证试验结果 (n=3)		
试验号	黄酮类成分含量/%	得率/%
1	50.82	9.66
2	52.73	9.72
3	51.80	9.64
平均值	51.78	9.67

3 讨论与结论

黄酮为黄蜀葵花主要活性成分，其提取方法包括超声提取、加热回流、常温温浸等^[10-12]，其中乙醇回流法最常用^[8,13-14]。Box-Behnken 响应面法具有试验精度高、模型预测性好等优点^[15-16]，本实验采用该方法得到最优提取工艺为 15 倍量 70% 乙醇提取 2 次，每次 60 min；最优纯化工艺

为每 1 g AB-8 型树脂上样 0.38 g 生药，上样质量浓度 1.0 g/mL，60% 乙醇洗脱 3 BV，黄酮含量达 51.78%。另外，大孔吸附树脂对黄酮类成分的分离纯化效果显著^[17-20]，本实验发现，弱极性的 AB-8 型树脂在吸附、解吸黄蜀葵花该类成分时具有较好的效果，同时它具有可回收循环使用、价格低等特点^[21]。

本实验在优化黄蜀葵花黄酮类成分提取、纯化工艺过程中，选择与该药材功效相关联的 7 种黄酮类成分作为评价指标，相较于总黄酮或单一成分更客观全面，所优化的工艺参数更科学、合理、可行，可为其相关制剂质量控制及工业化生产提供科学依据与技术支持。

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，2020：319.

[2] Luan F, Wu Q H, Yang Y, *et al.* Traditional uses, chemical constituents, biological properties, clinical settings, and toxicities of *Abelmoschus manihot* L.: A comprehensive review [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1068.

[3] 黎晶晶, 徐柏颐. 黄蜀葵花黄酮类化合物的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45 (7): 120-124.

[4] 杨淑惠, 李成曦, 李建萍, 等. 基于肠道菌群测序及非靶向脂质组学分析黄蜀葵花对炎症性肠病小鼠菌群稳态及脂质代谢的影响 [J]. 药学报, 2022, 57 (12): 3546-3556.

[5] 王颖异, 李建萍, 陆静波, 等. 黄葵减轻慢性肾病模型大鼠体内尿素蓄积的作用及机制研究 [J]. 药学报, 2019, 54 (12): 2267-2276.

[6] Li N, Tang H T, Wu L, *et al.* Chemical constituents, clinical efficacy and molecular mechanisms of the ethanol extract of *Abelmoschus manihot* flowers in treatment of kidney diseases [J]. *Phytother Res*, 2021, 35 (1): 198-206.

[7] 王福平, 张 蕾, 吕 健, 等. 基于 Meta 分析与整合生物信息学探究黄葵胶囊治疗慢性肾脏病的有效性、安全性及其机制 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48 (16): 4493-4507.

[8] 陆林玲, 钱大玮, 郭建明, 等. 一测多评法测定黄蜀葵花中 7 个黄酮类成分 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33 (12): 2082-2087.

[9] 项 想, 孙成静, 宿树兰, 等. 丹参茎叶酚酮有效部位的提取纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49 (1): 120-127.

[10] 钱 平, 刘志辉. 常温浸泡法提取黄蜀葵花总黄酮的研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24 (5): 52-54.

[11] 许朝旦, 江群艳, 蒋启航, 等. 黄芩茎叶总黄酮制备工艺优化研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36 (5): 593-599.

[12] 殷圣鑫, 魏丽芳, 梅余琪, 等. 超快速液相色谱-三重四极杆/线性离子阱质谱法同时测定黄蜀葵花药材中的多元活性成分 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46 (10): 2527-2536.

[13] 夏昆瑜, 张春磊, 曹征宇, 等. 黄蜀葵花的化学成分研究 [J]. 海峡药学, 2019, 31 (9): 58-61.

[14] 李佳慧, 拱健婷, 赵丽莹, 等. 黄蜀葵花总黄酮提取工艺 [J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43 (2): 370-373.

[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