

重庆产厚朴不同部位厚朴酚与和厚朴酚分布规律的研究

张丹^a, 颜学伟^a, 曹伟国^{a,b,c*}, 王刚^a, 刘伟^a, 王永丽^a (重庆医科大学, a.中医药学院; b.中医药研究室; c.中医药实验教学中心, 重庆 400016)

摘要: 目的 研究厚朴不同部位厚朴酚与和厚朴酚的分布规律, 为进一步开发利用厚朴资源并对其进行质量控制提供科学依据。方法 采用 HPLC 测定厚朴不同部位中厚朴酚与和厚朴酚的含量。结果 厚朴根皮、干皮、枝皮和厚朴叶中厚朴酚与和厚朴酚的总含量分别约为: 8.22%, 2.30%, 2.07% 和 0.43%, 厚朴各部位中厚朴酚与和厚朴酚的总含量差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 厚朴不同部位中厚朴酚与和厚朴酚的含量差异较大, 其质量控制有待深入研究, 厚朴不同部位在临床用药时应有所区别, 另外厚朴叶资源具有较大的开发价值。

关键词: 厚朴; 厚朴酚; 和厚朴酚; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)07-0614-04

Research on the Distribution of Magnolol and Honokiol in Different Parts of *Magnolia Officinalis* Rehd.et Wils. from Chongqing

ZHANG Dan^a, YAN Xuewei^a, CAO Weiguo^{a,b,c*}, WANG Gang^a, LIU Wei^a, WANG Yongli^a (Chongqing Medical University, a.Traditional Chinese Medicine College; b.The Lab of Traditional Chinese Medicine Sciences; c.Traditional Chinese Medicine Experimental Teaching Center, Chongqing 400016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the distribution pattern of magnolol and honokiol in different parts of *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. from Chongqing, so as to provide a scientific basis for further development and utilization of its resources and quality control. **METHODS** The content of magnolol and honokiol in the different parts of *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils. was determined by HPLC. **RESULTS** The total content of magnolol and honokiol in root bark, trunk bark, branch bark and leaf of *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. was different as 8.22%, 2.30%, 2.07% and 0.43%. The content of magnolol and honokiol in the different parts of *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils. showed distinct variability. **CONCLUSION** The content of magnolol and honokiol in the different parts of *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils. was different significantly. The quality control of magnolia bark should be lucubrated, and the clinical medication of the different parts should be distinguished. The leaf resources of *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils. possess exploitation potentials.

KRY WORDS: *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils.; magnolol; honokiol; HPLC

厚朴为常用芳香化湿类中药, 具有燥湿消痰, 下气除满之功效, 常用于湿滞伤中, 脘痞吐泻, 食积气滞, 腹胀便秘, 痰饮咳喘等。厚朴收载于中国药典 2010 年版, 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]。厚朴的主要有效成分为

厚朴酚与和厚朴酚等木脂素类化合物, 笔者在进行不同炮制方法对厚朴中厚朴酚的含量影响研究^[2]时, 发现即使同批购入的厚朴药材, 不同取样批次的药材中厚朴酚含量差异较大, 说明厚朴药材质量参差不齐, 厚朴药材来源于干皮、枝皮和根皮 3 个部位, 因此推测厚朴酚可能在厚朴不同部位中含量存在差异。目前尚未见关于厚朴不同部

基金项目: 重庆市渝中区科技创新项目(20100208); 重庆市九龙坡区科技项目(2011-62-1)

作者简介: 张丹, 女, 硕士, 讲师 Tel: (023)65712062 E-mail: zhangdan01234567@sina.com *通信作者: 曹伟国, 男, 硕士, 副教授 Tel: 13389679838 E-mail: cwgzd2001@sohu.com

位厚朴酚与和厚朴酚的含量差异的研究报道, 本试验拟以重庆产道地药材厚朴为研究对象, 采用高效液相色谱法, 探讨厚朴不同部位厚朴酚与和厚朴酚的分布规律, 为厚朴药材的质量控制、临床合理用药及厚朴资源的开发利用提供有效参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪, LC solution 色谱工作站; 昆山禾创 KH5200DA 数控超声波清洗器; Millipore 溶剂过滤系统; METIER TOLEDO AG204 万分之一电子分析天平。

1.2 试药

厚朴酚、和厚朴酚对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110729-200411、110730-201011, 供含量测定用), 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 药材样品

本实验厚朴样品采自厚朴主产区之一重庆城口县明中乡(海拔 1 073 m, 东经 108°49', 北纬 31°44'), 共计 3 批样品, 采集时间为 2010 年 8 月份, 样品经本校中药教研室王刚副教授鉴定为厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd.et Wils.), 依据部位不同分为根皮、干皮、枝皮和厚朴叶 4 种样品, 并分别随机取样粉碎为细粉备用。

2 方法与结果

2.1 高效液相色谱条件^[3-4]

色谱柱: Diamonsil ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(79:21), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为室温; 进样量 20 μL; 检测波长: 294 nm; 理论板数按厚朴酚峰计算应不低于 3 000, 在此条件下各组分得到良好分离, 色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取厚朴酚 10.5 mg、和厚朴酚 8.0 mg, 各置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 作为对照品储备溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取厚朴不同部位样品细粉各 3 份, 厚朴根皮每份约 0.08 g, 厚朴干皮每份约 0.2 g, 厚朴枝皮每份约 0.2 g, 厚朴叶每份约 0.8 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 过夜后超声 30 min, 放冷再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置 10 mL 量瓶中, 摇匀, 即得。

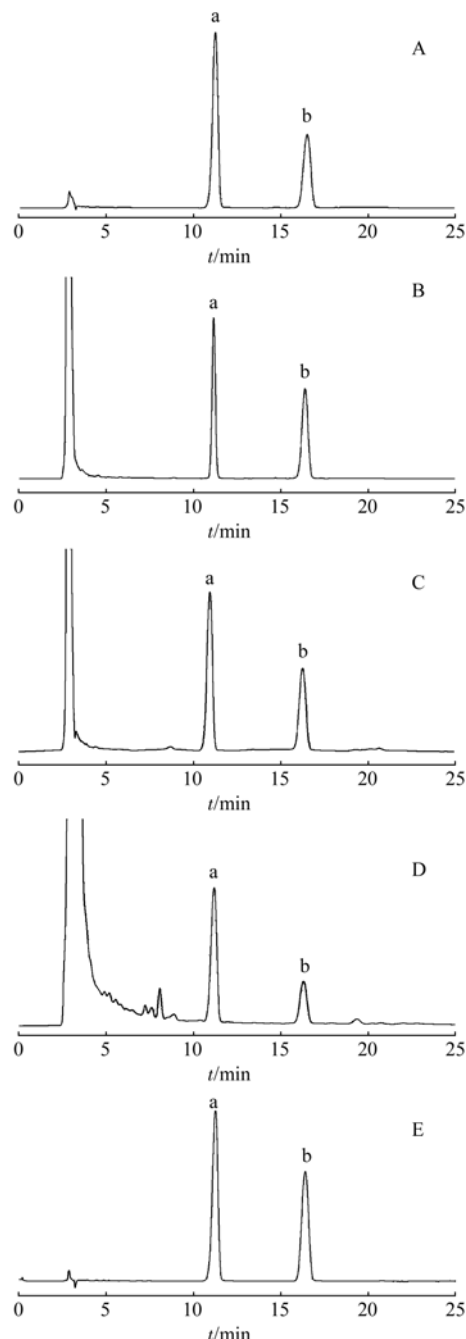


图 1 样品高效液相色谱图

A-厚朴根皮; B-厚朴干皮; C-厚朴枝皮; D-厚朴叶; E-对照品; a-和厚朴酚; b-厚朴酚

Fig 1 HPLC Chromatograms of samples

A-root bark of *Magnolia officinalis*; B-stem bark of *Magnolia officinalis*; C-branch bark of *Magnolia officinalis*; D-leaf of *Magnolia officinalis* E-reference substance; a-magnolol; b-honokiol

2.4 线性关系的考察

精密量取厚朴酚对照品储备液适量, 加甲醇制成 210, 105, 52.5, 26.25, 10.5 μg·mL⁻¹ 的系列标准溶液, 同时精密量取和厚朴酚对照品储备液适量, 加甲醇制成 160, 120, 80, 40, 20 μg·mL⁻¹ 的系列标准溶液。按“2.1”项下色谱条件进样测定,

进样量为 20 μL 。以色谱峰面积 A 作为纵坐标, 标准品溶液浓度 $C(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 作为横坐标, 计算得厚朴酚的回归方程: $A=58\,430C-136\,819$, $r=0.999\,6$, 结果表明厚朴酚在 $10.5\sim 210\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好; 和厚朴酚的回归方程: $A=38\,485C-36\,386$, $r=0.999\,5$, 结果表明厚朴酚在 $20\sim 160\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.5 仪器精密性试验

按“2.1”项下色谱条件, 分别精密吸取厚朴酚甲醇溶液($52.5\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)与和厚朴酚甲醇溶液($80\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)各 $20\,\mu\text{L}$, 重复进样 6 次测定。厚朴酚的平均峰面积 $A=3\,023\,907$, RSD 为 1.91%, 和厚朴酚的平均峰面积 $A=3\,042\,408$, RSD 为 1.65%, 表明在此色谱条件下, 厚朴酚与和厚朴酚仪器精密性较好。

2.6 重复性试验

精密称取同一批厚朴干皮样品 6 份, 按“2.3”项下方法制备, 按“2.1”项下色谱条件测定, 分别进样 $20\,\mu\text{L}$, 按外标法计算其厚朴酚含量为 1.35%, RSD 为 2.46%, 和厚朴酚的含量为 0.95%, RSD 为 2.21%, 表明本实验方法重复性较好。

2.7 稳定性试验

按“2.1”项下色谱条件, 精密吸取同一厚朴干皮供试品溶液 6 份, 每份 $20\,\mu\text{L}$, 分别在室温下于 0, 2, 4, 8, 24, 32 h 进样, 记录峰面积并计算, 结果厚朴酚与和厚朴酚含量的 RSD 分别为 2.53% 和 2.18%, 表明厚朴干皮供试品溶液在 32 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

取已知厚朴酚与和厚朴酚含量的厚朴干皮样品细粉 6 份, 精密称定, 分别精密加入厚朴酚与和厚朴酚对照品溶液适量, 按照供试品溶液制备方法制备并测定, 计算平均回收率。结果厚朴酚的平均回收率为 98.3%, RSD=2.78%, 和厚朴酚的平均加样回收率为 98.9%, RSD=2.55%, 表明本实验供试品溶液制备方法具有较好的回收率, 结果见表 1 和表 2。

2.9 厚朴不同部位样品中厚朴酚与和厚朴酚的含量分析

分别精密吸取 3 批厚朴不同部位样品的供试品溶液各 $20\,\mu\text{L}$ 进样, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 以外标法计算样品中厚朴酚与和厚朴酚的含量, 结果见表 3。

表 1 厚朴干皮中厚朴酚的加样回收率测定结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery of Magnolol in Stem bark of *Magnolia officinalis*($n=6$)

取样品/ g	供试品含 有量/mg	对照品加 入量/mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.103	0.979	0.990	1.957	98.84	98.3	2.78
0.099	0.941	0.990	1.929	99.85		
0.095	0.903	0.990	1.923	103.08		
0.104	0.988	0.990	1.953	97.47		
0.110	1.045	0.990	1.989	95.35		
0.102	0.969	0.990	1.911	95.15		

表 2 厚朴干皮中和厚朴酚的加样回收率测定结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery of Honokiol in Stem bark of *Magnolia officinalis*($n=6$)

取样品/ g	供试品含 有量/mg	对照品加 入量/mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.103	1.391	1.320	2.724	101.02	98.9	2.55
0.099	1.337	1.320	2.653	99.73		
0.095	1.283	1.320	2.628	101.93		
0.104	1.404	1.320	2.661	95.23		
0.110	1.485	1.320	2.749	95.76		
0.102	1.377	1.320	2.691	99.55		

表 3 样品测定结果

Tab 3 The content results of samples

被测物含量/%	厚朴根皮	厚朴干皮	厚朴枝皮	厚朴叶
厚朴酚含量/%	2.68	0.95	0.78	0.13
和厚朴酚含量/%	5.54	1.35	1.29	0.30
总含量/%	8.22	2.30	2.07	0.43

3 讨论

本实验结果表明, 厚朴酚与和厚朴酚在厚朴不同部位中含量差异较大, 厚朴干皮和枝皮中厚朴酚与和厚朴酚的总含量分别为 2.30% 和 2.07%, 而厚朴根皮中厚朴酚与和厚朴酚的总含量达到 8.22%, 其厚朴酚与和厚朴酚的总含量约为干皮及枝皮中的 4 倍左右, 因此有必要对厚朴药材有效成分的分布规律进行深入研究, 为其质量控制方法研究奠定基础。本实验所用样品中厚朴根皮、干皮和枝皮中厚朴酚与和厚朴酚的含量, 均符合中国药典 2010 年版厚朴项下的标准, 但根皮中的含量较干皮和枝皮高出几倍, 差异性较大, 若在临床使用厚朴药材, 不同部位的厚朴饮片用量应有所区别。

其次, 从实验结果中发现, 厚朴叶中厚朴酚与和厚朴酚的总含量达到了 0.43%, 考虑到资源的可持续性, 厚朴叶资源具有较大开发价值。卫莹

芳等^[5]研究表明厚朴叶药用不具有毒性,且具有较强的镇咳和胃肠推进效果,药用价值明显;另外厚朴生长缓慢,生长周期较长,一般需要 10~15 年,因此厚朴药材的生产对资源破坏相当严重,与厚朴药材相比,厚朴叶资源丰富,可以每年采集,采集厚朴叶并不会破坏厚朴资源,在制备厚朴酚与和厚朴酚提取物方面具有较明显的优势,加强厚朴叶资源的开发与利用,将对缓解厚朴资源的匮乏及可持续利用起到促进作用。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 235.

- [2] CAO W G, ZHANG D, TAO Y D. Influence of processed methods on the content of magnolol in Cortex Magnoliae Officinalis by HPLC-ELSD [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2010, 21(11): 2795-2796.
- [3] MENG C, WU F, MA L. Content determination of magnolol and honokiol in "Hou-Pu" by HPLC [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2007, 19(6): 1024-1026.
- [4] LIU X P, JIANG N, XIANG D S, et al. Extraction and determination of magnolol and honokiol in magnolia leaves [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2007, 27(5): 694-696.
- [5] WEI Y F, LONG F, XIE D W, et al. Comparison of pharmacological effects between different extracts of leaf and bark of *Magnolia officinalis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2007, 19(5): 772-775.

收稿日期: 2011-11-01