

中图分类号: R932; R284.1; R286.0  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.23.013

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)23-0056-04



# 不同产地及树龄厚朴“发汗”过程中厚朴酚与和厚朴酚的含量变化\*

刘亚萍<sup>1</sup>, 周桂生<sup>2</sup>, 严 辉<sup>2</sup>, 曹雨诞<sup>2△</sup>

(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023)

**摘要:**目的 探讨厚朴“发汗”过程中厚朴酚与和厚朴酚的含量变化趋势。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法测定彭州20年树龄及雅安20年、40年树龄厚朴“发汗”过程中厚朴酚与和厚朴酚的含量。色谱柱为Wondasil C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(80:20, V/V), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为294 nm, 柱温为30℃, 进样量为10 μL。结果 厚朴酚与和厚朴酚的质量浓度分别在0.006 1~0.194 0 mg/mL、0.001 8~0.056 0 mg/mL范围内与各自峰面积线性关系良好( $r \geq 0.999 8$ ,  $n=6$ ); 检测限分别为0.000 97, 0.002 24 mg/mL, 定量限分别为0.012 10, 0.003 50 mg/mL; 精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于2.0%; 平均回收率分别为98.79%, 99.29%, RSD分别为1.71%, 1.20% ( $n=6$ )。彭州和雅安20年树龄厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量在“发汗”第7天达峰值, 分别为3.48%, 3.83%; 雅安40年树龄厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量在第5天达峰值, 为12.14%。结论 所建立的方法快速高效、准确度高、专属性强, 可用于厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的含量测定。树龄是厚朴“发汗”过程中厚朴酚与和厚朴酚含量变化的主要影响因素。  
**关键词:** 高效液相色谱法; 厚朴; “发汗”; 厚朴酚; 和厚朴酚; 含量测定

## Changes in the Content of Magnolol and Honokiol During the "Fahan" Process of *Magnolia officinalis* from Different Source Origins or with Different Tree Ages

LIU Yaping<sup>1</sup>, ZHOU Guisheng<sup>2</sup>, YAN Hui<sup>2</sup>, CAO Yudan<sup>2</sup>

(1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210029; 2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210023)

**Abstract:** **Objective** To investigate the changing trend of magnolol and honokiol content during the "Fahan" process of *Magnolia officinalis*. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for the content determination of magnolol and honokiol during the "Fahan" process of 20-year-old *Magnolia officinalis* from Pengzhou and 20-year-old and 40-year-old *Magnolia officinalis* from Ya'an. The chromatographic column was Wondasil C<sub>18</sub> column (150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol water (80:20, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 294 nm, the column temperature was 30℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of magnolol and honokiol were 0.006 1–0.194 0 mg/mL and 0.001 8–0.056 0 mg/mL ( $r \geq 0.999 8$ ,  $n=6$ ), respectively. The limits of detection were 0.000 97 mg/mL and 0.002 24 mg/mL, respectively, and the limits of quantification were 0.012 10 mg/mL and 0.003 50 mg/mL, respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0%. The average recoveries of magnolol and honokiol were 98.79% and 99.29%, with RSDs of 1.71% and 1.20% ( $n=6$ ), respectively. The content of magnolol and honokiol in 20-year-old *Magnolia officinalis* from Pengzhou and Ya'an reached its peak value on the 7th day of "Fahan" (3.48% and 3.83%, respectively). The content of magnolol and honokiol in 40-year-old *Magnolia officinalis* from Ya'an reached its peak value on the 5th day (12.14%). **Conclusion** The established method is quick, efficient, accurate, and highly specific, which can be used for the content determination of magnolol and honokiol in *Magnolia officinalis*. The age of trees is the main influencing factor of the changes in magnolol and honokiol in *Magnolia officinalis* during the "Fahan" process.  
**Key words:** HPLC; *Magnolia officinalis*; "Fahan"; magnolol; honokiol; content determination

厚朴为木兰科木兰属植物厚朴 *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<sup>[1]</sup>, 含木脂素类、生物碱类、苷类、挥发油等活性物质, 主要成分为厚朴酚与和厚朴酚<sup>[2]</sup>, 具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗抑郁、抗肿瘤等作用<sup>[3-5]</sup>。厚朴皮采收后的“发汗”处理是保证药材质量的重要环节<sup>[6]</sup>。“发汗”过程中酶促

反应不仅会对厚朴中木脂素类成分的含量产生影响, 还会导致炮制品的功效发生变化<sup>[7-8]</sup>。不同样品及“发汗”条件都会影响“发汗”的结果, 故研究厚朴“发汗”的影响因素是保证厚朴饮片质量的前提<sup>[9]</sup>。本研究中分析了四川雅安地区20年、40年树龄及彭州地区20年树龄厚朴“发汗”后的厚朴酚与和厚朴酚的含量变化, 为进一步探讨其“发汗”机制提供参考。现报道如下。

\*基金项目: 国家中药材产业技术体系综合试验站项目[CARS-21]。

第一作者: 刘亚萍, 女, 大学本科, 主任药师, 研究方向为临床药学, (电子信箱) Liu\_yaping70@163.com。

△通信作者: 曹雨诞, 女, 博士, 研究方向为中药分析及中药炮制, (电子信箱) raindc@163.com。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1290 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);FA1104 型分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司,精度为 0.1 mg);D3024R 型高速离心机(北京大龙仪器有限公司);SB-5200D 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司,功率为 240 W,频率为 40 kHz);YZYH-01 型铝锅(浙江省永康市立发工贸有限公司)。

### 1.2 试药

厚朴(采集地为四川雅安,树龄为 20 年,批号为 20201017,编号为 S1;树龄为 40 年,批号为 20200513,编号为 S2;采集地为四川彭州,树龄为 20 年,批号为 20200425,编号为 S3),经南京中医药大学药用植物教研室严辉教授鉴定为正品,并于中药化学实验室留样保存;厚朴酚对照品(批号为 MUST-20031614,纯度 $\geq 98\%$ ),和厚朴酚对照品(批号为 MUST-20032205,纯度 $\geq 98\%$ ),均购自成都曼斯特生物科技有限公司;甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司,批号为 20200909);超纯水由超纯水仪 Milli-Q DIRECT8 制得。

## 2 方法与结果

### 2.1 “发汗”样品制备

取厚朴样品,切段(30 cm),将铝锅(内径为 60 cm)中的水煮沸,放入厚朴段加热 8 min,将厚朴放入塑封袋(分别编号),并立即置烘箱(温度为 35℃)“发汗”。第 2~8 天按上法制备厚朴,分别得“发汗”第 1~8 天的样品。各样品于 40℃温度下干燥 5 d,粉碎,过 3 号筛,备用。

### 2.2 厚朴酚与和厚朴酚含量测定

#### 2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Wondasil C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(80:20,V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:294 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。取混合对照品溶液适量,按此色谱条件进样测定,厚朴酚与和厚朴酚目标峰分离效果良好,分离度均大于 1.5,理论板数按色谱峰计不低于 3 000。

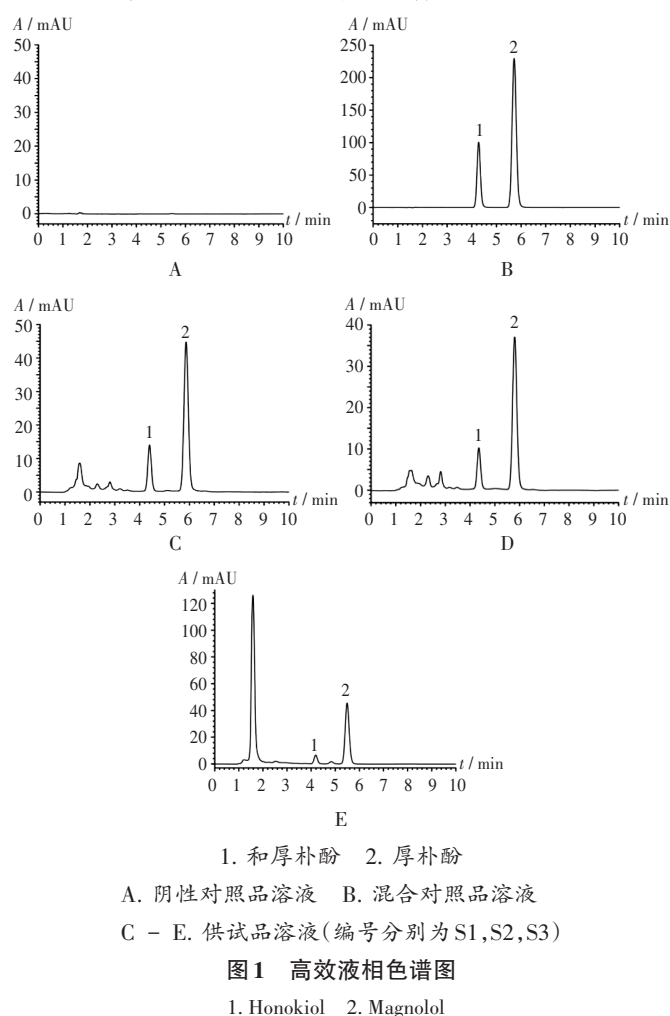
#### 2.2.2 溶液制备

分别取厚朴酚对照品 0.038 8 g、和厚朴酚对照品 0.011 2 g,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得单一对照品溶液。分别精密吸取上述厚朴酚对照品溶液 1.44 mL、和厚朴酚对照品溶液 17.32 mL,置同一 100 mL 容量瓶中,加甲醇定容,制成每 1 mL 分别含厚朴酚 0.056 mg、和厚朴酚 0.194 mg 的混合对照品溶液。取厚朴粉末 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 25 mL,摇匀,密塞,浸渍 24 h,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置 5 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,取 2 mL,置离心管中(转速为 13 000 r/min)离心 10 min,

即得供试品溶液。按供试品溶液制备方法制备未加入厚朴粉末的阴性对照品溶液。

#### 2.2.3 方法学考察

专属性试验:取 2.2.2 项下 3 种溶液各 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中,厚朴酚与和厚朴酚色谱峰保留时间与混合对照品溶液一致,且阴性对照无干扰。色谱图见图 1。



1. 和厚朴酚 2. 厚朴酚

A. 阴性对照品溶液 B. 混合对照品溶液

C - E. 供试品溶液(编号分别为 S1, S2, S3)

图 1 高效液相色谱图

1. Honokiol 2. Magnolol

A. Negative reference solution B. Mixed reference solution

C - E. Test solution (numbered S1, S2, S3)

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察与检测限(LOD)和定量限(LOQ)确定:分别精密吸取厚朴酚、和厚朴酚对照品贮备液各适量,加甲醇制成质量浓度和厚朴酚为 0.001 8, 0.003 5, 0.007 0, 0.014 0, 0.028 0, 0.056 0 mg/mL, 厚朴酚为 0.006 1, 0.012 1, 0.024 2, 0.048 5, 0.097 0, 0.194 0 mg/mL 的系列混合对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件分别进样测定,以对照品溶液质量浓度( $X, \mu\text{g/mL}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程  $Y_{\text{和}} = 17\,645 X_{\text{和}} + 7.259\,3$  ( $r = 0.999\,8, n = 6$ ) 和  $Y_{\text{厚}} = 14\,360 X_{\text{厚}} + 10.207$  ( $r = 0.999\,9, n = 6$ )。结果表明,和厚朴酚与厚朴酚的质量浓度分别在 0.001 8~0.056 0 mg/mL 和

0.006 1~0.194 0 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。分别以信噪比( $S/N$ )为 3 和 10 时的响应值为 LOD 和 LOQ,结果和厚朴酚的 LOD 和 LOQ 分别为 0.002 24, 0.003 50 mg/mL,厚朴酚的 LOD 和 LOQ 分别为 0.000 97, 0.012 10 mg/mL。

精密度试验:取 2.2.2 项下混合对照品溶液适量,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果和厚朴酚与厚朴酚峰面积的  $RSD$  分别为 0.43% 和 0.53% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(编号为 S3)适量,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置 0,2,4,6,8,12,24,48 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果和厚朴酚与厚朴酚峰面积的  $RSD$  分别为 1.53%,1.24% ( $n=8$ ),表明供试品溶液室温放置 48 h 内稳定性良好。

重复性试验:取同一批样品(编号为 S3)适量,精密称定,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,平行 6 份,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果和厚朴酚与厚朴酚的含量分别为 0.037 8, 0.053 8 mg/mL,  $RSD$  分别为 0.78%,0.75% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(编号为 S3)0.1 g,精密称定,加和厚朴酚 0.472 5 mg、厚朴酚 0.672 5 mg,按 2.2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,并计算回收率。结果见表 1。

2.2.4 样品含量测定

取 3 批样品(编号为 S1-S3),均“发汗”1~8 d,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果见表 2。可见,彭州 20 年树龄和雅安 20 年树龄厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的总含量均在第 7 天达峰值(分别为 3.48%,3.83%);而雅安 40 年树龄厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的总含量在第 5 天达峰值(12.14%),第 7 天后快速下降。

3 讨论

厚朴“发汗”后,可增强其促胃肠动力的作用,同时可避免有害代谢物产生,达到增效减毒作用<sup>[10]</sup>。但厚朴“发汗”后,其木脂素含量不稳定。因此,本研究中通过模拟四川省气温、湿度条件进行了厚朴“发汗”过程中木脂素含量变化研究,以探讨厚朴中木脂素含量在“发汗”过程中的变化规律。

本研究结果显示,彭州和雅安地区 20 年树龄厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量差异不大,且均表现出增加、降低、再增加的变化规律,并在第 7 天达峰值;而雅安 40 年树龄厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量在第 5 天达峰值,并在第 7 天快速下降。可见,四川省当地的厚朴药材质量与产地关联性较小,但与树龄关系密切。本研究结果与前期厚朴“发汗”工艺中厚朴酚与和厚朴酚含量一直升高的现象有明显差异<sup>[11]</sup>。其原因可能为,前期研究中采用薄膜覆盖法,药材下部可以通风,未出现发霉现象;而本研究中,由于模拟四川省当地气温和湿度,样品直

表 1 加样回收试验结果( $n=6$ )

Tab.1 Results of the recovery test ( $n=6$ )

| 取样量(g)  |          | 样品含量(mg) |         | 加入量(mg) |         | 测得量(mg) |         | 回收率(%) |        | $\bar{X}$ (%) |       | $RSD$ (%) |      |
|---------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|---------------|-------|-----------|------|
| 和厚朴酚    | 厚朴酚      | 和厚朴酚     | 厚朴酚     | 和厚朴酚    | 厚朴酚     | 和厚朴酚    | 厚朴酚     | 和厚朴酚   | 厚朴酚    | 和厚朴酚          | 厚朴酚   | 和厚朴酚      | 厚朴酚  |
| 0.106 3 | 0.098 7  | 0.502 2  | 0.663 7 | 0.472 5 | 0.672 5 | 0.975 5 | 1.315 2 | 100.17 | 96.88  | 99.29         | 98.79 | 1.20      | 1.71 |
| 0.099 7 | 0.110 2  | 0.471 0  | 0.741 1 | 0.472 5 | 0.672 5 | 0.935 9 | 1.416 5 | 98.39  | 100.43 |               |       |           |      |
| 0.114 5 | 0.099 6  | 0.541 0  | 0.669 8 | 0.472 5 | 0.672 5 | 1.004 0 | 1.338 6 | 97.99  | 99.45  |               |       |           |      |
| 0.109 8 | 0.106 9  | 0.518 8  | 0.718 9 | 0.472 5 | 0.672 5 | 0.996 9 | 1.368 5 | 101.19 | 96.59  |               |       |           |      |
| 0.102 6 | 0.099 87 | 0.484 7  | 0.671 6 | 0.472 5 | 0.672 5 | 0.952 3 | 1.346 9 | 98.96  | 100.42 |               |       |           |      |
| 0.101 1 | 0.102 6  | 0.477 6  | 0.689 9 | 0.472 5 | 0.672 5 | 0.945 6 | 1.355 3 | 99.05  | 98.94  |               |       |           |      |

表 2 不同地区和树龄厚朴样品中厚朴酚与和厚朴酚含量测定结果(含量/ $RSD$ ,%)

Tab.2 Results of content determination of magnolol and honokiol in *Magnolia officinalis* from different source regions or with different tree ages (content/ $RSD$ ,%)

| 发汗时间 | 样品 S1     |           |           | 样品 S2     |           |            | 样品 S3     |           |           |
|------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
|      | 厚朴酚       | 和厚朴酚      | 总含量       | 厚朴酚       | 和厚朴酚      | 总含量        | 厚朴酚       | 和厚朴酚      | 总含量       |
| 1 d  | 1.76/0.12 | 1.14/0.08 | 2.90/0.35 | 5.44/0.01 | 3.26/0.10 | 8.70/1.20  | 2.13/0.23 | 0.65/0.52 | 2.78/0.88 |
| 2 d  | 2.26/0.26 | 0.22/0.03 | 2.48/1.13 | 1.90/0.05 | 1.04/0.02 | 2.94/0.47  | 2.74/0.04 | 0.48/0.00 | 3.22/1.24 |
| 3 d  | 1.78/0.21 | 1.08/0.15 | 2.86/0.42 | 3.34/0.09 | 2.71/0.07 | 6.05/0.35  | 2.37/0.00 | 0.41/0.01 | 2.78/1.07 |
| 4 d  | 2.37/0.13 | 0.51/0.05 | 2.88/1.02 | 1.82/0.06 | 1.04/0.04 | 2.86/0.43  | 1.26/0.05 | 0.20/0.01 | 1.46/0.58 |
| 5 d  | 0.62/0.07 | 0.29/0.04 | 0.91/0.19 | 8.44/0.08 | 3.70/0.03 | 12.14/2.59 | 0.67/0.04 | 0.48/0.01 | 1.15/0.10 |
| 6 d  | 1.51/0.14 | 0.34/0.03 | 1.85/0.65 | 7.93/0.02 | 3.48/0.00 | 11.41/2.44 | 0.60/0.01 | 0.44/0.01 | 1.04/0.09 |
| 7 d  | 2.33/0.47 | 1.50/0.36 | 3.83/0.59 | 3.21/0.04 | 2.69/0.03 | 5.90/0.29  | 2.51/0.10 | 0.97/0.41 | 3.48/0.89 |
| 8 d  | 1.23/0.17 | 0.08/0.02 | 1.31/0.64 | 2.85/0.78 | 2.43/1.16 | 5.28/0.92  | 1.40/0.59 | 0.48/0.17 | 1.88/0.63 |