

物改善微循环,瘀血去除,耳窍得养,使耳鸣症状减轻或消失。

综上所述,通窍活血方联合前列地尔注射液治疗突发性耳聋能够提高听力,改善耳鸣症状,疗效显著。

参 考 文 献

- [1] 张爽,武秀芳,袁媛,等. 突发性耳聋患者中医辨证分型与纯音测听指标的对照[J]. 中国临床康复,2006,10(27):22-24.
- [2] 孙亮. 突发性耳聋的病因及预后因素研究进展[J]. 海南医学,2013,24(13):1967-1969.
- [3] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会. 突发性耳聋的诊断和治疗指南[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2006,41(7):569.
- [4] 王永钦. 中医耳鼻咽喉口腔科学[M]. 人民卫生出版社,2001:322-342.
- [5] 孟照莉,郑芸,王恺. 推荐一种耳鸣主观评估量表[J]. 听力学及言语疾病杂志,2007,15(4):325-327.
- [6] 刘双,胡连生,吕洪. 突发性耳聋临床研究述要[J]. 中医药学刊,2004,22(11):2107-2108.
- [7] 梁丹,黎万荣. 突发性耳聋的临床研究进展[J]. 医学综述,2008,14(4):595-597.
- [8] 刘建华,刘巧平,刘大新,等. 108 例突发性耳聋临床资料分析[J]. 北京中医药大学学报,2000,23(5):64-65.
- [9] 何根云. 丹参的药理作用与临床应用[J]. 浙江中西医结合杂志,2011,21(2):124-125.
- [10] 任鹏飞,邓毅. 当归及其有效成分药效学研究进展[J]. 西部中医药,2012,25(9):125-127.
- [11] 石磊,郑际伦,热阳古力·努尔麦提,等. 突发感音神经性耳聋患者血清一氧化氮与 C 反应蛋白检测的意义[J]. 右江医学,2009,37(2):173-174.

(收稿日期:2014-07-29)

(本文编辑:蒲晓田)

云厚朴醇提取物中厚朴酚与和厚朴酚降解动力学研究

孙海林 朱培芳 李文军 魏泽英

【摘要】 目的 研究云厚朴醇提取物中厚朴酚、和厚朴酚在贮藏、浓缩、干燥工序中的降解规律。**方法** 通过高效液相色谱法测定云厚朴醇提取物中厚朴酚与和厚朴酚在不同贮藏、浓缩、干燥条件下的含量变化,得出降解规律。**结果** 云厚朴醇提液在室内常温下贮藏 20 天,和厚朴酚、厚朴酚含量基本不变;云厚朴醇提液在 60℃ 浓缩和干燥,厚朴酚及和厚朴酚的降解动力学符合零级反应,在 100℃ 降解较快。**结论** 云厚朴醇提液在室温下贮藏 20 天基本稳定,但是不能长时间在高温条件下浓缩、干燥,以免有效成分损失,在 100℃ 干燥时降解较快,制剂生产中应避免醇提液长时间高温干燥、浓缩。

【关键词】 云厚朴; 厚朴酚; 和厚朴酚; 动力学; 高效液相色谱

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.10.007

Study on degradation kinetics of magnolol and honokiol in the ethanol extraction of magnolia rostrata SUN Hai-lin, ZHU Pei-fang, LI Wei-jun, et al. Pharmacy School, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Corresponding author: WEI Ze-ying, E-mail: janewei7@hotmail.com

【Abstract】 Objective To study degradation law of magnolol and honokiol in the ethanol extraction of *magnolia rostrata* during storage, concentrating and drying. **Methods** To find the law of degradation, the contents of magnolol and honokiol were tested by high performance liquid chromatography under storage, concentrating and drying conditions. **Results** The content of magnolol and honokiol in the ethanol

基金项目:云南省教育厅科学研究基金理工类重点项目(2012Z128C)

作者单位:650500 昆明,云南中医学院药学院

作者简介:孙海林(1977-),硕士,讲师。研究方向:有机化学和药物稳定性。E-mail: sunhailin123456@sina.com

通讯作者:魏泽英(1964-),硕士,副教授。研究方向:物理化学和药物稳定性。E-mail: janewei7@hotmail.com

extraction remained almost the same within 20 days when kept indoors. The degradation reactions of magnolol and honokiol were zero-order when concentrating at 60℃ and drying. When drying at 100℃, the rate of degradation was faster. **Conclusion** Magnolol and honokiol in the ethanol extraction are almost stable within 20 days when kept indoors, but can not be dried and concentrated longer under higher temperature. The rate of degradation is faster when drying at 100℃. In order to ensure the preparation quality, higher temperature and longer time should be avoided during drying and concentrating for the ethanol extraction of *magnolia rostrata*.

【Key words】 *Magnolia rostrata*; Magnolol; Honokiol; Kinetics; High performance liquid chromatography

中药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,有燥湿消痰、下气除满^[1]等功效,现代药理学研究表明厚朴活性成分具有抗菌、抗病毒、抗过敏、抑制癌细胞等作用^[2]。由于资源减少,大批厚朴被提前采收,造成厚朴药材质量下降,寻找厚朴替代品具有现实意义。

云厚朴为木兰科植物滇缅厚朴 *Magnolia rostrata* W. W. Smith 的干燥干皮、根皮及枝皮,主产于滇西北地区,云厚朴又名贡山厚朴、大叶厚朴、大叶木兰、大厚朴、腾冲厚朴等,目前对云厚朴的研究报道极少。云厚朴所含主要成分与正品厚朴相似、药效也相似,为地方习用药材,常作为厚朴替代品使用,因此有必要对云厚朴进行系统研究^[3]。

厚朴提取物用于多种复方药,如藿香正气水、保济丸等。《中华人民共和国药典》(一部)以厚朴酚与和厚朴酚的总量作为厚朴药材的限量标准,在提取、浓缩、干燥等工序中,由于热不稳定性,厚朴酚、和厚朴酚会发生氧化分解^[4],导致药物制剂质量不稳定。传统醇提法,由于提取、浓缩、干燥过程温度高且时间长,厚朴有效成分损失严重。本文对云厚朴醇提取物中的厚朴酚、和厚朴酚在贮放、干燥、浓缩等过程进行降解动力学研究,以期发现醇提取物的降解规律,为药物制剂的稳定性研究、质量控制提供数据支撑。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪;AL204 电子天平(梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司);BUCHI-R-200 旋转蒸发仪(瑞士);SK3300LH 超声清洗器(功率 160W,上海汉克科学仪器有限公司);HH-6 数显

恒温水浴锅(国华电器有限公司);DHG-9055A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司)。

1.2 试药

云厚朴药材购于昆明菊花村药材市场,经云南中医学院杨树德教授鉴定为木兰科植物滇缅厚朴的干燥干皮;厚朴酚对照品(批号:110729-200411)购于中国药品生物制品检定所,和厚朴酚对照品(批号:110730-201112,99.8%)购于中国食品药品检定研究院;甲醇(美国 Fisher 公司,色谱纯),其它试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取厚朴酚对照品 3.50 mg,和厚朴酚对照品 5.00 mg,置于 50 ml 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即为厚朴酚、和厚朴酚浓度分别为 0.07 mg/ml、0.1 mg/ml 的混合对照品溶液,备用。

2.1.2 云厚朴醇提液的制备 取干燥云厚朴 30 g(粉碎),分别用 10 倍量(300 ml)、8 倍量(240 ml)80%的乙醇回流提取 1.5 小时,趁热抽滤,合并两次滤液,置于冰箱中,备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 用移液管精密量取云厚朴醇提液 1 ml 于事先精确称重的锥形瓶中,挥干乙醇,放入 60℃干燥箱 5 分钟,使残留的水分蒸干,取出,冷却后精确称重。用甲醇溶解,并完全转移到 25 ml 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即为供试品溶液。

2.1.4 色谱条件 Agilent 1200 系列,Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1%冰乙酸(73:27);流速:1.0 ml/min;检测波长:294 nm;柱温:25℃;进样量:10 μl;停止时间:20 分钟。

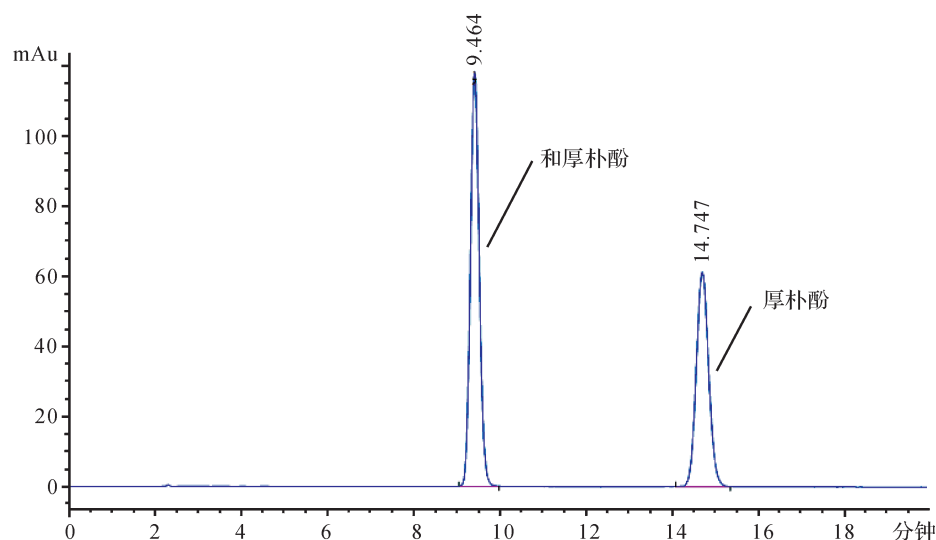


图1 厚朴酚对照品、和厚朴酚对照品混合溶液色谱图

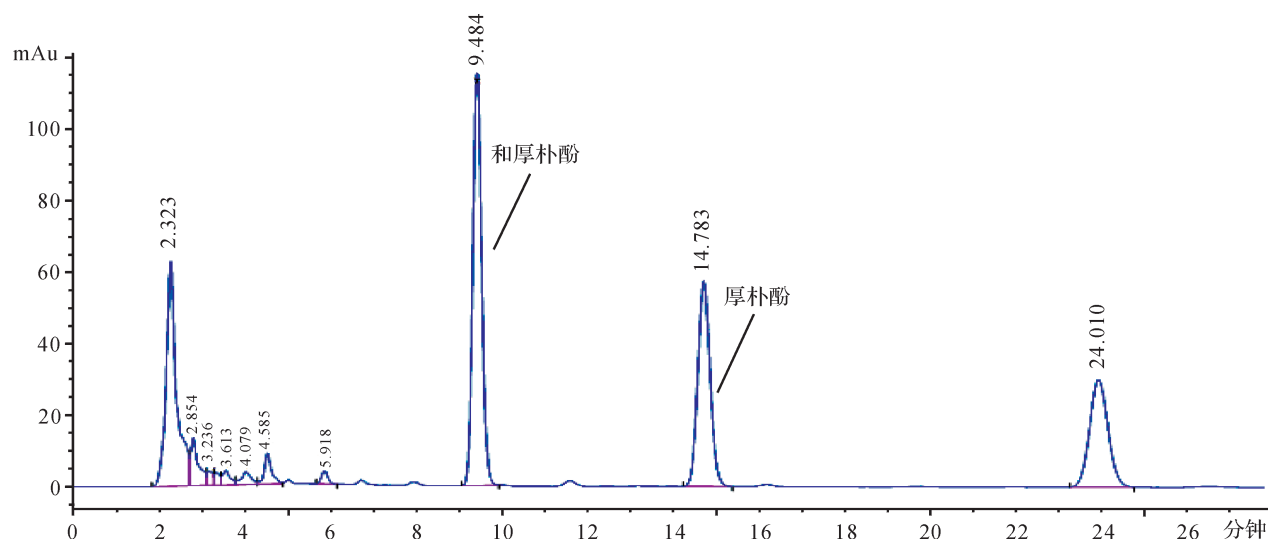


图2 云厚朴醇提溶液色谱图

2.1.5 色谱图 精密吸取上述混合对照品溶液和供试品溶液按照上述色谱条件进行测定,结果对照品和供试品分别在相同保留时间出峰,见图1、图2。

2.1.6 线性关系考察 利用 Agilent 1200 自动进样器吸取上述混合对照品溶液,分别进样 4、6、8、10、12、14、16 μl ,按上述色谱条件进行测定(每个浓度进样 2 次,下同)。以峰面积为纵坐标 y ,对照品的进样量(μg)为横坐标 x ,进行线性回归计算,回归方程如下:和厚朴酚 $y = 368.49x + 361.24$ ($r = 0.9999$),在 0.40 ~ 1.60 μg 进样量范围内线性关系良好;厚朴酚 $y = 250.79x + 245.90$ ($r = 0.9999$),在 0.28 ~ 1.12 μg 进样量范围内线性关系良好。

2.1.7 精密度考察 取已制备好的厚朴酚、和厚朴酚对照品混合溶液,按上述色谱条件,连续进样测

定 6 次,每次 10 μl ,测定峰面积。测得:厚朴酚 $RSD = 0.100\%$,和厚朴酚 $RSD = 0.173\%$ 。结果表明仪器精密度良好。

2.1.8 稳定性考察 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液。从 0 小时开始,每间隔 2 小时进样 10 μl ,连续测定 12 小时。测得:厚朴酚 $RSD = 0.180\%$,和厚朴酚 $RSD = 0.169\%$,结果表明,供试品溶液在 12 小时内基本稳定。

2.1.9 重复性考察 制备供试品溶液 6 份,注射到进样瓶中,按上述色谱条件测量。结果测得:厚朴酚峰面积的 $RSD = 0.117\%$,和厚朴酚峰面积的 $RSD = 0.119\%$ 。表明本方法重复性良好。

2.1.10 加样回收率考察 取已知含量的供试品溶液 6 份,分别加入混合对照品溶液适量,用甲醇稀

释,定容后摇匀,按照上述色谱条件进样,每次 10 μl , 计算回收率。结果,厚朴酚回收率为 98.498%,和厚朴酚回收率为 98.373%。表明本方法加样回收率较好。

2.2 醇提液贮放阶段的降解动力学考察

取云厚朴醇提液适量,置具塞锥形瓶中,保鲜膜封好后在室内常温下放置,间隔一定时间取出样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液。用注射器吸取适量过滤(滤头直径 0.45 μm)至高效液相色谱的进样瓶中,测定含量。实验设置 5 个平行组,结果表明,云厚朴醇提液在室内常温下贮放 20 天,和厚朴酚、厚朴酚含量基本不变。见表 1。

表 1 云厚朴贮放阶段厚朴酚与和厚朴酚含量($\bar{x} \pm s$, mg/g)

时间(天)	和厚朴酚含量	厚朴酚含量
0	41.16 \pm 0.48	27.40 \pm 0.36
5	41.19 \pm 0.55	27.48 \pm 0.48
10	41.13 \pm 0.37	27.33 \pm 0.67
15	41.14 \pm 0.73	27.46 \pm 0.43
20	41.16 \pm 0.54	27.34 \pm 0.64

注:含量均折算成药材标示含量

2.3 醇提液浓缩工序的降解动力学考察

取云厚朴醇提液适量,灌封于 2 ml 安瓿中,放置在 60℃ 水浴中加热,间隔一定时间取出样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液。用注射器吸取适量过滤(滤头直径 0.45 μm)至高效液相色谱的进样瓶中,测定含量。实验设置 5 个平行组。

经回归分析,得和厚朴酚回归方程 $c = 41.214 - 0.0103t$ ($r = -0.9913$),结果表明云厚朴醇提液在 60℃ 浓缩时,和厚朴酚降解动力学符合零级反应方程:降解速率常数 $k = 1.03 \times 10^{-2} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,半衰期 $t_{1/2} = c_0/2k = 2000.7$ 小时 = 83.4 天,降解 10% 的时间 $t_{0.9} = 0.1c_0/k = 400.1$ 小时 = 16.7 天。见图 3。

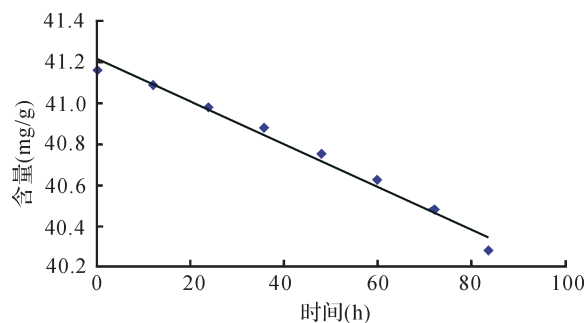


图 3 和厚朴酚不同浓缩工序降解 $c-t$ 图

厚朴酚回归方程 $c = 27.353 - 0.0092t$ ($r = -0.9817$),结果表明云厚朴醇提液在 60℃ 浓缩时,厚朴酚降解动力学符合零级反应方程:降解速率常数 $k = 9.2 \times 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,半衰期 $t_{1/2} = c_0/2k = 1486.6$ 小时 = 61.9 天,降解 10% 的时间 $t_{0.9} = 0.1c_0/k = 297.3$ 小时 = 12.4 天。见图 4。

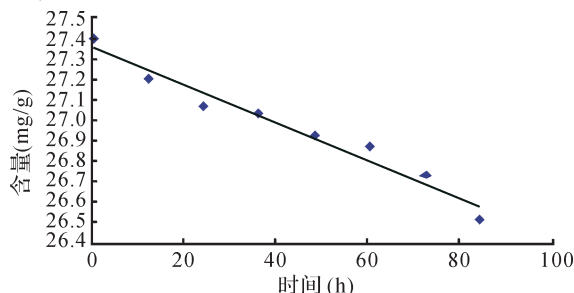


图 4 厚朴酚不同浓缩工序降解 $c-t$ 图

2.4 醇提液干燥工序的降解动力学考察

取云厚朴醇提液 1 ml 于锥形瓶中,挥干乙醇,分别放入 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 的干燥箱中进行干燥,间隔一定时间取出干燥后的样品,冷却至室温后,用甲醇溶解并完全转移到 25 ml 的容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。用注射器吸取适量过滤(滤头直径 0.45 μm)至高效液相色谱的进样瓶中,测定含量。实验设置 5 个平行组。

经回归分析,云厚朴醇提液在 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 条件下干燥,和厚朴酚降解符合零级反应动力学方程,Arrhenius 方程为 $\ln k = 5816.6 \times 1/T + 13.435$ ($r = 0.9358$),由 Arrhenius 方程计算出干燥工序和厚朴酚降解的活化能 $E = 5816.6 \times 8.314 \times 10^{-3} = 48.4 \text{ kJ/mol}$ 。见表 2、图 5。

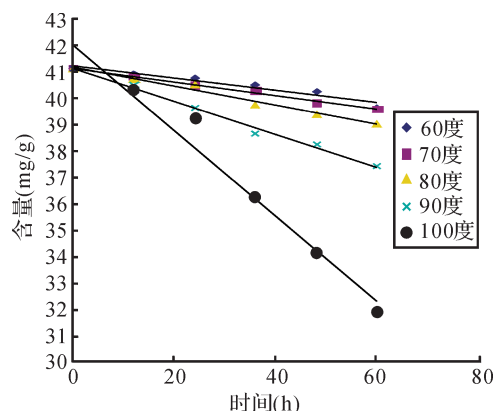


图 5 和厚朴酚不同干燥工序降解 $c-t$ 图

经回归分析,云厚朴醇提液在 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 干燥工序,厚朴酚降解符合零级反应动力学方程,Arrhenius 方程为 $\ln k = 5854.9 \times 1/T +$

表 2 和厚朴酚干燥工序回归方程

温度 T (K)	回归方程	r	$k(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	$t_{1/2}$ (天)
333	$c = 41.270 - 0.0232t$	-0.9689	0.0232	37.1
343	$c = 41.171 - 0.0260t$	-0.9969	0.0260	33.0
353	$c = 41.192 - 0.0360t$	-0.9930	0.0360	23.8
363	$c = 41.173 - 0.0622t$	-0.9959	0.0622	13.8
373	$c = 42.015 - 0.1604t$	-0.9837	0.1604	5.5

表 3 厚朴酚干燥工序回归方程

温度 T (K)	回归方程	r	$k(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	$t_{1/2}$ (天)
333	$c = 27.427 - 0.0248t$	-0.9970	0.0248	23.0
343	$c = 27.696 - 0.0571t$	-0.9705	0.0571	10.1
353	$c = 27.609 - 0.0732t$	-0.9920	0.0732	7.9
363	$c = 26.626 - 0.0918t$	-0.9678	0.0918	6.0
373	$c = 27.300 - 0.2065t$	-0.9904	0.2065	2.8

13.985 ($r = 0.9706$), 由 Arrhenius 方程计算出干燥工序厚朴酚降解的活化能 $E = 5854.9 \times 8.314 \times 10^{-3} = 48.7\text{kJ/mol}$ 。见表 3、图 6。

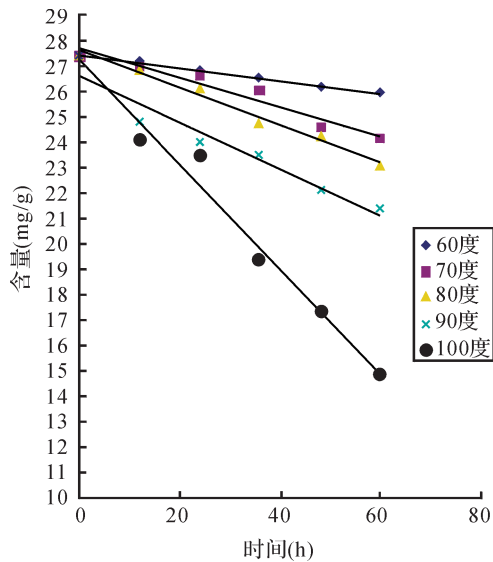


图 6 厚朴酚不同干燥工序降解 $c-t$ 图

3 小结与讨论

在室内常温下贮放 20 天, 云厚朴醇提液中的有效成分厚朴酚及和厚朴酚含量基本保持不变; 在

60℃ 条件下浓缩时, 厚朴酚及和厚朴酚均有损失, 其降解动力学符合零级反应; 在 60℃、70℃、80℃、90℃、100℃ 条件下干燥, 厚朴酚、和厚朴酚降解符合零级反应动力学方程; 在 100℃ 干燥时, 厚朴酚损失 10% 的时间仅为 0.6 天, 和厚朴酚为 1.1 天。

在醇提生产云厚朴制剂的过程中, 应尽量避免云厚朴醇提液长时间在高温条件下浓缩、干燥, 以免有效成分损失, 导致制剂质量不稳定、降低疗效。

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 235.
[2] 李平, 何文妮, 孙博航, 等. 厚朴的提取方法及质量分析考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(9): 736-739.
[3] 朱培芳, 孙海林, 李文军, 等. HPLC 测定云厚朴中厚朴酚及和厚朴酚含量[J]. 光谱实验室, 2013, 30(5): 2155-2159.
[4] Su ZR, Dong TX, Lo CK, et al. Heat-induced Degradation of Magnolol and Honokiol in Supercritical Fluid CO₂ Extraction of Cortex *Magnolia Officinalis* (Houpo) [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2002, 37(11): 870-875.

(收稿日期: 2013-12-01)

(本文编辑: 董历华)