

高效阳离子交换色谱法测定大腹皮中槟榔碱的含量

高珊珊

(广州医科大学附属第三医院中药房, 广州 510150)

摘要 目的 建立大腹皮中槟榔碱的含量测定方法。方法 以高效液相色谱仪测定槟榔碱, 采用 partisil 10 SCX 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm), 柱温 25 ℃; 流动相为乙腈-磷酸 (5→1 000, 三乙胺调 pH3.8) (60:40), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 215 nm。结果 槟榔碱在 20 min 内分离良好, 精密度实验 RSD = 0.69% (n=5), 重复性实验 RSD = 0.20% (n=6), 稳定性实验 RSD = 0.24% (n=6), 加样回收率 96.00%, RSD = 1.8% (n=6)。结论 该法快捷、简便、专属性强、灵敏度高, 可应用于控制大腹皮药材及其他成方制剂中槟榔碱的含量。

关键词 大腹皮; 槟榔碱; 色谱法, 高效液相; 色谱, 阳离子交换

中图分类号 R281.1; R927.2

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2015)08增-0085-02

大腹皮为棕榈科植物槟榔 (*Area catechu* L.) 的干燥果皮, 略呈椭圆形或长卵形瓢状, 体轻、质硬, 气微、味微涩。有下气宽中、行水消肿的功效。本品以色黄白、质柔韧、无杂质者为佳^[1]。槟榔的有效成分是生物碱, 含量为 0.3% ~ 0.6%, 其中以槟榔碱 (Arecoline) 为主, 其含量为 0.1% ~ 0.5%, 其余为槟榔次碱、去甲基槟榔碱、去甲基槟榔次碱、槟榔副碱和高槟榔碱等, 它们均与鞣酸结合而存在^[2]。由于槟榔碱性质不稳定, 有一定毒性, 过量易引起流涎、呕吐、利尿、昏睡及惊厥, 甚至胸闷, 出汗, 头昏致休克, 不可吞食, 槟榔果实有致癌作用, 大腹皮有毒性, 目前没有相关论述大腹皮中槟榔碱含量的测定方法, 故本研究选用阳离子交换高效液相色谱柱测定 10 批大腹皮饮片中的槟榔碱的含量, 结果报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪 (配 DAD、低压四元泵、在线脱气装置、自动进样器), Chem Station 工作站 (安捷伦科技有限公司), SK3200LHC 超声波清洗器 (上海精密实验设备有限公司), DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精密实验设备有限公司), PHS-3C 型酸度计 (上海伟业仪器厂), BP211D 电子天平。

1.2 试剂 乙腈为色谱纯 (批号: I078130 303, Merck KgaA 64271 Darmstadt Gemany), 超纯水, 其他试剂均为分析纯 (广东省化学试剂工程技术研究开发中心)。氢溴酸槟榔碱对照品 (批号: 111684-200401, 中国食品药品检定研究院), 大腹皮饮片 (1 号批号: 70B090105, 亳州市中信中药饮片厂生产; 2 号批号: 11B080315, 3 号批号: 090520, 4 号批号: 090701, 5 号批号: 090201, 6 号批号: 090820, 7 号批号: 090301, 均由广州致信中药饮片有限公司生产; 8 号批号: 20070801, 9 号批号: 20070301, 10 号批号: 20070701, 均由深圳一致药业股份有限公司药材加工厂生产), 大腹皮药材产地均为海南。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Partisil 10 SCX 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm),

流动相为乙腈(A)-磷酸(B) (5→1000, 三乙胺调 pH3.8) (60:40), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 25 ℃, 检测波长为 215 nm。供试品色谱与氢溴酸槟榔碱对照品色谱见图 1。

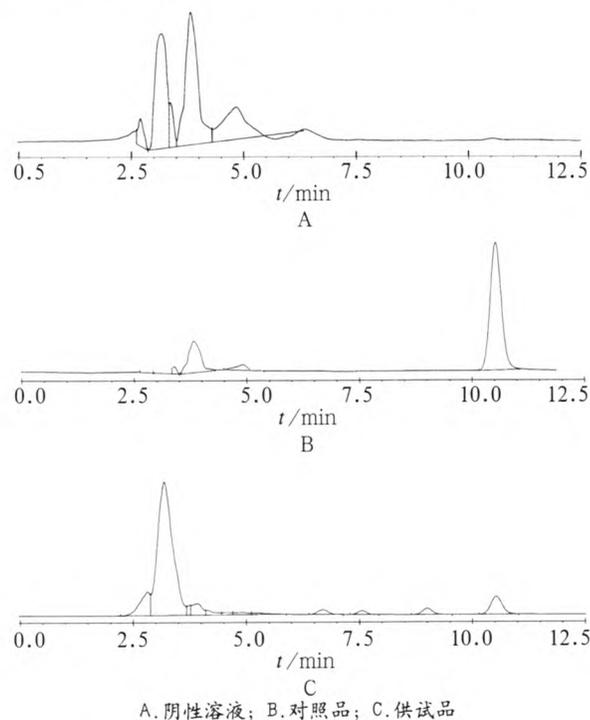


图 1 大腹皮与氢溴酸槟榔碱高效液相色谱图

2.2 对照品溶液的制备 精密称取氢溴酸槟榔碱对照品 0.014 94 g, 加甲醇溶解, 定容至 50 mL 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。其浓度为 0.298 8 mg · mL⁻¹。

2.3 供试品溶液的制备 取供试品粗粉, 精密称定 (1 号 0.300 24 g, 2 号 0.300 18 g, 3 号 0.300 07 g, 4 号 0.300 74 g, 5 号 0.300 23 g, 6 号 0.299 55 g, 7 号 0.301 17 g, 8 号 0.300 35 g, 9 号 0.300 09 g, 10 号 0.301 48 g), 置 100 mL 具塞三角瓶中, 精密加入甲醇溶液 30 mL, 超声提取 40 min, 摇匀, 滤过, 取上清液 1.5 mL, 用微孔滤膜孔径 (0.45 μm) 滤过 (置于 Agilent 瓶中), 即得。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 20, 40, 60, 80, 100 μL, 配制成浓度 5.976, 11.952, 17.928, 23.904, 29.880 μg

收稿日期 2014-09-15 修回日期 2014-11-28

作者简介 高珊珊 (1987-), 女, 河北唐山人, 中药师, 学士, 研究方向: 中药制药。电话: 020-81292703, E-mail: gss19870410@126.com。

· mL⁻¹的溶液各 1 mL,横坐标为浓度,纵坐标为峰面积,在 5.000 ~ 30.000 μg · mL⁻¹之间呈良好的线性关系,回归方程为 $Y = 43.23X - 42.574$, $r = 0.9996$ 。

2.5 精密度实验 取 3 号供试品溶液,按上述液相色谱条件,连续进样 5 次,测定 RSD 为 0.69% ($n = 5$),表明精密度良好。

2.6 重复性实验 精密称取 3 号样品 6 份,按样品溶液制备方法制备,按色谱条件测定,计算槟榔碱含量平均值为 0.28%,RSD 为 0.20% ($n = 6$)。

2.7 稳定性实验 取新制备的样品溶液,室温放置,分别于 0, 4, 6, 8, 12, 24, 36 h 在本实验色谱条件下测定。以峰面积值为指标计算 RSD,考察供试品溶液的稳定性。结果槟榔碱的 RSD 为 0.24% ($n = 6$),表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.8 加样回收实验 分别精密称取同一供试品粉末 0.100 02, 0.100 06, 0.150 42, 0.150 37, 0.201 49, 0.202 62 g, 分别精密加入对照品母液 3.0 mL,按供试品测定法,依法平行操作,计算回收率。平均回收率 96.00%,RSD = 1.8%,结果见表 1。

表 1 槟榔碱加样回收结果

原有量	加入量	测得量	回收率/%
mg			
0.280 1	0.896 4	1.138 9	95.81
0.280 2	0.896 4	1.145 2	96.50
0.421 2	0.896 4	1.265 1	94.14
0.421 0	0.896 4	1.308 6	99.02
0.564 2	0.896 4	1.411 3	94.50
0.567 3	0.896 4	1.428 0	96.02

2.9 样品含量测定 在上述色谱条件下进样,每个批号样品进样 5 次,测定槟榔碱的含量,为 5 次测得结果的平均值。测定结果见表 2。

表 2 10 批样品中槟榔碱的含量 $n = 5$

编号	批号	槟榔碱的含量/%
1	70B09015	0.19
2	11B080315	0.20
3	090520	0.28
4	090701	0.10
5	090201	0.15
6	090820	0.14
7	090301	0.28
8	20070801	0.11
9	20070301	0.02
10	20070701	0.11

3 讨论

槟榔中槟榔碱的含量测定方法有高效液相色谱法^[3]、薄层扫描法^[4]、电位滴定法^[5]。经典容量分析^[6]的测定灵敏度低、专属性差;薄层扫描法需要以改良碘化铋钾显色,灵敏度不高;以高效液相色谱-紫外检测灵敏度高,阳离子交换色谱柱较反

相色谱柱效果好,分离专属性好、效能高。

槟榔碱性质不稳定,又可被碱水解,又易随水蒸气挥发^[7]。因此,对于槟榔碱的提取方法、色谱柱的温度选择、流动相 pH 的选择对建立测定方法有指导性意义。根据文献报道,槟榔的含量测定以选用过三号筛的粉末超声处理,提取可相对完全。氨性乙醚提取法必须注意碱性下槟榔碱的稳定性^[6],而且从试剂选用的安全性、方便性和广泛实用性考虑,本次实验选用甲醇单独提取大腹皮粉末,同时尽量降低超声水浴温度,控制在 25 ℃ 以下,以确保提取过程中槟榔碱的稳定,加样回收实验表明本法可行,且操作简便、快捷,在确保药品成分稳定的同时,又大大提高提取率。

槟榔现在除了作为药用,还可以食用,据统计,全球约有 6 亿人咀嚼槟榔。已有研究表明,经常咀嚼槟榔可导致口腔癌,还会诱发其他多种疾病。随着科学研究的不断发展,现发现槟榔中所含有的槟榔碱可能是咀嚼槟榔引起口腔癌的主要原因^[8]。

本次实验分别对于 10 批大腹皮饮片中槟榔碱的含量进行测定,其方法学考察表明槟榔碱在 20 min 内分离良好,该方法对于测定大腹皮饮片中的槟榔碱含量有普遍适用性,且测定结果准确,专属性强、灵敏度高,可应用于控制大腹皮药材及其他成方制剂中的槟榔碱的含量,预防过量对于人体造成的伤害,确保用药的安全性。

根据表 2 中分析结果表明,10 批大腹皮饮片中槟榔碱的含量在 0.02% ~ 0.28% 之间,和槟榔饮片比较其槟榔碱含量较低,且该 10 批饮片均在 2007 ~ 2009 年销售,未见有不良反应病例出现,亦可表明槟榔碱含量在 0% ~ 0.30% 间对于人体用药是安全、稳定、可行、有效的。

参考文献

- [1] 倪依东,王建华,王汝俊. 槟榔的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2005,15(3):224-226.
- [2] 胡四琴,徐仿周,高文平,等. 槟榔生物碱提取分离及检测方法的研究进展[J]. 中药材,2009,32(2):308-311.
- [3] HUANG J L. High performance liquid chromatographic determination of the alkaloids in betel nut[J]. J Chromatography,1989,475:447.
- [4] 林励. 槟榔中槟榔碱含量的薄层扫描测定[J]. 中国中药杂志,1992,17(8):491.
- [5] 黄德杰. 水蒸气蒸馏-电位滴定法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 中成药研究,1984,(6):28.
- [6] 徐丽华,崔丽华,刘群. 药材粒度及提取方法对槟榔含量测定结果的影响[J]. 药物分析杂志,1998,18(4):263-264.
- [7] 陈浩桢,赖宇红,王晓钰,等. 高效阳离子交换色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 中药材,2002,25(1):27-28.
- [8] 赵云霞,于蕾,季宇彬. 槟榔的毒理研究进展[J]. 药品评价,2006,3(6):457-462.

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2015.z1.039