

高效液相色谱法测定不同产地大腹皮中槟榔碱的含量

毛春芹¹, 陆兔林^{1,2}, 季德¹, 周渊¹, 胡俊扬¹, 王莺¹, 蔡宝昌^{1,2} (1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2. 江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210029)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定大腹皮中槟榔碱的含量。方法 采用 Thermo-BioBasic SCX 离子交换柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.2% 磷酸溶液(55:45), 浓氨试液调节 pH 值至 3.8, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30℃, 检测波长 215 nm。结果 氢溴酸槟榔碱的色谱峰面积与质量浓度呈良好的线性关系, 线性范围为 5.2~83.2 μg·mL⁻¹ ($r=0.9991$), 平均回收率($n=9$)为 98.8%。结论 该方法简便、准确、专属性强, 为大腹皮饮片的质量评价提供了方法。

关键词: 大腹皮; 槟榔碱; 高效液相色谱法; 不同产地

doi: 10.11669/cpj.2013.11.016 中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2013)11-0909-03

HPLC Determination of Arecoline in Arecae Pericarpium from Different Habitats

MAO Chun-qin¹, LU Tu-lin^{1,2}, JI De¹, ZHOU Yuan¹, HU Jun-yang¹, WANG Ying¹, CAI Bao-chang^{1,2} (1. College of Pharmacy Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a quantitative determination method for arecoline in Arecae Pericarpium. **METHODS** The determination was performed on thermo-biobasic SCX column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with mobile phase consisting of acetonitrile-phosphoric acid solution (55:45). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was 30℃, and the detection wavelength was 215 nm. **RESULTS** The method had good linear relationship for arecoline hydrobromide in the range of 5.2~83.2 μg·mL⁻¹ ($r=0.9991$). The average recovery ($n=9$) was 98.8% for arecoline hydrobromide. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and specific. It provides a reliable way for evaluating the quality of Arecae Pericarpium.

KEY WORDS: Arecae Pericarpium; arecoline; HPLC; different habitats

大腹皮(Arecae Pericarpium)又名槟榔衣、槟榔皮,为棕榈科槟榔(*Areca catechu* L.)的干燥果皮,原产于东南亚及我国海南、云南等省。冬季至次春采收未成熟的果实,煮后干燥,纵剖两瓣,剥取果皮,习称“大腹皮”;春末至秋初采收成熟果实,煮后干燥,剥取果皮,打松,晒干,习称“大腹毛”^[1]。大腹皮味辛,性微温,具有行气宽中、行水消肿之功效,主要用于治疗胸腹胀闷、水肿、脚气、小便不利等症。有文献^[2]报道,大腹皮下气宽胸,即现代研究能够促进胃动力的主要有效成分是槟榔碱,但目前笔者未见有从大腹皮中提取槟榔碱及检测槟榔碱的研究报道。本实验建立了高效液相色谱法测定大腹皮中槟榔碱的含量,并对不同产地的大腹毛及大腹皮分别进行了评价,为全面控制其质量及合理开发利用提供理论依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

基金项目《中国药典》2010年版药典标准提高课题资助项目(780)

作者简介:毛春芹,女,高级实验师 研究方向:中药质量标准及新药研发 Tel: 13851500946 E-mail: mcq63@163.com

中国药学杂志 2013 年 6 月第 48 卷第 11 期

Agilent1100 全自动高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)包括:四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器;电子天平(Mettler Toledo 公司, AG285);Milli-Q Integral 水纯化系统(美国 Millipore 公司)。

1.2 试药

对照品氢溴酸槟榔碱(批号 111684-200401,供含量测定用,中国食品药品检定研究院),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。实验中所用大腹皮饮片采集自云南、广西、广东、海南、台湾等地,经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定为棕榈科槟榔(*Areca catechu* L.)的干燥果皮。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性实验

色谱柱: Thermo-BioBasic SCX 离子交换柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-0.2% 磷酸溶液

Chin Pharm J 2013 June Vol. 48 No. 11

• 909 •

(55:45), 浓氨试液调节 pH 值至 3.8; 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 30°C ; 检测波长为 215 nm ; 进样量: $10 \mu\text{L}$; 检测时间: 12 min 。在上述色谱条件下分析, 理论板数按槟榔碱峰计算均不低于 15 000, 拖尾因子在 0.95~1.05 之间。色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取本品粉末(过三号筛)约 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加乙醚 50 mL, 再加碳酸盐缓冲液(取碳酸钠 1.91 g 和碳酸氢钠 0.56 g, 加水使溶解成 100 mL, 即得) 3 mL, 放置 30 min, 时时振摇; 40°C 加热回流 30 min, 分取乙醚液, 加入盛有磷酸溶液(5→1 000) 1 mL 的蒸发皿中; 粉末残渣加乙醚 30 mL 加热回流提取 15 min, 合并乙醚液置同一蒸发皿中, 40°C 挥去乙醚, 残渣加体积分数 50% 乙腈溶液溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加体积分数 50% 乙腈至刻度; 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液备用。

2.2.2 对照品储备液 精密称取氢溴酸槟榔碱对照品适量于量瓶中, 流动相定容至刻度, 配制成氢溴酸槟榔碱质量浓度为 $104.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。

2.3 线性关系考察

分别精密移取“2.2.2”项下对照品储备液 0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00 mL 置于 5 mL 量瓶中, 用流动相定容至刻度, 分别配制成 5.2、10.4、20.8、41.6、62.4、83.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列对照品溶

液。在“2.1”色谱条件项下分别进样。以对照品峰面积(Y)为纵坐标, 以对照品溶液的质量浓度($\rho, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标, 绘制标准曲线, 进行回归分析, 得其回归方程为: $Y = 29.776 0\rho - 18.059 9$, $r = 0.999 1$ ($n = 6$)。结果表明, 氢溴酸槟榔碱质量浓度在 5.2~83.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度的实验

取 $41.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液, 连续进样 6 次, 进样量 $10 \mu\text{L}$, 测定氢溴酸槟榔碱峰面积, 计算得的 RSD ($n = 6$) 为 0.41%, 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性实验

取同一供试品溶液(由批号为 120117 大腹皮饮片制备), 室温下放置, 分别于 0、2、4、8、12 h, 按“2.1”项下色谱条件分析。计算氢溴酸槟榔碱色谱峰面积的 RSD ($n = 5$) 为 0.54%, 结果表明, 供试品溶液室温放置 12 h 内稳定。

2.6 重复性实验

取同一产地大腹皮饮片(批号为 120117)样品, 按“2.2.1”项下方法平行制备 5 份供试品溶液, 分别进样测定。结果氢溴酸槟榔碱的平均含量 ($n = 5$) 为 0.27%, RSD 为 0.97%, 表明方法重复性良好。

2.7 准确度实验

精密称取氢溴酸槟榔碱对照品适量置量瓶中, 用流动相定容至刻度, 配制成质量浓度为 $396 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液, 精密称取已知含量的大腹皮样品(批号为 120117)约 0.15 g, 共 9 份。根据样品中氢溴酸槟榔碱含有量的 80%、100%、120%, 分别加入上述对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL, 各 3 份, 按“2.2.1”项下方法制备成供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析, 测定氢溴酸槟榔碱的量, 计算回收率。结果见表 1。氢溴酸槟榔碱的平均加样回收率 ($n = 9$) 为 98.8%, RSD 为 1.1%。

2.8 样品含量测定

取 8 批大腹毛及 9 批大腹皮饮片粉末, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项下色谱条件下进样测定, 记录峰面积, 根据外标法计算样品中槟榔碱含量(槟榔碱重量 = 氢溴酸槟榔碱重量/1.521 4), 结果见表 2。

3 讨论

3.1 本实验考察了水、乙醇、乙醚 3 种溶剂, 比较其提取情况。结果乙醚提取效率较低, 水、乙醇提取的杂质较多, 色谱峰分离不好, 对色谱柱影响较大。文

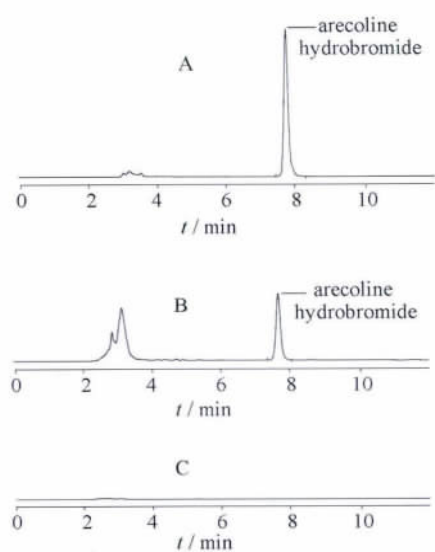


图 1 氢溴酸槟榔碱 HPLC 色谱图

A - 对照品; B - 样品; C - 空白溶剂

Fig. 1 HPLC Chromatograms of arecoline hydrobromide

A - standard; B - sample; C - blank solvent

表 1 氢溴酸槟榔碱回收率测定结果

Tab. 1 Recovery determination results of arecoline hydrobromide

No.	<i>m</i> (sample) /g	<i>m</i> (content) /mg	<i>m</i> (added) /mg	<i>m</i> (detected) /mg	Recovery /%
1	0.149 2	0.398 6	0.316 8	0.717 7	98.3
2	0.148 5	0.396 7	0.316 8	0.714 9	98.1
3	0.150 3	0.401 5	0.316 8	0.722 2	98.8
4	0.149 7	0.399 9	0.396	0.793 4	97.5
5	0.151 2	0.398 1	0.396	0.800 7	98.3
6	0.149 5	0.399 4	0.396	0.800 6	99.4
7	0.149 9	0.400 5	0.475 2	0.875 1	98.3
8	0.150 3	0.401 5	0.475 2	0.880 0	99.1
9	0.149 2	0.398 6	0.475 2	0.886 8	101.2

献报道添加氨水^[3]、碳酸盐缓冲溶液^[4]等碱化试剂可提高提取率,考虑毒性、安全性因素,本实验选择乙醚中添加碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液,结果提取率高且重现性好,溶液相对较纯。槟榔碱性质不稳定,可在碱性条件下水解。本实验发现槟榔碱不加酸液提取后稳定性随着时间延长而明显下降。因此,添

加磷酸溶液使槟榔碱以盐的形式存在是至关重要的步骤。

3.2 已有文献[4-6]报道采用 HPLC 测定槟榔碱含量一般用 RP-HPLC 法,但考虑到槟榔碱为小分子量碱,在 C₁₈ 柱上的保留比较弱,本实验选择对生物碱的分离有专属性的阳离子型交换色谱柱,结果表明,该方法操作简便、专属性和准确度良好,可作为检测大腹皮饮片的质量控制方法。

3.3 本实验测定了 8 批大腹毛及 8 批大腹皮饮片的含量,从样品的检测结果来看,各产地之间槟榔碱的含量有一定的差异,但采收时间对槟榔碱含量影响更大,大腹毛为春末至秋初采收,几乎检测不出槟榔碱。2010 年版《中国药典》大腹皮项下同时收载了大腹皮和大腹毛 2 个品种,槟榔碱含量差异明显,建议临床根据实际情况区分使用这 2 个品种。

表 2 大腹皮样品测定结果

Tab. 2 Determination results of arecoline hydrobromide in sample

Name of material	Lot number	Producing area	Content (arecoline hydrobromide) /%	Content (arecoline) /%	Content (arecoline on the dried basis) /%
Dafumao	120125	Guangxi	—	—	—
	120214	Yunnan	—	—	—
	120302	Burma	—	—	—
	120522	Guangxi	—	—	—
	20120301	Yunnan	—	—	—
	120505	Yunnan	—	—	—
	110601	Guangxi	—	—	—
	120104	Hainan	—	—	—
Dafupi	120308	Guangxi	0.44	0.29	0.32
	120613	Guangxi	0.42	0.27	0.30
	120117	Yunnan	0.27	0.18	0.19
	120706	Yunnan	0.39	0.26	0.28
	120308	Guangdong	0.43	0.28	0.31
	120701	Taiwan	0.36	0.24	0.27
	120510	Taiwan	0.42	0.28	0.31
	111118	Guangxi	0.30	0.20	0.22

注 “—”未检出或低于线性范围

Noté “—”Don't check or below the linear range

REFERENCES

[1] Ch. P(2010) Vol I (中国药典 2010 年版.一部) [S]. 2010: 24.
[2] WU D Z. Research on quality control and optimization of pericarpium arecae and other herbs in A3 preparation[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2009.
[3] CHEN H A ,LAI Y H ,WANG X Y ,et al. HPCEC Determination of arecoline in Arecae Semen[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2002 25(1): 27-28.

[4] YANG C ,SU S Z ,XU X Y ,et al. Determination of arecoline in Weitong Particles by RP-HPLC[J]. J Chin Mater Med (中国中药杂志) 2003 28(5): 459-460.
[5] SONG Y ,ZHU L ,TAN J. Determination of arecoline hydrobromide in Tongfeng Oral Liquid by HPLC[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药) 2006 17(5): 742-744.
[6] KANG S H ,ZHOU R ,NIE J. Determination of arecoline in Xiaoji zhike Oral Liquids for children by HPLC[J]. Chin Pharm(中国药师) 2011 14(1): 65-66.

(收稿日期: 2013-01-28)