

槟榔炒制过程中不同炮制品的指纹图谱分析

何晓燕,刘玉杰,黄永亮,吴纯洁*
(成都中医药大学药学院,成都 611137)

[摘要] 目的:建立槟榔不同炮制品的 HPLC 指纹图谱。方法:采用 HPLC,Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水梯度洗脱,柱温 30 ℃,流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 283 nm。建立槟榔不同炮制品的 HPLC 指纹图谱。结果:HPLC 指纹图谱方法学考察中 RSD 均 < 1.5%,符合相关规定。各炮制品的共有峰有 10 个,在生槟榔至槟榔炭的过程中发现新增了 3 个成分峰,从生品到焦品 3 个成分含量逐渐增加,焦品达峰值,之后逐渐减少,炒制过程中槟榔其他成分均随炒制时间延长而逐渐降低。结论:槟榔炒制过程中指纹图谱的变化可在一定程度上揭示其物质基础的变化,为解释槟榔炮制原理提供参考。

[关键词] 槟榔;炒制;炮制品;高效液相色谱;指纹图谱

[中图分类号] R283.3,R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0044-03

[doi] 10.11653/syfy2013170044

Fingerprint Analysis of Different Processed Products of Arecae Semen in Frying Process

HE Xiao-yan, LIU Yu-jie, HUANG Yong-liang, WU Chun-jie*

(School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC fingerprint for different processed products of Arecae Semen. **Method:** HPLC was adopted, Chromatographic conditions were performed on Agilent TC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), acetonitrile-water as mobile phases in gradient elution, detection wavelength of 283 nm and column temperature at 30 ℃, flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. HPLC fingerprint for different processed products of Arecae Semen was established. **Result:** RSD of methodological study in HPLC fingerprint were less than 1.5%.

[收稿日期] 20130114(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973942)

[第一作者] 何晓燕,博士,从事中药炮制与制剂研究,Tel:028-61801001,E-mail:yan124208@126.com

[通讯作者] *吴纯洁,博士,教授,从事中药炮制与制剂研究,Tel:028-61801001,E-mail:wcyj-one@263.net

- [4] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京:中国计量出版社,2002:11.
- [5] 王惠娟,王力,刘艳新. 牛黄解毒片中黄芩苷的 HPLC 法测定结果的不确定度评定研究[J]. 中草药,2011, 42(7):1326.
- [6] 周燕,金佩芬,薛磊冰. HPLC 法测定双黄连胶囊中黄芩苷含量不确定度评定[J]. 中国药师,2011, 14(2):221.
- [7] 陈华,马仕洪,张河战. 高效液相色谱法测定伪麻黄碱含量的不确定度分析[J]. 药物分析杂志,2005, 25(2):201.
- [8] 刘福艳,李军,谢元超,等. 中成药中非法添加化学药品的现状与分析检测对策[J]. 中国药事,2008, 22(12):1067.
- [9] 陶松,刘旭海,刘玲,等. HPLC 测定补肾口服液中淫羊藿苷的不确定度分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(13):111.
- [10] 严蓓,杨晨,李扬,等. HPLC 法测定人血浆中奥硝唑浓度的不确定度评定[J]. 药物分析杂志,2011, 31(9):1797.

[责任编辑 全燕]

which was in line with relevant regulations. There were 10 common peaks in fingerprint of 10 batches of samples, we found three new ingredients in frying process, these three new ingredients increased gradually, reached peak value of *Arecae Semen Tostum*, then reduced gradually; But other ingredients decreased gradually in frying process. **Conclusion:** Change of fingerprint could reveal that materials basis of *Arecae Semen* has been changed at a certain degree, which provided a reference for processing principle of *Arecae Semen*.

[**Key words**] *Arecae Semen*; frying; processed products; HPLC; fingerprint

槟榔具有杀虫、消积、行气、利水、截疟之功效,临床用于治疗绦虫病、蛔虫病、姜片虫病等症。其炮制品主要包括槟榔片(生品)、炒槟榔、焦槟榔、槟榔炭。传统炮制理论认为生槟榔力峻,长于治疗虫积、水肿、脚气、疟疾;炒后可缓和药性,以免克伐太过而耗伤正气,长于消食导滞^[1-2],因此临床中炒制后槟榔主要用于消化性疾病,如清胃和中丸、化积散等。目前,槟榔炒制过程中物质基础变化方面的研究较少,槟榔的质量控制方法主要有酸性染料比色法^[3]、毛细管电泳法^[4]、HPLC^[5-7]等。本实验拟采用 HPLC 指纹图谱^[8-11]对槟榔炒制过程物质基础变化进行研究,为揭示槟榔炮制原理提供依据。

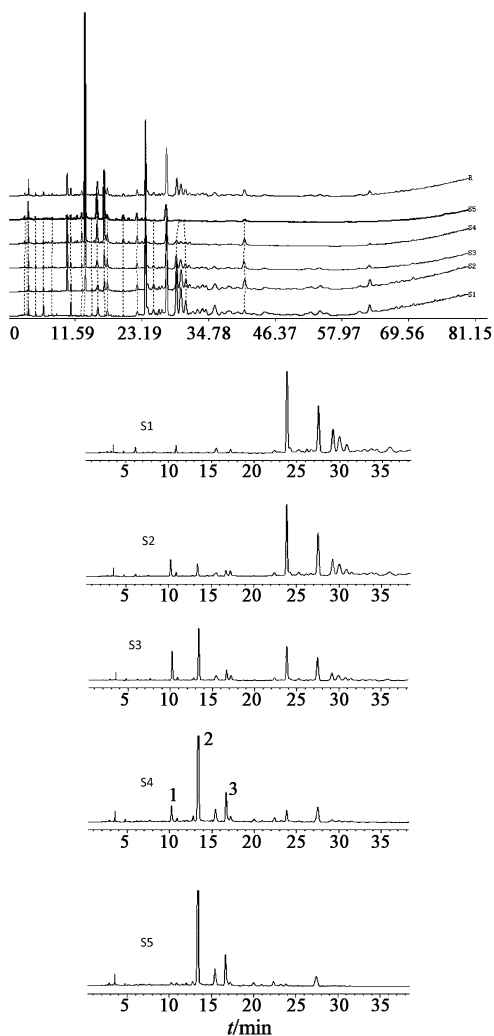
1 材料

LC-2010CHT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司),CP225D 型电子天平(德国赛多利斯公司),在线式非接触红外测温系统(自制),FW135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),CYDH-600 T 型控温炒药机(杭州春江自动化研究所),Delta 320 型 pH 计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

槟榔(购自成都市荷花池中药材市场,经成都中医药大学严铸云教授鉴定为为棕榈科植物槟榔 *Areca catechu* L. 的干燥成熟种子),乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。槟榔不同炒制品工序为取同一批槟榔片,在四川省中药饮片有限公司采用控温炒药机运用在线式非接触红外测温系统炒制,分别炮制成炒黄、炒黄 2(炒制程度比炒黄深,比焦槟榔浅)、焦槟榔、槟榔炭样品,各炮制品的炮制工艺参数在前期研究中已确定,能保证每批次炮制品的一致性。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 12 min, 92% B; 12 ~ 40 min, 92% ~ 75% B; 40 ~ 55 min, 75% ~ 30% B),柱温 30 °C,流速 1 mL · min⁻¹,检测波长 283 nm,进样量 10 μL,见图 1。



S1. 生品; S2. 炒黄; S3. 炒黄 2; S4. 焦品; S5 炭品

图 1 槟榔 HPLC 指纹图谱

2.2 供试品溶液的制备 取槟榔饮片样品粉末(过 40 目筛) 3 g, 精密称定, 置 50 mL 磨口锥形瓶中, 精密加入 40% 甲醇 30 mL, 回流提取 40 min, 滤过, 吸取续滤液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用 pH 3 的 40% 甲醇溶液(磷酸调 pH) 稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 12 h 不同时间点进行检测, 结果各色谱峰

的相对保留时间和相对峰面积基本一致, RSD 1.33%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.2 精密度试验 取同一份供试品溶液, 连续进样 6 次, 发现各色谱峰保留时间和相对峰面积基本一致, RSD 1.02%, 表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取样品 6 份, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定, 结果各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 0.89%, 表明该方法重复性良好。

2.4 指纹图谱分析 以药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(A 版)”对图 1 进行分析, 发现生槟榔中 10 个共有峰在焦槟榔中均有出现, 但峰面积均大幅降低, 可能与炒制缓和药性的作用有关, 与传统认为生槟榔力峻, 炒制后可缓和药性, 以免克伐太过而耗伤正气的理论相符。与生品相比, 焦槟榔指纹图谱中 10.2, 13.3, 16.6 min 左右处增加了 3 个峰, 从生品到焦品明显增加, 其他成分降低; 从焦品到炭品, 新增 3 个成分中第 1 个成分明显降低, 第 2, 3 个成分略有降低, 其他成分明显降低。

3 讨论

预试验已对 11 批槟榔生品和 10 批焦槟榔(直接购买)进行了指纹图谱研究, 发现 11 批生槟榔相似度较好, 而 10 批焦槟榔相似度较低, 主要原因是不同饮片厂的焦槟榔炒制程度不一。槟榔不同炮制品的指纹图谱研究的目的是为了揭示槟榔在炮制过程中物质基础的变化, 在一定程度上揭示物质基础变化规律, 对解释槟榔的炮制原理具有一定参考意义。

由于槟榔碱、槟榔次碱、去甲槟榔次碱等已知成分的最大吸收波长 215 nm 左右, 试验最初选择在 215 nm 处进行检测, 发现 2 个微量新增成分, 后通过二极管阵列检测器在 200~800 nm 进行全波长扫描, 确定有 3 个新增成分。3 个新增成分的最大吸收波长分别为 297, 283, 276 nm, 通过比较这 3 个波长处指纹图谱, 发现 283 nm 波长下各成分吸收较

好, 并使各色谱峰得到了较好的分离。针对槟榔炮制过程中产生的 3 个新成分进行提取分离与结构确证等研究, 结果确认第 2 个成分为 5-羟甲基糠醛, 其余 2 个成分正在结构确证中。

[参考文献]

- [1] 申秀丽, 段亮亮. 槟榔的化学成分及药理研究进展[J]. 宜春学院学报, 2009, 31(2): 95.
- [2] 张三印, 孙改侠, 冯蓓, 等. 槟榔不同炮制品对胃肠功能的影响研究[J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(3): 50.
- [3] 徐洁. 酸性染料比色法测定槟榔中总生物碱的含量[J]. 海峡药学, 2001, 13(1): 30.
- [4] 赵振东, 谢艳丽, 牛成, 等. 毛细管电泳法分析槟榔中槟榔碱和槟榔次碱[J]. 海南师范大学学报: 自然科学版, 2009, 22(2): 170.
- [5] 何际婵, 董志超, 王建荣. 反相高效液相色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(9): 1969.
- [6] 姚颖, 何桂霞, 裴刚, 等. 高效液相色谱法测定四磨汤口服液中心槟榔碱的含量[J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(4): 27.
- [7] 金德磊, 李剑勇, 周绪正, 等. 高效液相色谱法测定氢溴酸槟榔碱的含量[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(34): 14841.
- [8] 陈华国, 马青青, 周欣, 等. 指纹图谱技术优选甘草炙吴茱萸的炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 31.
- [9] 李艳荣, 王领弟, 张晓峰, 等. 北豆根的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 127.
- [10] 魏惠珍, 王信, 王跃生, 等. 炒苦杏仁饮片指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 71.
- [11] 吴林菁, 钱海兵, 王祥培, 等. 四君子汤合煎和分煎提取物的指纹图谱比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 94.

[责任编辑 全燕]