

槟榔花中槟榔碱的热回流提取工艺优化

战晴晴, 周亚奎, 卢丽兰, 刘洋洋, 甘炳春*

(中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所海南分所,
海南省南药资源保护与开发重点实验室, 海南 万宁 571533)

[摘要] 目的: 研究槟榔花中槟榔碱的热回流提取最佳工艺。方法: 以氢溴酸槟榔碱提取含量为考察指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验研究料液比、提取时间和提取次数 3 个因素对槟榔花中热回流提取槟榔碱的影响, 得出槟榔花中槟榔碱的最佳提取工艺。结果: 从槟榔花中热回流提取槟榔碱的最佳工艺为料液比 1:80, 提取时间 25 min, 提取次数 3 次。最佳条件下槟榔碱提取含量可达 $(4.31 \pm 0.047) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论: 该工艺简单、高效, 能有效提取槟榔花中的槟榔碱, 与旧工艺的提取含量 $(3.38 \pm 0.03) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 有显著性差异。

[关键词] 槟榔花; 氢溴酸槟榔碱; 热回流; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0077-03

[doi] 10.11653/syjf2013140077

Optimization of Heat Reflux Extraction of Arecoline from *Areca inflorescence*

ZHAN Qing-qing, ZHOU Ya-kui, LU Li-lan, LIU Yang-yang, GAN Bing-chun*

(Hainan Branch Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Hainan Provincial Key Laboratory of Resource Conservation and Development of Southern Medicine, Wanning 571533, China)

[Abstract] **Objective:** To study the condition of heat reflux extraction of arecoline from *Areca inflorescence*. **Method:** With yield of arecoline as index, effect of solid-liquid ratio, extraction time and extraction times on the yield of arecoline was investigated by $L_9(3^4)$ orthogonal test to obtain the best extraction conditions. **Result:** The optimum condition of heat reflux extraction of arecoline from *A. inflorescence* was as follows: ratio of liquid to material 80:1, extraction time 25 min, 3 times for extraction. The yield of arecoline was $(4.31 \pm 0.047) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. **Conclusion:** This optimized technology is simple, efficient and suitable for extraction of arecoline from *A. inflorescence*. It has significant differences compared with old heat reflux extraction technology which yield of arecoline is $(3.38 \pm 0.03) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

[Key words] *Areca inflorescence*; arecoline; heat reflux extraction; HPLC

槟榔 *Areca catechu* L. 为海南道地药材, 传统中医以果皮(大腹皮)和种子(榔玉)入药, 用于治疗虫积、食滞、脘腹胀痛等症^[1]。槟榔花味淡, 性凉, 归

胃、肺经。据《本草纲目》和《植物志》记载, 槟榔花具有调节免疫系统、止咳祛痰、消除疲劳和防止衰老等功效, 素有“微型营养品”和“长寿食品”的美誉^[2]。民间常用槟榔花泡水喝, 用于治疗胃病、痢疾、痔疮等; 在台湾, 人们常用槟榔花煲汤, 治疗咳嗽^[3], 而槟榔碱是其中主要的保健和药理活性成分之一^[4-7]。

目前国内外对槟榔果中槟榔碱的提取方法学研究较多^[8-11], 但对槟榔花中槟榔碱的提取研究较少。本文结合槟榔花药材的质量标准^[12], 采用高效液相色谱法测定, 以氢溴酸槟榔碱的含量为指标, 通过正

[收稿日期] 20121012(011)

[基金项目] 海南省中药现代化专项(2011ZY008); 海南省自然科学基金项目(311094, 310109); “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAI01B07)

[第一作者] 战晴晴, 硕士, 研究实习员, 从事药用植物研究, Tel: 15120631196, E-mail: zhanqq1984@163.com

[通讯作者] * 甘炳春, 研究员, 从事药用植物保护学研究, Tel: 0898-62554958, E-mail: ganbingchun@sohu.com

交试验对槟榔花中槟榔碱热回流提取工艺进行研究^[13-14]。本研究对热带地区丰富的槟榔资源的综合开发利用、提高槟榔产品附加值均有重要意义。

1 材料

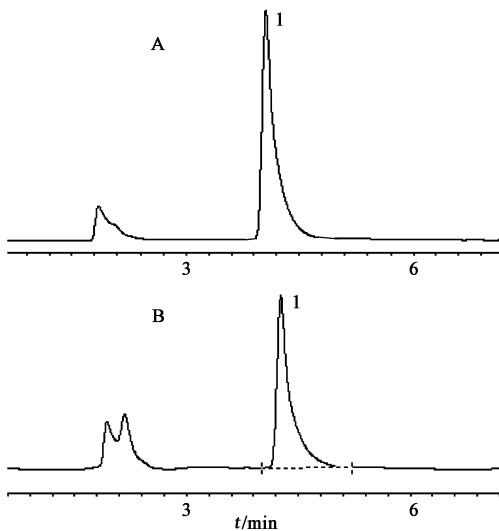
槟榔花采自中国医学科学院药用植物研究所海南分所的槟榔园。45℃烘干至恒重,粉碎后过 60 目筛。

大连依利特高效液相色谱仪(配有 UV-230 紫外检测器, P230 型恒流泵和 EC-2000 型色谱工作站), IKA RV-10 型旋转蒸发器(德国 IKA 公司), BT224S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

氢溴酸槟榔碱对照品(批号 111684-200401)由中国药品生物制品检定所提供,乙腈为色谱醇(Fisher Scientific),水为纯化水,其他试剂、试药均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件 Agilent HC-C₁₈ 色谱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-十二烷基硫酸钠溶液^[15](0.1 mol·L⁻¹, 磷酸调节 pH 3.2)(60:40), 流速 1 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL, 检测波长 215 nm。在上述色谱条件下,供试品中氢溴酸槟榔碱色谱峰与其他成分的色谱峰能达到较好的基线分离,见图 1。



A. 对照品; B. 槟榔花; 1. 氢溴酸槟榔碱

图 1 槟榔花 HPLC

2.2 样品制备 取槟榔花粉末约 0.5 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, 加水使溶解至 100 mL, 即得) 3 mL, 放置 30 min, 时时振摇; 加热回流 30 min, 残渣再加乙醚加热回流提取 2 次(30, 20 mL), 每次 15 min, 合并乙醚液置同一盛有磷酸溶液(5→1 000) 1 mL 的蒸发皿中, 挥去乙醚, 残渣

加 60% 乙腈溶液溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加 60% 乙腈至刻度, 摇匀, 滤过, 取过滤液, 即得^[12,16]。

2.3 对照品制备 取氢溴酸槟榔碱对照品(五氧化二磷减压干燥 12 h 以上), 精密称取对照品适量, 加 60% 乙腈制成每 1 mL 含 1.022 8 g·L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.4 标准曲线绘制 分别精密量取对照品溶液(1.022 8 g·L⁻¹) 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 10 mL, 分别置于 20 mL 量瓶中, 加 60% 乙腈稀释至刻度, 摇匀。按照 2.1 项色谱条件, 分别进样 10 μL, 以氢溴酸槟榔碱的进样量(μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得标准曲线, 其回归方程为 $Y = 3\ 095.3X + 192.99$ ($R^2 = 0.999\ 3$), 结果表明氢溴酸槟榔碱进样量在 0.127 5 ~ 5.114 μg 线性关系良好。

3 结果与讨论

3.1 正交试验设计 参照槟榔花质量标准研究的提取方法^[12], 选择料液比(A)、提取时间(B)和提取次数(C)作为热回流提取的考察因素, 每个因素根据实际情况取 3 个水平, 按 L₉(3⁴) 表进行正交试验, 采用 SAS 8.0 统计软件进行方差分析。试验表头设计见表 1, 结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 1 氢溴酸槟榔碱的提取工艺正交试验因素水平

水平	A	B/min	C/次
1	1:80	25	1
2	1:100	30	2
3	1:120	35	3

表 2 氢溴酸槟榔碱提取的正交试验结果与分析

试验号	A	B	C	含量/mg·g ⁻¹
1	1	1	1	3.805 334
2	1	2	2	3.614 878
3	1	3	3	3.684 387
4	2	1	3	3.107 184
5	2	2	1	2.638 242
6	2	3	2	2.121 178
7	3	1	2	2.167 054
8	3	2	3	2.398 206
9	3	3	1	1.718 81
K ₁	3.701 533	3.026 524	2.720 795	
K ₂	2.622 201	2.883 775	2.634 37	
K ₃	2.094 69	2.508 125	3.063 259	
R	1.606 843	0.518 399	0.428 889	

表3 氢溴酸槟榔碱的数据方差分析

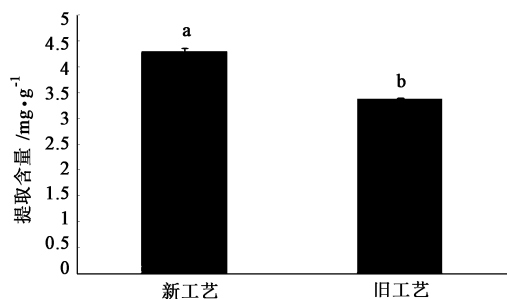
因素	偏差平方和	自由度	F	P
A	4.03	2	840.76	<0.05
B	0.43	2	89.86	<0.05
C	0.31	2	64.48	<0.05

表2结果表明,各因素对氢溴酸槟榔碱提取率影响大小次序为料液比>提取时间>提取次数,以氢溴酸槟榔碱峰面积为指标的槟榔花中氢溴酸槟榔碱提取的最优条件组合为 $A_1B_1C_3$,即料液比为1:80,提取时间25 min,提取次数3次。

由表3中方差分析结果表明,在各因素水平范围内,料液比对氢溴酸槟榔碱的提取影响极显著,提取时间和提取次数对氢溴酸槟榔碱的提取影响较显著。

3.2 验证试验 由于优选的工艺未包括在正交设计表的试验中,故对其进行验证实验。准确称取槟榔花粉0.5 g,按最佳工艺条件 $A_1B_1C_3$ 进行3次平行试验,分别测定氢溴酸槟榔碱含量,计算氢溴酸槟榔碱的平均含量为 $(4.31 \pm 0.047) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (RSD 1.09%),高于正交试验中各试验的含量,说明最佳工艺合理。

按照槟榔花质量标准研究提取的方法^[12]提取槟榔花中的槟榔碱,通过SAS 8.0 duncan 统计分析发现其与正交试验的最佳工艺有极显著性差异($P < 0.01$),结果见图2。



不同字母表示差异显著

图2 新旧工艺的比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

3 结论

在槟榔花质量标准研究的提取方法上,通过正交试验优化了热回流提取工艺条件,获得的最佳工艺条件为料液比为1:80,提取时间25 min,提取次数3次。在最佳条件下,提取氢溴酸槟榔碱的含量可达 $(4.31 \pm 0.047) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

此实验旨在优化槟榔花中氢溴酸槟榔碱的提取工艺条件,提高了目标产物的提取率,显著高于未经

优化旧工艺的提取含量^[8],槟榔花产品的开发提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社, 2002:643.
- [2] 何和明. 槟榔、益智、绞股蓝的生理生态[M]. 上海:同济大学出版社, 1996:240.
- [3] 赵国祥, 岳建伟, 张光勇. 槟榔的研究开发状况及市场发展前景[J]. 中国热带农业:资源开发, 2006(6):16.
- [4] Sun Y P, Liu Q, Luo J, et al. Systemic administration of arecoline reduces ethanol-induced sleeping through activation of central muscarinic receptor in mice[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2009, 34(1):150.
- [5] 王光, 胡弼. 槟榔碱的研究进展[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2010, 30(2):171.
- [6] 张春江, 吕飞杰, 陶海腾. 槟榔活性成分及其功能作用的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2008(6):50.
- [7] 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.
- [8] Simona Pichini, Manuela Pellegrini, Roberta Pacifici, et al. Quantification of arecoline (areca nut alkaloid) in neonatal biological matrices by high-performance liquid chromatography/electrospray quadrupole mass spectrometry [J]. Rap Com Mas Spec, 2003, 17(17):1958.
- [9] Wu Qingli, Yang Yonghong, James E, et al. Qualitative and quantitative HPLC/MS determination of proanthocyanidins in areca nut (*Areca catechu*) [J]. Chem Biodiv, 2007, 12(4):2817.
- [10] 王海灿, 吉建邦, 康效宁, 等. 鲜槟榔中槟榔碱的提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(3):55.
- [11] 吴清波, 罗士数, 张海德. 响应面法优化超临界萃取槟榔碱工艺[J]. 食品科技, 2011, 36(9):251.
- [12] 闫志英, 陈国彪. 槟榔花药材质量标准研究[J]. 中药材, 2011, 34(7):1052.
- [13] 宋子荣, 谭梓骏, 陈西宋, 等. 地黄提取工艺的优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(1):8.
- [14] 薛佳津, 杨瑞云, 韦波, 等. 中药血散薯中总生物碱提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 14(18):36.
- [15] 赵陆华. 高效液相色谱法分析中药成分手册[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1994:479.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:342.

[责任编辑 邹晓翠]