

表 1 不同提取方法测定结果 (n=3)

Table 1 Comparison of various extracting methods (n=3)

提取方法	胡椒碱/%	新乌头碱/%	乌头碱/%	次乌头碱/%	总乌头碱/%
回流法	0.368	0.039 8	0.005 95	0.019 7	0.065 0
渗漉法	0.333	0.053 9	0.007 52	0.020 3	0.081 7
超声法	0.383	0.030 0	0.005 92	0.017 9	0.054 1

表 2 L₉(3⁴)正交试验设计及结果

Table 2 Design and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A pH 值	B 乙醇体积分数/%	C 体积流量/(mL·min ⁻¹)	D 加醇量/倍	胡椒碱/(mg·g ⁻¹)	总乌头碱/(mg·g ⁻¹)
1	1(2)	1(70)	1(1)	1(6)	4.27	0.886
2	1	2(80)	2(2)	2(8)	4.14	0.741
3	1	3(90)	3(3)	3(10)	4.12	0.655
4	2(4)	1	2	3	4.11	0.878
5	2	2	3	1	4.11	0.692
6	2	3	1	2	4.14	0.614
7	3(6)	1	3	2	3.80	0.816
8	3	2	1	3	4.21	0.855
9	3	3	2	1	4.11	0.586
胡椒碱	K ₁	12.53	12.18	12.62	12.49	
	K ₂	12.36	12.46	12.36	12.08	
	K ₃	12.12	12.37	12.03	12.44	
R	0.137	0.093 3	0.197	0.137		
乌头碱	K ₁	2.282	2.58	2.355	2.164	
	K ₂	2.184	2.288	2.205	2.171	
	K ₃	2.257	1.855	2.163	2.388	
R	0.032 7	0.242	0.064	0.074 7		

表 3 胡椒碱的方差分析

Table 3 Variance analysis of piperine

误差来源	离均差平方和(SS)	自由度	均方	F	显著性
A	2.83×10 ⁻³	2	1.42×10 ⁻³	2.07	
B(误差)	1.37×10 ⁻³	2	6.85×10 ⁻³		
C	5.83×10 ⁻³	2	2.92×10 ⁻³	4.26	
D	3.34×10 ⁻³	2	1.67×10 ⁻³	2.44	

F_{0.05}(2,2)=19.00

可见,影响胡椒碱提取效果的因素顺序为体积

表 4 乌头生物碱的方差分析

Table 4 Variance analysis of Aconitum alkaloids

误差来源	离均差平方和(SS)	自由度	均方	F	显著性
A(误差)	1.73 ×10 ⁻⁴	2	8.65×10 ⁻⁵		
B	8.87 ×10 ⁻³	2	4.44×10 ⁻³	51.33	P<0.05
C	6.793×10 ⁻³	2	3.40×10 ⁻⁴	3.93	
D	1.081×10 ⁻³	2	5.40×10 ⁻⁴	6.24	

F_{0.05}(2,2)=19.00

流量>乙醇用量>pH>乙醇体积分数,最佳工艺为 A₁B₂C₁D₁。对乌头生物碱,方差分析表明,乙醇体积分数对生物碱影响具有显著性,而体积流量、乙醇用量则影响无显著性,影响乌头碱的顺序为乙醇体积分数>乙醇用量>体积流量>pH。由直观分析表明,提取乌头生物碱的最佳工艺为 A₁B₁C₁D₃。

鉴于各因素对胡椒碱无显著性影响,因此选择以乌头生物碱的最佳工艺 A₁B₁C₁D₃ 为提取条件,即采用 70%乙醇 10 倍量、pH 2、体积流量为 1 mL/min 渗漉法进行提取,按此条件,验证 3 次,结果胡椒碱平均质量分数为 4.10 mg/g,总乌头碱的质量分数为 0.902 mg/g。

3 讨论

曾对色谱条件进行选择,最后确定以甲醇-水(70:30)为流动相,胡椒碱和乌头生物碱分别在 343 nm 和 230 nm 检测,可同时进行测定,且分离效果较好,阴性样品无干扰。

实验中对测定胡椒碱和乌头生物碱的供试品溶液制备方法进行了选择,并分别考察了提取次数(3、4、5),结果提取 3 次即可使胡椒碱和乌头生物碱提取基本完全,为保证结果准确可靠,本实验选择提取 4 次。

本实验选择渗漉法作为提取方法,具有简便、实用、经济科学的特点,溶剂乙醇比较廉价,适用于大生产。

HPLC 法测定藏茴香油中葛缕酮

张存彦,王成港,陈继英,郭嘉林,王春龙*

(天津药物研究院 制剂中心,天津 300193)

藏茴香为伞形科植物葛缕子 *Carum carvi* Linn. 的干燥果实,其植物为多年生草本。藏茴香为常用藏药,该药性温、味微辛,有芳香健胃、驱风理气

之功,用于治疗胃脘疼痛、腹胀、消化不良及小肠疝气等症。藏茴香油为有效部位,其主要有效成分为葛缕酮和柠檬烯,其中葛缕酮占藏茴香油 60%左右。

收稿日期:2004-11-27

作者简介:张存彦(1976—),男,硕士研究生。

* 通讯作者 王春龙 Tel:(022) 23006880

葛缕酮对豚鼠组胺引喘有平喘作用,对小鼠氨水法引咳有镇咳作用^[1]。因此本实验采用HPLC对藏茴香油中葛缕酮进行测定。

1 仪器、试剂与药材

日本岛津 LC-10AC 高效液相色谱仪,SPD-10AV 紫外检测器,日本岛津 2550 紫外可见分光光度计。葛缕酮对照品(自制,气相归一化法,质量分数 99.44%),藏茴香油(自提,药材购自四川甘孜州康定、色达、德格)。甲醇为优级纯,水为超纯水。

2 方法和结果

2.1 检测波长:制备一定质量浓度的葛缕酮 70% 甲醇溶液,经紫外分光光度法进行 200~400 nm 全波长扫描,结果葛缕酮在 235 nm 处有最大吸收,故选择测定波长 235 nm。

2.2 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm);柱温:35 °C;流动相:甲醇-水(70:30);体积流量:1.0 mL/min;进样量:20 μL。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备:精密称取葛缕酮对照品约 9 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,滤过,作为贮备液。精密移取贮备液 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(质量浓度约为 0.009 mg/mL)。

2.3.2 供试品溶液的制备:精密称取藏茴香挥发油约 15 mg,加甲醇溶解稀释至 100 mL,摇匀,滤过。精密移取续滤液 1.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察:精密量取贮备液 0.2、0.6、1.0、1.4、1.8 mL,分置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。进样,测定。以溶液质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程:Y=53 626 X+10 145, r=0.999 9,结果表明葛缕酮在 2.09~18.77 μg/mL 与峰面积具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取对照品溶液,重复进样 5 次,测定其峰面积,计算得其 RSD 为 0.40%。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,于 0、2、4、6、8 h 进样测定峰面积,计算得其 RSD 为 0.74%。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同批藏茴香油 6 份,精密称定,制备供试品溶液,进样,测定,计算得葛缕酮的质量

分数 0.59 g/g,其 RSD 为 0.95% (n=6)。

2.8 回收率试验:精称含葛缕酮 0.59 g/g 藏茴香油 6 份,每份 7.5 mg,分别精密加入 4.5 mg 葛缕酮对照品,制备供试品溶液,进样,测定,结果葛缕酮平均回收率为 100.26%,RSD 为 0.56% (n=6)。

2.9 测定:分别取不同产地药材提取的藏茴香油,制备供试品溶液,取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL,依法测定,结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 藏茴香油中葛缕酮的测定结果 (n=5)

Table 1 Carvone in oil of *C. carvi* fruit (n=5)

产地	葛缕酮/(g·g ⁻¹)	RSD/%
色达	0.59	0.95
德格	0.59	1.01
康定	0.61	0.84

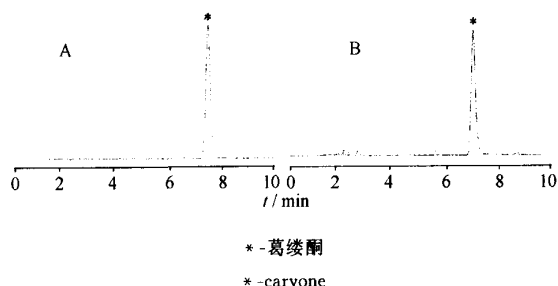


图 1 葛缕酮对照品(A)与藏茴香油(B)的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of carvone reference substance (A) and *C. carvi* oil (B)

3 讨论

藏茴香收载于《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药标准》中,只有鉴别项,没有含量测定项,不能有效控制药材质量。有气相色谱法对藏茴香油进行测定的报道^[2,3],但气相色谱仪没有液相色谱仪普遍,因此本法更具有普遍性。

通过高效液相色谱图可以看出,葛缕酮对照品峰与藏茴香油中葛缕酮峰对应性良好,并且样品中葛缕酮峰与其他物质分离良好。因此本方法适合藏茴香油的测定。

References:

[1] Tang F D, Xie Q M, Wang Y, et al. Effect of bronchodilation and antianaphylaxis of carvone [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1999, 15 (3): 235-237.
[2] Zhang H B, Fu Z J, Xu J. Determination of carvone in caraway [J]. *J Anhui Coll Tradit Chin Med* (安徽中医学院学报), 1997, 16 (4): 53-54.
[3] Fu Z J, Zou Q G, Shi G F. Determination of carvone by GC in *Paiqitumoji* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1995, 26 (2): 100-102.