

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	X_1	X_2	X_3
$3^{-1/2}$	70	2	5:1
-1	76	3.3	7:1
0	85	5.0	8:1
1	94	6.7	9:1
$3^{1/2}$	100	8.0	11:1

表 2 球面对称设计试验及结果
Table 2 Spherical symmetric design and their results

试验号	$X_1/^\circ\text{C}$	X_2/h	X_3	多糖得率/%
1	76	3.3	9:1	1.01
2	94	3.3	7:1	1.32
3	76	6.7	7:1	1.37
4	94	6.7	9:1	0.96
5	70	5.0	8:1	1.07
6	100	5.0	8:1	1.21
7	85	2.0	8:1	1.39
8	85	8.0	8:1	0.86
9	85	5.0	5:1	1.17
10	85	5.0	11:1	1.23
11	85	5.0	8:1	1.27

将实验数据进行多元回归处理、二项式拟合, 得: $Y = 2.59176 + 1.40268X_2 - 1.21434X_3 - 0.00045X_1^2 - 0.01391X_2^2 - 0.00548X_3^2 - 0.01225X_1X_2 + 0.01773X_1X_3 - 0.03911X_2X_3$; $r = 0.9986$, $F = 89.3062$, $P = 0.0111$, $S_{\text{余}} = 0.02053$, 回归方程显著、有效。

根据回归方程计算得优化条件为: $X_1 = 100^\circ\text{C}$, $X_2 = 2\text{h}$, $X_3 = 11:1$ 。

理论上在优化此条件下多糖总的理论得率应为 3.04%。

2.8 优化条件的验证: 称取荨麻药材粗粉 10.00 g, 在最佳条件下进行验证, 多糖得率为 2.76% ($n = 3$)。

3 讨论

球面对称设计法是目前在国外较为流行的试验方案优化设计方法, 该法具有实验次数少、精度高的特点。本实验采用该方法, 通过多元回归处理, 得出了荨麻多糖的最佳实验条件: 以药材量 11 倍的水作为溶剂在 100°C 下提取 2 h; 并在此条件下进行工艺验证试验, 从验证试验效果来看, 该方法适合于荨麻多糖提取条件的优化设计。

References:

- [1] Huang X L, Zhou Y J. A preliminary study of pharmacological effects for *Urtica* [J]. *J Central Univ National; Nat Sci* (中央民族大学学报: 自然科学版), 2002, 11 (2): 182-186.
- [2] Lichius J J, Lenz C J, Lindemann P. Antiproliferative effect of a polysaccharide fraction of 20% methanolic extract of stinging nettle root upon epithelial cell of the human prostate (LNCaP) [J]. *Pharmazie*, 1999, 54 (10): 768.
- [3] Lutz K, Hans-Helge M, Corinna L, et al. Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle (*Urtica dioica*) extract [J]. *Planta Med*, 2000, 66 (1): 44.
- [4] Zhang M L, Li Z P, Jin X M. Study on chemical constituents of *Urtica cannabina* L [J]. *Nat Pro Res Dev* (天然产物研究与开发), 2005, 17 (2): 175-176.
- [5] Wei Y F, Wang M Y, Shi Y, et al. Extraction and determination of polysaccharides in *Urtica fissa* E. Pritz [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2001, 16 (6): 469-470.

RP-HPLC 法测定大蒜油中二烯丙基三硫和二烯丙基二硫

刘丽梅, 王瑞海, 陈琳, 丁家欣, 张秋海

(中国中医研究院基础理论研究所, 北京 100700)

大蒜油是百合科葱属植物大蒜 *Allium sativum* L. 的地下鳞茎外皮干燥后经水蒸气蒸馏提取而得到的挥发油。大蒜油具有抗菌、调血脂、降血糖、降压利尿、抗血小板凝集、增加纤维蛋白溶解性、保肝、抗衰老、抗肿瘤等多种功能^[1,2], 特别是对心血管、肿瘤有很好的生理活性, 使其在新药开发、保健品生产上存在着很大潜力。我国每年约有 20t 大蒜油出口, 也给大蒜油的生产厂家带来巨大的商机。但我国目前没有完善的大蒜油生产质量标准, 仅依据挥发油的

物理常数, 使生产和出口受到一定的限制。为此本实验选择大蒜油中主要活性成分二烯丙基三硫和二烯丙基二硫为质量控制指标, 对大蒜油的质量进行监控, 旨在为制定国家标准提供依据。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪 (美国 HP1100, 包括四元泵、二极管阵列检测器、自动进样器、HP 化学工作站), 精密天平 DT-100 (北京光学仪器厂), 控温多用高速组织捣碎机 (江苏江阴科研器械厂)。

甲醇、甲酸为色谱纯,水为双蒸水。二烯丙基三硫和二烯丙基二硫对照品自制,质量分数均在 98% 以上。大蒜分别来自全国 14 个不同产地。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Zorbax extend C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.17%甲酸溶液(80:20);体积流量:1 mL/min;检测波长:240 nm;柱温:35 ℃。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取二烯丙基二硫 30.44 mg,二烯丙基三硫对照品 32.12 mg 置于 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;分别精密吸取 0.608 8 mg/mL 二烯丙基二硫溶液和 0.642 4 mg/mL 二烯丙基三硫溶液各 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:分别称取不同产地大蒜 200.0 g,在多用高速组织捣碎机内将蒜带皮粉碎成粒径为 3~5 mm 的颗粒,加 5 倍量水,50~55 ℃保温酶解 1 h,按《中国药典》2005 年版 XD 挥发油测定法(甲法)提取大蒜挥发油 1 h,挥发油经无水硫酸钠脱水,得纯大蒜油。精密称量大蒜油约 2 mg,加甲醇溶解,定容在 5 mL 量瓶中,摇匀即得。

2.4 标准曲线的绘制:对照品溶液分别进样 2、4、8、12、16、20、40 μL,按上述色谱条件测定峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,结果二烯丙基二硫在 0.368~7.36 μg 与峰面积线性关系良好,回归方程为 $Y_1 = 477.1029X - 2.2526$, $r = 0.9999$;二烯丙基三硫在 0.2288~4.576 μg 与峰面积线性关系良好,回归方程为 $Y_2 = 796.9455X - 4.3282$, $r = 0.9999$ 。

2.5 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液 10 μL,重复进样 6 次,二烯丙基二硫峰面积积分值的 RSD 为 0.25%;二烯丙基三硫峰面积积分值的 RSD 为 0.22%。

2.6 稳定性试验:取大蒜油供试品溶液,在 0、2、6、8、22 h 分别进样测定,结果 5 次进样二烯丙基二硫和二烯丙基三硫峰面积积分值的 RSD 分别为 0.78% 和 0.80%。

2.7 重现性试验:对同一批(山东金乡大蒜)样品 5 份,分别制备供试品溶液,测定,结果大蒜油中二烯丙基二硫平均质量分数为 124.1 mg/g, RSD 为 2.49%,二烯丙基三硫平均质量分数为 475.4 mg/g, RSD 为 1.99%。

2.8 回收率试验:取含二烯丙基二硫 131.4 mg/g,

二烯丙基三硫 341.0 mg/g 大蒜油约 9 mg,精确加入二烯丙基二硫约 1 mg,二烯丙基三硫约 3 mg,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果二烯丙基二硫回收率为 100.10%, RSD% 为 2.60%;二烯丙基三硫回收率为 97.86%, RSD% 为 2.48%。

2.9 样品测定:分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,在上述色谱条件下测定 14 个产地的大蒜油中二烯丙基二硫和二烯丙基三硫,每个样品平行测定 3 次,大蒜油的 HPLC 色谱图见图 1,结果见表 1。

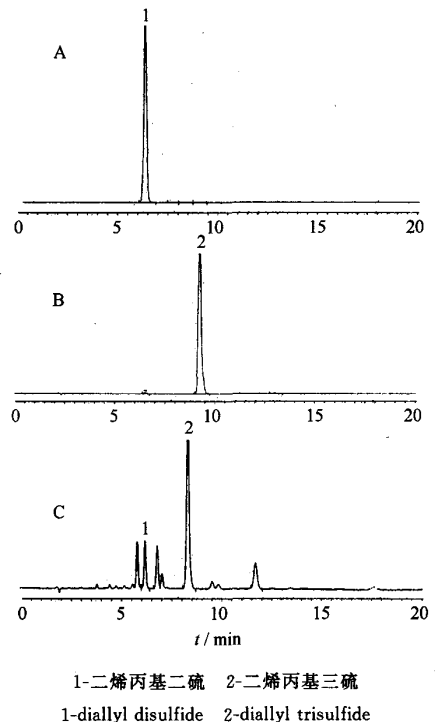


图 1 二烯丙基二硫对照品(A)、二烯丙基三硫对照品(B)和山东金乡产大蒜油(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of diallyl disulfide reference substance (A), diallyl trisulfide reference substance (B), and garlic oil from *A. sativum* grown in Jinxiang, Shandong Province (C)

3 讨论

3.1 水蒸气蒸馏提取的大蒜油成分为低分子硫醚类的化合物,主要含有二烯丙基三硫、二烯丙基二硫、二烯丙基一硫(diallyl sulfide DAS)、二烯丙基四硫、甲基烯丙基三硫、甲基烯丙基二硫、甲基烯丙基一硫^[3]等,其中质量分数较高的成分为二烯丙基三硫和二烯丙基二硫,而且这两个成分药理活性研究报道的最多,故此本课题以两者为检测指标来控制大蒜油的质量。

表 1 不同产地大蒜挥发油中二烯丙基二硫和二烯丙基三硫的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of diallyl disulfide and diallyl trisulfide in *A. sativum* from different habitats ($n=3$)

编号	产地	规格	外皮颜色	采收期	二烯丙基二硫/%	二烯丙基三硫/%	二烯丙基二硫和二烯丙基三硫/%
1	山东金乡	大	紫(白)皮	6月初	20.33	39.06	59.39
2	山东苍山	小	白皮	6月初	17.33	44.47	61.80
3	陕西西安	中	紫皮	5月末	21.71	36.43	58.14
4	北京顺义	小	紫皮	6月上旬	17.87	35.84	53.71
5	江苏盐城射阳	小	白皮	7月	22.45	49.18	71.63
6	南京江宁	大	紫(白)皮	6月	16.99	34.57	51.56
7	安徽合肥肥东	中	白皮	7月	18.20	35.65	53.85
8	河北承德双峰寺	大	紫(白)皮	6月下旬	18.91	33.84	52.75
9	黑龙江阿城	小	紫皮	8月	21.40	42.33	64.27
10	新疆伊宁	大	紫皮	7月下旬	19.48	34.86	54.34
11	甘肃兰州	中	紫皮	8月	21.83	45.16	66.99
12	云南曲靖麒麟越州镇	中	紫(红)皮	5月末	22.61	52.46	75.07
13	河南中牟	大	紫(白)皮	6月上旬	19.39	36.83	56.89
14	河南郑州	大	紫(白)皮	6月上旬	18.27	37.74	56.01

3.2 以往大蒜油制剂中有效成分测定方法有氧瓶燃烧法、生物检定法、薄层色谱法、气相色谱法和高效液相色谱法^[1,2],但这些方法中检测指标仅为二烯丙基三硫,为更科学地体现大蒜油的质量,本实验采

用 HPLC 法,在一个系统内实现对二烯丙基三硫和二烯丙基二硫两个成分的测定,该法简便、灵敏、准确,多成分定量更加科学。

3.3 从全国 14 个不同产地大蒜提取的大蒜油中有效成分测定结果可以看出,由于大蒜产地、采收期、农家栽种品种不同,其大蒜油的质量相差很大,二烯丙基三硫和二烯丙基二硫两个成分总质量分数在 51.56%~75.07%,较高的品种如云南曲靖麒麟越州镇产大蒜和江苏盐城射阳产大蒜,其外皮的颜色不同,蒜个头大小也不一样。由此看出,要保证提取蒜油的质量好,不能仅从大蒜的外皮颜色、蒜大小来判断,必须筛选产地与品种,并进行定量测定。

References:

- [1] Yin J. *Modern Research and Clinical Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与临床应用) [M]. Vol 1. Beijing: Academy Press, 1993.
- [2] Zheng H Z. *Modern Research and Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与应用) [M]. Vol 1. Beijing: Academy Press, 1998.
- [3] Shen L C. Study of chemical constituents and quality of essential oil from *Allium sativum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24 (2): 66-68.

HPLC 法测定蝙蝠葛酚性碱片中蝙蝠葛碱

史自东, 刘 博

(湖北省医药工业研究院, 湖北 武汉 430061)

蝙蝠葛酚性碱片是由从蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* DC. 干燥根茎中提取的以蝙蝠葛碱为主的酚性生物碱制成的片剂,具有活血化瘀,行气止痛,扩张冠脉血管,改善心肌缺血作用,用于预防和治疗冠心病,心绞痛以及瘀血内阻之胸痹、眩晕、气短、心悸、胸闷或痛等病症。在前期研究^[1,2]基础上,本实验采用高效液相色谱法测定了蝙蝠葛碱,以期

1 仪器与试剂

美国光谱物理公司 SP2000 泵,UV1000 紫外检测器,N2000 色谱工作站,AS3120 超声波处理器。蝙蝠葛酚性碱片、蝙蝠葛碱对照品(质量分数>99.3%)由华中科技大学同济医学院提供。其他试剂均为分析纯,水为双蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Inertsil ODS-3 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水-磷酸-三乙胺(15:85:0.2:0.2);检测波长为 279 nm;体积流量:1.5 mL/min;柱温:室温。

2.2 对照品溶液制备:精密称取蝙蝠葛碱对照品 15 mg,置 100 mL 量瓶中,加流动相适量,超声处理使溶解,放至室温,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取本品 10 片,精密称定,研细,取约 0.1 g,置 100 mL 量瓶中,加流动相适量,超声处理 30 min 使溶解,放至室温,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线制备:取蝙蝠葛碱对照品 10.07 mg,置 10 mL 量瓶中,加流动相使溶解,并稀释至刻度,