

小茴香

(FOENICULI FRUCTUS)

小茴香 MI	2
一、形態:	2
二、顯微	2
小茴香 HPLC	3
一、材料	3
二、儀器及層析管柱	3
三、實驗藥品及試劑來源	3
四、方法	3
五、結果	7
小茴香 TLC	16
一、方法	16
二、萃法選擇及濃度測試	17
三、溶媒系統選擇	18
四、觀察方式選擇	19
五、十家樣品檢測	20

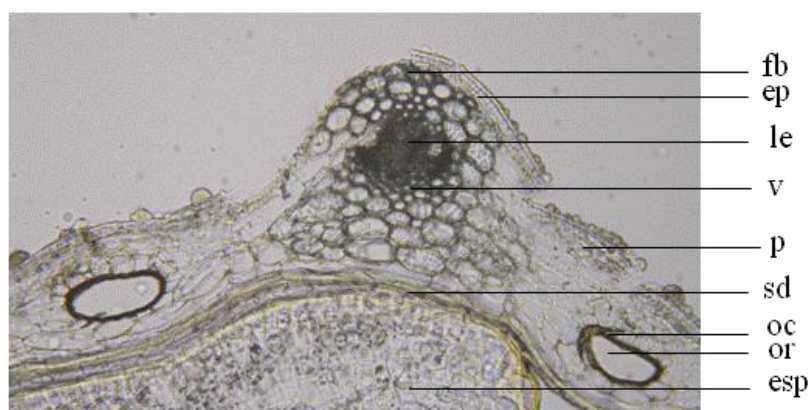
小茴香 MI

一、形態:

本品為繖形科 Umbelloferae 植物茴香 *Foeniculum vulgare* Mill.之乾燥成熟果實。果實為雙懸果呈細長圓柱形，有的稍微彎曲狀，長4~10mm，直徑1.2~2.6mm，表面黃綠色或淡黃色，兩端略尖，頂端有黃褐色突起的花柱殘基，基部有時帶有細小的果柄；分果呈長橢圓形，背面有5條隆起的縱稜線，接合面平坦而寬，橫切面略呈五邊形，背面的四邊約等長。有特異香氣，味微甜而辛。

二、顯微

本品分果橫切面呈五邊形。外果皮為1列長條的扁平細胞。中果皮由數列薄壁細胞組成，共有6個油管，背面稜脊間各有油管1個，中果皮接合面有油管2個，油管呈橢圓形或半圓形，內含紅棕色油脂。稜脊部位有維管束柱，韌皮部位於木質部兩側，維管束周圍有多數大形木化網紋細胞，木質部有少數細小導管。內果皮為1列狹長的扁平細胞，長短不一。種皮為1列頹廢細胞，含棕色物質。胚乳細胞呈多角形，內含多數細小的澱粉粒和少數脂肪油，澱粉粒中可見細小的草酸鈣簇晶。胚乳的中央有小胚。



略字解

fb:纖維束
ep:表皮細胞
le:篩部
v:導管
p:薄壁組織

sd:種皮
oc:油細胞
or:油室
esp:內胚乳及脂肪油

小茴香 (*Foeniculi Fructus*)

一、材料

購自於北中南東各地中藥店小茴香藥材共 10 家。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu SCL-10A VP、Diode Array Detector SPD-M10A VP、Column Oven CTO-10AS VP，層析管柱 Shiseido Capcell PAK C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters Acquity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd.；乙腈(99.9%)、甲酸(100%)皆購自於 Sigma-Aldrich Co.；乙醇(99.5%)購自於 Shimakyu's Pure Chemicals Co., Ltd.。

(二) 標準品

標準品自行純化。標準品反式茴香腦(*trans*-anethole)，純度皆在 98%以上。

四、方法

(一) 萃取溶媒開發

取本品粉末七份，每份精確稱定 1.0 g，置 125 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇、水各 12.5 mL，超音波震盪處理(功率 200W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾至 25 mL 之定量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻、過濾(Syringe filter, 0.45 μ m)，取濾液即得。每針 10 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之最大波峰面積為最佳小茴香萃取溶媒。

(二) 萃取次數考察

取本品粉末約 1.0 g，精確稱定，置 125 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇 12.5 mL，超音波震盪處理(功率 200 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No.1 濾紙過濾至 25 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻，過濾(Syringe filter, 0.45 μ m)，取濾液，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到指標成份被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

取標準品反式茴香腦(*trans*-anethole)精確稱定 1.0 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含反式茴香腦(*trans*-anethole)1000 µg 的標準品儲備溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末約 1.0 g，精確稱定，置 125 mL 三角錐形瓶中，精確加入甲醇 12.5 mL，超音波震盪處理(功率 200 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾至 25 mL 之定量瓶中，殘渣部分重複提取一次，合併濾液，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, 0.45 µm)，取濾液，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取標準品溶液、檢品溶液 10 µL，注入 HPLC 測定，用標準曲線計算溶液中反式茴香腦(*trans*-anethole)的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取反式茴香腦(*trans*-anethole)標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含反式茴香腦(*trans*-anethole)分別為 125 µg/mL、62.5 µg/mL、31.25 µg/mL、15.625 µg/mL、7.8125 µg/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 µL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y=ax+b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以反式茴香腦(*trans*-anethole)濃度為 62.5 µg/mL 之標準品儲備液連續進樣五針，以反式茴香腦(*trans*-anethole)波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性:取同一家市售小茴香粉末，依小茴香檢品溶液製備方法平行製備五份小茴香檢品溶液，進樣測定，以反式茴香腦(*trans*-anethole)含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一家市售小茴香粉末，依小茴香檢品溶液製備方法製備小茴香檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以反式茴香腦(*trans*-anethole)峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 同日間與異日間試驗

取 125、62.5、31.25 µg/mL 之反式茴香腦(*trans*-anethole)標準品溶液

進行同日間測試(在 24 小時內每個濃度注射三次)與異日間測試(七天內注射三次，每次間隔 24 小時以上，每個濃度重複注射三次)，求其相對標準偏差值(%)以評估 HPLC 分析條件之穩定性與再現性。

(十) 偵測極限與定量極限試驗

偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值；定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十一) 添加回收率試驗

取已知反式茴香腦(*trans*-anethole)含量的小茴香藥材粉末約 0.5 g，精確稱定五份，分別加入 0.391 mg 的反式茴香腦(*trans*-anethole)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十二) HPLC 分析條件

1. 層析管：Shiseido Capcell PAK C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 254 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%, v/v, 0.1%甲酸)	水(%, v/v, 0.1%甲酸)
0	10	90
2	10	90
30	100	0
40	100	0
45	10	90
55	10	90

(十三) 臺灣市售小茴香含量測定

取十家市售小茴香檢品溶液各 10 μ L 連續兩針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品反式茴香腦(*trans*-anethole)的百分含量。

(十四) UPLC 分析條件

1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 1.7 μ m, 100mm x 2.1

2. 檢測波長：UV 254 nm

3. 流速：0.4 mL/min

4. 管柱溫度：35 °C

5. 注入量：1 µL

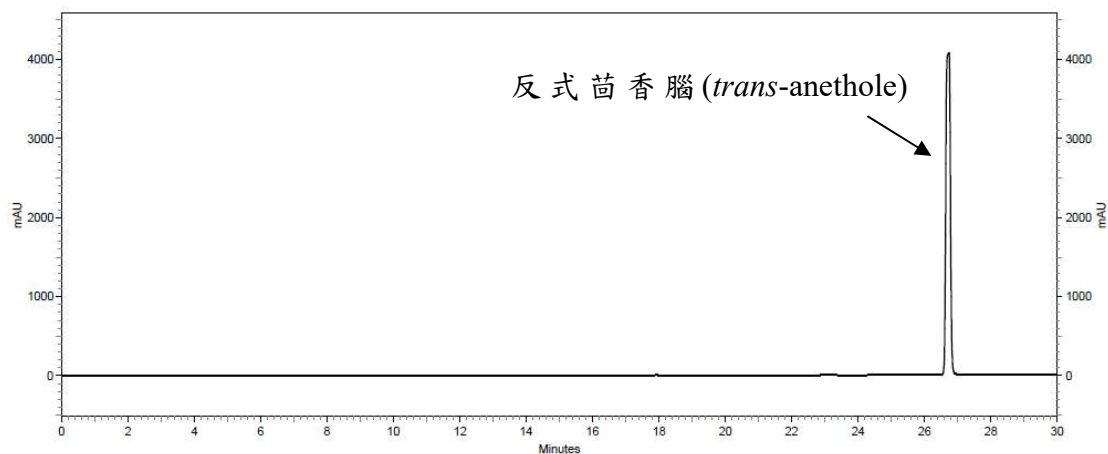
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%, v/v, 0.1% 甲酸)	水(%, v/v, 0.1% 甲酸)
0	5	95
1	5	95
10	100	0
13	100	0
15	5	95
18	5	95

五、結果

(一) 標準品反式茴香腦(*trans*-anethole)之 HPLC 層析

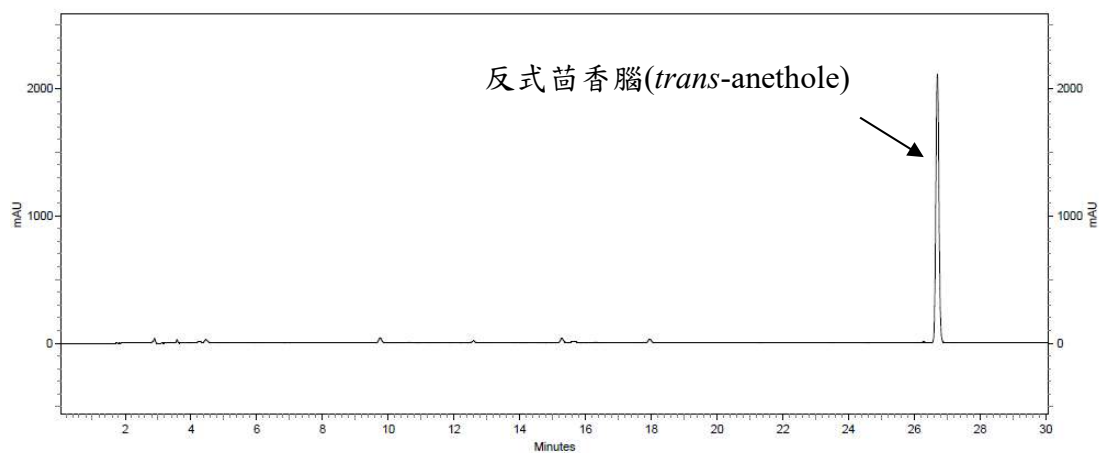
於滯留時間 26.72 分鐘處顯示反式茴香腦(*trans*-anethole)標準品波峰。



圖一、反式茴香腦(*trans*-anethole)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售小茴香檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 26.72 分鐘處顯示小茴香檢品中反式茴香腦(*trans*-anethole)波峰。



圖二、市售小茴香檢品之 HPLC 層析圖

(三) 萃取溶媒開發

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得反式茴香腦(*trans*-anethole)的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	甲醇	75%甲醇	50%甲醇	水
波峰面積	15119525	12401678	1339613	151754
Rank(1=Best, 7=Worst)	1	2	6	7
溶媒	乙醇	75%乙醇	50%乙醇	
波峰面積	11632913	8313713	6038612	
Rank(1=Best, 7=Worst)	3	4	5	

(四) 萃取次數考察

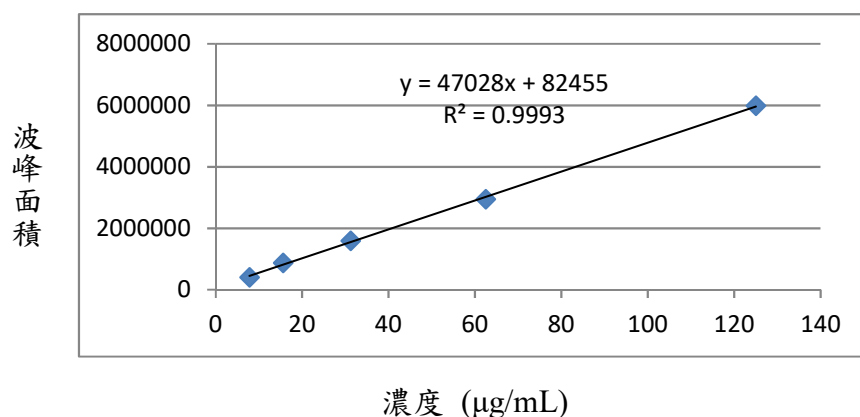
結果顯示萃取兩次基本上已將反式茴香腦(*trans*-anethole)萃取完全(萃取率大於 94%)

表二、小茴香檢品萃取次數考察

甲醇萃取次數	波峰面積
第一次	15119525
第二次	7566821
第三次	1425892

(五) 標準品反式茴香腦(*trans*-anethole)檢量線

經不同濃度反式茴香腦(*trans*-anethole)(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為： $y = 47028x + 82455$ ， $R^2 = 0.9993$ ，顯示濃度在 7.8—125 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係。



圖三、反式茴香腦(*trans*-anethole)之檢量線圖

表三、反式茴香腦(*trans*-anethole)之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
反式茴香腦 (<i>trans</i> -anethole)	7.8–125	$y = 47028x + 82455$	0.9993

(六) 再現性與精密度試驗

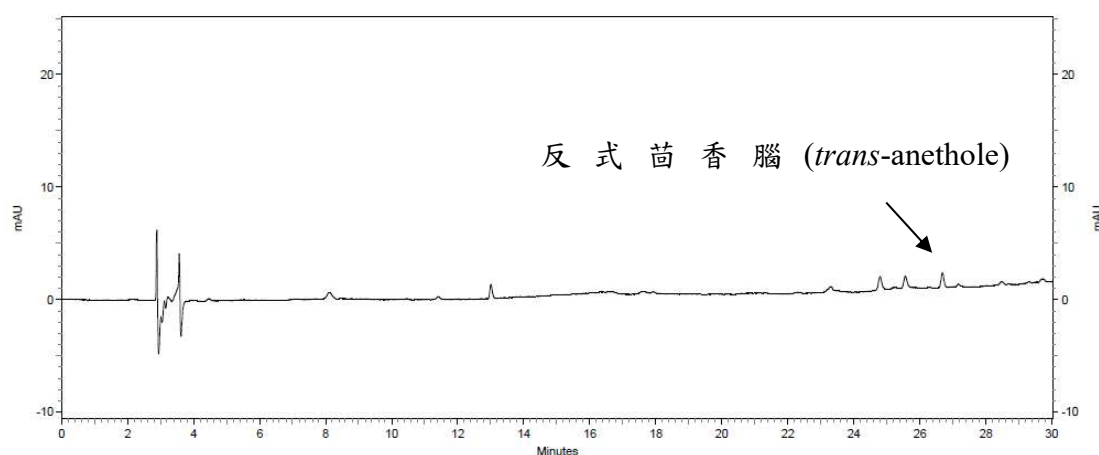
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，反式茴香腦(*trans*-anethole)精密度之相對標準差為 0.37%，再現性之相對標準差為 1.28%，均在可接受的範圍以內。

(七) 穩定性試驗

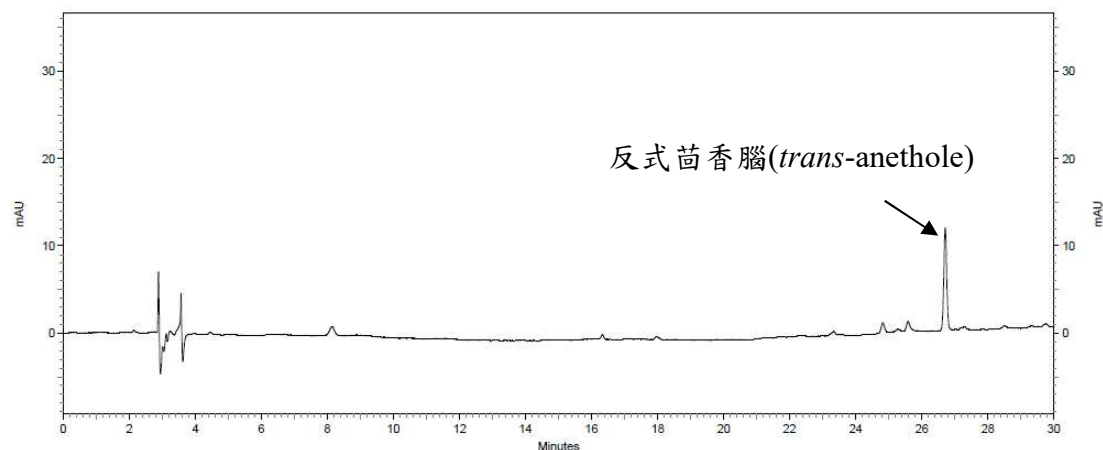
由結果可以得知，反式茴香腦(*trans*-anethole)在 24 小時內穩定，相對標準差為 2.04%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

反式茴香腦(*trans*-anethole)偵測極限(Limit of Detection, LOD)為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ ，定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)為 0.49 $\mu\text{g/mL}$ 。



圖四、反式茴香腦(*trans*-anethole)之 LOD 層析圖



圖五、反式茴香腦(*trans*-anethole)之 LOQ 層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	反式茴香腦(<i>trans</i> -anethole)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	62.5 µg/mL	0.37
再現性 (n=5)	檢品溶液(SL)	1.28
穩定性 (n=6)	檢品溶液(SL)	2.04
偵測極限 (n=3)	0.03 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	0.49 µg/mL	-

(九) 同日間與異日間試驗

由結果可以得知，反式茴香腦(*trans*-anethole)在檢量線之範圍濃度內同日間的相對標準差為 0.05—0.59%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異；異日間的相對標準差為 1.29—1.98%。

表五、反式茴香腦(*trans*-anethole)同日間與異日間試驗

對照標準品	濃度 (µg/mL)	異日間 (n=9) mean ± RSD	同日間 (n=3) mean ± RSD
反式茴香腦 (<i>trans</i> -anethole)	31.25	32.49 ± 1.29	32.43 ± 0.05
	62.5	60.62 ± 1.38	60.95 ± 0.59
	125	122.90 ± 1.98	122.71 ± 0.50

(十) 台灣市售小茴香含量測定

10 家小茴香藥材之含量測定結果(乾燥品)。藥材之反式茴香腦(*trans*-anethole)含量為 0.301—1.953%。

表六、台灣市售小茴香檢品之反式茴香腦(*trans*-anethole)含量

中藥店編號	反式茴香腦(<i>trans</i> -anethole)含量(%)	中藥店編號	反式茴香腦(<i>trans</i> -anethole)含量(%)
SJ	0.541	NJ	0.671
SH	0.786	NF	0.458
SE	0.611	CE	0.366
SC	0.301	NR	0.449
NN	0.819	SL	1.953

(十一) 添加回收率試驗

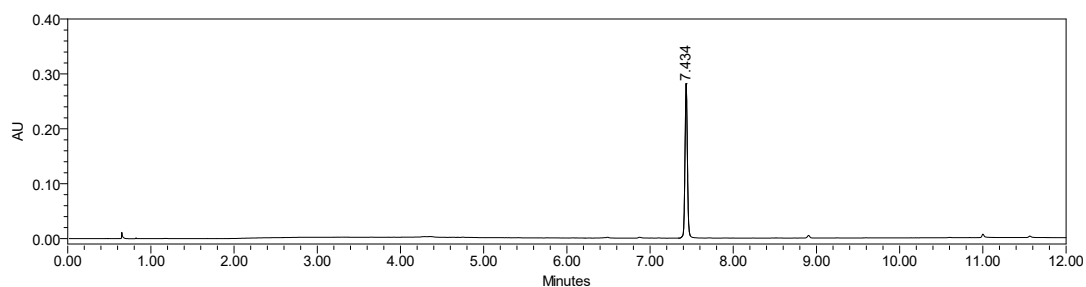
反式茴香腦(*trans*-anethole)平均添加回收率為 106.47%，相對標準偏差為 3.07%。

表七、反式茴香腦(*trans*-anethole)添加回收率

編號	藥材稱重(g)	含有量(mg)	加入量(mg)	測得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	R.S.D.(%)
1	0.5032	2.455	0.391	2.883	109.35	106.47	3.07
2	0.5022	2.455	0.391	2.859	103.33		
3	0.5015	2.455	0.391	2.856	102.50		
4	0.5028	2.455	0.391	2.879	108.46		
5	0.5031	2.455	0.391	2.880	108.71		

(十二) 標準品反式茴香腦(*trans*-anethole)之 UPLC 層析

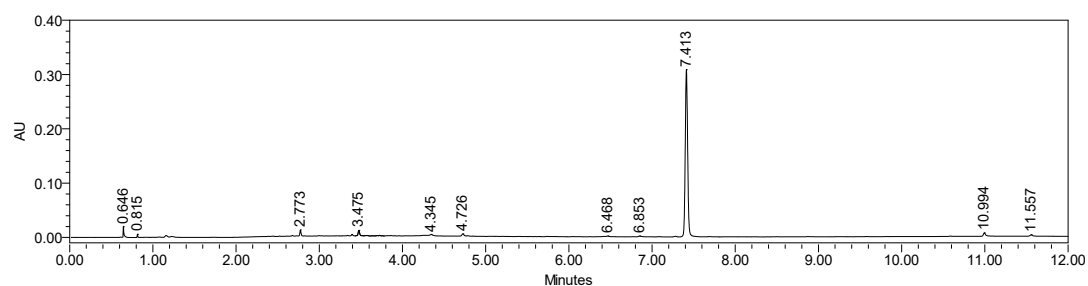
於滯留時間 7.43 分鐘處顯示反式茴香腦(*trans*-anethole)標準品的波峰。



圖六、反式茴香腦(*trans*-anethole)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售八角茴香檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 7.41 分鐘處顯示八角茴香檢品中反式茴香腦(*trans*-anethole)的波峰。

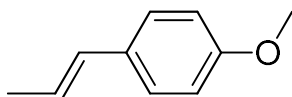


圖七、市售八角茴香檢品之 UPLC 層析圖

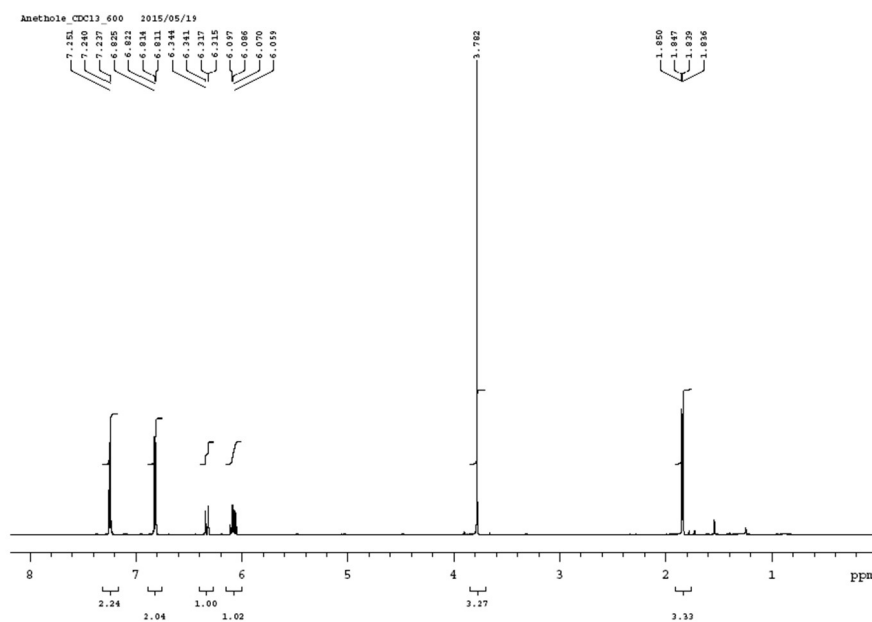
(十四) 反式茴香腦(*trans*-anethole)的分子式、分子量與沸點

分子式： $C_{10}H_{12}O$ Mol. Wt.: 148.20 bp: 234 °C

(十五) 反式茴香腦(*trans*-anethole)化學結構

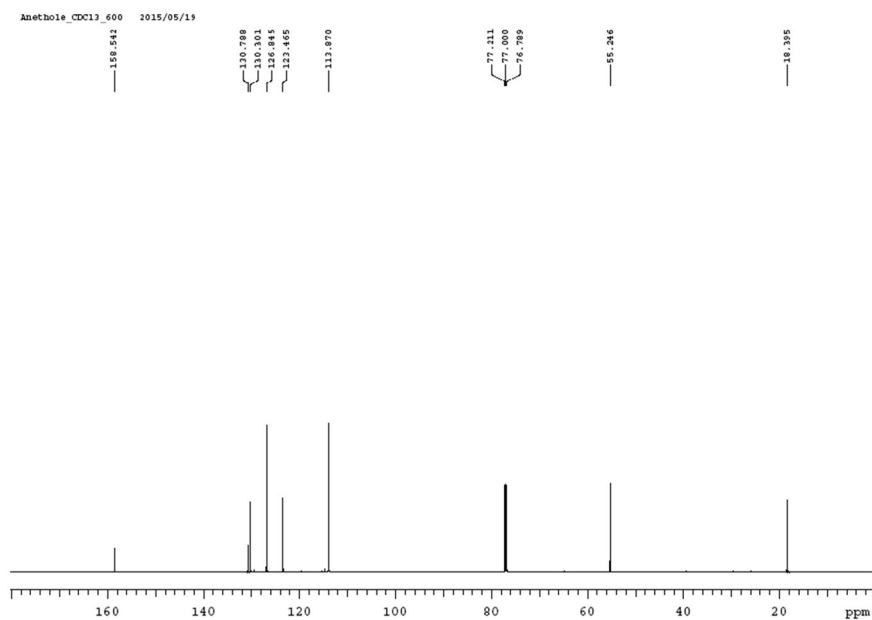


(十六) 反式茴香腦(*trans*-anethole)的 ^1H NMR 圖譜



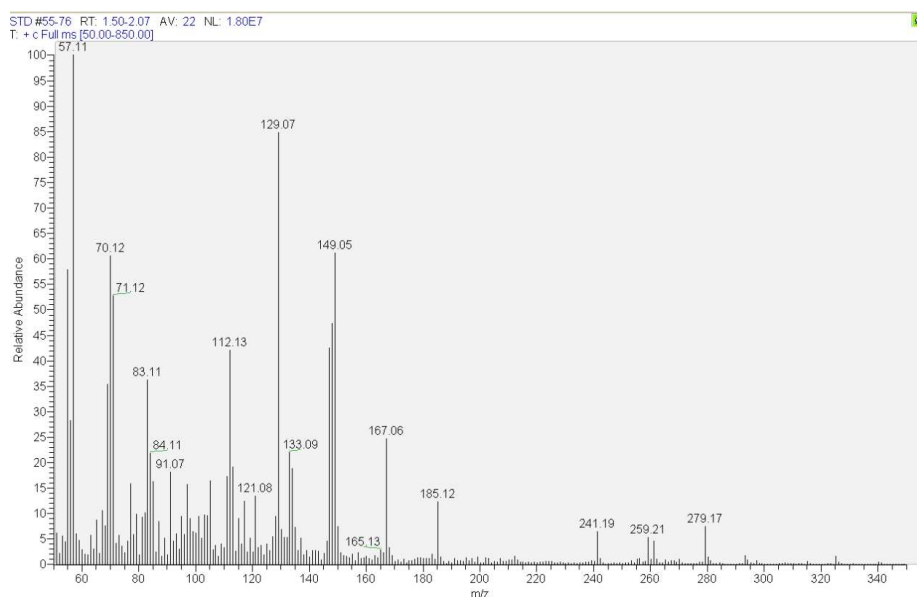
圖八、反式茴香腦(*trans*-anethole)之 ^1H NMR 圖譜(CDCl_3)

(十七) 反式茴香腦(*trans*-anethole)的 ^{13}C NMR 圖譜



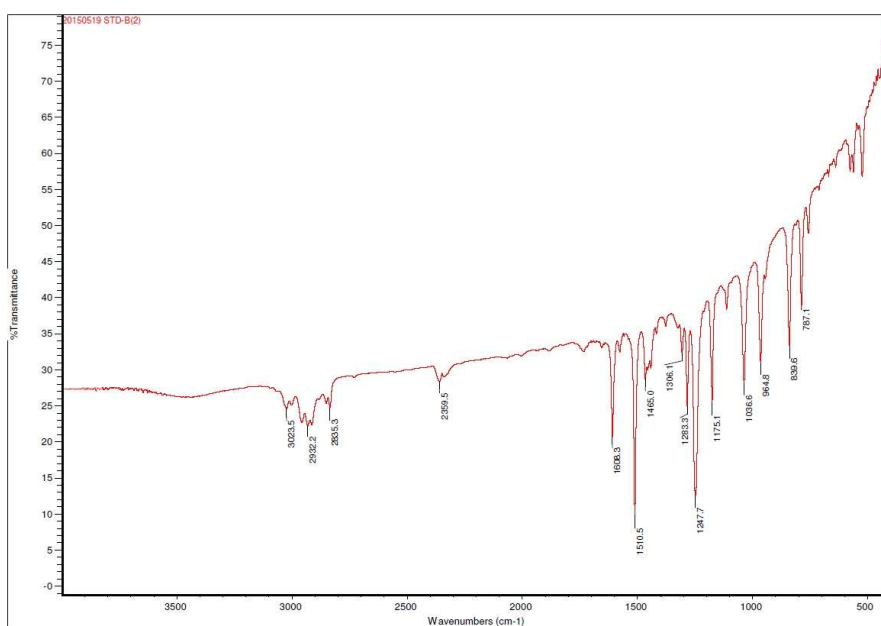
圖九、反式茴香腦(*trans*-anethole)之 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(十八) 反式茴香腦(*trans*-anethole)的 ESI-MS 圖譜



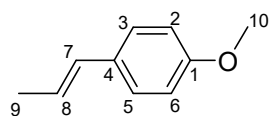
圖十、反式茴香腦(*trans*-anethole)之 ESI-MS 圖譜

(十九) 反式茴香腦(*trans*-anethole)的 FTIR 圖譜



圖十一、反式茴香腦(*trans*-anethole)之 FTIR 圖譜

(二十) 反式茴香腦(*trans*-anethole)的氫、碳化學位移



表八、反式茴香腦(*trans*-anethole)氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
1		158.5
2	6.81 (d, 8.4)	113.9
3	7.25 (d, 8.4)	130.3
4		126.8
5	7.25 (d, 8.4)	130.3
6	6.81 (d, 8.4)	113.9
7	6.32 (dd, 16.2, 1.8)	130.8
8	6.11–6.05 (m)	123.5
9	1.84 (dd, 6.6, 1.8)	18.4
10	3.77 (s)	55.2

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

小茴香

中文名：小茴香

生藥拉丁名：FOENICULI FRUCTUS

英文名：Fennel Fruit

基 原：本品為繖形科 Umbelliferae 植物茴香 *Foeniculum vulgare* Mill.之乾燥成熟果實。秋季果實初熟時採割植株，曬乾，打下果實，去除雜質。

一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第二版)**
——取本品粉末 0.5 g，加正己烷 10 mL，密塞，振搖 5 分鐘，過濾，濾液作為檢品溶液。
【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2015)
——取本品粉末 2.0 g，加乙醚 20 mL，超音波處理 10 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加三氯甲烷 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
【萃取方法 3】(自行開發) ✓
——取本品粉末 2.0 g，加乙酸乙酯 20 mL，超音波處理 10 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加二氯甲烷 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品
溶 液 取茴香醛(*p*-Anisaldehyde)及反式茴香腦(*trans*-Anethole)對照標準品，加無水乙醇製成每 1 mL 含 10 mg 及 1 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。
- (三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (四) 展 開 劑 **【展開劑 1】(臺灣中藥典第二版) ✓**
——正己烷：乙酸乙酯 (20：1)
【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2015)
——石油醚(60–80°C)：乙酸乙酯 (17：2.5)
- (五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (六) 展 開 展 開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。
- (七) 顯色&檢視 於主波長 254 nm 之紫外燈照射下檢視。

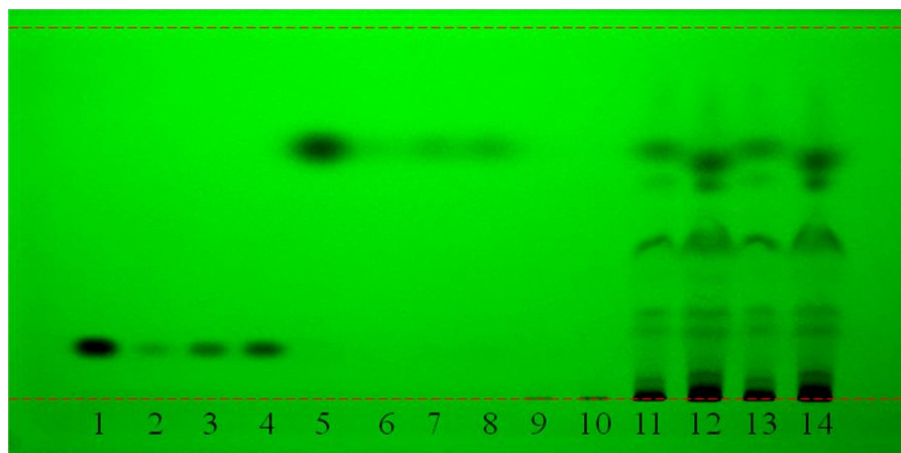
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：104/12/02

相對溼度(RH)：53%

溫度(RT)：29 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版)——正己烷：乙酸乙酯 (20：1)



編號	名稱	含量
1	茴香醛(<i>p</i> -Anisaldehyde) (10 mg/mL)	1 μ L
2, 3, 4	茴香醛(<i>p</i> -Anisaldehyde) (1 mg/mL)	1, 4, 7 μ L
5	反式茴香腦(<i>trans</i> -Anethole) (10 mg/mL)	1 μ L
6, 7, 8	反式茴香腦(<i>trans</i> -Anethole) (1 mg/mL)	1, 4, 7 μ L
9, 10	NF 檢品溶液【萃取方法 1】	5, 10 μ L
11, 12	NF 檢品溶液【萃取方法 2】	5, 10 μ L
13, 14	NF 檢品溶液【萃取方法 3】	5, 10 μ L

建議萃法：以【萃取方法 2】及【萃取方法 3】檢品溶液條帶呈現較【萃取方法 1】明顯，而因使用溶劑較廣用，故選擇自行開發之【萃取方法 3】。

建議點注量：茴香醛(*p*-Anisaldehyde) (1 mg/mL)標準品溶液 7 μ L，反式茴香腦(*trans*-Anethole) (10 mg/mL)標準品溶液 1 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

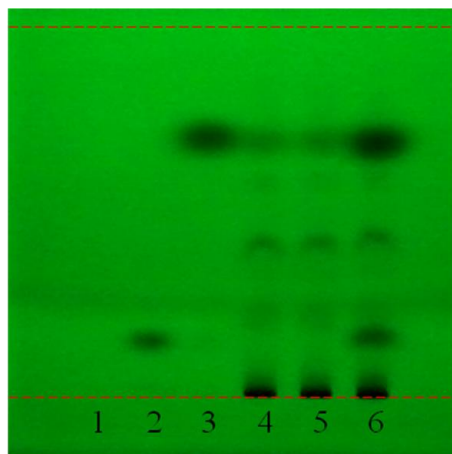
實驗日期：104/12/03

相對溼度(RH)：41%

溫度(RT)：27 °C

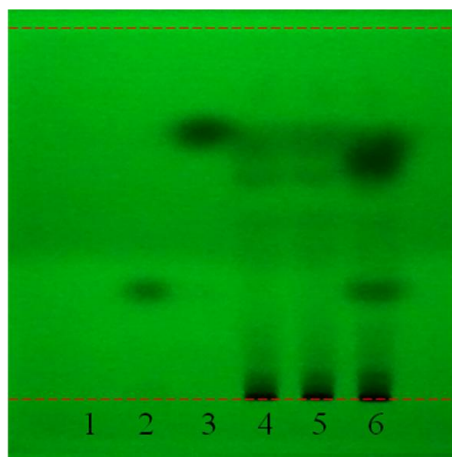
【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版)——正己烷：乙酸乙酯 (20：1)

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(茴香醛 R_f 值為 0.15；反式茴香腦 R_f 值為 0.71)



【展開劑 2】 (中華人民共和國藥典 2015)——石油醚(60–80°C)：乙酸乙酯 (17：2.5)

【萃取方法 3】 (自行開發) —— HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(茴香醛 R_f 值為 0.29；反式茴香腦 R_f 值為 0.73)



1：Blank

2：茴香醛(*p*-Anisaldehyde)

3：反式茴香腦(*trans*-Anethole)

4，5：NF 檢品溶液

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，採用臺灣中藥典第二版之【展開劑 1】較【展開劑 2】分離效果佳。

四、觀察方式選擇

實驗日期：104/12/03

相對溼度(RH)：41%

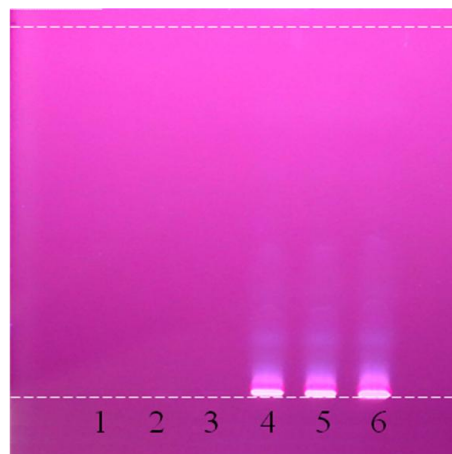
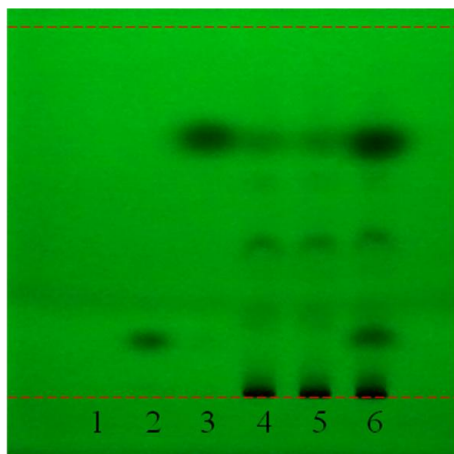
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版)——正己烷：乙酸乙酯 (20：1)

【萃取方法 3】(自行開發) — HPTLC 【萃取方法 3】(自行開發) — HPTLC

紫外光(254 nm)檢出

紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：茴香醛(*p*-Anisaldehyde)

3：反式茴香腦(*trans*-Anethole)

4，5：NF 檢品溶液

6：Spike

建議觀察方式：以紫外光(254 nm)檢視，茴香醛(*p*-Anisaldehyde)及反式茴香腦(*trans*-Anethole)標準品較紫外光(365 nm)有明顯之成分主點。

五、十家樣品檢測

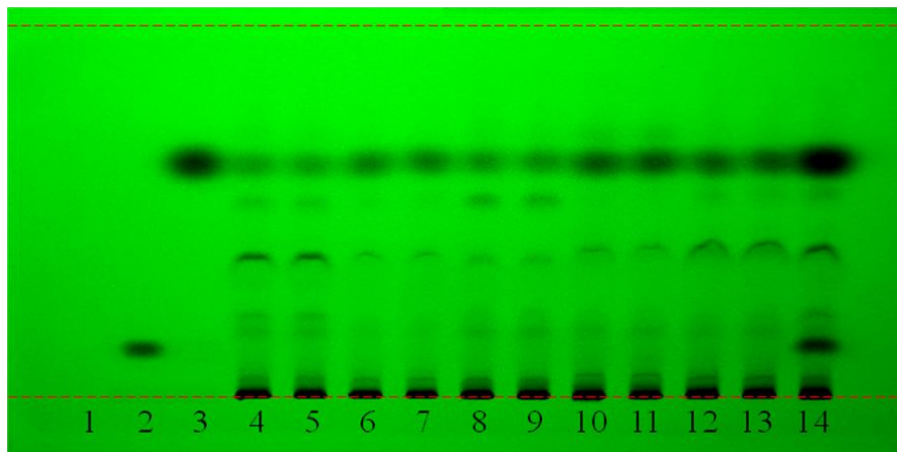
實驗日期：104/12/03

相對溼度(RH)：41%

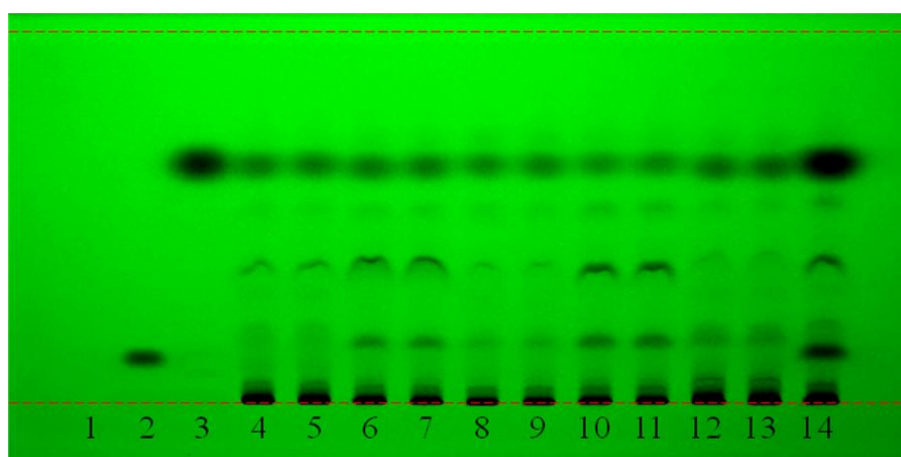
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第二版)——正己烷：乙酸乙酯 (20：1)

【萃取方法 3】 (自行開發)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



1	Blank
2	茴香醛(<i>p</i> -Anisaldehyde) (1 mg/mL)
3	反式茴香腦(<i>trans</i> -Anethole) (10 mg/mL)
4, 5	NF 檢品溶液
6, 7	NJ 檢品溶液
8, 9	NN 檢品溶液
10, 11	NR 檢品溶液
12, 13	CE 檢品溶液
14	Spike (NF 檢品溶液)



1	Blank
2	茴香醛(<i>p</i> -Anisaldehyde) (1 mg/mL)
3	反式茴香腦(<i>trans</i> -Anethole) (10 mg/mL)
4, 5	SC 檢品溶液
6, 7	SE 檢品溶液
8, 9	SH 檢品溶液
10, 11	SJ 檢品溶液
12, 13	SL 檢品溶液
14	Spike (NF 檢品溶液)

結論與建議：建議選用以自行開發之【萃取方法 3】方式較簡便，以及採用臺灣中藥典第二版之【展開劑 1】分離效果較佳，選用以紫外光(254 nm)檢視即可。