

蒙秋伊,付瑜华,申 刚,等. 薏苡种质资源中甘油三油酸酯和薏苡素的测定[J]. 江苏农业科学,2019,47(1):186-188.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.01.045

薏苡种质资源中甘油三油酸酯和薏苡素的测定

蒙秋伊,付瑜华,申 刚,刘凡值

(贵州省亚热带作物研究所,贵州兴义 562400)

摘要:采用高效液相色谱法(HPLC)分析比较 24 份薏苡仁中甘油三油酸酯、薏苡根中薏苡素含量的差异,结果表明,24 份薏苡种质的薏苡仁中甘油三油酸酯含量存在较大差异,Y78、Y28、Y83、Y24、Y8、Y216、Y14 这 7 份种质的薏苡仁中甘油三油酸酯含量低于 0.5%,其他均高于 0.5%;甘油三油酸酯含量最高的种质 Y166 比最低的种质 Y78 高 3.82 倍,薏苡根中薏苡素含量最高的种质 Y229 比最低的种质 Y211 高 1.22 倍;种质 Y166、Y164 的甘油三油酸酯、薏苡素含量均较高,可作为薏苡品种选育的亲本材料。

关键词:薏苡;甘油三油酸酯;薏苡素;高效液相色谱法

中图分类号:S519.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)01-0186-03

薏苡(*Coix lacryma-jobi* L.)为禾本科薏苡属 1 年生或多年生草本植物,别称薏仁米、六谷子、药玉米等,是传统药食兼用经济作物,具有极高的营养价值和重要的药用价值^[1-2]。薏苡干燥成熟种仁具有利水渗湿、健脾止泻、除痹、排脓、解毒散结等功效^[3]。有研究表明,薏苡对肉瘤、肝癌、胃癌、肺癌等具有较好疗效^[4-6],其抗肿瘤主要活性成分为薏苡仁油中的甘油三酯类成分(TAGs),其中包括甘油三油酸酯、甘油三亚油酸酯、1,2-油酸-3-亚油酸-甘油三酯、1,2-亚油酸-3-油酸-甘油三酯等,《中国药典》2015 年版以甘油三油酸酯作为评价薏苡仁药材质量指标成分^[3]。目前,抗肿瘤药康莱特注射液的主要成分就是薏苡仁油,并作为一种较为理想的抗肿瘤药物广泛应用于肺癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、鼻咽癌、肾癌等的治疗或辅助治疗^[7-9]。薏苡根收载于贵州省中药材、民族药材质量标准(2003 年版),为贵州少数民族用药,其作用成分为薏苡素,具有清热利湿、健脾和杀虫等功效,用于治疗热淋、血淋、石淋、黄疸、水肿、白带过多、脚气、风湿痹痛和蛔虫病等症^[10]。

薏苡种质资源中甘油三油酸酯和薏苡素的含量差异较大,导致薏苡品质良莠不齐。甘油三油酸酯一般在薏苡种仁中提取^[11-14],而薏苡素则以薏苡根部含量相对最高^[15-16],2 种药用成分主要提取部位不同。为达到有效利用,须同时采收薏苡仁、薏苡根分别提取薏苡甘油三油酸酯、薏苡素,而培育一个甘油三油酸酯、薏苡素含量高的“双高”薏苡品种十分

有价值。本试验以药典指标成分甘油三油酸酯、薏苡素为研究指标,考察贵州省亚热带作物研究所 24 份薏苡种质资源其成分含量差异,初步评价其药材品质,为优质“双高”薏苡的选育提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Prominence LC-20A 型液相色谱仪,由日本岛津公司生产;Alltech ELSD 3300 型蒸发光散射器,北京奥泰科技有限公司提供;KQ5200E 型超声波清洗器,由昆山市超声仪器有限公司生产;RE-52 型旋转蒸发器,由上海亚荣生化仪器厂生产;FS-II 型药材粉碎机,由广州航信科学仪器有限公司生产;BSA224S 型电子天平,由赛多利斯科学仪器(北京)有限公司生产。使用化学试剂有乙腈、二氯甲烷、甲醇(Merck 公司生产,色谱纯);试验用水为娃哈哈纯净水;对照品甘油三油酸酯、薏苡素,分别购于 Sigma 公司、卡迈舒(上海)生物技术有限公司,质量分数均大于 98.0%。

1.2 试验前期处理

试验于 2016 年 11 月在贵州师范大学分析测试中心进行,分别采集 24 份来源不同的薏苡种质资源(表 1)成熟种子及成熟期根;种子脱壳得薏苡仁,烘箱中 40℃烘 24 h,粉碎,过 100 目筛,备用;成熟期根用烘箱中 40℃烘干,粉碎,过 40 目筛,备用。

1.3 对照品和供试品溶液的制备

精确称取甘油三油酸酯对照品适量,加流动相制成 0.14 mg/mL 的溶液;精确称取薏苡素对照品适量,加甲醇配制成 0.096 mg/mL 的溶液。称量薏苡仁粉末 0.1 g 于 20 mL 瓶中,加入乙腈、二氯甲烷质量比为 59:41 的流动相 5 mL;浸泡过夜,超声 30 min;取出,冷却,称质量,加同样的流动相补足质量,摇匀;滤纸过滤,滤液用有机膜过滤;采用高效液相色谱法(HPLC)分析滤液的甘油三油酸酯含量。称量薏苡根粉末大约 1 g 于索氏提取器,加丙酮提取至无色;待提取液挥发干,25 mL 容量瓶中加甲醇溶解定容;有机膜过滤,采用高效液相色谱法(HPLC)分析滤液的薏苡素含量。

收稿日期:2018-04-24

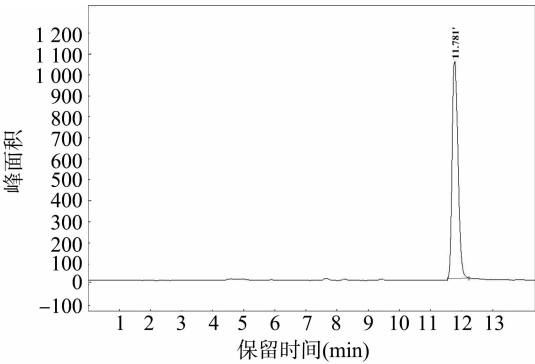
基金项目:贵州省农业科学院专项资金(编号:黔农科院院专项[2014]010);贵州省社会发展科技攻关计划(编号:黔科合 SY 字[2015]3023-4);贵州省农业科学院专项资金(编号:黔农科院院专项[2014]032);贵州省第五批省人才基地项目(编号:黔人领发[2016]22 号)。

作者简介:蒙秋伊(1984—),女,广西贵港人,硕士,助理研究员,从事植物细胞工程与生物技术育种研究。Tel:(0851)83760836;E-mail:mengqiuyi006@163.com。

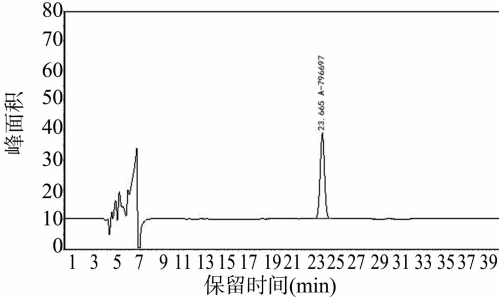
通信作者:申 刚,硕士,高级农艺师,从事特色植物资源研究。Tel:(0851)83760836;E-mail:shengang404@163.com。

表 1 24 份薏苡种质资源信息

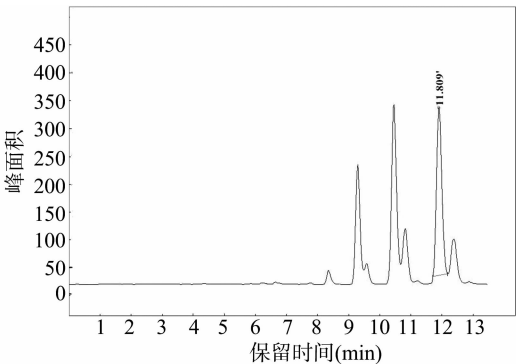
编号	来源
Y8	贵州省册亨县丫他镇八窝村
Y14	贵州省望谟县
Y24	云南省师宗县五龙乡脚家箐
Y28	云南省富源县龙潭村
Y32	四川省简阳市养马镇石洞村三组
Y44	贵州省兴仁县下山镇苦森箐村
Y45	贵州省安顺市紫云板当硐口村
Y78	贵州省黔西南州喀斯特发展研究院
Y83	贵州省黔西南州喀斯特发展研究院
Y84	贵州省黔西南州喀斯特发展研究院
Y107	贵州省关岭县新浦乡
Y111	贵州安顺普定太平农场
Y151	广西壮族自治区西林县古障镇
Y153	云南省罗平县城边
Y159	云南省马关县城
Y160	云南省马关县城
Y164	云南省文山市古木镇
Y166	云南省丘白县双龙营镇
Y184	云南省罗平县城边
Y199	湖北恩施咸丰县
Y200	重庆市黔江县
Y211	贵州省铜仁市印江县
Y216	云南省罗平县
Y229	贵州省印江县城边



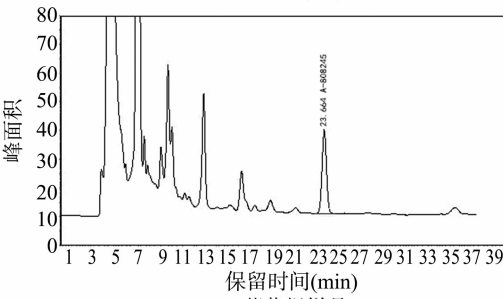
A. 甘油三油酸酯对照品



C. 薏苡素对照品



B. 薏苡仁样品



D. 薏苡根样品

图1 甘油三油酸酯、薏苡素对照品和薏苡供试品溶液的高效液相图谱

1.5.4 重复性检验 分别称取已测的同一薏苡仁、薏苡根样品各 6 份,薏苡仁 0.6 g、薏苡根 0.2 g,分别制备成供试品溶液;HPLC 法分别测定薏苡仁甘油三油酸酯、薏苡根薏苡素的峰面积,每次进样量为 10 μ L,计算峰面积相对标准偏差 (*RSD*)。

1.5.5 加样回收率检验 分别称取同一薏苡仁、薏苡根样品各 6 份,薏苡仁 0.5 g、薏苡根 1.0 g,分别加入等量的甘油三油酸酯、薏苡素对照品溶液,甘油三油酸酯、薏苡素添加量分

1.4 液相色谱条件

测量甘油三油酸酯的色谱条件:色谱柱为 250 mm \times 4.60 mm、5 μ m phenomenex C₁₈ 柱,流动相为乙腈、二氯甲烷质量比为 59 : 41,流量为 0.7 mL/min,色谱柱温度为 30 $^{\circ}$ C;蒸发光散射检测器检测。测量薏苡素的色谱条件:色谱柱为 250 mm \times 4.60 mm、5 μ m wondasil C₁₈ 柱;流动相为乙腈、水、磷酸质量比为 25 : 75 : 0.1,流速为 0.7 mL/min,色谱柱温度为 25 $^{\circ}$ C,紫外检测器波长为 232 nm。对照品和供试品溶液的高效液相色谱见图 1。

1.5 高效液相色谱法测试效果检验

1.5.1 线性关系检验 分别精确吸取甘油三油酸酯对照品溶液 2.5、10、15、20 μ L 及薏苡素对照品溶液 2、4、6、8、10 μ L,采用 HPLC 法分别测定峰面积;以进样量为横坐标 (*x*),峰面积为纵坐标 (*y*),分别绘制甘油三油酸酯、薏苡素的标准曲线,检验线性情况。

1.5.2 精密度检验 分别精确吸取甘油三油酸酯、薏苡素对照品溶液 10 μ L,HPLC 法连续测定 6 次甘油三油酸酯、薏苡素的峰面积,计算峰面积相对标准偏差 (*RSD*)。

1.5.3 稳定性检验 分别精确吸取同一薏苡仁、薏苡根供试品溶液,HPLC 法分别测定薏苡仁甘油三油酸酯、薏苡根薏苡素的峰面积,进样时间分别为 0、4、8、12、24 h,每次进样量为 10 μ L,计算峰面积相对标准偏差 (*RSD*)。

别为 0.386、0.296 mg,分别制备成供试品溶液,HPLC 法测定薏苡仁、薏苡根分别添加甘油三油酸酯、薏苡素的峰面积,计算甘油三油酸酯、薏苡素平均回收率和 *RSD* 值。

1.6 供试样品的测定

分别精确吸取 24 份薏苡种质薏苡仁、薏苡根供试品溶液各 10 μ L 作为进样,HPLC 法分别测定薏苡仁、薏苡根峰面积,按外标法计算甘油三油酸酯、薏苡素含量。每个样品重复 3 次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 高效液相色谱法测试效果检验

2.1.1 线性关系检验 试验结果表明,甘油三油酸酯、薏苡素的标准曲线分别为 $y = 1.292x + 17.310$ ($r^2 = 0.9830$)、 $y = 1.997.308x + 10.692$ ($r^2 = 0.9999$),线性范围分别为 0.335 ~ 3.1230、0.280 ~ 1.310 μg ,线性关系良好。

2.1.2 精密度检验 试验结果表明,甘油三油酸酯、薏苡素峰面积相对标准偏差(RSD)分别为 1.25%、0.96%,说明试验精密度良好。

2.1.3 稳定性检验 试验结果表明,甘油三油酸酯、薏苡素峰面积 RSD 值分别为 0.44%、0.28%,说明试验稳定性良好。

2.1.4 重复性检验 试验结果表明,甘油三油酸酯、薏苡素峰面积 RSD 值分别为 1.05%、1.10%,说明试验重复性较好。

2.1.5 加样回收率检验 试验结果表明,甘油三油酸酯、薏苡素的平均回收率分别为 100.5%、98.80%,RSD 值分别为 1.02%、1.23%,说明试验方法准确、可靠。

2.2 供试样品的测定结果

由表 2 可见,24 份薏苡种质中,薏苡仁中甘油三油酸酯含量达到 0.8% 以上的有 6 份种质,分别为 Y107、Y164、Y44、Y184、Y84、Y166,其中含量最高的为 Y166,达到 0.945%;甘油三油酸酯含量低于 0.5% 的有 7 份种质,分别为 Y78、Y28、Y83、Y24、Y8、Y216、Y14;根中薏苡素含量达到 560 mg/kg 以上的有 6 份种质,分别为 Y78、Y14、Y24、Y164、Y166、Y229,其中薏苡素含量最高的为 Y229,达到 666.7 mg/kg,最低的为 Y211,薏苡素含量为 300.0 mg/kg。由图 2 可知,薏苡仁中甘油三油酸酯含量与薏苡根中薏苡素含量无相关性。

表 2 24 份薏苡种质资源中薏苡仁甘油三油酸酯、
薏苡根薏苡素的含量情况

编号	甘油三油酸酯含量(%)	薏苡素含量(mg/kg)	编号	甘油三油酸酯含量(%)	薏苡素含量(mg/kg)
Y8	0.461	480.0	Y151	0.671	506.7
Y14	0.499	573.3	Y153	0.558	473.3
Y24	0.285	583.3	Y159	0.758	493.3
Y28	0.243	510.0	Y160	0.610	453.3
Y32	0.750	503.3	Y164	0.812	643.3
Y44	0.833	443.3	Y166	0.945	650.0
Y45	0.587	466.7	Y184	0.871	310.0
Y78	0.196	566.7	Y199	0.639	313.3
Y83	0.279	526.7	Y200	0.595	466.7
Y84	0.895	503.3	Y211	0.681	300.0
Y107	0.806	383.3	Y216	0.482	380.0
Y111	0.769	480.0	Y229	0.654	666.7

3 结论

《中国药典》2015 年版中规定,薏苡仁中甘油三油酸酯($\text{C}_{57}\text{H}_{104}\text{O}_6$)含量不得少于 0.50%^[3]。本试验测定 24 份薏苡种质的薏苡仁甘油三油酸酯含量发现,不同种质的薏苡仁中甘油三油酸酯含量存在较大差异,Y78、Y28、Y83、Y24、Y8、Y216、Y14 这 7 份种质的薏苡仁中甘油三油酸酯含量低于 0.5%,其他均高于 0.50%,符合药典标准;甘油三油酸酯含量最高的 Y166 比最低的 Y78 高 3.82 倍;薏苡根中薏苡素含量最高的 Y229 比最低的 Y211 高 1.22 倍;24 薏苡种质的薏

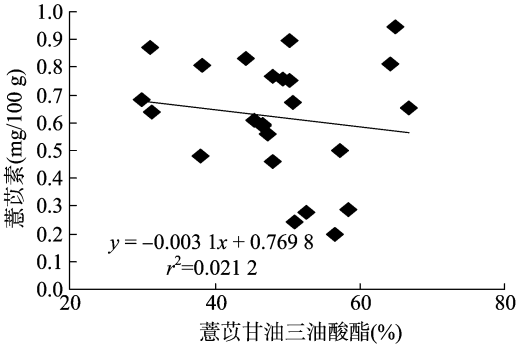


图 2 薏苡甘油三油酸酯含量和薏苡素含量的相关性

苡根中薏苡素含量与薏苡仁中甘油三油酸酯含量无相关性。综合各种质中甘油三油酸酯、薏苡素含量看,种质 Y166、Y164 二者相对较高,可作为“双高”药用薏苡品种的亲本材料。

参考文献:

[1] 蒙秋伊,刘鹏飞,张志勇. 薏苡种质资源及育种研究进展[J]. 贵州农业科学,2013,41(5):33-37.

[2] 刘荣,申刚,罗晓青,等. 薏苡遗传育种研究进展[J]. 河南农业科学,2015,44(3):1-4.

[3] 王颖,赵兴娥,王微,等. 薏苡不同部位营养成分分析及评价[J]. 食品科学,2013,34(5):255-259.

[4] Qi F H, Zhao L, Zhou A Y, et al. The advantages of using traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy in the whole course of cancer treatment instead of only terminal stage of cancer [J]. Bioscience Trends, 2015, 9(1): 16-34.

[5] Fu F, Wan Y, Mulati, et al. Kanglaite injection combined with hepatic arterial intervention for unresectable hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 2014, 10(1): 38-41.

[6] Liu X, Yang Q, Xi Y, et al. Kanglaite injection combined with chemotherapy versus chemotherapy alone in the treatment of advanced non-small cell lung carcinoma [J]. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 2014, 10(1): 46-51.

[7] 许健,沈雯,孙金权,等. 薏苡仁油对人原位胰腺癌 BxPC-3 细胞生长及 VEGF 和 bFGF 表达的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 724-728.

[8] 李晶,刘小军,赵达. 康莱特软胶囊联合化疗治疗晚期卵巢癌的临床研究 [J]. 西部中医药, 2013, 26(1): 1-4.

[9] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准 (2003 年版) [M]. 贵州: 贵州科技出版社, 2003.

[10] 范蕾,余乐,余华丽,等. HPLC-ELSD 法测定丽水薏苡仁中甘油三油酸酯的含量 [J]. 中国民族医药杂志, 2016(4): 49-50.

[11] 刘聪燕,黄萌萌,周静,等. 不同产地薏苡仁药效成分含量与体外抗肿瘤活性的相关性分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 7-10.

[12] 崔媛,王小明,杨勇,等. 薏苡仁油融合指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1698-1701.

[13] 任江剑,俞旭平,张斌,等. 不同种源薏苡仁中甘油三油酸酯含量比较 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(4): 15-17.

[14] 黄克俊,裴学海,蒋让勇,等. 高效液相法测定薏苡中各部位薏苡素的含量 [J]. 化工设计通讯, 2016, 42(7): 68.

[15] 李厚聪,刘圆,袁玮,等. RP-HPLC 法测定薏苡中薏苡素的含量 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(11): 154-157.