

# HPLC法同时测定浮小麦中5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的含量<sup>Δ</sup>

高明菊<sup>1,2\*</sup>, 毕丹<sup>1</sup>, 孟霜<sup>3</sup>, 裴妙荣<sup>3</sup>, 邓伟麟<sup>1</sup>, 徐畅<sup>1</sup>, 詹华强<sup>1</sup>, 董婷霞<sup>1#</sup>(1.香港科技大学中药研发中心, 香港; 2.文山学院文山三七研究院, 云南文山 663000; 3.山西中医学院, 太原 030024)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0244-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.18

**摘要** 目的:建立同时测定浮小麦中5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Phenomenex Luna C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸水(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm。结果:5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的质量浓度分别在2.83~113.20 μg/ml( $r=0.999\ 8$ )、17.55~702.00 μg/ml( $r=0.999\ 7$ )范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系;平均加样回收率分别为97.1%和98.2%,RSD分别为1.6%和1.8%( $n$ 均为6)。结论:本试验建立了浮小麦药材的质量控制方法,可为新版《中国药典》提供依据。

**关键词** 浮小麦;5-二十一烷基间苯二酚;亚油酸;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of 5-heneicosylresorcinol and Linoleic Acid in *Triticum aestivum* by HPLC

GAO Ming-ju<sup>1,2</sup>, BI Dan<sup>1</sup>, MENG Shuang<sup>3</sup>, PEI Miao-rong<sup>3</sup>, TANG Wai-lun<sup>1</sup>, XU Chang<sup>1</sup>, Tsim Wah-keung Karl<sup>1</sup>, DONG Ting-xia<sup>1</sup>(1.Center for Chinese Medicine R&D, Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, China; 2.Wenshan Sanqi Research Institute, Wenshan College, Yunnan Wenshan 663000, China; 3. Shanxi College of Traditional Chinese Medicines, Taiyuan 030024, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To develop the method for the content determination of 5-heneicosylresorcinol and linoleic acid in *Triticum aestivum*. METHODS: HPLC method was used. The separation was carried out on Phenomenex Luna C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm. RESULTS: The linear ranges of 5-heneicosylresorcinol and linoleic acid were 2.83-113.20 μg/ml( $r=0.999\ 8$ ) and 17.55-702.00 μg/ml( $r=0.999\ 7$ ), respectively. The average recoveries were 97.1% and 98.2%, and RSDs were 1.6% and 1.8% ( $n=6$ ), respectively. CONCLUSION: The quality control method of *T. aestivum* has been set up and could provide the evidence for *Chinese Pharmacopoeia*.

**KEY WORDS** *Triticum aestivum*; 5-heneicosylresorcinol; Linoleic acid; HPLC; Content determination

浮小麦(*Tritici Levis Fructus*)为禾本科植物小麦 *Triticum aestivum* L.干瘪轻浮的颖果<sup>[1]</sup>,性凉,味甘、咸,具有止汗、养心安神的功效,主治体虚多汗、心神不宁、惊悸等证<sup>[2]</sup>。浮小麦在我国中医药中应用广泛,但对其进行质量控制的方法尚无文献报道。笔者通过对浮小麦的化学成分研究,从中分离得到了5-二十一烷基间苯二酚(5-heneicosylresorcinol)和亚油酸。烷基间苯二酚类(ARs)是Wenkert EM等<sup>[3]</sup>首次在小麦、黑麦等麦类中发现的一类独特的酚类类脂,具有两亲性,广泛存在于有麦类制成的食品中。现代研究表明,ARs具有抑菌、抗肿瘤,以及对酶的抑制作用和抗氧化作用等<sup>[4-6]</sup>。亚油酸是笔者在研究浮小麦化学成分及分离过程中分到的另一个主要成分,具有降低血胆固醇及血脂、防治动脉粥样硬化的作用,可用于治疗血脂过高和动脉硬化等症。本试验采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定浮小麦中5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的含量,并考察10批浮小麦中2种成分含量的差异,建立浮

小麦药材的质量控制方法,为新版《中国药典》中浮小麦的检测方法提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 HPLC仪(美国Agilent公司);电子天平(德国Sartorius公司);B8510E超声波清洗器(美国Branson公司)。

### 1.2 试剂

乙腈为色谱纯,水为Milli-Q纯化水,其他试剂均为分析纯;5-二十一烷基间苯二酚对照品由山西中医学院和香港科技大学分离并进行结构鉴定(纯度>98%);亚油酸对照品(德国Sigma公司,纯度>98%,批号:110M1381V)。

### 1.3 药材

10批浮小麦购买于国内主要药材市场和香港药材市场,经山西中医学院裴妙荣教授鉴定为禾本科植物小麦 *T. aestivum* L.干瘪轻浮的颖果。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Luna C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%磷酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:1.0 ml/min;检测波长:210 nm;柱温:25 ℃;进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备

Δ 基金项目:香港特别行政区卫生署《香港中药材标准》项目(No.DH/TCMD/HKCMMS/5-80/95C)

\* 副研究员。研究方向:中药资源与活性评价。E-mail: gaomingju@163.com

# 通信作者:教授,博士。研究方向:中药资源与质量评价。电话:00852-23587318。E-mail:botina@ust.hk

表1 流动相梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution of mobile phase

时间,min	流动相A,%	流动相B,%
0	70	30
25	0	100
60	0	100

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸对照品各适量,加甲醇溶解,制成每1 ml含5-二十一烷基间苯二酚113.2 μg和亚油酸702.0 μg的混合对照品溶液。再用甲醇逐级稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液(5-二十一烷基间苯二酚的质量浓度分别为113.20、56.60、28.30、14.15、5.66、2.83 μg/ml,亚油酸的质量浓度分别为702.00、351.00、175.50、87.75、35.10、17.55 μg/ml)。

2.2.2 供试品溶液 取本品粉末(过三号筛)约1 g,精密称定,加入甲醇25 ml超声处理(功率:240 W,频率:40 kHz)3次,每次30 min,离心,取上清液。合并提取液,置水浴上蒸干,残渣加甲醇溶解、转移至10 ml量瓶中,定容,摇匀,即得。

### 2.3 系统适用性试验

分别取混合对照品溶液、供试品溶液各20 μl,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置处有相同色谱峰出现。理论板数均不低于5 000,分离度均>1.5。色谱见图1。

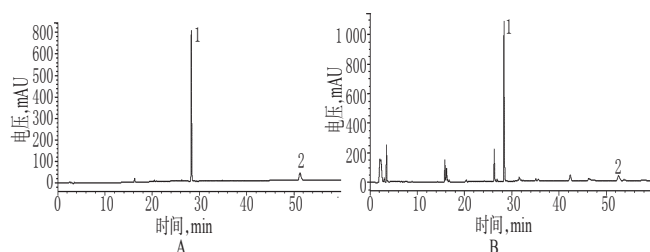


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;1.亚油酸;2.5-二十一烷基间苯二酚

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed control; B. test sample; 1. linoleic acid; 2. 5-heneicosyresorcinol

### 2.4 线性关系考察

取“2.2.1”项下系列质量浓度的混合对照品溶液依次进样,按上述色谱条件测定。以对照品的质量浓度(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的回归方程分别为 $y=79.063x+32.925$  ( $r=0.9998, n=6$ )、 $y=17.81x+68.338$  ( $r=0.9997, n=6$ )。结果表明,5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的质量浓度分别在2.83~113.20、17.55~702.00 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取5-二十一烷基间苯二酚质量浓度为56.60 μg/ml、亚油酸质量浓度为351.00 μg/ml的混合对照品溶液适量,按上述色谱条件连续进样6次,测定。结果,5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸峰面积的RSD分别为0.6%和0.9% ( $n$ 均为6),表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一份供试品溶液适量,分别于0、2、4、6、8、12 h按上述色谱条件进样分析。结果,5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸平均含量的RSD分别为0.8%和1.3% ( $n$ 均为6),表明供试品

溶液至少在12 h内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

取同一批浮小麦粉末适量,共6份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定。结果,5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸平均含量的RSD分别为0.7%和0.9% ( $n$ 均为6),表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取已测得含量的同一批浮小麦粉末6份,每份1 g,精密称定,分别加入混合对照品溶液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,计算5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery test( $n=6$ )

成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
5-二十一烷基间苯二酚	0.125 1	0.105 8	0.227 5	96.8	97.1	1.6
	0.125 2	0.105 8	0.228 4	97.6		
	0.125 9	0.105 8	0.226 7	95.2		
	0.124 7	0.105 8	0.227 7	97.4		
	0.125 8	0.105 8	0.227 4	96.0		
	0.126 8	0.105 8	0.232 3	99.8		
亚油酸	5.124 8	4.805 4	9.904 2	99.5	98.2	1.8
	5.129 5	4.805 4	9.953 1	100.4		
	5.134 8	4.805 4	9.795 6	97.0		
	5.120 5	4.805 4	9.902 4	99.5		
	5.124 8	4.805 4	9.761 7	96.5		
	5.124 8	4.805 4	9.752 3	96.3		

### 2.9 样品含量测定

取10批不同来源的浮小麦样品各1 g,精密称定,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,计算5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的含量,结果见表3。

表3 10批浮小麦中5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸含量(mg/g)

Tab 3 Content determination of 5-heneicosyresorcinol and linoleic acid in 10 batches of *T. aestivum* (mg/g)

批号	来源	5-二十一烷基间苯二酚	亚油酸
FXMC001	甘肃	0.117	5.935
FXMC002	山西	0.106	4.255
FXMC003	陕西	0.134	5.300
FXMC004	河北	0.101	5.895
FXMS001	山西运城	0.102	4.930
FXMS002	山西大同	0.116	4.900
FXMS003	河北安国	0.123	6.165
FXMS004	河北禹州	0.101	5.420
FXMS005	河北邢台	0.127	5.120
FXMS006	河南邯郸	0.109	5.165

## 3 讨论

### 3.1 提取条件的选择

本试验分别考察了甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷6种溶剂对浮小麦中2种成分的提取率,结果表明甲醇对2种成分的提取率均较高,故以甲醇作提取溶剂;再对提取次数进行考察,结果表明提取3次、每次30 min为最佳提取条件。同时,比较了加热回流、超声提取、索氏提取3种方法对2种成分的提取率,结果表明超声提取法的提取效率更高,且简便易行。

### 3.2 检测波长的选择

# 韭菜子的生药学研究<sup>△</sup>

徐红<sup>1,2,3\*</sup>,董婷霞<sup>1#</sup>,林燕靖<sup>1</sup>,邓伟麟<sup>1</sup>,詹华强<sup>1</sup>,王峥涛<sup>2,3</sup>(1.香港科技大学中药研发中心,香港;2.上海中医药大学中药研究所,上海 201203;3.上海中药标准化研究中心,上海 201203)

中图分类号 R284.1;R282.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0246-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.19

**摘要** 目的:建立韭菜子的生药学鉴别特征。方法:采用性状、显微和薄层色谱法对韭菜子进行鉴别研究,并建立其鉴别特征。结果:本试验在性状鉴别的基础上,详细描述了韭菜子的横切面结构与粉末特征,并建立了其薄层鉴别色谱。结论:本方法简单、易行、直观,可为韭菜子药材的进一步开发、利用及其质量标准制定提供依据。  
**关键词** 韭菜子;性状鉴别;显微鉴别;薄层色谱法

## Pharmacognostical Study of *Allium tuberosum*

XU Hong<sup>1,2,3</sup>, DONG Ting-xia<sup>1</sup>, LAM Yin-ching<sup>1</sup>, TANG Wai-lun<sup>1</sup>, TSIM Wah-keung Karl<sup>1</sup>, WANG Zheng-tao<sup>2,3</sup>(1. Center for Chinese Medicine R&D, Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Shanghai R&D Centre for Standardization of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201203, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the pharmacognostic identification and authentication method of *Allium tuberosum*. METHODS: *A. tuberosum* Semen was identified by property, microscopic examination and TLC, and identification characteristics were established. RESULTS: Based on the property identification, the features of transverse section and powder of *A. tuberosum* were described in detail to establish TLC. CONCLUSIONS: The method is sample, feasible and intuitive, and which provides the basis for further development and application, the establishment of quality standard of *A. tuberosum*.

**KEY WORDS** *Allium tuberosum*; Property identification; Microscopic identification; TLC

韭菜子(*Allii Tuberosi Semen*)是我国传统中药材之一,为百合科植物韭菜 *Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng. 的干燥成熟

种子,具有温补肝肾、壮阳固精的功效,主要用于治疗肝肾亏虚、腰膝酸痛、阳痿遗精、遗尿尿频、白浊带下等多种病症<sup>[1-2]</sup>。

为了实现对5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的同时测定,笔者分别取2种对照品溶液在200~400 nm波长范围内进行扫描,发现5-二十一烷基间苯二酚在210、280 nm波长处有最大吸收,且在210 nm波长处的吸收强于280 nm;亚油酸在210 nm波长处有最大吸收。为了同时兼顾这2种成分,本试验选择检测波长为210 nm。

### 3.3 流动相的选择

本试验分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-磷酸水系统,结果以乙腈-磷酸水系统(梯度洗脱)分离效果较好,有利于改善亚油酸的色谱峰形。由于2种成分极性相差较大,故洗脱时间较长,但在60 min内能够完成。

笔者采用HPLC法对不同来源的10批样品进行检测,结果表明亚油酸质量分数较高,均>0.4%;而5-二十一烷基间苯二酚含量虽然较低,但是是浮小麦的特征成分之一,且具有抑制肿瘤和抗氧化等作用,故笔者认为其为主要活性成分,因此

控制其含量对浮小麦的药效而言具有重要的意义。本试验所建HPLC法可在同一色谱条件下同时检测上述2种成分,方法快速、简便、可靠,能为浮小麦的质量控制提供依据。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 167.
- [2] 王正益,李娟,曹继华,等. 浮小麦与小麦的电泳研究[J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(3): 28.
- [3] Wilson EM, Loser EM, Mahapatra SN, et al. Wheat bran phenols [J]. *J Org Chem*, 1964, 29(2): 435.
- [4] Parikka K, Rowland IR, Welch RW, et al. In vitro antioxidant activity and antigenotoxicity of 5-n-alkylresorcinols [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(5): 1 646.
- [5] Korycinska M, Czelna K, Jaromin Anna, et al. Antioxidant activity of rye bran alkylresorcinols and extracts from whole-grain cereal products [J]. *Food Chem*, 2009, 116(4): 1 013.
- [6] Kozubek A, Tyman JH. Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity [J]. *Chem Rev*, 1999, 99(1): 1.

(收稿日期:2012-02-05 修回日期:2012-06-18)

△ 基金项目:香港特别行政区卫生署《香港中药材标准》项目(No. DH/TCMD/HKCMMS/5-80/101C)

\* 研究员,博士。研究方向:中药资源与质量评价。电话:021-51322506。E-mail: xuhongtcm@yahoo.com.cn

# 通信作者:教授,博士。研究方向:中药资源与活性评价。电话:00852-23587318。E-mail: botina@ust.hk