

# 一测多评法同时测定薏苡仁油中4种甘油三酯类抗肿瘤成分的含量<sup>Δ</sup>

吴人杰<sup>1\*</sup>, 许平翠<sup>1,2</sup>, 寿旦<sup>1,2</sup>, 李功华<sup>1</sup>, 兰青山<sup>3</sup>, 王娜妮<sup>1,2#</sup>(1. 浙江省中医药研究院中药研究中心, 杭州 310007; 2. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 3. 北京华邈药业有限公司, 北京 102600)

中图分类号 R282.6; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)10-1375-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.10.17

**摘要** 目的: 建立同时测定薏苡仁油中4种甘油三酯类抗肿瘤成分含量的方法。方法: 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法(HPLC-ELSD)。色谱柱为Inertsil ODS-3 C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-异丙醇(57:43, V/V), 流速为1.0 mL/min, 柱温为30 ℃, 进样量为10 μL; 蒸发光散射检测器漂移管温度为70 ℃, 气体流速为2 L/min。以甘油三油酸酯为内标, 分别计算其与甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯的相对校正因子(RCF), 通过RCF计算薏苡仁油中上述3种成分的含量, 同时采用外标法测定薏苡仁油中这4种成分的含量, 比较一测多评法和外标法的含量测定结果。结果: 甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯进样量检测线性范围分别为0.15~4.50、0.15~4.50、0.35~10.50、0.35~10.50 μg( $r \geq 0.9995$ ); 定量限分别为0.13、0.06、0.07、0.12 μg, 检测限分别为0.04、0.02、0.02、0.03 μg; 精密性、稳定性、重复性试验的RSD < 2.0% ( $n=6$ ); 加样回收率为95.43%~102.67% (RSD < 2.0%,  $n=6$ )。甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯的平均RCF分别为0.31、0.88、1.21。在不同试验条件下, RCF重现性良好。一测多评法和外标法的含量测定结果比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论: 该方法操作简单快捷、结果准确可靠, 可用于薏苡仁油中甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯4种抗肿瘤成分含量的同时测定。**关键词** 高效液相色谱法; 一测多评法; 薏苡仁油; 甘油三酯类成分; 相对校正因子

## Simultaneous Determination of 4 Triglyceride Anti-tumor Components in *Coix lacryma* Seed Oil by Quantitative Analysis of Multi-components by Single Marker

WU Renjie<sup>1</sup>, XU Pingcui<sup>1,2</sup>, SHOU Dan<sup>1,2</sup>, LI Gonghua<sup>1</sup>, LAN Qingshan<sup>3</sup>, WANG Nani<sup>1,2</sup> (1. TCM Research Center, Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China; 2. School of Pharmacy, Zhejiang University of TCM, Hangzhou 310053, China; 3. Beijing Huamiao Pharmaceutical Ltd. Company, Beijing 102600, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To establish a method for simultaneous determination of 4 triglyceride anti-tumor components in *Coix lacryma* seed oil. **METHODS:** HPLC-ELSD was adopted. The determination was performed on Inertsil ODS-3 C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-isopropanol (57:43, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 30 ℃, and the sample size was 10 μL. Evaporative light scattering detector was used, the drift tube temperature was 70 ℃, and the gas flow rate was 2 L/min. Using glycerol trioleate as internal standard, relative correction factors (RCF) of linolein trilinolein, 1,2-linoleic acid-3-palmitic acid glyceride and 1-palmitic acid-2-oleic acid-3-linoleic acid glyceride were calculated respectively. The contents of above 3 components in *C. lacryma* seed oil were calculated by RCF. The contents of 4 components in *C. lacryma* seed oil were determined by external standard. The results of content determination by quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) were compared with external standard method. **RESULTS:** The linear ranges were 0.15-4.50 μg for linolein trilinolein, 0.15-4.50 μg for 1,2-linoleic acid-3-palmitate, 0.35-10.50 μg for 1-palmitic acid-2-oleic acid-3-linoleic acid glyceride, 0.35-10.50 μg for glycerol trioleate ( $r \geq 0.9995$ ). The limits of quantification were 0.13, 0.06, 0.07, 0.12 μg. The limits of detection were 0.04, 0.02, 0.02, 0.03 μg, respectively. RSDs of precision, stability, and repeatability tests were less than 2.0% ( $n=6$ ). The average recoveries were 95.43%-102.67% (RSD < 2.0%,  $n=6$ ). Average RCFs of linolein trilinolein, 1,2-linoleic acid-3-palmitic acid glyceride and 1-palmitic acid-2-oleic acid-3-linoleic acid glyceride were 0.31, 0.88, and 1.21, respectively. RCFs reproducibility was perfect under different experiment conditions. There was no significant difference in results of content determination between QAMS and external standard method ( $P > 0.05$ ). **CONCLUSIONS:** The method is

<sup>Δ</sup> 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81603252); 国家自然科学基金资助项目(No.ZYBZH-Y-ZY-45); 浙江省自然科学基金资助项目(No.LQ17H280002); 浙江省中医药科技计划项目(No.2016ZB008); 浙江省中医药防治重大疾病攻关计划项目(No.2018ZY003)

\* 主管中药师。研究方向: 中药质量标准。电话: 0571-88849089。E-mail: wu.ren jie@sohu.com

# 通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 中药药效物质基础。电话: 0571-88849089。E-mail: wnn8511@163.com

simple, rapid, accurate and reliable. It is used for simultaneous determination of linolein trilinolein, 1, 2-linoleic acid-3-palmitate, 1-palmitic acid-2-oleic acid-3-linoleic acid glyceride and glycerol trioleates in *C. lacryma* seed oil.

**KEYWORDS** HPLC; Quantitative analysis of multi-components by single marker; *Coix lacryma* seed oil; Triglyceride; Relative correction factor

薏苡仁收载于2015年版《中国药典》(一部),为禾本科植物薏苡[*Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen.* (Roman.) Stapf]的干燥成熟种仁,具有健脾利湿、除痹止泻、清热排脓等功效,用于治疗水肿、脚气、小便不利、湿痹拘挛、脾虚泄泻、肺痈、肠痈、扁平疣等疾病<sup>[1]</sup>。薏苡仁的主要活性成分包括酯类、不饱和脂肪酸类、糖类及内酰胺类等<sup>[2]</sup>。有研究表明,薏苡仁及其活性成分具有抗肿瘤、抗炎、提高免疫力、降糖等药理作用<sup>[3]</sup>。其中,研究者对薏苡仁油的关注颇多。薏苡仁油是从薏苡仁的种核中提取的,有研究证实薏苡仁油具有抑制肿瘤细胞增殖和提高免疫力的作用,可用于肺癌、肝癌、乳腺癌等肿瘤的治疗<sup>[4-5]</sup>。薏苡仁油中主要抗肿瘤成分是甘油三酯类成分<sup>[6]</sup>,包括甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-油酸甘油酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯、1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯等,但上述成分的对照品来源有限且价格昂贵,增加了检测成本。目前,薏苡仁抗肿瘤成分的含量测定方法主要采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法(HPLC-ELSD)<sup>[7]</sup>,研究的主要成分是甘油三油酸酯,而针对其他甘油酸酯类成分的研究较少,故难以全面有效地评价薏苡仁的质量。鉴于此,笔者采用一测多评法,以常见易得、检测技术成熟的甘油三油酸酯为内标,分别计算其与甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯的相对校正因子(RCF),利用RCF测定上述成分的含量,并将结果与外标法测得数据进行比较,旨在实现薏苡仁中4种甘油三酯类抗肿瘤成分的同时测定及检验成本的降低。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-20A型HPLC仪,包括Alltech 2000型ELSD(日本Shimadzu公司);U3000型HPLC仪,包括Alltech 3300型ELSD(美国Thermo公司);KQ-400DE型数控超声波清洗器(昆山舒美超声仪器有限公司);AE 50型电子天平[瑞士梅特勒-托利多仪器(中国)有限公司];800A型多功能粉碎机(永康市红太阳机电有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

甘油三油酸酯对照品(批号:111692-201605,纯度:>99%)购自中国食品药品检定研究院;甘油三亚油酸酯对照品(批号:B26382,纯度:>95%)、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯对照品(批号:D460615,纯度:>

98%)、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯对照品(批号:CFAD-P8577,纯度:>98%)均购自上海安谱实验科技股份有限公司;乙腈、异丙醇为色谱纯,石油醚(60~90℃)为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 药材

10批薏苡仁饮片样品经浙江省中医药研究院药用资源研究中心浦锦宝研究员鉴定为薏苡[*Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen.* (Roman.) Stapf]的干燥成熟种仁,其来源见表1。采用多功能粉碎机将10批薏苡仁打粉过3号筛,备用。

表1 薏苡仁样品来源

Tab 1 Source of *C. lacryma* samples

批号	来源	批号	来源
YYR01	贵州黔东南州兴仁县	YYR06	浙江省丽水市缙云县
YYR02	贵州黔东南州兴仁县	YYR07	重庆市酉阳县
YYR03	贵州黔东南州兴仁县	YYR08	江西樟树中药材市场
YYR04	福建省三明市宁化县	YYR09	广西省百色市西林县
YYR05	云南省曲靖市师宗县	YYR10	广州清平中药材市场

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Inertsil ODS-3 C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-异丙醇(57:43, V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样量:10 μL。ELSD漂移管温度:70℃;气体流速:2 L/min。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯对照品适量,精密称定,置于量瓶中,加流动相制成质量浓度均为1.0 mg/mL的对照品贮备液。分别取上述对照品贮备液适量,加流动相配制质量浓度分别为0.15、0.15、0.35、0.35 mg/mL的混合对照品溶液。

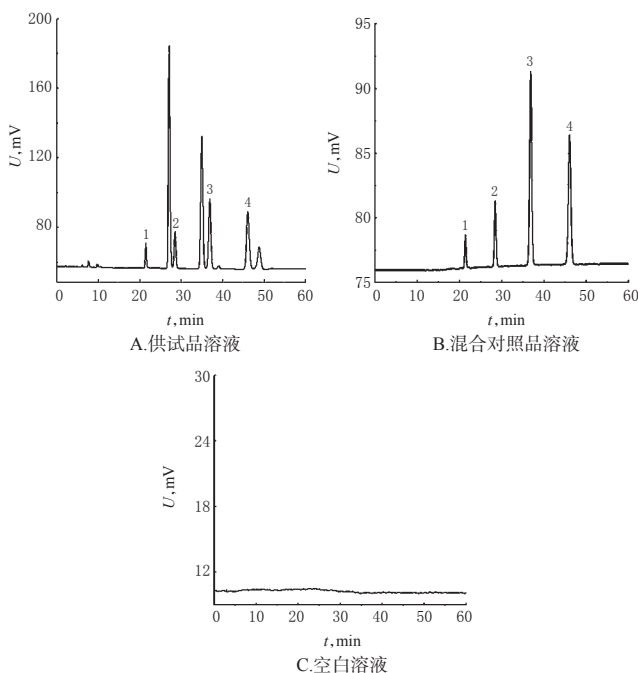
2.2.2 供试品溶液 称取薏苡仁粉末3.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入石油醚30 mL,称定质量,超声(功率:300 W,频率:28 kHz)处理30 min,放冷,再称定质量,用石油醚补足减失的质量,摇匀,滤过,减压浓缩除去石油醚,获得薏苡仁油。取薏苡仁油30 mg,加流动相溶解,并定容至10 mL,经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 空白溶液 取流动相作为空白溶液。

### 2.3 系统适用性试验

分别精密量取“2.2”项下甘油三亚油酸酯、1,2-亚油

酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯质量浓度分别为0.15、0.15、0.35、0.35 mg/mL的混合对照品溶液、供试品溶液和空白溶液各10 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,在该色谱条件下,各被测成分之间、被测成分与杂质峰均达到基线分离,4种成分的分度均大于1.5,理论板数按甘油三油酸酯峰计应不低于5 000,详见图1。



注:1.甘油三亚油酸酯;2.1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯;3.1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯;4.甘油三油酸酯

Note: 1. linolein trilinolein; 2. 1, 2-linoleic acid-3-palmitate; 3. 1-palmitic acid-2-oleic acid-3-linoleic acid glyceride; 4. glycerol trioleates

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

## 2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液1、5、10、20、30 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以进样量的对数值(x)为横坐标、峰面积的对数值(y)为纵坐标进行线性回归,线性关系考察结果见表2。

表2 线性关系考察结果

Tab 2 Results of linear relationship investigation

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg
甘油三亚油酸酯	$y=1.874 2x+4.390 0$	0.999 7	0.15~4.50
1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯	$y=1.716 2x+4.871 9$	0.999 8	0.15~4.50
1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯	$y=1.750 1x+4.764 0$	0.999 8	0.35~10.50
甘油三油酸酯	$y=1.860 7x+4.601 0$	0.999 5	0.35~10.50

## 2.5 定量限与检测限考察

分别取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,用流动相倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定。当信噪比为10:1时,得定量限;当信噪比为3:1时,得检测限。结果,

甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯的定量限分别为0.13、0.06、0.07、0.12 μg,检测限分别为0.04、0.02、0.02、0.03 μg。

## 2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,每次10 μL,记录峰面积。结果,甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯峰面积的RSD分别为0.89%、0.69%、0.55%、0.60% (n=6),表明仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:YYR09),分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯峰面积的RSD分别为1.88%、1.13%、1.24%、1.01% (n=6),表明供试品溶液在室温下放置24 h稳定性良好。

## 2.8 重复性试验

取样品粉末(批号:YYR09)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算样品含量。结果,甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯的平均含量分别为0.70、0.49、0.75、0.91 μg/g, RSD分别为1.08%、1.04%、1.06%、1.16% (n=6),表明本方法重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

取样品粉末(批号:YYR09)适量,共6份,每份约3.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

## 2.10 一测多评法测定含量

2.10.1 RCF的计算 精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液1、5、10、20、30 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定。以甘油三油酸酯为内标,按公式 $f_{s/k} = f_s/f_k = c_k \times A_s / c_s \times A_k$ (式中, $c_s$ 为内标浓度, $c_k$ 为待测物浓度, $A_s$ 为内标峰面积, $A_k$ 为待测物峰面积)<sup>[8]</sup>,分别计算甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯的RCF,结果见表4。

2.10.2 RCF的重现性考察 取“2.2.1”项下混合对照品溶液和“2.2.2”项下供试品溶液,分别进样10 μL,考察2个不同厂家的HPLC仪和4个不同品牌的色谱柱(均为

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests(n=6)

待测成分	取样量, g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
甘油三亚油酸酯	3.01	2.16	1.50	3.70	102.67	100.67	1.45
	3.00	2.18	1.50	3.69	100.67		
	3.00	2.19	1.50	3.68	99.33		
	2.99	2.16	1.50	3.68	101.33		
	2.98	2.15	1.50	3.63	98.67		
1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯	3.00	2.17	1.50	3.69	101.33	98.44	1.40
	3.01	2.69	1.50	4.15	97.33		
	3.00	2.68	1.50	4.17	99.33		
	3.00	2.67	1.50	4.18	100.67		
	2.99	2.67	1.50	4.15	98.67		
1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯	2.98	2.66	1.50	4.12	97.33	96.76	0.64
	3.00	2.71	1.50	4.17	97.33		
	3.01	5.08	3.50	8.47	96.86		
	3.00	5.07	3.50	8.45	96.57		
	3.00	5.06	3.50	8.42	96.00		
甘油三油酸酯	2.99	5.06	3.50	8.46	97.14	97.90	1.71
	2.98	5.05	3.50	8.42	96.29		
	3.00	5.09	3.50	8.51	97.71		
	3.01	6.36	3.50	9.84	99.43		
	3.00	6.34	3.50	9.76	97.71		
	3.00	6.36	3.50	9.81	98.57		
	2.99	6.34	3.50	9.72	96.57		
	2.98	6.33	3.50	9.67	95.43		
	3.00	6.37	3.50	9.86	99.71		

表4 3种成分的RCF考察结果

Tab 4 Results of RCF of 3 components

进样量, μL	甘油三亚油酸酯	1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯	1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯
1	0.32	0.88	1.19
5	0.31	0.86	1.21
10	0.32	0.90	1.22
20	0.30	0.89	1.19
30	0.30	0.89	1.22
平均值	0.31	0.88	1.21
RSD, %	2.34	1.60	0.98

250 mm×4.6 mm, 5 μm)对RCF的影响。结果,甘油三油酸酯对甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯RCF的RSD均小于5%,表明结果比较稳定可靠,详见表5。

表5 不同色谱仪和不同色谱柱条件下测得的RCF

Tab 5 RCF determined by different instruments and columns

HPLC仪	色谱柱	甘油三亚油酸酯	1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯	1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯
LC-20A	Inertsil ODS-3 C <sub>18</sub>	0.32	0.88	1.21
	Agilent Eclipse XDB C <sub>18</sub>	0.33	0.84	1.22
U3000	Synchromis C <sub>18</sub>	0.31	0.87	1.16
	Capcell PAK C <sub>18</sub>	0.34	0.84	1.12
平均值		0.33	0.86	1.18
RSD, %		3.70	2.49	3.97

2.10.3 待测组分色谱峰的定位 在无对照品的条件下,准确定位每个色谱峰是一测多评法成功应用的关

键,可采用相对保留时间( $r_{k/s}$ )进行峰定位<sup>[9]</sup>。其中, $r_{k/s} = t_{R(k)}/t_{R(s)}$ [式中, $t_{R(k)}$ 为待测物保留时间, $t_{R(s)}$ 为内标保留时间]。本研究利用甘油三油酸酯对甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯的 $r_{k/s}$ 进行定性,测得各成分 $r_{k/s}$ 的RSD均小于5%,表明利用 $r_{k/s}$ 进行色谱峰的定位可行,结果详见表6。

表6 不同色谱仪和不同色谱柱条件下测得的 $r_{k/s}$

Tab 6 Relative retention time determined by different instruments and columns

HPLC仪	色谱柱	甘油三亚油酸酯	1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯	1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯
LC-20A	Inertsil ODS-3 C <sub>18</sub>	0.44	0.62	0.80
	Agilent Eclipse XDB C <sub>18</sub>	0.43	0.59	0.78
U3000	Synchromis C <sub>18</sub>	0.46	0.62	0.81
	Capcell PAK C <sub>18</sub>	0.45	0.63	0.84
平均值		0.44	0.61	0.81
RSD, %		3.06	3.18	2.89

### 2.11 一测多评法和外标法测定结果比较

取10批薏苡仁样品粉末,平行3份,按“2.2.2”项下方法制备供试品,按“2.1”项下色谱条件进样测定,分别采用一测多评法和外标法测定薏苡仁中4种甘油三酯类成分的含量,结果见表7。采用SPSS 19.0软件对两种方法所测结果进行t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。结果,各待测成分含量检测结果组间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表7 样品含量测定结果(n=3, μg/g)

Tab 7 Results of contents determination of samples (n=3, μg/g)

批号	甘油三亚油酸酯		1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯		1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯		甘油三油酸酯
	外标法	一测多评法	外标法	一测多评法	外标法	一测多评法	外标法
YYR01	0.98	0.80	0.93	0.78	1.97	1.64	2.76
YYR02	0.96	0.82	0.84	0.70	1.85	1.58	2.54
YYR03	1.09	1.20	0.78	0.71	1.62	1.44	2.16
YYR04	0.79	0.72	0.61	0.51	1.33	1.13	1.93
YYR05	0.84	0.85	0.57	0.48	1.32	1.14	1.86
YYR06	0.75	0.64	0.47	0.33	1.12	0.83	2.00
YYR07	0.73	0.61	0.52	0.38	1.15	0.84	2.05
YYR08	0.82	0.80	0.66	0.61	1.33	1.15	1.88
YYR09	0.68	0.61	0.51	0.43	1.10	0.90	1.69
YYR10	0.84	0.75	0.63	0.50	1.47	1.24	2.12

## 3 讨论

### 3.1 测定成分的选择

甘油三酯类成分是薏苡仁中含有的主要活性成分之一,药理活性显著,且与薏苡仁的功效具有相关性<sup>[10]</sup>,是评价薏苡仁质量的适宜指标。另外,目前的研究很少涉及甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯的含量,但是以上化合物都具有显著的抗肿瘤活性<sup>[11]</sup>,其作用强度不亚于甘油三油酸酯。因此,笔者选择同时测定4种甘油三酯类成

分的含量。

### 3.2 检测方法的选择

一测多评法是利用廉价易得的典型化学成分为对照,实现多个成分同时测定,能从整体上对中药、饮片及制剂的质量进行控制<sup>[12-13]</sup>,此方法已在黄连<sup>[9]</sup>、川芎<sup>[14]</sup>、知母<sup>[15]</sup>、山茱萸<sup>[16]</sup>、黄芩<sup>[17]</sup>等药材及中药制剂中得以验证。本试验选择可靠、成熟的外标法<sup>[18]</sup>测得数据结果与一测多评法测得数据结果进行对比来验证一测多评法的准确性。本研究结果证明,一测多评法适合评价薏苡仁多种甘油三酯类成分的含量,有助于全面反映该类中药饮片的质量水平。

### 3.3 内标的选择

薏苡仁中甘油三酯类成分复杂且易分解和聚合,成本较高,甘油三油酸酯作为薏苡仁的指标性化合物,相较于其他甘油三酯类成分稳定、易得,含量适中,且国内外研究者对其均有相关研究报道<sup>[9]</sup>。同时,2015年版《中国药典》(一部)也将其作为薏苡仁含量控制指标成分,因此笔者选择薏苡仁作为一测多评法的内标。本文研究表明,甘油三油酸酯作为内标,能够反映其他3种甘油三酯类成分的含量,具有较好的代表性。

### 3.4 色谱条件的选择

在2015年版《中国药典》(一部)中薏苡仁含量测定所用流动相为乙腈-二氯甲烷<sup>[1]</sup>。但经前期试验发现,二氯甲烷对HPLC系统管路有腐蚀性,造成管路易堵,样品含量测定不准确<sup>[20]</sup>,故本试验选择乙腈-异丙醇为流动相。

### 3.5 含量测定结果分析

由表7可知,来自8个不同产地薏苡仁饮片中甘油三酯类成分含量在0.33~2.76 μg/g范围内。其中,1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯和甘油三油酸酯的含量相对较高,甘油三亚油酸酯和1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯的含量相对较低;此外结果还显示,不同产地薏苡仁中甘油三酯类成分含量差异较明显,贵州产薏苡仁中4种化学成分相较于其他产地均偏高,而浙江、重庆、广西产地薏苡仁中4种化学成分相较于其他产地均偏低。这可能是因为贵州是薏苡仁的主产区,而甘油三酯类成分含量与其种植环境和种植技术密切相关<sup>[21]</sup>。

## 4 结语

文献报道甘油三油酸酯是薏苡仁的主要活性成分<sup>[22]</sup>,甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯也具有抗肿瘤活性<sup>[23]</sup>,甘油三酯类成分的含量对薏苡仁药效的发挥具有重要意义<sup>[24]</sup>。本研究通过建立薏苡仁一测多评法计算出薏苡仁中甘油三酯类成分的RCF,并考察了不同HPLC仪、不同色

谱柱对其的影响,实测结果显示其与外标法相比无明显差异。由此可见,在仅有甘油三油酸酯对照品的前提下,可利用一测多评法对薏苡仁其他甘油三酯类成分含量进行估算。此法对薏苡仁的质量控制具有重要意义,也可为其药效物质基础研究提供依据。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:376-377.
- [2] 吴岩,原永芳. 薏苡仁的化学成分和药理活性研究进展[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1):111-113.
- [3] 田洪星,郑晓霞,胡蝶,等. 薏苡仁的化学成分及质量控制研究进展[J]. 贵州农业科学, 2017, 45(7):82-87.
- [4] XI XJ, ZHU YG, TONG YP, et al. Assessment of the genetic diversity of different job's tears (*Coix lacryma-jobi* L.) accessions and the active composition and anticancer effect of its seed oil[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153269.
- [5] LIU Y, ZHANG W, WANG XJ, et al. Antitumor effect of Kanglaite® injection in human pancreatic cancer xenografts[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014. DOI: 10.1186/1472-6882-14-228.
- [6] 张怡一. 薏苡活性成分研究新进展[J]. 食品与营养科学, 2015, 4(3):87-91.
- [7] 袁桂平,姜军华,陆荣春. HPLC法测定薏苡仁饮片中甘油三油酸酯的含量[J]. 江西中医学院学报, 2013, 25(1):52-54.
- [8] 谢静,韦杰,周璐炜,等. 一测多评法同时测定降脂减肥保健品中儿茶素类活性成分的含量[J]. 中国药房, 2017, 28(18):2529-2532.
- [9] 卿大双,罗维早,孙建彬,等. 一测多评法测定黄连及其炮制品中6种生物碱[J]. 中草药, 2016, 47(2):324-329.
- [10] WANG D, YANG C, WANG Z, et al. Norcantharidin combined with Coix seed oil synergistically induces apoptosis and inhibits hepatocellular carcinoma growth by downregulating regulatory T cells accumulation[J]. *Sci Rep*, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-09668-2.
- [11] 黄富远. 不同炮制方式对薏苡仁品质的影响[J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(6):462.
- [12] 左岚,孟胜男. 一测多评法在中药药物分析中的应用进展[J]. 中国药房, 2016, 27(18):2589-2592.
- [13] 秦昆明,杨冰,胡静,等. 一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考[J]. 中草药, 2018, 49(3):725-731.
- [14] 孙立磊,包永睿,孟宪生,等. 一测多评法同时测定川芎中5种成分[J]. 中成药, 2016, 38(11):2503-2505.
- [15] 黄琪,贾鹏晖,吴德玲,等. 一测多评法结合UPLC-ELSD技术同时测定知母中7个成分的含量[J]. 中华中医药杂

# ICP-MS法同时测定白石脂药材中27种重金属及微量元素的含量<sup>Δ</sup>

朱仁愿<sup>1\*</sup>, 姬良亮<sup>1</sup>, 张晓萍<sup>1</sup>, 邱国玉<sup>1</sup>, 马 潇<sup>2#</sup>(1.兰州市食品药品检验所, 兰州 730050; 2.甘肃省药品检验研究院/甘肃省中藏药检验检测技术工程实验室, 兰州 730070)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)10-1380-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.10.18

**摘要** 目的:建立同时测定不同产地白石脂药材中27种重金属及微量元素含量的方法。方法:样品经湿法消解后,采用电感耦合等离子体质谱法进行测定。载气为氦气,碰撞气为氦气,等离子体气流速为15.0 L/min,载气流速为1.17 L/min,碰撞气体流量为5.0 mL/min,雾化器为Barbinton,采样深度为8.0 mm,雾化室温度为2℃,等离子体射频功率为1.3 kW,蠕动泵转速为30 r/min;采用全定量分析模式,测点数为3,分析时间为0.1 s,重复3次。采用PASW Statistics 18.0软件进行聚类分析。结果:27种重金属及微量元素检测质量浓度的线性范围为0~200 μg/L( $r \geq 0.9965$ );定量限为0.003 41~75.485 μg/L,检测限为0.001 1~24.350 0 μg/L;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于7%;平均加样回收率为72.3%~129.1%,RSD为0.9%~9.4%( $n=6$ );铝含量为0.01~123 220.20 mg/kg,铝是含量最高的元素,锂、钠、镁、钾、钙、钒、锰、铁、钴、镍、锌、镓、硒、铷、铈、钡和铀是微量元素的主成分,可作为特征元素;26批白石脂样品可聚为4类。结论:该方法操作简便、分析快速、灵敏度高,能提高测定结果的精密性和准确性,适用于白石脂中重金属及微量元素的测定。

**关键词** 白石脂;不同产地;电感耦合等离子体质谱法;重金属;微量元素

## Simultaneous Determination of 27 Kinds of Heavy Metals and Trace Elements in *Halloysitum album* by ICP-MS

ZHU Renyuan<sup>1</sup>, JI Liangliang<sup>1</sup>, ZHANG Xiaoping<sup>1</sup>, QIU Guoyu<sup>1</sup>, MA Xiao<sup>2</sup>(1. Lanzhou Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730050, China; 2. Gansu Institute for Drug Control/Gansu Inspection and Testing Technical Engineering Laboratory for Chinese Herbal and Tibetan Medicine, Lanzhou 730070, China)

- 志, 2018, 33(7):3143-3146.
- [16] 孙玲, 樊晓兰, 戴小丽. HPLC-QAMS法测定不同产地19批山茱萸中5种环烯醚萜苷类成分的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(15):2063-2067.
- [17] 胡丹. HPLC-QAMS同时测定复方黄芩片中6种活性成分的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(11):1510-1514.
- [18] 沈莎莎, 张振凌, 吴若男, 等. 不同炮制方法对薏苡仁抗肿瘤成分甘油三油酸酯含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(9):2138-2140.
- [19] 杨阳, 杜疏扬, 孙艺琦, 等. 不同产地薏苡仁有效成分甘油三油酸酯和薏苡素的测定[J]. 中草药, 2017, 48(3):578-581.
- [20] 赵丽沙, 王娜妮, 董宇, 等. 麸炒炮制对薏苡仁中甘油三油酸酯含量的影响[J]. 浙江中医杂志, 2018, 53(3):226-227.
- [21] 田雪萍. 不同产地薏苡仁的质量评价[J]. 中医临床研究, 2011, 3(7):4-6.
- [22] 郑利, 陈丹, 曾令军, 等. UPLC-MS测定不同产地薏苡仁中甘油三油酸酯的含量[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(2):200-204.
- [23] 程夏倩, 周建良, 高向波, 等. HPLC-ELSD法测定破壁灵芝孢子粉中8个油脂类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(3):407-413.
- [24] 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.

<sup>Δ</sup> 基金项目:甘肃省科技重大专项计划项目(No.17ZD2FA009)

\* 高级工程师。研究方向:药物分析、中药质量控制。电话:0931-2312648。E-mail:380886244@qq.com

# 通信作者:主任中药师, 硕士。研究方向:中药材检验、质量评价及资源开发利用。电话:0931-7822924。E-mail:37028163@qq.com

(收稿日期:2018-09-21 修回日期:2019-04-02)

(编辑:余庆华)