

亚麻籽提取物中开环异落叶松树脂酚二葡萄糖苷含量的测定

黄六仔^{1,2}, 颜继忠¹ (1. 浙江工业大学药学院, 杭州 310032; 2. 浙江惠松制药有限公司, 杭州 310019)

摘要:目的 建立亚麻籽提取物中开环异落叶松树脂酚二葡萄糖苷 (SDG) 含量的 HPLC 测定分析法。方法 色谱条件为 Hypersil ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.5 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 220 nm, 用乙腈-0.12% 磷酸溶液作为流动相进行梯度洗脱。结果 SDG 在 0.3 ~ 6.0 μg 内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9999$ 。平均加样回收率为 99.7%, RSD 为 1.13%。结论 本方法精确可靠, 可作为亚麻籽提取物质量控制的方法。

关键词: 亚麻籽提取物; 木脂素; 开环异落叶松树脂酚二葡萄糖苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R972.2; R917.792 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)06-0512-03

Determination of Secoisolariciresinol Diglucoside in Flax Seed Extract by HPLC

HUANG Liu-zi^{1,2}, YAN Ji-zhong¹ (1. Zhejiang University of Technology, College of Pharmaceutical Science, Hangzhou 310032,

作者简介: 黄六仔, 男, 硕士研究生

Tel: (0571) 86907279

E-mail: lzhuang@farfavourgroup.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic assay for the determination of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) in Flax seed extract. **METHODS** Chromatography was performed on a Hypersil ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at 220 nm. The mobile phase was gradient elution with acetonitrile-0.12% phosphoric acid solution at a flow rate of 1.5 mL·min⁻¹. **RESULTS** The linear range of SDG was 0.3–6.0 μg with a correlation coefficient of 0.9999. The average recovery was 99.7% and RSD 1.13%. **CONCLUSION** The method is accurate and reliable for the quality control of Flax seed extract.

KEY WORDS Flax seed extract; Lignans; secoisolariciresinol diglucoside; HPLC

亚麻 (*Linum usitatissimum* L.) 是中国重要的油料作物之一, 亚麻籽除含有丰富的油脂和蛋白质之外, 还含有丰富的亚麻木脂素, 其主要组分为开环异落叶松树脂酚二葡萄糖苷 (secoisolariciresinol diglucoside, 简称 SDG), 具有一种温和的酷似人体雌性激素的功能, 试验研究表明, SDG 可通过抗氧化、降低血压、调节脂质代谢等多条途径阻止和延缓心血管及糖尿病的发生^[1-3]。近年来, 亚麻籽被广泛用来提取 SDG。目前, 测定亚麻籽 SDG 的方法主要是通过测定开环异落叶松树脂酚 SECO (Secoisolariciresinol) 的含量来推算 SDG 的含量^[4-6], 准确度不高, Lilian 等^[7]报道了亚麻籽原料中木脂素的测定方法, 而提取物中 SDG 含量的方法还未见报道。因此, 有必要建立一种快速、简便、准确的 HPLC 来控制亚麻籽提取物的质量。

1 仪器与试剂

LC-10A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司), SPD-M 10A VP 二极管阵列检测器 (日本岛津公司), Simplicity 超纯水器 (德国 Millipore 公司)。

SDG 对照品: Chromadex 批号 19103-111Q 纯度 99.86%, 美国。乙腈为色谱纯, 购自美国天地, 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.5 mL·min⁻¹, 柱温: 25 °C; 检测波长: 220 nm; 进样体积: 10 μL; 流动相: 乙腈-0.12% 磷酸溶液。梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相的梯度洗脱

Tab 1 Gradient elution of mobile phase

时间 /min	0.12% 磷酸溶液 /%	乙腈 /%
0	94	6
10	71	29
13	71	29
15	30	70
20	94	6

在上述色谱条件下, SDG 对照品和亚麻籽提取物的峰形良好, SDG 的保留时间为 10.795 min 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取 SDG 对照品 10.0 mg 于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀。精密吸取 5.0 mL 于 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 即得对照品溶液。

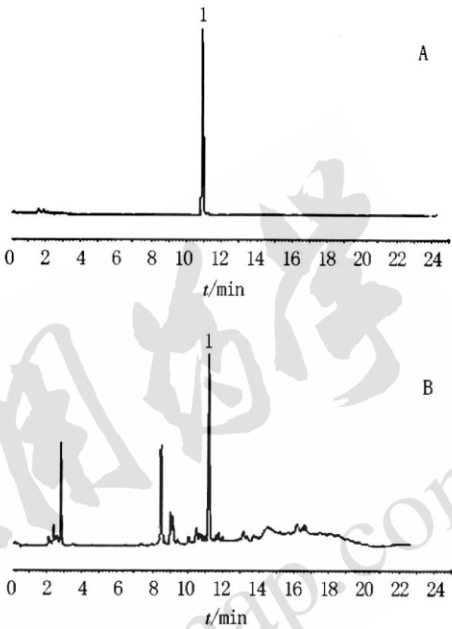


图 1 SDG 对照品 (A) 和亚麻籽提取物 (B) 的 HPLC 图谱
1- SDG

Fig 1 HPLC Chromatograms of SDG reference substance (A) and Flax seed extract (B)

1- SDG

2.3 供试品溶液的制备

精密称取样品 10 mg 于 100 mL 量瓶中, 加入甲醇约 80 mL, 超声振荡 30 min 后, 静置至室温, 定容, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.4 检测波长的选择

配制 SDG 的甲醇溶液, 用二极管阵列检测器检测光谱图, 发现 SDG 在 220 nm 处有最大吸收, 选择 220 nm 波长进行含量测定。

2.5 线性关系

精密称取 SDG 对照品 10.1 mg 于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀。分别精密吸取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀。精密吸取 10 μL 进样测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 由标准曲线可知, SDG 在 0.3 ~ 6.0 μg 线性关系良好, 线性回归方程为: Y = 7.2 × 10⁶X - 91.3 r = 0.9999。

2.6 重复进样精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定峰面积, RSD 为 0.43%, 可见重复进样精密度良好。

2.7 稳定性试验

分别于 1, 2, 8, 12, 24, 48 h, 吸取同一供试溶液 10 μL, 进样测定, SDG 的峰面积无明显变化, RSD 为 1.20%。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量的亚麻籽提取物样品, 分别添加一定量的 SDG 对照品, 按供试品处理方法测定, SDG 的平均回收率为 99.7%, RSD 为 1.13%, 结果见表 2。

表 2 加样回收率测定结果 (n = 6)

Tab 2 Results of recovery tests (n = 6)							
编号	取样量 /mg	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	10.21	4.11	3.06	7.11	98.04		
2	10.42	4.20	3.06	7.26	100.00		
3	10.36	4.17	4.08	8.31	101.47	99.7	1.13
4	10.08	4.06	4.08	8.11	99.26		
5	10.27	4.14	5.10	9.22	99.61		
6	10.33	4.16	5.10	9.25	99.80		

2.9 样品测定

取不同生产厂家共 10 批样品, 按供试品处理方法, 测定结果见表 3。

表 3 亚麻籽提取物中 SDG 的含量测定结果 (n = 3)

Tab 3 Results of determination of SDG in Flax seed extract from different manufacturers

生产厂家	批号	SDG / %
陕西厂家 1	SDG070208	2.08
陕西厂家 1	SDG070406	4.79
陕西厂家 2	070319	32.78
湖南厂家 1	DR070612	40.27
湖南厂家 2	20070604	24.79
四川厂家 1	YMZ070805	36.24
四川厂家 1	YMZ070603	40.18
四川厂家 2	2070318 - 40	16.87
浙江厂家 1	LU01 - 070418	41.37
浙江厂家 2	PA070605	42.16

3 讨论

3.1 流动相比比例的确

在上述色谱条件下, 本试验对流动相分别选择了磷酸 -

30% 甲醇、磷酸 - 30% 乙腈和多种梯度条件进行试验, SDG 与前面杂质峰都未能有效分离, 而流动相选择 0.12% 磷酸 - 乙腈, SDG 与杂质分离效果最好。

3.2 目前亚麻籽提取物的出口标准是 40% 的 SDG, 但从测定结果看出, 不同生产厂家不同批号间的 SDG 含量差异很大。

3.3 该方法灵敏、准确可靠, 可以作为亚麻籽提取物中 SDG 含量测定方法。

REFERENCES

[1] PRASAD K. Secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed delays the development of type 2 diabetes in Zucker rat [J]. Lab Clin Med, 2001, 138(1): 32-39.

[2] PRASAD K. Oxidative stress as a mechanism of diabetes in diabetic BB prone rats: effect of Secoisolariciresinol diglucoside (SDG) [J]. Mol Cell Biochem, 2000, 209(1-2): 89-96.

[3] DD K, YV Y, AN W, *et al.* Antioxidant activity of the flaxseed lignan Secoisolariciresinol diglucoside and its mammalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone [J]. Mol Cell Biochem, 1999, 202(1-2): 91-100.

[4] LVON E M, LLJA W A, DINI P V, *et al.* Optimization of a lipid chromatography tandem mass spectrometry method for quantification of the plant lignans secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol, and pinoresinol in foods [J]. Agric Food Chem, 2004, 52(15): 4643-4651.

[5] TANJA K, GERHARD S. Determination of some phenolic compounds in flax seed and nettle roots by HPLC with coulometric electrode array detection [J]. Eur Foods Res Technol, 2002, 215(6): 529-533.

[6] PANG M X, WU B, LIU D C. Flaxseed lignan-analysis method of secoisolariciresinol diglucoside [J]. China Oils and Fats (中国油脂), 2003, 28(1): 51-54.

[7] LILIAN U T, SHARON E R, FELICIA C, *et al.* Variability in anticancer lignan levels in flaxseed [J]. Nutr Cancer, 1997, 27(1): 26-30.