

HPLC 法测定薄叶鸢尾中 5 种异黄酮

李 蓉^{1,2}, 秦民坚^{2*}

1. 江苏省无锡市第二人民医院, 江苏 无锡 214002

2. 中国药科大学 中药资源研究室, 江苏 南京 210038

摘要: 目的 建立简单、快速的 HPLC 法测定薄叶鸢尾中 5 种异黄酮的方法。方法 采用 HPLC 法, Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为 0.5% 磷酸-乙腈梯度洗脱, 体积流量为 1 mL/min, 检测波长为 269 nm。结果 5 种异黄酮在线性范围内线性关系良好, 精密度、重现性良好, 回收率符合要求。结论 该检测方法准确灵敏, 适用于薄叶鸢尾中鸢尾苷、德鸢尾双糖苷、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、德鸢尾苷元 5 种异黄酮的测定。

关键词: 薄叶鸢尾; 鸢尾苷; 德鸢尾双糖苷; 野鸢尾黄素; 次野鸢尾黄素; 德鸢尾苷元; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)02-0297-03

Determination of five isoflavones in *Iris leptophylla* by HPLC

LI Rong¹, QIN Min-jian²

1. Wuxi Second People's Hospital, Wuxi 214002, China

2. Department of Natural Medicinal Resources, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China

Key words: *Iris leptophylla* Lingel.; tectoridin; irilone-bioside; irigenin; irisforentin; irilone; RP-HPLC;

薄叶鸢尾 *Iris leptophylla* Lingel. 是鸢尾科鸢尾属多年生草本植物, 主产于四川、甘肃, 是我国特有的药用植物资源, 其根状茎具有一定的药用价值, 在四川用作泻药^[1]。笔者对薄叶鸢尾的化学成分进行了系统研究, 从其根茎中分离得到了 16 个化合物, 主要为异黄酮类^[2-3], 文献报道该类化合物具有一定的药理作用^[4]。本实验采用反相高效液相法同时测定了其中的 5 种异黄酮, 为开发利用该药用植物资源, 保证药材质量提供依据。

1 材料

惠普 HP1100 系列高效液相色谱仪、紫外检测器, 柱温箱 (淮阴汉邦科技有限公司), HS 色谱工作站 (杭州英谱科技发展有限公司), 100 μL 微量进样器 (惠普公司), 十万分之一天平 (上海天平仪器厂)。

对照品鸢尾苷、德鸢尾双糖苷、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、德鸢尾苷元均为自制, 其结构经 UV、IR、NMR 确认, 经 HPLC 测定, 质量分数均

在 98% 以上。实验用水为乐百氏纯净水 (广州乐百氏食品饮料有限公司), 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

薄叶鸢尾样品采自四川汶川, 经中国药科大学秦民坚博士鉴定为鸢尾科鸢尾属植物薄叶鸢尾 *Iris leptophylla* Lingel. 的根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 预柱为 ODS (汉邦科技有限公司); 柱温为室温; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 269 nm; 进样量为 20 μL; 流动相为 0.5% 磷酸溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (0 min, 83% A; 15 min, 75% A; 22 min, 70% A; 35 min, 63% A; 40 min, 60% A)。在上述色谱条件下得到的对照品及样品的色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取德鸢尾双糖苷 8.13 mg、野鸢尾黄素

收稿日期: 2010-05-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170103)

作者简介: 李 蓉 (1976—), 女, 江苏扬州人, 副主任药师, 硕士。Tel: 15052249472 E-mail: solidaglirong@yahoo.com.cn

*通讯作者 秦民坚 Tel: (025)85391290 E-mail: minjianqin@sohu.com

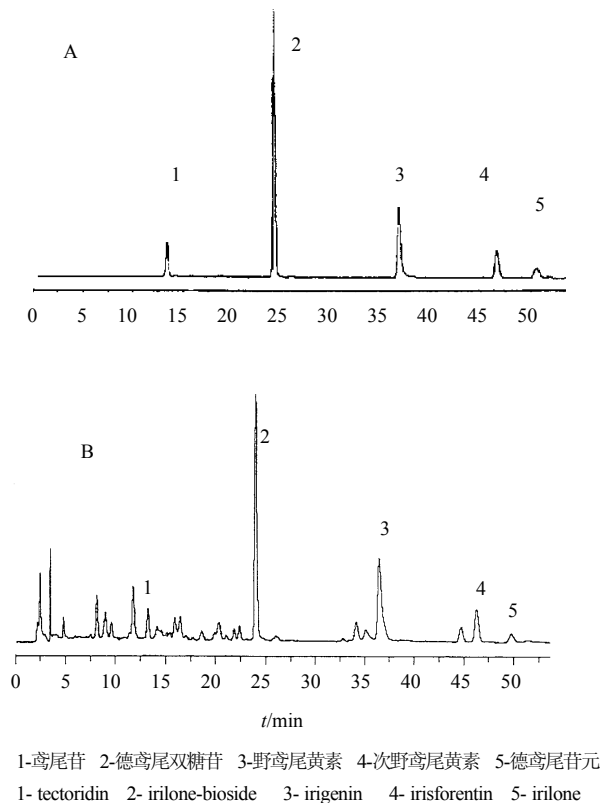


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and samples (B)

1.59 mg, 加甲醇溶解后稀释至 10 mL, 再精密量取 5 mL 稀释至 10 mL, 得对照品溶液 I; 精密称取鸢尾苷 2.52 mg、次野鸢尾黄素 2.69 mg 和德鸢尾苷元 2.28 mg, 加甲醇溶解, 稀释至 50 mL, 再精密量取 10 mL 稀释至 25 mL, 得对照品溶液 II。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取薄叶鸢尾根茎干燥细粉 (60 目) 200 mg, 加甲醇 20 mL, 索氏提取 1 h, 滤过洗涤, 合并滤液及洗涤液至 25 mL 量瓶中, 甲醇定容, 作为供试品溶液。用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过后放置, 待用。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液 I、II 各 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 用甲醇稀释并定容至 10 mL, 微孔滤膜滤过后各进样 20 μL, 记录峰面积, 以峰面积积分值对质量浓度进行线性回归, 得线性方程 (表 1)。

2.5 精密度试验

取对照品溶液, 重复进样 6 次, 记录峰面积, 计算所得峰面积积分值的 RSD, 5 种异黄酮峰面积

表 1 5 种异黄酮的线性曲线

Table 1 Calibration curves of five isoflavones		
化合物	标准曲线	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
鸢尾苷	$Y=8\,498.0X-910.51$ ($r=0.999\,9$)	2.02~10.08
德鸢尾双糖苷	$Y=3\,404.5X-903.48$ ($r=0.999\,8$)	40.63~203.15
野鸢尾黄素	$Y=6\,921.7X-16\,968$ ($r=0.999\,6$)	7.95~39.75
次野鸢尾黄素	$Y=9\,693.3X-4\,146.8$ ($r=0.999\,7$)	2.15~10.76
德鸢尾苷元	$Y=5\,402.5X-3\,046.5$ ($r=0.999\,2$)	1.82~9.12

的 RSD 分别为 1.9%、2.2%、3.4%、2.8%、3.2%。

2.6 重现性试验

精密称取薄叶鸢尾根茎粉末 (60 目) 200 mg, 共 6 份, 按 “2.3” 项方法制备, 各进样 20 μL, 记录峰面积, 按照标准曲线, 以外标法计算鸢尾苷、德鸢尾双糖苷、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、德鸢尾苷元的质量分数, 5 种异黄酮质量分数的 RSD 分别为 1.6%、2.0%、3.0%、2.0%、2.9%。

2.7 稳定性试验

精密称取薄叶鸢尾根茎粉末 (60 目) 适量, 按 2.3 项方法制备, 每天进样一次, 连续 5 d, 考察其稳定性, 5 种异黄酮峰面积 RSD 分别为 1.7%、2.2%、4.0%、2.4%、2.7%, 表明稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已测定的薄叶鸢尾根茎粉末 (60 目) 200 mg, 加入已知质量浓度的混合物对照品溶液, 按 “2.3” 项方法制备 5 份, 分别测定, 计算加样回收率。5 种异黄酮加样回收率分别为 99.14%、100.9%、100.12%、102.12%、99.26%, RSD 分别为 2.9%、1.5%、3.0%、2.4%、2.4%。

2.9 样品测定

分别精密称取 6 个批次薄叶鸢尾根茎粉末 (60 目) 200 mg, 按 2.3 项方法制备, 各进样 20 μL, 记录峰面积, 按照标准曲线, 以外标法计算鸢尾苷、德鸢尾双糖苷、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、德鸢尾苷元的质量分数, 结果见表 2。

3 讨论

薄叶鸢尾是一种民间用药, 6 个批次中批号为 980803 的 5 种异黄酮的量均最高, 其他几个批次的样品中 5 种异黄酮的量相近。因 1998 年药材放置时

表 2 薄叶鸢尾中 5 种异黄酮的测定结果
Table 2 Determination of five isoflavones in *I. leptophylla*

批号	鸢尾苷/%	德鸢尾双糖苷/%	野鸢尾黄素/%	次野鸢尾黄素%	德鸢尾苷元/%
980803	0.280	1.72	0.37	0.18	0.100
010501	0.065	1.31	0.42	0.11	0.061
010502	0.064	1.43	0.35	0.13	0.058
020601	0.072	1.57	0.34	0.12	0.062
020602	0.073	1.54	0.33	0.11	0.062
020603	0.088	1.55	0.31	0.11	0.069

间较长, 较其他批次药材干燥, 故测得异黄酮的量比较高。

本实验测定鸢尾苷、德鸢尾双糖苷、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、德鸢尾苷元这 5 种异黄酮, 是由于这 5 种异黄酮在薄叶鸢尾中的相对量比较大, 具有代表性。其中德鸢尾双糖苷被证实为薄叶鸢尾中的特有成分, 在一定条件下可作为该植物质量控制的指标性成分。紫外扫描结果表明, 鸢尾苷、德鸢尾双糖苷、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、德鸢尾苷元均在 (269 ± 1) nm 处有最大吸收, 故选 269 nm 作为检测波长。

对提取方法和提取时间进行比较, 结果为索氏

提取 1 h 即可提取完全。采用 HPLC 法同时测定薄叶鸢尾中 5 种异黄酮的量, 方法准确、简便, 更能全面反应薄叶鸢尾的质量。该方法可以用于薄叶鸢尾的质量控制。

参考文献

- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [8] 李 蓉. 薄叶鸢尾的化学成分研究及品质评价[D]. 南京: 中国药科大学, 2003.
- [9] 李 蓉, 秦民坚. 薄叶鸢尾的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(2): 122-124.
- [10] 黄海英. 异黄酮类成分的药理作用 [J]. 基层中药杂志, 2002, 16(1): 47-48.

《中草药》杂志最新佳绩

《中国科技期刊引证报告》2010 年 11 月 26 日发布:《中草药》杂志 2009 年总被引频次 5 631, 名列我国科技期刊第 16 名, 中医中药类期刊第 1 名; 影响因子 0.627, 基金论文比 0.620, 他引率 0.890, 权威因子 2 202.980; 连续 6 年(2005—2010 年)荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

《中草药》杂志 2009 年 12 月荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”, 执行主编陈常青研究员荣获“新中国 60 年有影响力的期刊人”。