

## HPLC 法测定薄叶鸢尾中 5 种异黄酮

李 蓉<sup>1,2</sup>, 秦民坚<sup>2\*</sup>

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 C<sub>18</sub> (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 Rong<sup>1</sup>, QIN Min-jian<sup>2</sup>

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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2-3]</sup>, 文献报道该类化合物具有一定的药理作用<sup>[4]</sup>。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 C<sub>18</sub> (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

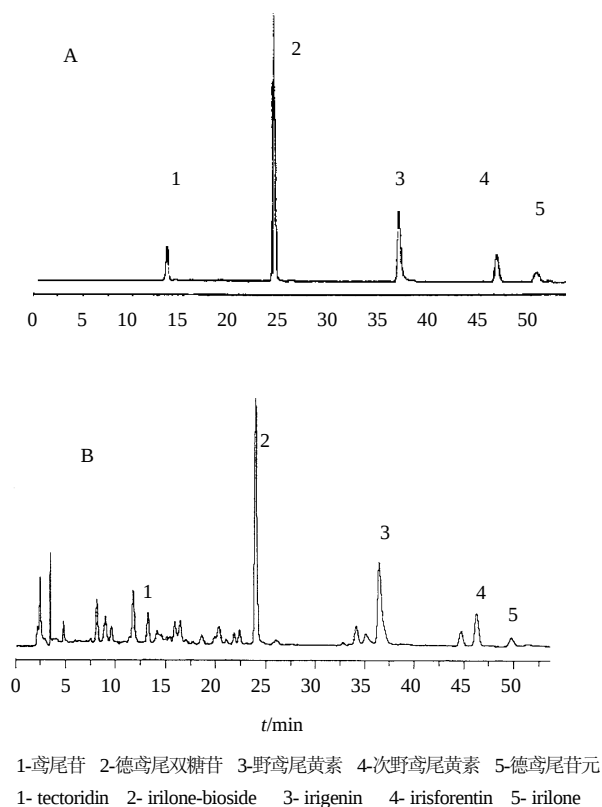


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 色谱图

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  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{L}$ , 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/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ |
|--------|--------------------------------------------|------------------------------------------|
| 鸢尾苷    | $Y=8\,498.0X-910.51$<br>( $r=0.999\,9$ )   | 2.02~10.08                               |
| 德鸢尾双糖苷 | $Y=3\,404.5X-903.48$<br>( $r=0.999\,8$ )   | 40.63~203.15                             |
| 野鸢尾黄素  | $Y=6\,921.7X-16\,968$<br>( $r=0.999\,6$ )  | 7.95~39.75                               |
| 次野鸢尾黄素 | $Y=9\,693.3X-4\,146.8$<br>( $r=0.999\,7$ ) | 2.15~10.76                               |
| 德鸢尾苷元  | $Y=5\,402.5X-3\,046.5$<br>( $r=0.999\,2$ ) | 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  $\mu\text{L}$ , 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  $\mu\text{L}$ , 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  $(269 \pm 1)$  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”。