

# HPLC 法测定不同罗汉果品系甜苷 V 的含量

周小雷<sup>1</sup>, 王硕<sup>1</sup>, 陈路<sup>1</sup>, 袁经权<sup>1,2</sup>, 莫长明<sup>1</sup>, 马小军<sup>1,3</sup>, 缪剑华<sup>1</sup>

**摘要:** [目的] 建立 HPLC 测定罗汉果药材中罗汉果甜苷 V 含量的方法。[方法] 采用高效液相色谱法, 色谱柱: DIKMA Diamonsil (TM) C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水, 流速: 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 203 nm; 柱温 25℃。[结果] 罗汉果甜苷 V 线性范围为 1.96~11.76 μg, 平均回收率为 102.35% (RSD: 1.65%, n = 6)。[结论] 所建立的方法简便可靠、快速、重现性好, 结果稳定, 回收率良好, 可用于测定罗汉果中罗汉果甜苷 V 的含量。

**关键词:** 罗汉果; 罗汉果甜苷 V; 高效液相色谱法

**DETERMINATION OF MOGROSIDE V IN DIFFERENT VARIETY SIRAITIA GROSVENORII BY HPLC** ZHOU Xiao-lei, WANG Shuo, CHEN Lu, et al. (Southern Medicine Research & Test Center, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning 530023, China)

**Abstract:** [Objective] To establish a method for the determination of mogroside V by HPLC. [Methods] The determination of mogroside was performed by HPLC using a DIKMA Diamonsil (TM) C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5μm) column. The mobile phase was acetonitrile-water with the flow rate of 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was 203 nm, column temperature was at 25℃. [Results] The linear range of mogroside was 1.96~11.76 μg, the average recovery was 102.35% (RSD: 1.65%, n=6). [Conclusion] The established method can be used to determine the content of mogroside V in Siraitia grosvenorii.

**Key words:** Siraitia grosvenorii; Mogroside V; HPLC

罗汉果是我国特有的葫芦科多年生草质藤本植物 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey 的果实, 主产于广西永福、临桂和龙胜等县, 广西民间药用历史已有 300 多年。罗汉果性凉味甘, 有清肺止咳、增强免疫、止咳祛痰、抗炎、镇痛、抑菌等功效<sup>[1]</sup>。目前已从罗汉果中分离并鉴定了 11 种葫芦烷三萜苷类 (cucurbitane glycosides) 化合物, 该类化合物是罗汉果主要活性物质<sup>[2]</sup>, 其中甜苷 V 为罗汉果中含量和甜度较高成分<sup>[3]</sup>, 因此对罗汉果甜苷 V 含量的测定有利于评价罗汉果的质量和品质。近年来, 广西等地培育了不少罗汉果新品系, 部分品系比传统品种更为优良, 其中一个主要指标即是罗汉果甜苷 V 含量较高。为有效筛选高甜苷 V 的罗汉果品系, 为制药行业和保健品行业提供高甜苷 V 的罗汉果品系, 我们根据各地的新培育品系, 建立了不同品系罗汉果药材中甜苷 V 含量测定的高效液相色谱法, 该法具有分离效果好、简便、准确等优点, 既可用于罗汉果药材的质量控制, 也为评价不同品系罗汉果质量提供了科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

210 型高效液相色谱仪 (美国 VARIAN 公司), KQ-250DB

基金项目: 广西科技厅桂科能 0718009-2 资助

作者简介: 周小雷 (1973-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 天然药物活性成分及新药开发

通讯作者: 缪剑华, 博士, 研究员, E-mail: mjh1962@vip163.com

作者单位: 1. 广西药用植物园南方药物研究与检测中心, 南宁, 530023; 2. 暨南大学中药及天然药物研究所; 3. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所

型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), 1/10 万电子天平 (GR-202, A&D 日本), 甲醇、乙腈为色谱纯 (美国 Fisher 公司), 水为超纯水, 罗汉果甜苷 V 对照品 (批号 111754-200601, 供含量测定用, 购于中国药品生物制品检定所), 罗汉果药材。见表 1。

### 1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: DIKMA Diamonsil (TM) C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为: 乙腈-水 (梯度 0~40 min: 10% 线性升至 40%; 40.01~45 min: 回至 10%), 流速: 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 203 nm, 按上述色谱条件, 罗汉果甜苷 V、样品的色谱图见图 1, 在样品色谱图中, 与对照品色谱相应的位置上有一相同保留时间的色谱峰。

1.2.2 对照品溶液的配制 精密称取罗汉果甜苷 V 对照品 24.5 mg, 置于 25 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释到刻度, 摇匀, 得对照储备液 (浓度 0.98 mg·ml<sup>-1</sup>), 再精密量取 4 ml 溶液置于 10 ml 容量瓶中, 用乙腈-水 (20:80) 溶液超声溶解稀释至刻度摇匀, 得对照品溶液 (0.392 mg·ml<sup>-1</sup>), 以 0.45 μm 的滤液微孔滤膜过滤即得。

1.2.3 供试品样液的配制 取罗汉果药材粉末 2 g, 精密称定, 置于 100 ml 具磨口塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 ml, 摇匀, 称定重量。超声处理 1 h, 放冷, 再称定重量, 并用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 以 0.45 μm 的滤液微孔滤膜过滤即得。

## 2 结果与讨论

### 2.1 线性关系的考察

不同浓度对照品溶液的配制及测定: 分别精密量取罗汉果甜苷 V 对照储备液 (0.98 mg·ml<sup>-1</sup>) 1、2、3、4、5、6 ml, 置 10 ml 量瓶中, 用乙腈-水 (20:80) 溶液超声溶解稀释至刻度

表1 样品来源

| 样品编号 | 品名                      | 来源                       | 采集日期       |
|------|-------------------------|--------------------------|------------|
| 1    | 罗汉果永青 1 号 A             | 广西临桂县 (农家青皮与农家栽培雄株杂交)    | 2008-10-15 |
| 2    | 罗汉果野红 1                 | 广西兴安县 (从广西农学院收集)         | 2008-11-28 |
| 3    | 罗汉果吉福斯 A                | 广西临桂县宛田乡 (吉福斯组培苗)        | 2008-11-28 |
| 4    | 罗汉果龙青 1 号 A             | 广西全州 (从莱茵公司收集)           | 2008-11-25 |
| 5    | 罗汉果柏林 O (Ⅲ-3) *Fe (Ⅲ-2) | 广西兴安县 (从柏林公司收集柏林 3 号品种)  | 2008-11-06 |
| 6    | 罗汉果亦元生 007              | 广西永福寿城 (亦元生组培苗)          | 2008-10-15 |
| 7    | 罗汉果 SF-A                | 广西兴安县 (农家红毛果品种)          | 2008-10-20 |
| 8    | 罗汉果 SL-A                | 广西兴安县 (农家长滩果品种)          | 2008-10-20 |
| 9    | 罗汉果永青 1 号 (莫川乡)         | 广西兴安县 (农家青皮与农家栽培雄株杂交)    | 2008-10-15 |
| 10   | 罗汉果莫川基地柏林 3 号           | 广西兴安县 (从柏林公司收集柏林 3 号品种)  | 2008-11-06 |
| 11   | 罗汉果 AF-A                | 广西兴安县栽培果                 | 2008-11-25 |
| 12   | 罗汉果普丰 A                 | 湖南通道普丰栽培果                | 2008-11-25 |
| 13   | 罗汉果龙江拖口村 007            | 广西永福栽培果                  | 2008-11-28 |
| 14   | 罗汉果 F0561               | 广西兴安县 (青皮 3 号芽变组培繁殖两性品种) | 2008-10-15 |

摇匀, 摇匀后分别进样 20  $\mu\text{l}$ , 以流动相按 1.2.1 条件测定, 以峰面积 (Y) 对进样量 (X) 进行回归, 得标准曲线方程为:  $Y=3.737X-1.7511$  ( $r=0.9998$ )。结果表明: 罗汉果甜苷 V 进样量在 1.96~11.76  $\mu\text{g}$  之间时, 进样量与峰面积之间有良好的线性关系。

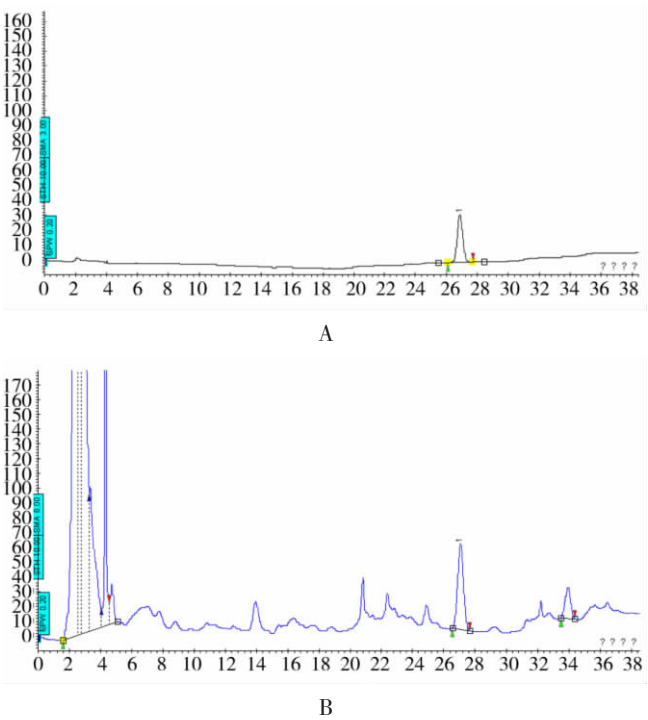


图1 罗汉果甜苷 V 对照品 (A) 和罗汉果样品 (B) 的 HPLC 图谱

2.2 精密度试验

精密称取罗汉果甜苷 V 对照品 2.28 mg, 置于 10 ml 容量瓶中, 用乙腈-水 (20:80) 溶液溶解并稀释到刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 得对照品溶液 (浓度 0.228  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )。进样 20  $\mu\text{l}$ , 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 1.15%。

2.3 重复性考察

表2 甜苷V精密度试验结果

| 序号 | 甜苷 V 峰面积值 | 甜苷 V 平均峰面积值 | RSD (%) |
|----|-----------|-------------|---------|
| 1  | 13.6987   | 13.4891     | 1.15    |
| 2  | 13.3418   |             |         |
| 3  | 13.4127   |             |         |
| 4  | 13.5628   |             |         |
| 5  | 13.3168   |             |         |
| 6  | 13.6019   |             |         |

取罗汉果永青 1 号 A 药材粉末 2 g, 精密称定, 共 6 份, 按 “1.2.3” 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定罗汉果甜苷 V 的 RSD 值为 1.25%。

2.4 回收率试验

取罗汉果永青 1 号 A 药材粉末 1 g, 精密称定, 配制方法见 1.2.3 供试品样液的配制, 得供试品样液, 从中精密量取 1 ml, 加入以上 1 ml 罗汉果甜苷 V 对照品溶液 (浓度 0.247  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), 混合摇匀, 微孔滤膜滤过, 得加样回收液, 重复做 6 份, 进样 20  $\mu\text{l}$ , 测定峰面积, 并按以下公式计算:

回收率 (%) = 
$$\frac{\text{测得对照量} (\mu\text{g}) - \text{样品中原有对照量} (\mu\text{g})}{\text{加入对照量} (\mu\text{g})} \times 100\%$$

结果平均回收率为 102.35% (RSD: 1.65%,  $n=6$ )。结果见表 3。

2.5 稳定性试验

取罗汉果永青 1 号 A 药材粉末 2 g, 按 1.2.3 制备供试品, 于 0、2、4、6、12、24 h 进样 20  $\mu\text{l}$ , 按上述色谱条件测定峰面积, 计算 RSD 值为 0.97%, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 样品测定

取 14 个不同品系的罗汉果药材粉末 2 g, 精密称定, 配制方法见 1.2.3 供试品样液的配制, 得供试品, 分别吸取供试品溶液和对照品溶液各 20  $\mu\text{l}$ , 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积, 按外标法计算含量, 含量测定结果见表 4。

表3 甜苷V加样回收率试验结果 ( $\times 10^{-2}$ )

| 样号 | 取样量<br>(g)                             | 样品中原<br>对照量 ( $\mu\text{g}$ ) | 加入对照量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 峰面积     | 测得对照量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回收量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 浓度回收率  | 平均浓度<br>回收率 | RSD  |
|----|----------------------------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|----------------------------|--------------------------|--------|-------------|------|
| 对照 | 219 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ | —                             | —                          | 14.3082 | —                          | —                        | —      |             |      |
| 1  | 1.0568                                 | 194                           | 247                        | 14.6382 | 448.10                     | 254.02                   | 102.84 |             |      |
| 2  | 1.0302                                 | 189                           | 247                        | 14.3533 | 439.38                     | 250.19                   | 101.29 |             |      |
| 3  | 1.0481                                 | 192                           | 247                        | 14.6118 | 447.29                     | 254.81                   | 103.16 | 102.35      | 1.65 |
| 4  | 1.0273                                 | 189                           | 247                        | 14.1856 | 434.25                     | 245.59                   | 99.43  |             |      |
| 5  | 1.0264                                 | 188                           | 247                        | 14.5023 | 443.94                     | 255.45                   | 103.42 |             |      |
| 6  | 1.0429                                 | 192                           | 247                        | 14.6426 | 448.24                     | 256.71                   | 103.93 |             |      |

表4 不同罗汉果品系中罗汉果甜苷V含量的测定结果 ( $\times 10^{-2}$ )

| 样品编号 | 来源                      | 含量   |
|------|-------------------------|------|
| 1    | 罗汉果永青 1 号 A (中庸乡)       | 0.49 |
| 2    | 罗汉果野红 1 号               | 0.42 |
| 3    | 罗汉果宛田乡吉福组培苗 A           | 0.69 |
| 4    | 罗汉果龙青 1 号 A             | 1.24 |
| 5    | 罗汉果柏林 O (Ⅲ-3) *Fe (Ⅲ-2) | 1.05 |
| 6    | 罗汉果亦元生组培苗 007 (永福寿城)    | 0.41 |
| 7    | 罗汉果 SF-A                | 0.87 |
| 8    | 罗汉果 SL-A                | 0.96 |
| 9    | 罗汉果永青 1 号 (莫川乡)         | 1.24 |
| 10   | 罗汉果莫川基地柏林 3 号           | 1.44 |
| 11   | 罗汉果 AF-A                | 0.57 |
| 12   | 罗汉果湖南通道普丰 A             | 0.67 |
| 13   | 罗汉果龙江拖口村 007 栽培果        | 0.25 |
| 14   | 罗汉果 F056-A              | 0.88 |

从 14 个不同罗汉果品系的含量测定结果来看, 测得罗汉果甜苷 V 含量范围为 0.25%~1.44%, 其中柏林 3 号罗汉果甜苷 V 含量较高, 可见罗汉果药材中罗汉果甜苷 V 的含量与品种有一定的关系。且该法具有分离效果好、简便、准确等优点, 可用于罗汉果药材质量的初步质量控制。

## 参考文献:

- [1] 黎海彬, 王邕, 李俊芳, 等. 罗汉果化学成分与应用研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27 (2): 85.
- [2] 李典鹏. 广西特产植物罗汉果的研究与应用 [J]. 广西植物, 2000, 20 (3): 270.
- [3] 成桂仁. 罗汉果甜味成分的研究概况 [J]. 广西植物, 1987, 7 (3): 285.

(收稿日期: 2009-10-10)

欢迎订阅

2011 现代预防医学

ISSN 1003-8507 CN 51-1365/R 邮发代号: 62-183

中文核心期刊 中国科技论文统计源期刊 美国化学文摘(CA)收录期刊  
波兰《哥白尼索引》(IC)收录期刊 中华预防医学会优秀学术期刊  
中国预防医学、卫生学类核心期刊 中国生物医学核心期刊

主管单位: 中华人民共和国卫生部

主办单位: 中华预防医学会及四川大学华西公共卫生学院

现代预防医学杂志一贯坚持理论联系实际的办刊宗旨, 注重交流报道国内外预防医学新动向、新成果、新理论、新方法; 充分体现期刊的学术导向, 刊登国家及省部级重点攻关课题论文、著述等, 同时兼顾普及, 重点报道预防医学科研工作中的研究成果、经验交流及信息荟萃。欢迎广大医学科研工作者踊跃订阅, 积极投稿!

本刊为半月刊, 每期 15 元, 全年 360 元, 全国各地邮局可订, 也可直接联系编辑部订阅。

地址: 成都市人民南路三段 17 号, 邮编: 610041

电话: (028)85501291 85503354

E-mail: yyh640313@163.com