

另外,临床上通常并不将板蓝根划归为抑菌药物,其抑菌作用较黄连等典型的抑菌药弱,因此与先前研究的黄连^[5]不同,其抑制率较后者相对较低,对细菌作用的热力学参数变化规律不如黄连明显甚至异常,如氯仿和石油醚萃取物虽然有较弱的抑菌作用,但其最大发热功率和焓变值却高于对照组,与常规的抑菌药(如黄连)作用趋势相反,并且有明显而特异的后期放热现象,这在大肠杆菌的相关研究中是不多见的^[4]。

尽管对细菌的作用不是板蓝根的特异生物作用,但本实验的结果仍表现出规律性,建立的方法可为腮腺炎病毒和淋巴细胞等生物模型的评价工作提供技术支持,其中前者可体现板蓝根抗病毒作用,后者则反映板蓝根提高免疫力的作用。

References:

- [1] Xiao S S, Jin Y, Sun Y Q. Recent progress in the studies of chemical constituents, pharmacological effects and quality control methods on the roots of *Isatis indigotica* [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20(6): 455-459.
- [2] Xie C L, Tang H K, Qu S S, et al. Microcalorimetric study of bacterial growth [J]. *Thermochim Acta*, 1988, 123: 33.
- [3] Liu Y, Liang H G, Qu S S, et al. Kinetics of the action of Na_2SeO_3 on bacillus subtilis growth as studied by microcalorimetry [J]. *Chin J Chem*, 2002, 20: 117.
- [4] Zhao R M, Liu Y, Qu S S, et al. Microcalorimetric study of the action of Ce(III) ions on the growth of *E. coli* [J]. *Biol Trace Elem Res.*, 2002, 86: 167.
- [5] Zhou S H, Pan W J, Xiao X X, et al. Thermodynamic studies on four properties of preparations and compatibilities of *Coptis root* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(11): 1230-1232.

HPLC 法测定罗汉果中罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V

周 兢^{1,2}, 王梦月², 李晓波^{2*}, 屠鹏飞³, 王 强¹

(1. 中国药科大学 中药分析教研室, 江苏 南京 210038; 2. 上海交通大学药学院, 上海 200240; 3. 北京大学医学部, 北京 100083)

摘要:目的 建立 HPLC 法测定不同产地、不同栽培品系的罗汉果药材中罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V。方法 采用 ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 体积流量: 0.75 mL/min, 检测波长: 210 nm, 柱温: 40 ℃。结果 罗汉果苷 V 在 0.804 6~20.115 0 μg 线性关系良好 ($r=0.999 8$), 平均回收率为 104.6%, RSD 为 3.28% ($n=6$)。11-氧化罗汉果苷 V 在 0.598 5~14.962 5 μg 线性关系良好 ($r=0.998 4$)。结论 本方法简便、快速、准确, 可作为罗汉果药材的质量控制方法。

关键词: 罗汉果; 罗汉果苷 V; 11-氧化罗汉果苷 V; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2007)02-0196-03

Determination of mogroside V and 11-oxomogroside V in dried mature fruits of *Momordica grosvenori* by HPLC

ZHOU Jing^{1,2}, WANG Meng-yue², LI Xiao-bo², TU Peng-fei³, WANG Qiang¹

(1. Department of Chinese Materia Medica Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China; 2. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 3. Health Science Center, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: Objective To establish an optimal HPLC method for determining the contents of mogroside V and 11-oxomogroside V in the dried mature fruits of *Momordica grosvenori* from various habitats and breeds. **Methods** ODS Column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-water as mobile phase in a gradient program, flow rate was 0.75 mL/min, detection wavelength was set at 210 nm, column temperature was 40 ℃. **Results** The liner range of mogroside V was 0.804 6–20.115 0 μg ($r=0.999 8$) and the average recovery of mogroside V was 104.6%, RSD was 3.28% ($n=6$). The liner range

收稿日期: 2006-05-02

基金项目: 国家“863”资助项目(2004AA2Z3730-19)

作者简介: 周 兢(1982—), 男, 江西人, 中国药科大学在读硕士研究生, 研究方向: 中药的质量控制。

E-mail: markgraf0927@hotmail.com

* 通讯作者 李晓波 Tel: (021) 34202804 E-mail: xbli@sytu.edu.cn

of 11-oxomogroside V was 0.598 5—14.962 5 μg ($r=0.998 4$) and the average recovery was 102.5%, RSD was 4.43% ($n=6$). **Conclusion** HPLC method is simple, rapid and accurate. It can be used for the quality control of the dried mature fruits of *M. grosvenori*.

Key words: the dried mature fruits of *Momordica grosvenori* Swingle; mogroside V; 11-oxomogroside V; HPLC

罗汉果为葫芦科植物罗汉果 *Momordica grosvenori* Swingle 的干燥成熟果实,有清热润肺、滑肠通便的功效^[1]。罗汉果中主要化学成分为三萜皂苷类成分罗汉果皂苷(mogrosides)^[2~4]。罗汉果皂苷甜度高、热量低、水溶性好、稳定性好,安全可靠,可以作为甜味剂,尤其是作为肥胖和糖尿病人的代糖品。罗汉果皂苷为一类葫芦烷型四环三萜类衍生物,均以罗汉果醇(mogrol)为母核,不同种类之间结构较为相似,给定量测定工作带来了一定难度。罗汉果皂苷类物质的测定方法有紫外分光光度法^[5]、薄层扫描法^[6]和高效液相-电喷雾质谱联用法^[7]。罗汉果苷 V(mogroside V)作为罗汉果中的主要成分,是评价罗汉果质量的指标性成分。此外研究中发现 11-氧化罗汉果苷 V(11-oxomogroside V)在罗汉果中也拥有较高的量,亦可作为控制罗汉果质量的一个重要指标。因此本实验对罗汉果药材进行甲醇超声提取后使用梯度洗脱法对提取液中的皂苷类成分进行了分离,并对其中的罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 进行了测定。

1 仪器与材料

日本岛津 LC-2010A HT 型高效液相色谱仪系统,紫外检测器;SK7200HP 超声仪(上海科导超声仪器有限公司)。

罗汉果苷 V 对照品(自制,经 UV、IR、MS、NMR 确证结构,其质量分数为 98%以上);11-氧化罗汉果苷 V 对照品(自制,经 UV、IR、MS、NMR 确证结构,其质量分数为 95%以上)。乙腈、甲醇(色谱级, TEDIA 公司),甲醇(AR,上海试剂四厂),乐百氏纯净水。

16 种罗汉果药材样品,其中 11 种在产地采集,5 种为市售商品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:日本岛津 Shim-pack vp-ODS (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;流动相:乙腈-水,梯度洗脱 0~20 min,乙腈-水(80:20),20 min 以后,乙腈-水(76:24);检测波长:210 nm;体积流量:0.75 mL/min;进样量:20 μL 。

2.2 对照品溶液的制备:精密称定罗汉果苷 V 对

照品 8 mg 于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并加至刻度,使成 0.8 mg/mL 溶液,作为罗汉果苷 V 对照溶液。

精密称定 11-氧化罗汉果苷 V 对照品 6 mg 于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并加至刻度,使成 0.6 mg/mL 溶液,作 11-氧化罗汉果苷 V 对照溶液。

2.3 供试品溶液的制备:称定罗汉果药材粉末 2 g 于 100 mL 具塞三角瓶中,精密加入 50 mL 甲醇,超声提取 20 min,冷却后补回原重,摇匀。取上清液通过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察:取罗汉果苷 V 对照溶液 1.0、2.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 μL 进样分析。以峰面积对进样质量作线性回归,所得回归方程为 $Y=174\ 135 X+31\ 979$, $r=0.999\ 8$ 。结果表明罗汉果苷 V 在 0.804 6~20.115 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

取 11-氧化罗汉果苷 V 对照溶液 1.0、2.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 μL 进样分析。以峰面积对进样质量作线性回归,所得回归方程为 $Y=242\ 685 X-51\ 823$, $r=0.998\ 4$ 。结果表明 11-氧化罗汉果苷 V 在 0.598 5~14.962 5 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 对照溶液各 20.0 μL 进样,平行测定 7 次,计算,结果罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 峰面积的 RSD 值分别为 0.68% 和 0.82%。

2.6 重现性试验:精密称取同一批罗汉果药材(样品 12)粉末 5 份,每份 2 g,制备供试品溶液,分别进样 20.0 μL ,外标法分别计算罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 的质量分数,结果罗汉果苷 V 的 RSD 为 1.20%,11-氧化罗汉果苷 V 的 RSD 为 1.61%。

2.7 稳定性试验:精密称定罗汉果药材粉末 2 g,制备供试品溶液,于 0、6、12、24、48 h 分别进样 20.0 μL ,外标法分别计算罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 质量分数,结果罗汉果苷 V 的 RSD 为 0.28%,11-氧化罗汉果苷 V 的 RSD 为 0.37%。结果表明:供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验:精密称取同一批罗汉果药材粉末 6 份,每份 2 g,分别精密加入 0.8 mg/mL 罗汉果苷 V 对照品溶液和 0.6 mg/mL 11-氧化罗汉果苷

V 对照品溶液各 1 mL, 制备供试品溶液, 分别进样 20.0 μ L 进行分析, 外标法分别计算罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 的质量分数。结果罗汉果苷 V 的平均加样回收率为 104.6%, RSD 为 3.28%; 11-氧化罗汉果苷 V 的平均加样回收率为 102.5%,

RSD 为 4.43%。

2.9 样品测定结果: 罗汉果样品制备供试品溶液, 分别进样 20.0 μ L 测定, 外标法计算罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 的质量分数。结果见表 1, 色谱图见图 1。

表 1 不同产地罗汉果中罗汉果苷 V 和 11-氧化罗汉果苷 V 的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of mogroside V and 11-oxomogroside V in dried mature fruits of *M. grosvenori* from various habitats (n=3)

样品序号	产地/采集地	采集时间	罗汉果苷 V/%	11-氧化罗汉果苷 V/%	栽培品种
1	广西永福县永福镇百寿岩	2005.1	0.685	0.123	组培青皮果
2	广西永福县龙江乡江口屯	2005.1	1.267	0.188	栽培青皮果
3	广西永福县	2005.1	0.551	0.139	拉江果
4	广西临桂县两江镇利比安罗汉果农场	2005.1	0.685	0.242	杂交果
5	广西临桂县两江镇利比安罗汉果农场	2005.1	0.981	0.287	组培红毛果
6	广西临桂县茶洞乡新街	2005.1	0.777	0.168	栽培冬瓜果
7	广西临桂县茶洞乡新街	2005.1	1.065	0.224	栽培青皮果
8	广西临桂县茶洞乡新街	2005.1	0.922	0.157	组培青皮果
9	广西龙胜各族自治县	2005.1	0.990	0.169	组培青皮果
11	广西龙胜各族自治县	2005.1	0.793	0.109	青皮果
10	广西龙胜科技开发中心	2005.1	0.818	0.148	扦插培育
12	上海华宇大药房	2005.1	1.199	0.332	
13	江西南昌华安药店	2005.2	0.876	0.302	
14	湖北宜昌同德大药房	2005.2	0.761	0.132	
15	安徽马鞍山江南大药房	2004.12	0.409	0.105	
16	广西桂林润生堂药房	2005.2	0.346	0.103	

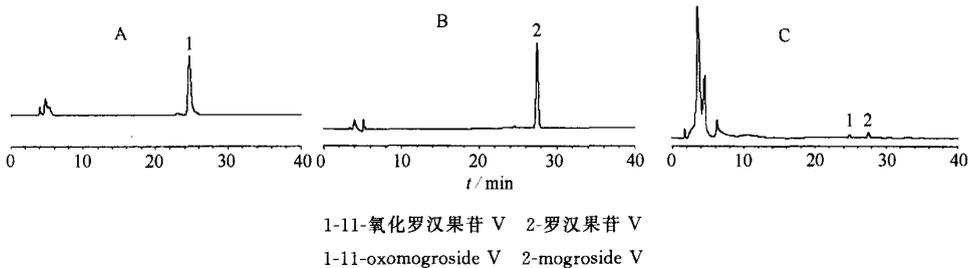


图 1 罗汉果苷 V(A)、11-氧化罗汉果苷 V(B)和罗汉果样品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mogroside V (A), and 11-oxomogroside V (B), and dried mature fruits of *M. grosvenori* (C)

3 讨论

罗汉果为果实类药材, 除罗汉果皂苷外还含有大量的糖类、油脂类及其他杂质, 经考察选定甲醇作为溶剂进行提取; 此外对提取时间进行了考察, 以甲醇作为溶剂分别超声提取 20、30、40 min, 在 3 种不同条件下结果未出现显著性差异; 最终选用甲醇超声提取 20 min。

对罗汉果供试品溶液在甲醇-水和乙腈-水系统作为流动相的条件下的展开行为分别进行了考察。甲醇-水系统对罗汉果皂苷的分离度较差, 而乙腈-水系统的分离度较好, 故选用乙腈-水系统作为系统流动相, 经实验确定乙腈比例为 22%~25% 时分离效果最好, 然而始终无法完全分离; 改用梯度洗脱法, 最终确定流动相中乙腈比例为 20%~24%。

本实验所建立的高效液相色谱分析方法可以使罗汉果中两种主要皂苷类成分达到基线分离, 且分

离度良好, 样品前处理简单方便快捷, 适宜于快速测定罗汉果及其提取物中两种皂苷的量, 对于罗汉果及其提取物的质量评价具有指导意义。

References:

- [1] Ch P [S]. Vol I. 2005.
- [2] Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. Studies on the constituents of *Fructus Momordicae*. I. On the sweet principle [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(11): 1151-1154.
- [3] Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. Studies on the constituents of *Fructus Momordicae*. I. Structure of saponin [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(11): 1155-1166.
- [4] Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. Studies on the constituents of *Fructus Momordicae*. II. Structure of mogrosides [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(11): 1167-1173.
- [5] Gao S L, Wang H. The technique on extraction and content determination of saponin from *Momordica Grosvenori* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 13(2): 36-40.
- [6] Liang C Q, Su X J, Li J, et al. Determination of mogroside V by thin layer scan [J]. *Guangxi J Light Ind* (广西轻工业), 2005(3): 13-15.
- [7] Qi X Y, Zhang L Q, Shan X F, et al. Study on analysis of mogrosides by HPLC/ESI/MS² [J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(10): 2096-2101.