

## 不同生长周期罗汉果叶中总黄酮含量变化规律研究\*

# Study on the Law of the Variation in the Content of Total Flavone in *Siraitia grosvenorii* Leaves in Different Growth Periods

陈全斌, 喻彬, 沈钟苏, 耿伟华, 赵李燕

CHEN Quan-bin, YU Bin, SHEN Zhong-su, GENG Wei-hua, ZHAO Li-yan

(广西师范大学环境与资源学院, 广西桂林 541004)

(College of Environment and Resources, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, 541004, China)

**摘要:**采用高效液相色谱法测定不同生长周期罗汉果叶中黄酮苷元槲皮素、山奈酚以及总黄酮的含量,并分析其变化规律。结果表明:槲皮素含量在5月份前为0,6月份出现槲皮素,而后逐渐提高,12月份达到最大值0.69%;山奈酚含量在5~7月份内增长较快,到7月份后趋于平缓,10月份达到最大值(1.02%);总黄酮含量从5月份开始增长较快,在6月份达到1.74%,6~11月份缓慢增长至2.22%,12月份达最大值(2.78%),次年1月份急剧下降至0.34%。

**关键词:**高效液相色谱法 总黄酮 槲皮素 山奈酚 变化规律 叶片 罗汉果

**中图分类号:** O657.72; Q946.83 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2006)04-0300-03

**Abstract:** The content of total flavone in *Siraitia grosvenorii* leaves with different growth periods was determined by HPLC, and the law of the variation in the contents of quercetin, kaempferol and flavone glycoside was analysed. The result shows that the content of quercetin is zero before May, increases gradually after May and reaches the highest of 0.69% in December; The content of kaempferol increases rapidly from May to July and is stable after July, reaches the highest of 1.02% in October, then declines gradually along with the increases of quercetin's content; the content of total flavone increases rapidly in May, reaches 1.74%, then increases to 2.22% slowly from June to December, reaches the highest of 2.78% in December, then declined rapidly to 0.34% in the next January.

**Key words:** HPLC, total flavone, Quercetin, Kaempferol, the law of the variation, leaves, *Siraitia grosvenorii*

广西特产罗汉果是葫芦科罗汉果属植物罗汉果 [*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffery] 的成熟果实。近年来,陈全斌等<sup>[1~4]</sup>对罗汉果叶进行了较多的研究,如:罗汉果叶饮料的可行性研究、罗汉果叶中总黄酮含量以及黄酮苷元及苷的分离与结构鉴定。而对罗汉果叶中不同生长周期黄酮苷元槲皮素、山奈酚以及总黄酮含量的变化规律进行的研究尚未见报道。

本研究连续采集9个月的罗汉果叶,用高效液相

色谱法(HPLC)测定黄酮苷元槲皮素、山奈酚含量,并研究槲皮素、山奈酚以及总黄酮含量随生长周期的变化规律。

## 1 实验部分

### 1.1 实验仪器与材料

#### 1.1.1 仪器

W S210S 型电子天平(北京塞多利斯仪器系统有限公司生产);P200 II 型高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司生产),包括 P200 II 型高压恒流输液泵、UV200 II 型紫外可变波长检测器、Rheodyne7725i 高压进样阀。

#### 1.1.2 药品与试剂

收稿日期:2006-06-28

修回日期:2006-10-27

作者简介:陈全斌(1957-),男,高级工程师,主要从事天然产品开发与研究工作。

\* 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能:0443001-12)资助。

三氯甲烷(A.R),甲醇(A.R),磷酸(A.R),石油醚(30~60℃),盐酸(A.R),槲皮素和山奈酚(10861-200303)标准对照品(由中国药品生物制品检定所提供)。

### 1.1.3 样品

罗汉果叶采摘于广西龙胜县和平乡五排村,采集时间为2005年5月至2006年1月的每月13日。

## 1.2 实验方法<sup>[5]</sup>

### 1.2.1 样品测试液制备

取破碎的罗汉果叶约1.000g,置入250ml圆底烧瓶中,加石油醚75ml回流提取1h,回收溶剂,挥干,置入50ml圆底烧瓶中,加甲醇35ml,回流提取2h,过滤,滤液加10ml 1:1的盐酸,加热回流1h,冷却后转移至50ml容量瓶中,甲醇定容,摇匀。

### 1.2.2 色谱条件

色谱柱为HypersilC<sub>18</sub>(5μm, 4.6mm×200mm),流动相为V<sub>甲醇</sub>:V<sub>0.3%磷酸</sub> = 60:40,流速1.0ml/min,检测波长360nm柱温40℃。

### 1.2.3 样品中黄酮苷元含量测定<sup>[2,5]</sup>

精确吸取标准溶液(槲皮素0.0970mg/ml、山奈酚0.4480mg/ml)和不同生长周期罗汉果叶样品测试液10μl,分别重复进样3次,按照上述色谱条件进行含量测定。采用保留时间定性、外标法定量,分别计算各样品中黄酮苷元槲皮素、山奈酚的含量。标准溶液对照品及部分样品的色谱图见图1~5。

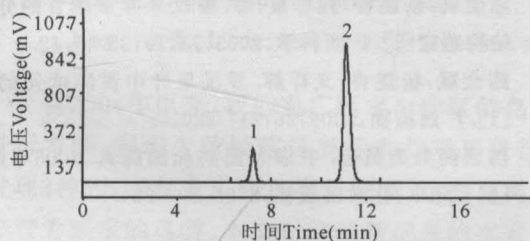


图1 对照品的色谱图

Fig. 1 The chromatogram of standard sample

1. 槲皮素 Quercetin, 2. 山奈酚 Kaempferol;  $t_1 = 7.19\text{min}$ ;  $t_2 = 11.18\text{min}$ .

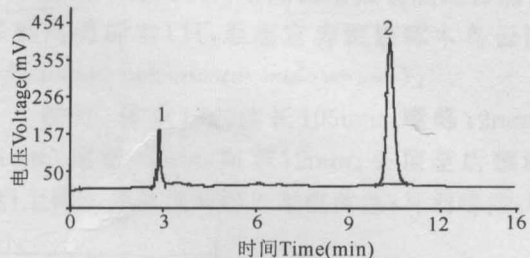


图2 5月份样品的色谱图

Fig. 2 The chromatogram of sample in May

1. 槲皮素 Quercetin, 2. 山奈酚 Kaempferol;  $t_2 = 10.35\text{min}$ .

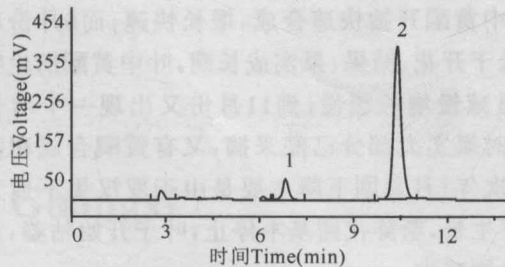


图3 8月份样品的色谱图

Fig. 3 The chromatogram of sample in August

1. 槲皮素 Quercetin, 2. 山奈酚 Kaempferol;  $t_1 = 6.91\text{min}$ ;  $t_2 = 10.37\text{min}$ .

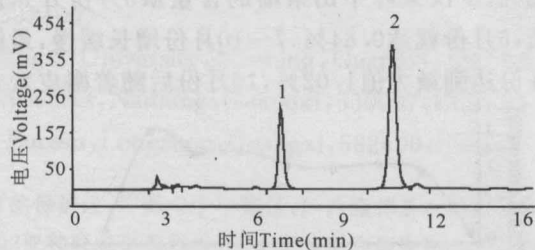


图4 11月份样品的色谱图

Fig. 4 The chromatogram of sample in November

1. 槲皮素 Quercetin, 2. 山奈酚 Kaempferol;  $t_1 = 7.00\text{min}$ ;  $t_2 = 10.76\text{min}$ .

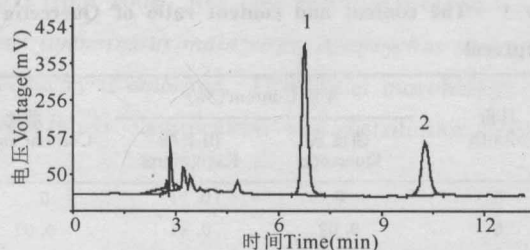


图5 次年1月份样品的色谱图

Fig. 5 The chromatogram of sample in the next January

1. 槲皮素 Quercetin; 2. 山奈酚 Kaempferol;  $t_1 = 6.75\text{min}$ ;  $t_2 = 10.27\text{min}$ .

### 1.2.4 总黄酮含量计算

据文献[3]报道,罗汉果叶中2个黄酮苷为:槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖-7-O-α-L-鼠李糖苷、山奈酚-3,7-O-α-L-二鼠李糖苷。从黄酮苷与苷元相对分子质量比值可知,罗汉果叶总黄酮苷与苷元的换算公式为:

$$\text{总黄酮苷含量}(\%) = \text{槲皮素含量}(\%) \times 620/302 + \text{山奈酚含量}(\%) \times 578/286 = \text{槲皮素}\% \times 2.05 + \text{山奈酚}\% \times 2.02。$$

## 2 结果与分析

图6结果显示,罗汉果叶中总黄酮含量从5月份开始增长较快,在6月份达到1.74%,6月份至11月缓慢增长至2.22%,12月达最大值2.78%,次年1月急剧下降至0.34%。5月份是罗汉果新叶生长发育的快速时

期,叶中黄酮开始快速合成,增长快速;而6月份后罗汉果处于开花、结果、果实成长期,叶中黄酮的生物合成明显减慢增长缓慢;到11月份又出现一个增长时期,这时果实大部分已经采摘,又有黄酮合成积蓄在叶中;次年1月急剧下降主要是由于罗汉果不适宜在低温下生长,新陈代谢基本停止,叶子开始枯萎,黄酮含量急剧减少。

表1结果表明,罗汉果叶中槲皮素的含量5月份为0,6~9月份缓慢增长,10月份增长趋势开始变快,在12月达到最大值0.69%,次年1月迅速下降至0.12%。罗汉果叶中山奈酚的含量从5月份开始快速增长,6月份就达0.84%,7~10月份增长缓慢,最终在10月份达到最大值1.02%,10月份后随着槲皮素含量



图6 总黄酮含量变化曲线

Fig. 6 The graph of the content change of total flavone

表1 槲皮素和山奈酚的质量百分含量及其含量比

Table 1 The content and content ratio of Quercetin and Kaempferol

月份 Month	含量 Content (%)		含量比 Content ratio
	槲皮素 Quercetin	山奈酚 Kaempferol	
5	0	0.11	0
6	0.02	0.84	0.02
7	0.03	0.93	0.03
8	0.06	0.86	0.07
9	0.08	0.88	0.09
10	0.12	1.02	0.12
11	0.38	0.71	0.54
12	0.69	0.68	1.01
次年 Next year 1	0.12	0.04	3.00

的大幅度上升而开始下降,到12月份变为与槲皮素含量基本持平,之后两者含量均急剧下降。槲皮素含量与山奈酚含量的比值由0开始随时间的增长逐渐上升,且上升幅度越来越大,12月份后渐渐接近1:1,随后变为3:1。

### 3 结束语

本次试验结果表明,槲皮素含量在5月份前为0,6月份出现槲皮素,而后逐渐提高,12月份达到最大值0.69%;山奈酚含量在5~7月份内增长较快,到7月份后趋于平缓,10月份达到最大值1.02%;总黄酮含量从5月份开始增长较快,在6月份达到1.74%,6~11月份缓慢增长至2.22%,12月份达最大值2.78%,次年1月份急剧下降至0.34%。

10月份后罗汉果叶中槲皮素含量增长,同时山奈酚含量减少。我们猜测,可能有一部分山奈酚转化为槲皮素,从结构上分析,可能是由于山奈酚在某芳烃羟化酶的作用下促其B-环上3'-位发生了羟基取代反应。我们的猜测有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 陈全斌,义祥辉,何星存. 罗汉果叶饮料的可行性价值研究[J]. 饮料工业,2005,8(4):27-30.
- [2] 陈全斌,杨建香,程忠泉,等. RP-HPLC法测定罗汉果叶中总黄酮含量[J]. 广西科学,2005,12(1):43-45.
- [3] 陈全斌,杨建香,程忠泉,等. 罗汉果叶黄酮苷的分离与结构鉴定[J]. 广西科学,2006,13(1):35-36,42.
- [4] 陈全斌,杨建香,义祥辉. 罗汉果叶中黄酮甙元的研究[J]. 广西植物,2006,26:217-220.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2005年版1部[M]. 北京:化学出版社,2005:220-221.

(责任编辑:邓大玉)