

文章编号:1673-1689(2006)03-0109-03

一种苦瓜皂甙的分离纯化及结构推断

石雪萍, 李迎秋, 姚惠源
(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要:通过正相硅胶色谱和反相硅胶柱色谱从苦瓜中分离得到一种物质,定性检验该物质为苦瓜皂甙,薄层色谱检验为单一化合物,反相高效液相色谱鉴定其纯度为 98.45%。进一步用质谱对其分子结构进行初步推断,这种皂甙是一个连有 2 个糖基的母核荷质比为 491、相对分子质量为 815 的皂甙。

关键词: 苦瓜;皂甙;分离;纯化;质谱;结构推断

中图分类号:S 642.5

文献标识码:A

Separation, Purification and Structure Deduction of a Saponin from *Momordica charantia* L.

SHI Xue-ping, LI Ying-qiu, YAO Hui-yuan

(School of Food Science and Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: A saponin was isolated from *Momordica charantia* L. using a combination of normal-phase and reversed-phase silica gel column chromatography, and was identified by TLC. The purity of this saponin was 98.45% by detection of RP-HPLC. The MS showed that this saponin has two glycosides, the m/z of aglycon is 491 and the molecular weight is 815.

Key words: *Momordica charantia* L.; saponin; isolation; purification; MS; structure detection

苦瓜(*Momordica charantia* L.)是一种常见蔬菜,属于葫芦科苦瓜属植物,俗名凉瓜、锦荔枝、癞葡萄等。因含有糖苷,有特殊苦味。苦瓜含有蛋白质、糖类、钙、铁、磷及胡萝卜素、维生素 B、维生素 C 等,其中铁和维生素 C 的含量很高。从苦瓜的果实和种子分离出蛋白和皂甙成分,具有降血糖、抗肿瘤等作用^[1-2]。近年来,苦瓜的药用价值日益引起国内外学者的高度关注。关于苦瓜皂甙分离纯化,国内外已有了一些初步的研究^[3-4],但由于苦瓜中皂甙种类繁多,又没有很好的检测手段,分离纯

化相当困难。作者在综合前人研究的基础上,利用氯仿-甲醇-水体系梯度洗脱,硅胶柱色谱分离,最后用反相硅胶柱纯化,得到高纯度的皂甙,并结合质谱方法来初步推断皂甙的相对分子质量与分子结构,为研究苦瓜皂甙的生理功能和机制提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料及设备

苦瓜干:江苏溧阳产;柱层析硅胶:(200-300

收稿日期:2005-04-05; 修回日期:2005-06-03.

作者简介:石雪萍(1974-),女,河南南阳人,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生.

万方数据

目),青岛海洋化工厂产品;薄层硅胶板:山东烟台芝罘江友胶业经营部提供;高效液相色谱仪:Waters 公司产品及安捷伦公司产品;质谱仪:Waters 公司产品;旋转蒸发仪:上海亚荣生化仪器厂产品;循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸有限公司产品;722 可见分光光度计:上海第三分析仪器厂产品;ODS 反相硅胶:日本 YMC 公司产品;大孔树脂 D-101:西安电力树脂厂产品;其他有机溶剂均为上海国药集团生产,AR 级。

1.2 苦瓜皂甙的分离纯化

苦瓜干(含有未成熟的苦瓜果实和种子)磨碎成 20 目左右的苦瓜粉。称取 5 kg 苦瓜粉,用工业乙醇提取,提取液经旋转蒸发到一定的体积,加入等体积的石油醚萃取脱除油及脂溶性色素,得到棕褐色的浸膏,分散至水中,乙酸乙酯萃取,分为乙酸乙酯相和水相,水相继续用等体积的正丁醇萃取,浓缩正丁醇相,得到苦瓜粗皂甙。D-101 大孔树脂柱脱色去杂后硅胶柱反复洗脱,再用 ODS 反相硅胶柱分离最后得到苦瓜皂甙单体。

1.3 苦瓜皂甙纯度鉴定

用两种方法鉴定苦瓜皂甙的纯度:薄层色谱检测(TLC)和反相高效液相色谱(RP-HPLC)法,TLC 法中采用 GF254 硅胶薄板,以氯仿-甲醇-水溶剂体系为展开剂,105 ℃烘烤 15 min。反相高效液相色谱条件为:色谱柱:ZorbaxSB C₁₈(D 4.6 mm×150 mm);柱温:30 ℃;流动相:体积分数 80%甲醇水溶液;体积流量:1 mL/min;进样量:10 μL;检测器:ELSD。

1.4 苦瓜皂甙的定性试验

1.4.1 泡沫试验 皂甙水溶液 2 mL,放入试管中激烈振摇,能产生持久(15 min 内不消失)蜂窝状泡沫。

1.4.2 Libermann-Buehard 反应 取皂甙甲醇溶液 2 mL,挥干溶剂,再加乙酸酐溶解,随后加入 V(浓硫酸):V(乙酸酐)=1:20 的混合液 2 滴,振摇,颜色变化为黄-红-紫-蓝^[7]。

1.5 质谱法推断皂甙的结构

质谱色谱条件为:Waters ZMD4000 型液质联用仪采用 ESI/MS 正负离子质谱,直接进样。

2 结果与讨论

2.1 苦瓜皂甙的定性

泡沫反应中皂甙水溶液能产生蜂窝状泡沫,持久(15 min 内)不消失。

Libermann-Buehard 反应过程中体系颜色变化为黄-红-紫-蓝,最后趋于稳定。

以上是皂甙的特征反应,两种反应均为阳性,初步证明了该物质是苦瓜皂甙。

2.2 苦瓜皂甙的纯度检测

薄层色谱(TLC)和反相高效液相色谱(RP-HPLC)检测苦瓜皂甙的纯度^[7];TCL 结果呈单一的紫色斑点,为皂甙的特征显色,见图 1。再用 HPLC 验证,结果是一个单一的峰,见图 2。归一化法求得纯度为 98.45%。由此两种方法结合判定,此物质是纯的化合物。

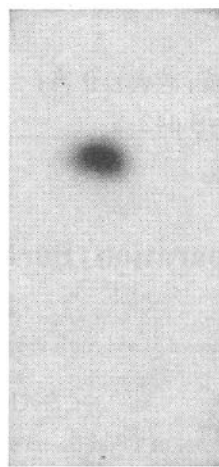


图 1 苦瓜皂甙的薄层色谱图($R_f=0.81$)

Fig. 1 TLC of the saponin from *Momordica charantia* L.

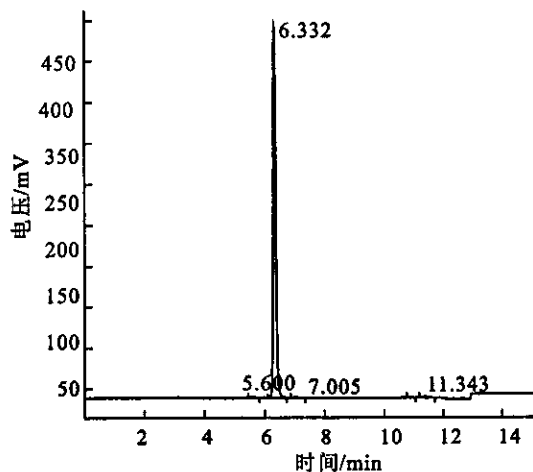


图 2 苦瓜皂甙的 HPLC 图

Fig. 2 RP-HPLC of the saponin from *Momordica charantia* L.

2.3 苦瓜皂甙的结构推断

为了进一步推断该种苦瓜皂甙的结构,进一步进行电喷雾质谱(ESI-MS)^[8],结果见图 3。

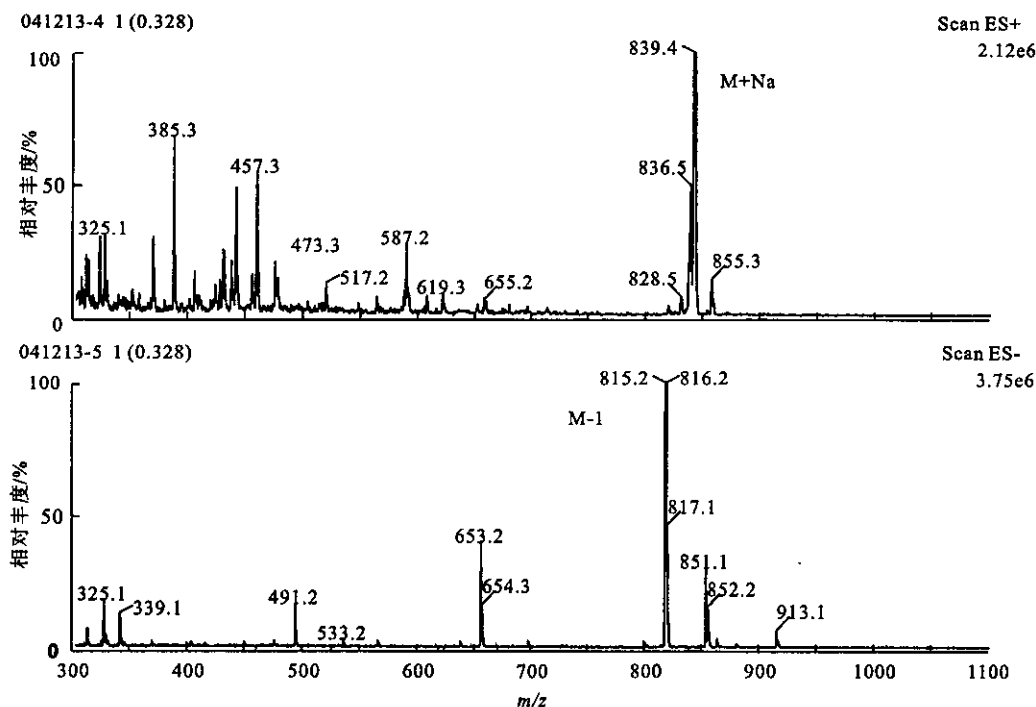


图3 苦瓜皂甙的 ESI-MS 图

Fig. 3 ESI-MS of the saponin from *Momordica charantia* L.

以上质谱图上正负离子结合可以看出,皂甙的母核 m/z 可能是 491,连有两个六碳糖基, m/z 为 653 处,是皂甙分子掉了一个糖基碎片(815—162),在 m/z 为 491 处,是皂甙分子掉了两个糖基碎片(815,324),由于苦瓜皂甙是三萜类皂甙,皂甙元是由 30 个碳原子组成,相对分子质量不低于 360,故推断皂甙的母核 m/z 应该是 491。

3 结 论

通过硅胶柱色谱、ODS 反相硅胶柱色谱、TLC

成功地分离了苦瓜皂甙,并通过 TLC 和 RP-HPLC 对其纯度进行鉴定,这为苦瓜皂甙标准品的制备提供了理论依据。另外,由于皂甙种类繁多,其结构鉴定相当困难,作者通过 ESI-MS 方法初步鉴定其结构,也取得了满意的结果。至于此种皂甙的进一步结构鉴定和生理活性,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科技出版社, 1986.
- [2] Ng T B. Insulin-Like molecules in *Momordica charantia* seeds[J]. *J Ethnopharmacol*, 1986; 15:107.
- [3] 肖志艳, 陈迪华, 斯建勇. 苦瓜的化学成分研究[J]. *中草药*, 2000, 8(31):571.
- [4] 朱照静, 钟炽昌, 罗泽渊. 苦瓜子有效成分研究[J]. *药学学报*, 1990, 25(12):898.
- [5] 高锦明. 植物化学[M]. 北京:科学出版社, 2003.
- [6] Schulten H R. Identification of ginsenosides from *Panax ginseng* in fractions obtained by high-performance liquid chromatography by filed desorption mass spectrometry, multiple internal reflection infrared spectroscopy and thin layer chromatography[J]. *J Ethnopharmacol*, 1981, 212; 37—49.

(责任编辑:朱 明)