

文章编号:1673-1689(2008)03-0045-05

苦瓜提取物中降血糖皂甙的筛选

石雪萍¹, 姚惠源², 张卫明¹

(1. 南京野生植物综合利用研究院, 江苏 南京 210042; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 苦瓜皂甙经过提取, 正丁醇和乙酸乙酯萃取, 把苦瓜提取物按照极性分为 3 个组分, 分别为: 乙酸乙酯相(MCE-A), 正丁醇相(MCE-B)和水相(MCE-C)。动物实验表明, 对正常小鼠和糖尿病小鼠, MCE-B 具有较显著的降血糖作用, 而 MCE-A 和 MCE-C 降糖效果不明显。组分分析表明, 苦瓜正丁醇萃取相含有 45.51% 的皂甙成分。

关键词: 苦瓜; 降血糖; 皂甙; 筛选

中图分类号: TS 202, S 642.5

文献标识码: A

Screening of the Hypoglycemic Saponins from the *Momordica Charantia* L. Extract

SHI Xue-ping¹, YAO Hui-yuan², ZHANG Wei-ming¹

(1. Nanjing Institute for Comprehensive Utilization of Wild Plant, Nanjing 210042, China; 2. School of food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In this manuscript, three fractions were obtained from the ethanol extract of *momordica charantia* L. according to the polarity. Then the hypoglycemic activity test of these three fractions were carried out on the normal and diabetic mice. The results showed that the n-butanol fraction (MCE-B) had significant hypoglycemic effect on the normal and diabetic mice. The composition analysis showed that 45.51% saponins existed in this fraction.

Key words: *Momordica charantia* L.; hypoglycemic; saponins; microporous absorption resin

苦瓜 (*Momordica charantia* L.) 为葫芦科苦瓜属一年生草本植物, 性味苦寒, 具有清热解毒滋养强壮、降血糖等功效^[1]。从苦瓜果实和种子中分离得到多种苦瓜皂甙和蛋白质, 分别具有降血糖、抗肿瘤和堕胎作用^[2-3]。

近年来, 随着人们生活水平的提高, 对苦瓜的营养保健价值也有了更深的认识, 发现苦瓜不仅有很高的营养价值, 而且有许多食疗保健作用, 尤其是苦瓜作为一种治疗糖尿病的特效营养保健品已经备受人们的关注。目前, 关于苦瓜治疗糖尿病病的

报道很多^[4-9], 但是大部分还处于初步研究阶段, 关于苦瓜降血糖的活性成分, 目前研究最多的是苦瓜多肽^[10], 其它的降血糖成分还在进一步探索研究之中。一些资料报道苦瓜皂甙具有降血糖功能^[11-12], 但具体的成分还没有完全研究清楚。针对这一研究现状, 作者主要是沿着苦瓜皂甙提取的工艺路线, 对苦瓜乙醇提取物中的各极性部分进行筛选, 以动物实验中血糖指数作为观察指标, 来追踪苦瓜中活性最强的组分, 为进一步研究此成分的降血糖作用提供了理论基础。

收稿日期: 2007-05-17.

作者简介: 石雪萍(1974-), 女, 河南南阳人, 工学博士, 助研, 主要从事营养与食品功能因子研究. Email: stbdw@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

苦瓜(含果实和种子):收集于江苏溧阳;体积分数 95% 乙醇、无水乙醇、正丁醇、乙酸乙酯、甲醇等均为分析纯,由上海国药试剂厂提供;四氧嘧啶(Alloxan):购于美国 Sigma 公司;薄层硅胶板:山东烟台芝罘江友胶业经营部提供;实验动物:昆明种小鼠,购于无锡山禾药业公司,体重 18~20 g,雌雄兼有。

Touch II 型血糖测定仪:美国强生公司产品;RE-52AA 型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂生产;循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸有限公司;LXJ-II 型离心机:涟水电讯电机厂生产。

1.2 苦瓜中不同极性皂甙成分的提取分离

苦瓜干粉碎,称重,加 20 倍体积分数 90% 的乙醇 70 °C 下 3 次提取,每次 3 h。过滤得到苦瓜乙醇提取液。浓缩后取一部分真空干燥,备用(MCE)。其余的蒸发至浸膏状。然后将浸膏分散至乙酸乙酯-水($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{水}}=1:1$)溶液中萃取 5 次,合并乙酸乙酯相蒸干备用(MCE-A)。水相分配于正丁醇-水溶液中($V_{\text{正丁醇}}:V_{\text{水}}=1:1$),萃取 5 次,至正丁醇相几乎没有颜色,合并正丁醇相,浓缩干燥备用(MCE-B)。其它水相部分浓缩蒸干(MCE-C)。这样苦瓜乙醇提取物就按照极性分为 3 个组分:MCE-A、MCE-B 和 MCE-C。小鼠灌胃时,每个极性部位分别配成 40 mg/mL(40 mg 为总皂甙质量)的溶液或悬液。

1.3 皂甙检测

1.3.1 定性检测 将样品浓缩后点于 GF₂₅₄ 硅胶板,展开剂系统为 $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=7:3:1$ (正丁醇相), $15:3:1$ (乙酸乙酯相), $5:3:1$ (水相)。展开后的薄板,吹干展开剂,在 10% 硫酸-乙醇溶液中浸湿后,立即放入 105 °C 烘箱烘烤 15 min,在点有 MCE-A 样品的薄板边沿,可以看到一些紫色的斑点,说明该相中含有部分苦瓜皂甙;点有 MCE-B 样品的薄板上清晰地看到有紫色的谱带,说明该组分含有大量的苦瓜皂甙;点有 MCE-C 的薄板下方,有少量的紫色斑点,说明 MCE-C 相也有少量的皂甙。TLC 方法定性鉴定得出结论:3 种组分中均含有皂甙成分。

1.3.2 定量检测 总皂甙测定:香草醛-高氯酸显色^[13],以人参皂甙 Rb₁ 作为对照品,560 nm 下测吸光度值。

得到标准曲线为: $Y=0.0046X-0.0314$, R^2

$=0.9964$;总糖测定用葡萄糖作对照,苯酚-硫酸法得到标准曲线为 $Y=0.0072X+0.0004$, $R^2=0.9993$ 。

1.4 实验性四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的建立

小鼠适应饲养一周,实验前禁食不禁水 12 h。四氧嘧啶用生理盐水配制,然后按照剂量 200 mg/kg 腹腔注射 5% 四氧嘧啶水溶液,破坏小鼠胰腺 β 细胞。注射后 4 h 自由饮用质量分数 10% 的葡萄糖溶液。72 h 后,测定空腹血糖^[18]。取血糖值高于 10 mmol/L 的动物用于实验。模型动物具备 I 型糖尿病特征。

1.5 动物试验设计

1.5.1 剂量试验 糖尿病小鼠 40 只,随机分为 4 组,分别为:低剂量组,中剂量组,高剂量组,模型对照组。正常小鼠 10 只作为空白对照组。苦瓜乙醇提取物(MCE)分别按照剂量 100 mg/kg、300 mg/kg 和 500 mg/kg(相当于总皂甙量)灌胃,其他生理盐水灌胃,每日 1 次,连续 1 周。1 周后,空腹 12 h,测定其血糖值。

1.5.2 餐后血糖试验 正常小鼠和糖尿病小鼠各 40 只,均随机平分成实验组和对照组,实验组 1 次性苦瓜不同极性组分的苦瓜皂甙样品灌胃,测定给药后 2 h、4 h,测血糖值。

1.5.3 一周血糖试验 正常小鼠和糖尿病小鼠各 40 只,均随机分为实验组和对照组,实验组一次性以一定剂量的不同苦瓜皂甙提取物灌胃,对照组以相同剂量的生理盐水灌胃,每天 1 次,7 d 后禁食 12 h,测定其空腹血糖。

1.5.4 血糖测定 取动物尾静脉血用葡萄糖氧化酶法测定血糖,仪器为美国强生 one-touch 血糖测定仪及专用试纸。尾部静脉取血,滴于血糖测定仪上,45 s 后读数,即为试验动物的血糖值。

1.5.5 试验数据处理 t -检验法^[14]。

2 结果与讨论

2.1 苦瓜中皂甙的提取

苦瓜成分的提取具体工艺如图 1 所示。

2.2 各种提取液中总皂甙的含量测定

将提取物 MCE-A、MCE-B、MCE-C 取适量,挥(蒸)干溶剂,按照 1.3.2 中的方法,测定每种提取组分里面的皂甙含量,结果见表 1。

从表 1 结果可以看出,苦瓜乙醇提取物中各个极性组分都有不同含量的皂甙。其中正丁醇(中极性)组分含量最多,其次是乙酸乙酯(低极性)组分,而水相中苦瓜皂甙含量最少。

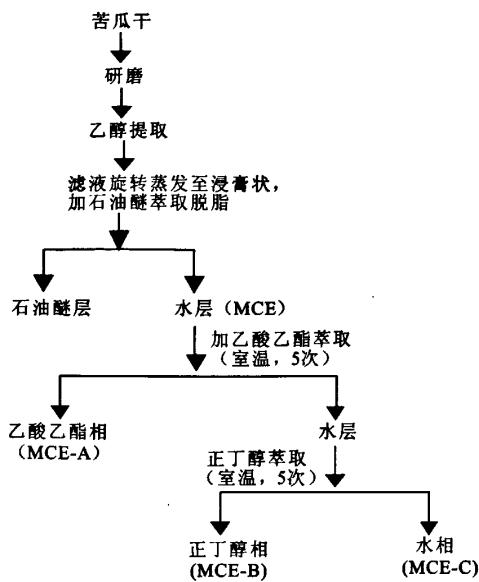


图 1 苦瓜皂甙提取工艺流程

Fig. 1 The extraction process of the saponins from *momordica charantia* L.

表 1 苦瓜乙醇提取物中各极性组分中总皂甙的含量

Tab. 1 Total saponins of the different polarity of the ethanol extract from *momordica charantia* L.

组分	皂甙质量分数/%
MCE-A	34.58
MCE-B	45.51
MCE-C	12.22

2.3 剂量试验

由表 2 可以看出:不同剂量的苦瓜乙醇提取物对糖尿病小鼠都有降血糖作用。当剂量为 300 mg/kg 时,降血糖作用最强($P<0.01$),继续增加剂量,血糖下降不明显。因此选用 300 mg/kg 作为治疗糖尿病的最佳剂量。

表 2 苦瓜乙醇提取物的降血糖试验结果

Tab. 2 The hypoglycemic results ethanolic extract of *momordica charantia* L.

组别	试验动物数 <i>n</i>	剂量/(mg/kg)	试验前血糖浓度/(mmol/L)	一周后血糖浓度/(mmol/L)	差异性
低剂量组	10	100	15.83±1.83	15.21±1.46	
中剂量组	10	300	14.79±1.59	11.06±1.65	**
高剂量组	10	500	16.94±2.88	13.86±1.15	**
模型对照组	10	100 (生理盐水)	16.83±2.49	16.99±1.90	
空白对照组	10	100 (生理盐水)	5.64±0.29	5.59±0.27	

注:“*”表示 $0.01<P\leq 0.05$, 说明有差异;“**”表示 $P\leq 0.01$, 说明差异显著。

2.4 不同组分的降血糖试验

2.4.1 餐后血糖实验

1)不同组分苦瓜皂甙对正常小鼠餐后血糖的影响。正常小鼠 40 只,随机分为 4 组,3 组为实验组,1 组为对照组。实验组分别按照剂量 300 mg/kg 不同极性组分的苦瓜皂甙灌胃,测定小鼠灌胃后 2 h、4 h 时的血糖值,结果见表 3。

表 3 苦瓜皂甙对正常小鼠餐后血糖的影响

Tab. 3 Effect of saponins with different polar on blood glucose in normal mice

灌胃组别	血糖浓度/(mmol/L)		
	0 h	2 h	4 h
MCE-A 组	5.65±2.31	5.42±1.26	4.48±1.15 ⁽¹⁾
MCE-B 组	5.73±1.46	4.20±1.17 ⁽²⁾	3.78±0.97 ⁽³⁾
MCE-C 组	5.82±2.18	5.01±1.61 ⁽⁴⁾	4.56±1.78 ⁽⁵⁾
对照组	5.67±3.24	5.52±1.21	5.04±3.46

注:与对照组相比(1),(2),(4),(5), $0.01<P\leq 0.05$, 说明有差异;(3) $P\leq 0.01$, 差异显著。

由表 3 和图 2 看出,苦瓜皂甙不同组分都可以使正常小鼠的餐后血糖浓度降低,其中 MCE-B 作用最强,其次是 MCE-C。

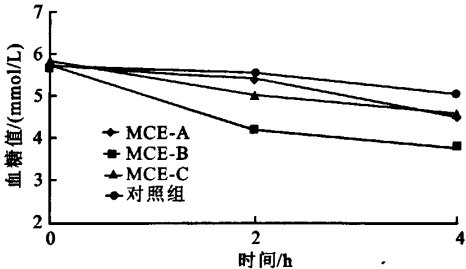


图 2 苦瓜皂甙对正常小鼠降血糖作用趋势图

Fig. 2 The trend of the effect of the saponins on the blood glucose of the normal mice

2)苦瓜皂甙对糖尿病小鼠餐后血糖的影响。糖尿病小鼠 40 只,随机分为 4 组,3 组为实验组,1 组为对照组。实验组分别按照剂量 300 mg/kg 不同组分的苦瓜皂甙灌胃,测定病鼠灌胃 2 h、4 h 后的血糖值,结果见表 4。

表 4 苦瓜皂甙对糖尿病小鼠餐后血糖的影响

Tab. 4 The trend of the effect of the saponins on the blood glucose of the diabetic mice

灌胃组别	血糖浓度/(mmol/L)		
	0 h	2 h	4 h
MCE-A 组	16.47±1.36	15.21±1.36	14.57±1.55
MCE-B 组	17.25±3.29	12.40±2.17 ⁽¹⁾	10.78±1.28 ⁽²⁾
MCE-C 组	17.67±2.43	15.04±1.61	13.56±2.39 ⁽³⁾
对照组	16.79±1.74	16.52±1.65	15.45±3.51

注:与对照组相比,(1),(3)为 $0.01<P\leq 0.05$, 说明有差异,(2)为 $P\leq 0.01$ 说明差异显著。

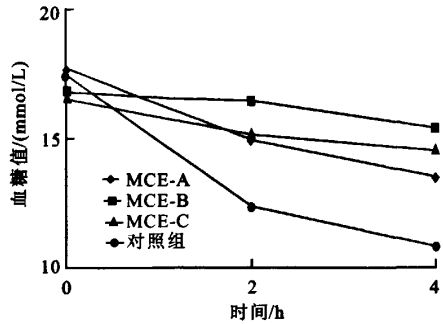


图 3 苦瓜皂甙对糖尿病小鼠降血糖作用趋势图

Fig. 3 The trend of effect of the saponins on the blood glucose of diabetic mice

由表 4 和图 3 看出,苦瓜提取物不同组分对糖尿病小鼠的降血糖实验表明:MCE-B 可使糖尿病小鼠餐后血糖显著降低,MCE-C 也可降低其餐后血糖,而 MCE-A 的降血糖效果不明显。MCE 对正常小鼠和糖尿病小鼠的血糖作用在 0~2 h 下降比较快,2~4 h 之间下降平缓。

2.4.2 一周血糖实验 将苦瓜乙醇提取物中的组分分为 3 个极性组分:MCE-A, MCE-B, MCE-C。按照 300 mg/kg(总皂甙生药量)的剂量糖尿病小鼠灌胃,空白对照组小鼠以相同剂量的生理盐水灌胃,一周后测定其空腹血糖,结果见表 5。

表 5 不同极性组分的降血糖试验结果

Tab. 5 The experimental result of the hypoglycemic activity of different polar fraction

组别	试验动物数 <i>n</i>	试验前 血糖浓度/ (mmol/L)	灌喂 样品	试验后 血糖浓度/ (mmol/L)	差异 性
1	10	16.39± 1.28	MCE-A	15.36± 1.80	
2	10	17.03± 4.09	MCE-B	13.59± 0.19	**
3	10	17.05± 2.78	MCE-C	15.11± 2.16	*
4	10	16.26± 3.68		16.45± 3.51	
5	10	5.41± 0.22	MCE-A	5.31± 0.20	
6	10	5.49± 0.27	MCE-B	4.76± 0.18	*
7	10	5.53± 0.34	MCE-C	5.44± 0.23	
8	10	5.13± 3.29	生理盐水	5.29± 1.25	

注:“*”表示 0.01<P≤0.05,说明有差异;“**”表示 P≤0.01,说明差异显著。

表 5 的试验结果表明,MCE-B 对正常小鼠和糖

尿病小鼠都具有降血糖作用,对糖尿病小鼠降血糖作用明显($P\leq 0.01$)。MCE-C 对糖尿病小鼠具有降血糖作用,但是对正常小鼠降血糖作用不明显($0.01<P\leq 0.05$)。MCE-A 对正常小鼠和糖尿病小鼠均无明显的降血糖作用。

2.4.3 MCE-B 中主要成分推测

由试验 2.2 和 2.3 可知,MCE-A、MCE-B、MCE-C 中都含有皂甙成分,这说明并不是所有的皂甙都具有降血糖的功效。MCE-C 中的降血糖成分可能是水相里面的蚕豆甙起作用^[15]。为了进一步分离纯化 MCE-B 并探讨组分的分子结构,首先对 MCE-B 的组成进行分析,结果见表 6。

表 6 MCE-B 的成分分析

Tab. 6 Component analyse of MCE-B

成分	质量分数/%
水分	7.89
碳水化合物	37.60
总蛋白	3.42
总皂甙	45.51
其它	6.58

从表 6 中皂甙的成分分析可以看出,MCE-B 中除了含有大部分皂甙成分之外,还含有碳水化合物、蛋白质等杂质。其中除了皂甙外主要的成分为碳水化合物。这就为以后的实验提供了依据。由于 MCE-B 最初是从苦瓜醇提物中分离出来的组分,因此这部分碳水化合物主要应是小分子糖类,在以下的苦瓜皂甙分离纯化步骤中,要想分离出苦瓜皂甙单体,必须先将这一部分小分子糖类除去。

3 结 语

通过对苦瓜乙醇提取物的降血糖动物实验得出结论:苦瓜乙醇提取物具有降血糖活性,且最佳剂量为 300 mg/(kg·d)。

对苦瓜乙醇提取物继续按照极性进行分组,得到 3 个极性组分。对这 3 个极性组分进行动物实验,结果表明:苦瓜乙醇提取物正丁醇萃取相对正常小鼠和四氧嘧啶糖尿病小鼠均有降血糖作用;水相对正常小鼠作用不明显,对四氧嘧啶糖尿病小鼠具有降血糖活性。乙酸乙酯相对正常和糖尿病小鼠降血糖活性均不显著。

正丁醇相分析表明:其中成分除了含有皂甙外,还有较多的碳水化合物成分。

参考文献(References):

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上)[M]. 上海: 上海科技出版社, 1985:1281.
- [2] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 中国医药出版社, 1988:28,16.
- [3] Ahmed E Adeghate. Effects of Momodica charantia fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat [J]. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 1998, 40:145-151.
- [4] Biyani M K, Banavalikar M M, Suthar A C, et al. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia* [J]. **Journal of Ethnopharmacology**, 2003, 88:107-111.
- [5] Reynaldo Rosales, Ricardo Fernando. An inquiry to the hypoglycemic action of *momordica charantia* among type 2 diabetes patients[J]. **Philippine Journal of Internal Med**, 2001, 7(8):213.
- [6] Ahmed I, Lakhani M S, Gillett M, et al. Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of antidiabetic *momordica charantia* (Karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2001, 51: 155-161.
- [7] Baizid A Shibib, Liakot Ali Khan, Rafiqur Rahman. Hypoglycaemic activity of coccinia indica and momordica charantia in diabetic rats; depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphates and fructose-1,6-bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase[J]. **Biochem J**, 1993, 292: 267-270.
- [8] 侣丽红, 赵余庆. 苦瓜中降血糖活性成分的提取分离与鉴定[J]. 中药材, 2004, 27(12): 922-923.
Lv L H, Zhao Y Q. Isolation and determination of the hypoglycemic activities from the momordica chatantia L[J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, 2004, 27(12): 922-923. (in Chinese)
- [9] Srivastava Y, Venkatakrishna-Bhatt H, Verma Y, et al. Antidiabetic and adaptogenic properties of momordica charantia extract; an experimental and clinical evaluation[J]. **Phytotherapy Research**, 1993(7):285-289.
- [10] B. 纳格, S. 麦迪彻拉, S. D. 沙玛. Orally activity fraction of momordica charantia, active peptides thereof and their use in the treatment of diabetes, US, 98/06450[P]. 1998-04-01.
- [11] 王峰. 苦瓜皂甙治疗 2 型糖尿病的初步临床观察 [J]. 实用中西医结合杂志, 1991(12): 721-722.
Wang Feng. A preliminary clinical observation on the 2 type diabetes of the saponins from momordica charantia L. [J]. **Practical Journal of Integrating Chinese with Modern Medicine**, 1991(12): 721-722. (in Chinese)
- [12] 王先远, 金宏, 许志勤. 苦瓜皂甙降血糖作用及其机制初探[J]. 氨基酸与生物资源, 2001, 23(3): 42-45.
Wang Xian-yuan, Jin Hong, Xu Zhi-qin, et al. Study on hypoglycemic effect of momordica saponins and its mechanism[J]. **Amino Acids & Biotic Resources**, 2001, 23(3): 42-45. (in Chinese)
- [13] 李雁群, 王文生, 王策. 罗汉果皂甙的提取工艺研究[J]. 食品科学, 1993, 16(5): 66-70.
Li Yan-qun, Wang Wen-sheng, Wang Che. The technique on extraction and content determination of saponin from momordica grosvebori[J]. **Food Science**, 1993, 16(5): 66-70. (in Chinese).
- [14] 明道统. 生物统计附试验设计[M]. 北京: 中国农业出版社. 2002: 67-89.

(责任编辑: 杨 萌)