不同产地苦瓜中苦瓜皂苷的闪式提取及 HPLC 测定

王晓婧[1]，孙 伟[2]，曾 珂[1]，区海燕[2]，赵余庆[1*]

1. 沈阳药科大学，辽宁 沈阳 110016
2. 无限极（中国）有限公司，广东 广州 510665

摘 要：目的 采用闪式提取和固相萃取相结合的方法来快速测定不同产地苦瓜中 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 的量。**方法** 样品经过闪式提取和固相萃取处理后，采用 HPLC 法进行测定。色谱条件为 Kromasil C_{18} 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈-水（57∶43），体积流量 1.0 mL/min，检测波长 203 nm。**结果** Momordicoside L 线性范围为 0.048～0.48 μg，加样回收率为 96.93%，RSD 为 1.95%；kuguaglycoside C 线性范围为 0.024～0.36 μg，加样回收率为 97.80%，RSD 为 1.19%；goyaglycoside-d 线性范围为 0.006～0.192 μg，加样回收率为 93.62%，RSD 为 1.28%。广东、广西、福建 3 个产地 3 种成分的量差异较大。**结论** 福建产苦瓜中 momordicoside L 量最高，广东产苦瓜中 kuguaglycoside C 和 goyaglycoside-d 的量均较高。此方法可作为苦瓜药材质量评价的依据。

关键词：苦瓜；momordicoside L；kuguaglycoside C；goyaglycoside-d；闪式提取

中图分类号：R286.022 **文献标志码**：A **文章编号**：0253 - 2670(2011)12 - 2471 - 03

Smashing tissue extraction and HPLC determination of saponins from *Momordica charantia*

WANG Xiao-jing[1], SUN Wei[2], ZENG Ke[1], OU Hai-yan[2], ZHAO Yu-qing[1]

1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China
2. Infinitus (China) Co., Ltd, Guangzhou 510665, China

Key words: *Momordica charantia* L.; momordicoside L; kuguaglycoside C; goyaglycoside-d; smashing tissue extraction

苦瓜 *Momordica charantia* L.为葫芦科苦瓜属植物，始载于《滇南本草》，具清热解暑、明目解毒的功效，可用于治疗热病烦渴、中暑、痢疾、赤眼疼痛、痈肿丹毒恶疮等症[1-2]。研究表明，从苦瓜果实和种子中分离得到的苦瓜皂苷成分具有降血糖、抗肿瘤、抑菌、抗衰老、抗病毒等作用[3-10]。苦瓜皂苷是苦瓜的有效成分之一。目前，对苦瓜皂苷的测定主要采用分光光度法、薄层扫描法和 HPLC 法等。其中苦瓜总皂苷测定主要采用比色法[11-14]，该方法方便快捷，但此体系并不是皂苷的特征显色体系，还存在其他生物碱类、甾体类、黄酮类、糖等的干扰，造成测量值偏高。由于苦瓜皂苷的紫外吸收强度弱，且苦瓜中很多皂苷分离纯化困难且量极低等，使得苦瓜中单体皂苷测定缺少标准样品，因此应用 HPLC 法测定苦瓜中单体皂苷的报道较少。

本课题组曾应用薄层扫描法测定苦瓜中活性成分苦瓜皂苷的量[15]，并采用固相萃取法与 HPLC 法结合测定 momordicoside L 的量[16]。药理活性研究表明[6]，momordicoside L 等具有较明显的降血糖活性，因此研究并建立苦瓜中活性成分的测定及质量控制方法具有重要的应用价值。本实验首次采用闪式提取法快速提取苦瓜中活性成分，并应用 HPLC 法同步测定 momordicoside L、kuguaglycoside C 及 goyaglycoside-d 3 个苦瓜皂苷类成分，为苦瓜皂苷的分析检测方法的建立及质量评价奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

德国诺尔高效液相色谱仪（德国诺尔），德国诺尔 EuroChromfor Windows 色谱工作站，固相萃取柱，闪式提取器 JHBE250S（河南金鼎科技发展有限公司），塞多利斯 BS/BT 型电子分析天平（上海台之衡电子衡器有限公司）。

收稿日期：2011-03-12

基金项目：辽宁省天然药物现代分离与工业化制备工程技术研究中心资助项目（2008402021）

***通讯作者** 赵余庆 Tel: (024)23986521 E-mail: zyq4885@126.com

1.2 材料

Momordicoside L、kuguaglycosides C 和 goyaglycoside-d 对照品为实验室自制（质量分数＞99%），流动相乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯，苦瓜样品分别购于广东、广西、福建药材市场，由沈阳药科大学孙启时教授鉴定为苦瓜 *Momordica charantia* L.。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C_{18}（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-水（57∶43）；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 203 nm；柱温 25 ℃。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 对照品 2.4、2.4、0.6 mg 加甲醇溶解后，定容至 10 mL 量瓶中；再分别吸取配制好的溶液 1 mL，定容至 10 mL，制成 momordicoside L 和 kuguaglycoside C 质量浓度均为 24.0 μg/mL、goyaglycoside-d 质量浓度为 6.0 μg/mL 的对照品溶液，摇匀，备用。

2.3 供试品溶液的制备[17-19]

不同产地干燥苦瓜样品各 2 g，分别用 10、10、8 倍量甲醇闪式提取 3 次，每次 2 min，功率 150 W，滤过后合并上清液，减压蒸干，取残渣加水 3 mL 溶解后加入固相萃取小柱中，分别用 10 mL 水、甲醇-水（50∶50）混合溶液、10 mL 甲醇洗脱，洗脱液浓缩定容至 1 mL，经微孔滤膜后用于 HPLC 分析。

2.4 线性关系考察

分别吸取 momordicoside L（2、4、6、10、15、20 μL），kuguaglycoside C（1、3、5、8、10、15 μL）、goyaglycoside-d（1、2、5、10、16、32 μL）对照品溶液注入高效液相色谱仪，按上述色谱条件测定峰面积，以峰面积（Y）为纵坐标，以对照品的进样量（X）为横坐标，分别绘制标准曲线，得出 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 回归方程分别为 Y＝700 017 X－578.9，r＝0.999 9；Y＝175 896 X＋877.4，r＝0.999 8；Y＝512 572 X＋1 013.2，r＝0.999 8。momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 分别在 0.048～0.48、0.024～0.36、0.006～0.192 μg，进样量与峰面积之间线性关系良好。

2.5 方法学考察

2.5.1 检测波长的选择 在 200～400 nm 波长范围内，对对照品和供试品溶液进行扫描，根据各峰的紫外光谱曲线和各峰的最大吸收波长，综合比较确定 203 nm 为最佳检测波长。

2.5.2 精密度试验 分别精密吸取 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 对照品溶液各 20 μL，进样 6 次，测定峰面积，RSD 分别为 0.90%、1.56%、1.21%。

2.5.3 稳定性试验 取供试品溶液 20 μL，在 0、3、6、9、12 h 进样 5 次，测定 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 的峰面积，其 RSD 分别为 0.48%、1.70%、0.75%。

2.5.4 重现性试验 取广东苦瓜样品 2 g，按上述“2.3”项方法，平行制备 5 份供试品溶液，取 20 μL 测定 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 的峰面积值，计算其质量分数的 RSD 分别为 1.55%、1.49%、1.87%。表明本实验方法重现性良好。

2.5.5 加样回收率试验 称定已测定的苦瓜样品（产地广东）6 份，精密加入一定量的 3 种对照品，按样品测定方法处理，取 20 μL 注入液相色谱仪，测定 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 的峰面积，并计算回收率。结果平均回收率分别为 96.93%、97.80%、93.62%。RSD 分别为 1.95%、1.19%、1.28%。

2.6 样品测定

取 3 个产地苦瓜样品，制备供试品溶液，进样 20 μL，均重复进样 3 次，记录峰面积，由回归方程计算，结果见表 1 及图 1。

3 讨论

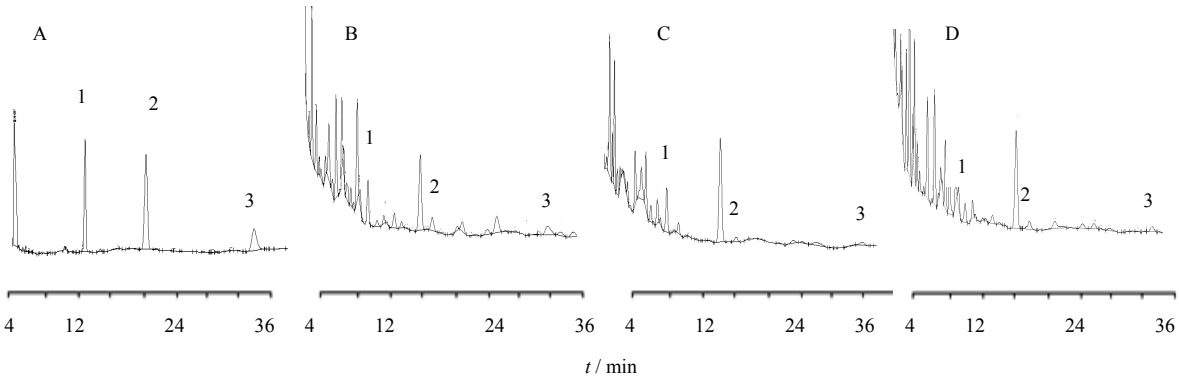
不同产地苦瓜中 3 种成分量差异较大，其中福建产苦瓜中 momordicoside L 量最高，广东产苦瓜中 kuguaglycoside C 和 goyaglycoside-d 量均较高。

苦瓜总皂苷的提取工艺主要为传统的超声、微波和回流法。闪式提取法是应用了一种用于植

表 1 不同产地苦瓜中 momordicoside L、kuguaglycoside C 和 goyaglycoside-d 的测定结果

Table 1 Determination of momordicoside L, kuguaglycoside C, and goyaglycoside-d in *M. charantia* from different habitats

产地	质量分数/(μg·g^{-1})		
	momordicoside L	kuguaglycoside C	goyaglycoside-d
广东	5.15	3.05	2.95
福建	11.25	1.25	0.85
广西	4.83	1.80	0.45



1-momordicoside L 2-kuguaglycoside C 3-goyaglycoside-d

图 1 混合对照品（A）、广东（B）、福建（C）、广西（D）产地苦瓜样品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), samples from Guangdong (B), Fujian (C), and Guangxi (D)

物软、硬材料快速提取的新型提取器。其原理是依靠高速机械剪切力和超动分子渗滤技术，在室温及溶剂存在下数秒钟内把植物的根、茎、叶、花、果实等物料破碎至细微颗粒，并使有效成分迅速达到组织内外平衡，通过过滤达到提取之目的。该仪器能最大限度保护植物有效成分，不会受热破坏，溶剂用量小、提取时间短、效率高、节约能源。

采用先进、快速的闪式提取样品后，用固相萃取和 HPLC 结合法测定多个苦瓜皂苷的量并进行不同产地的质量评价研究工作未见报道。本研究首次以 momordicoside L、kuguaglycoside C、goyaglycoside-d 作为 HLPC 同步检测的一组指标，3 个成分均为葫芦烷素型四环三萜，是葫芦科苦瓜属植物中较有代表性的一类化合物，这为苦瓜活性成分的分析检测和药材的质量评价提供新的依据和方法。

参考文献

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学与技术出版社, 1986.

[2] Hisashi M, Seikou N, Toshiyuki M, *et al*. Structures of new cucurbitane-type triterpenes and glycostdes, karavilagens D and E, and karavilosides VL, VII, VIII, IX, X and XI, from the fruit of *Momordica charantia* [J]. *Heterocycles*, 2007, 71(2): 331-341.

[3] 潘 辉, 赵余庆. 苦瓜中皂 (甾) 苷类化学成分的研究 [J]. 亚太传统医药, 2006, 1: 65-72.

[4] 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(11): 827-828.

[5] 柴瑞华, 肖春莹, 关 健, 等. 苦瓜总皂苷降血糖作用的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(5): 746-751.

[6] Liva H, Michi T, Shigeru T, *et al*. *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(7): 1017-1021.

[7] 张 瑜, 崔炯谟, 朴虎日, 等. 苦瓜中新化合物的化学研究 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 509-512.

[8] 夏 柯, 颜 钫, 叶 杨, 等. 苦瓜籽总甙体外抗 HSV2 I 和 RSV 活性研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2007, 44(1): 160-162.

[9] 柴瑞华, 肖春莹, 赵余庆. 苦瓜总皂苷降血糖作用的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 248-250.

[10] 李雁群, 王文生, 王 策. 罗汉果中皂苷的分离与鉴定 [J]. 食品科学, 1993(5): 66-69.

[11] 熊术道, 尹丽慧, 李景荣, 等. 苦瓜蛋白抗肿瘤作用及其分子机制 [J]. 中草药, 2008, 39(3): 408-411.

[12] OLeszek W A. Chromatographic determination of plant saponins [J]. *J Chromatogr A*, 2002(967): 147-162.

[13] 顾小红, 赵海雯, 汤 坚, 等. 癞葡萄总皂苷测定方法的研究 [J]. 食品科学, 2005, 26(8): 313-315.

[14] 程莉君, 石雪萍. 苦瓜中总皂苷的比色法测定 [J]. 食品与机械, 2008, 24(2): 123-127.

[15] 关 健, 童然询, 赵余庆. 薄层扫描法测定不同产地苦瓜中降血糖有效成分苦瓜苷的含量 [J]. 中国现代中药, 2006, 8(3): 19-21.

[16] 张 瑜, 赵余庆. HPLC 测定不同产地苦瓜中降糖活性成分 momordicoside L 含量 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(5): 620-621.

[17] 周 湛, 刘延泽, 赵余庆. 三七芦头和根须总皂苷的闪式提取及纯化工艺研究 [J]. 中国现代中药, 2009, 11(3): 34-36.

[18] 汪中博, 赵余庆. 积雪草总皂苷闪式提取 (STE) 工艺研究 [J]. 中国现代中药, 2009, 11(2): 36-38.

[19] 王 水, 唐 琳. 固相萃取和高效液相色谱相结合快速测定苦瓜甙 A 的含量 [J]. 色谱, 2001, 19(2): 128-131.