

不同苦瓜品种皂苷含量组成及其抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶的抑制活性

刘慧娟^{1,2}, 张名位², 张瑞芬², 张雁², 魏振承², 马永轩², 刘磊², 邓媛元²

(¹长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434020; ²广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所/农业部功能食品重点实验室/广东省农产品加工重点实验室, 广州 510610)

摘要:【目的】比较不同品种苦瓜果肉中皂苷总含量、7种单体组成含量及抗氧化性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性差异, 为明确苦瓜中主要皂苷单体组成含量, 筛选高皂苷含量及高活性的苦瓜品种提供科学参考。【方法】采用香草醛-高氯酸法测定13个苦瓜品种皂苷总含量, 高效液相法测定7种皂苷单体含量、总抗氧化能力指数(ORAC), 并评价其抗氧化活性, 采用4-硝基酚-2-D吡喃葡萄糖苷法测定 α -葡萄糖苷酶抑制率, 同时分析组成含量和活性之间的相关性。【结果】13个不同品种苦瓜果肉皂苷总含量呈显著性差异, 含量变幅为(0.52—1.20) g/100g DW, 平均值为0.79 g/100g DW, 变异系数为21.65%。7种皂苷单体含量的平均值依次为: 苦瓜皂A(Momorcharaside A) 5.32 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 苦瓜皂A(Momordicoside A) 25.42 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, Karaviloside XI 3.96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 苦瓜皂F2(Momordicoside F2) 66.95 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 苦瓜皂K(Momordicoside K) 183.70 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, (23E)-3 β , 7 β , 25-trihydroxycucubita-5, 23-dien-19-a1 40.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, Kuguacin N 3.87 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW。不同品种苦瓜总皂苷ORAC指数变幅为2747.76—15584.07 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均值为8879.48 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, 变异系数为34.91%; α -葡萄糖苷酶IC₅₀值变幅为1.55—4.96 mg·mL⁻¹。【结论】不同品种苦瓜果肉皂苷总含量、单体组成含量、抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制率有显著差异。皂苷是苦瓜抑制 α -葡萄糖苷酶活性的主要物质基础, 但并非苦瓜抗氧化活性主要贡献物质。(23E)-3 β , 7 β , 25-trihydroxycucubita-5, 23-dien-19-a1是主要活性单体。

关键词: 苦瓜; 皂苷; 抗氧化; α -葡萄糖苷酶

Saponin Profiles and Antioxidant Activity, α -Glucosidase Inhibitory Activity of *Momordica charantia* of Different Varieties

LIU HuiJuan^{1,2}, ZHANG MingWei², ZHANG RuiFen², ZHANG Yan², WEI ZhenCheng², MA YongXuan², LIU Lei², DENG YuanYuan²

(¹College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434020, Hubei; ²Sericultura & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610)

Abstract:【Objective】The content and composition of saponin of 13 different *M. charantia* varieties as well as the antioxidant activity and inhibitory effect of α -glucosidase were studied.【Method】Perchloric acid-vanillin-glacial method was used to determine saponin content, while HPLC method was used to measure the contents of 7 saponin components. In addition, their antioxidant activity was evaluated by oxygen radical absorbance capacity (ORAC). The 4-nitrophenyl-2- β -D-glucopyranoside method was used to measure the α -glucosidase inhibitory activity and to analyze the relationship between the components and the

收稿日期: 2017-01-25; 接受日期: 2017-04-24

基金项目: 广东省中科院全面战略合作专项资金竞争性分配项目(2013B091100011)、广东省省级科技计划项目(2016B070701012, 2016A040403081)

联系方式: 刘慧娟, E-mail: lhj8401@163.com。通信作者邓媛元, E-mail: yuanyuan_deng@yeah.net

corresponding activity. 【Result】There is a significant difference in contents of saponin in 13 different varieties of *M. charantia*. The content ranges of saponin were 0.52–1.20 g/100g DW, with an average value being 0.79 g/100g DW, and the coefficient of variability being 21.65%. The average contents of components were as follows: momorcharaside A 5.32 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, momordicoside A 25.42 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, karaviloside XI 3.96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, momordicoside F2 66.95 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, momordicoside K 183.70 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 40.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, and kuguacin N 3.87 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW. ORAC values of the 13 *M. charantia* varieties varied from 2 747.76 to 15 584.07 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, the average value being 8 879.48 mol Trolox· g^{-1} , the coefficient of variability being 34.91% and the IC₅₀ value of alpha glucosidase varied from 1.55 to 4.96 mg·mL⁻¹. 【Conclusion】 Significant differences in the components of saponin and the antioxidant activity and the inhibitory effect on α -glucosidase of different varieties of *M. charantia* were detected. Saponin is the main active basis of α -glucosidase activity in *M. charantia*, but not the main antioxidant substance. (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al is the major active compound.

Key words: *Momordica charantia*; saponin; antioxidant; α -glucosidase

0 引言

【研究意义】苦瓜又名凉瓜，属葫芦科草本植物，是华南特色药用蔬菜。皂苷是苦瓜中的主要功能成分，具有降血糖、减肥、抗氧化等多种生理活性^[1-3]。不同种类植物中皂苷的含量和组成及其活性不尽相同^[4]。比较不同品种苦瓜果肉中皂苷的含量、组成及其降糖和抗氧化活性差异，筛选皂苷含量高，活性强的苦瓜品种，有利于指导苦瓜精深加工，开发以皂苷为主要功能因子的苦瓜健康食品新产品。【前人研究进展】张武君等^[5]比较了福建种植的29个苦瓜品种果肉皂苷含量，变幅为0.90%—2.47%，均值为1.28%，根、茎皂苷含量接近或高于果实含量。田力东等^[4]比较分析了两广地区主栽的35个苦瓜品种皂苷含量，变幅为1.17%—4.07%，果肉皂苷含量均值为1.96%，并且同一品种苦瓜果肉中皂苷含量大于籽粒。此外，已通过植物化学经典分离手段比较了云南玉溪产苦瓜和安宁产苦瓜果肉皂苷类化合物组成差异，均从中分离鉴定新化合物5个^[6-7]。到目前为止，从苦瓜中分离得到葫芦烷型三萜皂苷已经有140多个^[8]。据报道有降糖活性的单体14个，包括momordicosides Q、R、S、T和karaviloside XI等^[9-12]。抗氧化活性单体7个，包括taiwacin A、taiwacin B、momordicoside K和3-O-(β -D-glucopyranosyl)-24 β -ethyl-5 α -chalesta-7,22,25(27)-trien-3 β -ol等^[13-14]。【本研究切入点】虽然已有研究分别对不同品种苦瓜皂苷总含量和单个品种皂苷单体组成进行了分析，但极少关于皂苷单体组成含量在不同品种间的比较，更缺少基于品种皂苷单体组成含量和活性之间的相关性分析。【拟解决的关键问题】测定华南地区栽种的13个品种苦瓜果肉皂苷中的含量相对较多且文献报道活性相对较好的7种皂苷单体物质含量^[15]，比较皂苷的抗氧化和 α -葡萄糖苷酶

抑制活性，并分析其构效和量效关系，为苦瓜的精深加工和功能食品开发提供理论依据和科学指导。

1 材料与方法

1.1 供试材料

13个不同品种苦瓜种植于广东省农业科学院蔬菜研究所广州市白云基地试验田。2015年3月播种，7月收获。苦瓜初熟时收获，当天运回广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所农业部功能食品重点实验室。所有苦瓜品种名称及分类由广东省农业科学院蔬菜研究所从事苦瓜品种培育的张长远研究员提供。

1.2 试验材料

人参皂苷 Rg1 标准品购自中国药品生物制品检定研究所；Trolox、荧光素钠盐、葡萄糖醛酸、 α -D-葡萄糖苷酶和对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖购自美国Sigma公司；其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器设备

SB-2000 旋转蒸发仪（日本东京理化器械株式会社），TECAN infinite 200 酶标仪（瑞士 TECAN），LC1200 高效液相色谱仪（美国 Agilent），EYELA 真空冷冻干燥仪（日本东京理化器械株式会社），TAISITE 万能粉碎机（天津市泰斯特仪器有限公司），UV-2450 紫外可见分光光度计（日本岛津有限公司）。

1.4 试验方法

1.4.1 苦瓜皂苷的提取制备 苦瓜洗净去籽切片，在电热鼓风机单层平铺，55℃下过夜烘干，万能粉碎机粉碎过60目筛。准确称取50.00 g 苦瓜干粉按料液比1:10加甲醇在80℃下回流提取1 h, 4 000 r/min、5 min 离心过滤后分别收集滤渣和滤液。滤渣进行同样条件的二次提取，将两次提取的滤液合并浓缩至原来体积的1/5，浓缩液用石油醚萃取3次后取水相，再用乙酸乙酯萃取3次，水相最后再用正丁醇萃取3次，萃

取均按照 1:3 体积操作。将得到的正丁醇相经 60℃真空减压浓缩至浸膏物, 用甲醇溶解后定容至 100 mL, 4℃保存备用^[16-17]。

1.4.2 总皂苷含量的测定 测定方法以人参皂苷 Rg1 为标品, 采用香草醛-高氯酸法^[18]。取 2 mL 苦瓜甲醇溶液, 水浴挥干甲醇, 香草醛-高氯酸法反应后在 560 nm 下测定吸光值, 每个样品做 3 个平行。代入标准曲线计算皂苷含量。皂苷含量以每 100 g 苦瓜粉干重计, 表示为 g/100g DW。

1.4.3 皂苷单体含量分析

1.4.3.1 待测样品的制备 苦瓜皂苷甲醇溶液经真空抽滤后收集滤液。滤液经 MCI 凝胶柱层析, 25%甲

醇水溶液 600 mL, 85%甲醇水溶液 1 200 mL 和丙酮 600 mL 依次洗脱。85%甲醇水洗脱部分浓缩得精制皂苷浸膏, 并用甲醇溶解定容为待测样品。

1.4.3.2 混标的绘制 7 种皂苷单体标准品名称及纯度分别为: 苦瓜皂 A (Momordicoside A) 95.759%、苦瓜皂苷 A (Momordicoside A) 97.728%、karaviloside XI 58.086%、苦瓜皂苷 F2 (Momordicoside F2) 86.041%、苦瓜皂苷 K (Momordicoside K) 85.729%、Kuguacin N 94.918%、(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 97.976%。7 种标品的结构如图 1, 分别精密称量上述标准品 5.5、5.5、3.5、5.5、5.5、5.5 和 7 mg 于 50 mL 容量瓶中用甲醇定容。从混标溶

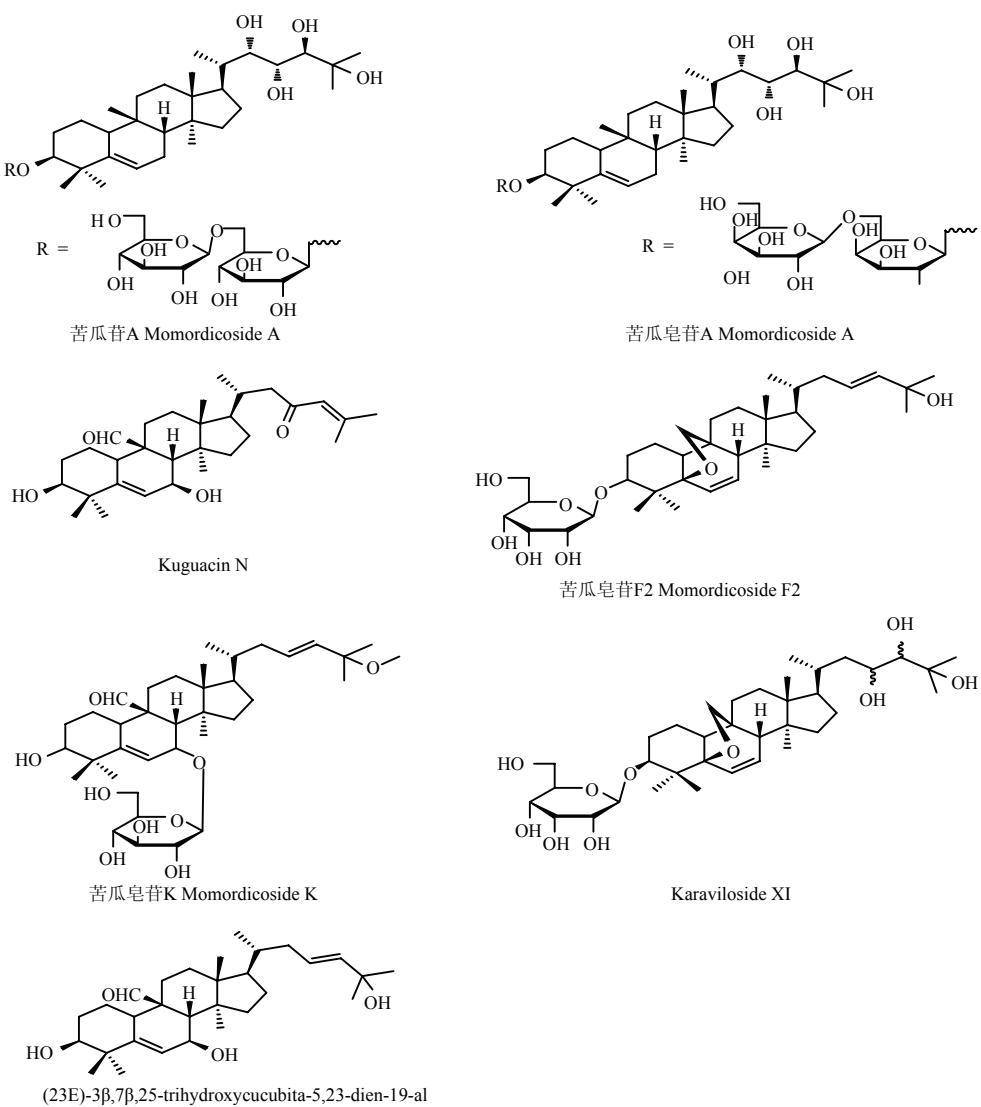


图 1 7 种单体的结构

Fig. 1 The structures of 7 components

液中分别取 1、5、10、15 和 20 μL 溶液在 HPLC 进样分析, 测各浓度标品的峰面积。各浓度进两针, 最后取平均值。

1.4.3.3 HPLC 条件 Momorcharaside A、Momordicoside A 和 karaviloside XI 按以下液相条件分析^[19]: 流动相为乙腈/水(1—16 min, 24%; 16—20 min, 24%—45%; 20—45 min, 45%—55%; 45—60 min, 55%—80%) ; 温度30℃, 流速1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长为203和238 nm, 进样量为20 μL 。Momordicoside F2、Momordicoside K、Kuguacin N 和(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxy-cucubita-5,23-dien-19-al 的液相条件分析: 流动相为乙腈/水(1—50 min, 40%; 50—68 min, 40%—50%; 68—88 min, 50%—75%) ; 温度30℃, 流速1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长203 nm, 进样量为20 μL 。记录峰面积, 由标准曲线计算出各标品含量。单体组成含量以每g 苦瓜粉干重计, 表示为 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW。

1.5 ORAC 值测定

测定方法参考 DAVALOS 等^[20], 略加修改, 将苦瓜皂苷甲醇溶液用 75 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.4)稀释至一定浓度。在 96 孔板各孔分别加入 20 μL 磷酸缓冲液、20 μL 不同浓度的 Trolox 标准品溶液、20 μL 皂苷溶液, 以及 120 μL 0.96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 荧光素工作液, 37℃下孵育 15 min。然后用多道移液器迅速在各孔加入新鲜配置 60 μL 的 119 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AAPH 溶液。启动酶标仪, 在 37℃下以激发波长 485 nm, 发射波长 538 nm 连续测定各孔的荧光强度。每 4.5 min 重复测定,

测 35 个循环。以磷酸缓冲液作为空白对照, 每个孔测 3 个平行。以 Net AUC 的数值与 Trolox 浓度作标准曲线, 以皂苷干基每 g 样品中所含 Trolox 当量 ($\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ DW) 表示。

1.6 α -葡萄糖苷酶抑制活性

皂苷的 α -葡萄糖苷酶活性测定按照 WU 等^[21]的方法, 略作修改。取苦瓜甲醇溶液 20 μL 用 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液(pH 6.8)稀释至 200 μL , 然后取 50 μL 和 25 μL 的 0.5 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ α -葡萄糖苷酶于 96 孔板中, 37℃预孵育 10 min。之后再加入 25 min 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PNPG, 37℃下孵育 30 min。孵育结束后加入 100 μL 的 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2CO_3 溶液终止反应, 405 nm 下测吸光度。同时设置样品背景对照组、空白对照组, 酶活抑制率计算公式如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶活性抑制率}(\%) = \frac{A_1 - (A_3 - A_2)}{A_1} \times 100$$

式中, A_1 为空白的吸光度; A_2 为背景的吸光度; A_3 为样品的吸光度。

1.7 统计分析

Excel 和 SPSS19.0 软件进行数据处理和分析, 数据结果以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示, 皂苷单体含量与活性之间采用双变量相关性分析, 品种间差异比较采用 LSD 法。

2 结果

2.1 不同品种苦瓜皂苷总含量

13 个不同品种苦瓜果肉皂苷总含量如表 1 所示,

表 1 不同品种苦瓜果肉皂苷总含量

Table 1 The content of *M. charantia* triterpenoid saponin of different varieties

品种 Varieties	类型 Types	皂苷含量 Saponin contents (g/100g DW)
油绿 1301 号 Youlv No.1301	绿色条瘤长身苦瓜 Green strip tumor long <i>M. charantia</i>	0.74±0.04de
油绿 1302 号 Youlv No.1302	绿色条瘤长身苦瓜 Green strip tumor long <i>M. charantia</i>	0.52±0.02i
油绿 1303 号 Youlv No.1303	绿色条瘤长身苦瓜 Green strip tumor long <i>M. charantia</i>	0.89±0.02c
绿宝石 Lvbaoshi	绿色条瘤长身苦瓜 Green strip tumor long <i>M. charantia</i>	0.94±0.03b
大顶 5 号 Dading No.5	大顶苦瓜 Dading <i>M. charantia</i>	0.95±0.04b
大顶 6 号 Dading No.6	大顶苦瓜 Dading <i>M. charantia</i>	0.77±0.04de
大顶 7 号 Dading No.7	大顶苦瓜 Dading <i>M. charantia</i>	0.68±0.02fgh
大顶 8 号 Dading No.8	大顶苦瓜 Dading <i>M. charantia</i>	0.68±0.04gh
马来西亚苦瓜 Malaysia	绿色条瘤长身苦瓜 Green strip tumor long <i>M. charantia</i>	0.74±0.01def
印尼-1 号 Indonesia No.1	绿色条瘤长身苦瓜 Green strip tumor long <i>M. charantia</i>	0.65±0.02h
印尼-3 号 Indonesia No.3	绿色条、粒瘤相间长身苦瓜 Strip tumor and warty long <i>M. charantia</i>	0.78±0.03d
印尼-4 号 Indonesia No.4	深绿粒瘤长身苦瓜 Green grain tumor long <i>M. charantia</i>	0.73±0.03efg
白珍珠 Baizhenzhu	白色刺瘤长身瓜 White grain tumor long <i>M. charantia</i>	1.20±0.04a

不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。下同 The values marked by different letters are significantly different ($P < 0.05$). The same as below

品种间具有显著差异 ($P<0.05$)。不同品种苦瓜果肉皂苷的含量变幅为 (0.52—1.20) g/100g DW, 平均值为 0.79 g/100g DW, 变异系数 21.65%。皂苷含量最高的是白珍珠, 最低的是油绿 1302 号, 两者含量差异为 2.31 倍。

2.2 不同品种苦瓜皂苷单体含量

13 个不同品种苦瓜果肉皂苷中 7 种单体含量如表 2 所示。单体含量均值最高的是苦瓜皂苷 K, 为 183.70

$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 最少的是 Kuguacin N, 仅为 3.87 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 前者为后者的 47.47 倍。苦瓜皂苷 K 含量变幅 84.11—299.17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 含量最高的品种是印尼-3 号, 最低的是印尼-1 号。Kuguacin N 含量变幅 0.27—23.96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 含量最高的品种是大顶 7 号, 最低的是印尼-1 号。单体总含量变幅为 172.96—488.78 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 均值为 329.35 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, 含量最高的品种是大顶 7 号, 最低的是大顶 6 号。

表 2 不同品种苦瓜果肉中皂苷组成及含量

Table 2 The composition and contents of *M. charantia* saponin of different varieties

品种 Varieties	单体含量 The content of components ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)							
	苦瓜皂苷 A Momorcharaside		苦瓜皂苷 A Momordicoside		Karaviloside XI	苦瓜皂苷 F2 Momordicoside		苦瓜皂苷 K (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al
	A Momorcharaside	A Momordicoside	XI	F2 Momordicoside	K (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al			The total content of components
油绿 1301 Youlv No.1301	6.29±0.60c	20.76±4.36de	2.31±0.16d	68.22±9.02d	126.5±16.37e	43.87±1.15d	0.77±0.08d	268.72±29.52d
油绿 1302 Youlv No.1302	3.11±0.34de	6.53±0.92gh	5.55±0.32ef	187.2±26.68a	163.49±23.03d	43.69±1.00d	0.42±0.17d	409.99±50.15b
油绿 1303 Youlv No.1303	3.35±0.81de	13.49±1.44efg	4.79±0.64de	55.5±2.77de	187.42±8.67cd	27.98±2.17f	0.53±0.06d	293.06±14.55d
绿宝石 Lvbaoshi	9.93±1.13b	9.4±0.55fg	0.44±0.17ef	114.82±18.53b	198.24±24.36c	44.25±2.41d	0.53±0.03d	377.61±37.85c
大顶 5 号 Dading No.5	3.46±0.72de	45.11±3.75b	14.26±0.90b	43.36±5.10ef	245.9±25.23b	88.4±7.21a	6.66±0.38b	447.15±20.62b
大顶 6 号 Dading No.6	2.12±0.30efg	19.8±1.08de	2.89±0.31d	23.96±4.07f	84.11±4.71g	35.88±3.09e	4.2±0.57c	172.96±10.71e
大顶 7 号 Dading No.7	2.46±0.42ef	55.36±11.51a	1.72±0.38a	89.18±10.97c	259.25±12.34b	56.85±1.03c	23.96±2.51a	488.78±7.05a
大顶 8 号 Dading No.8	4.17±1.25d	35.99±3.89c	6.48±0.56c	41.6±14.65ef	121.15±4.82ef	71.74±2.55b	0.99±0.20d	282.12±20.83d
马来西亚苦瓜 Malaysia	4.72±0.43d	33.83±7.64c	0.73±0.20c	68.44±6.22d	244.44±14.06b	57.42±0.86c	4.67±0.83c	414.25±22.02b
印尼-1 号 Indonesia No.1	0.63±0.10g	57.24±4.88a	1.06±0.29a	27.12±1.77f	97.66±10.01fg	10.62±0.72h	0.27±0.11d	194.6±14.61e
印尼-3 号 Indonesia No.3	3.15±0.26de	3.25±0.28h	0.76±0.24f	42.93±2.75ef	299.17±14.88a	4.95±0.26i	0.86±0.20d	355.07±12.28c
印尼-4 号 Indonesia No.4	1.06±0.24fg	21.66±4.35d	4.31±0.38d	42.24±5.02ef	162.61±7.79d	18.19±1.85g	0.97±0.15d	251.04±10.76d
白珍珠 Baizhenzhu	24.66±2.20a	14.8±0.46def	6.12±0.38de	67.73±4.58d	198.15±12.06c	19.86±2.24g	5.43±0.58bc	336.75±5.53c

2.3 不同品种苦瓜皂苷的总抗氧化能力指数

13 个不同品种的苦瓜皂苷 ORAC 指数如图 2 所示。不同品种苦瓜皂苷 ORAC 指数变幅为 2 747.76—15 584.07 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均值为 8 879.48 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$, 变异系数为 34.91%, 表明不同品种间的抗氧化能力差异较大, 抗氧化活性最高的是油绿 1302

号, 最低的是马来西亚苦瓜, 两者相差 5.67 倍。

2.4 不同品种苦瓜皂苷的 α -葡萄糖苷酶抑制活性

13 个不同品种苦瓜果肉皂苷的 α -葡萄糖苷酶抑制活性如表 3 所示。 α -葡萄糖苷酶抑制活性最强的是印尼-4 号, IC_{50} 值为 1.55 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 活性最弱的是大顶 6 号, IC_{50} 值为 4.96 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

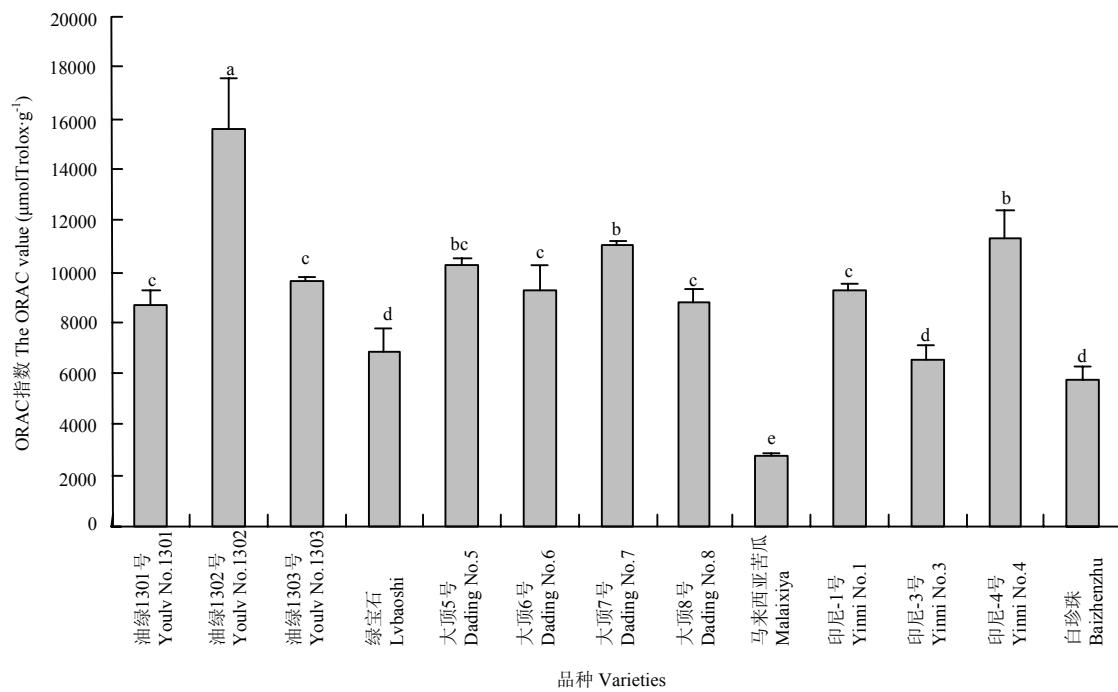


图2 不同品种的苦瓜三萜皂苷 ORAC 指数

Fig. 2 The ORAC number of *M. charantia* saponin of different varieties表3 不同品种苦瓜皂苷的 α -葡萄糖苷酶 IC_{50} 值Table 3 The IC_{50} value of α -glucosidase of saponin from *M. charantia* ($\bar{x} \pm SD$)

品名 Varieties	IC_{50} ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
油绿 1301 号 Youlv No.1301	3.77
油绿 1302 号 Youlv No.1302	3.11
油绿 1303 号 Youlv No.1303	3.39
绿宝石 Lvbaoshi	4.40
大顶 5 号 Dading No.5	3.68
大顶 6 号 Dading No.6	4.96
大顶 7 号 Dading No.7	3.47
大顶 8 号 Dading No.8	3.86
马来西亚苦瓜 Malaysia	3.99
印尼-1 号 Indonesia No.1	3.38
印尼-3 号 Indonesia No.3	3.52
印尼-4 号 Indonesia No.4	1.55
白珍珠 Baizhenzhu	2.02

2.5 苦瓜皂苷总含量、单体含量与抗氧化及 α -葡萄糖苷酶抑制活性间关系

苦瓜果肉中皂苷总含量与ORAC指数呈显著负相关关系 ($r=-0.693, P<0.05$)，与 α -葡萄糖苷酶抑制

活性呈显著正相关 ($r=0.683, P<0.05$)。皂苷单体化合物苦瓜皂 A 与 ORAC 指数呈显著负相关 ($r=-0.711, P<0.05$)；而苦瓜皂 A 与 ORAC 指数呈正相关 ($r=0.593, P>0.05$)。 $(23E)-3\beta,7\beta,25$ -trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 与 α -葡萄糖苷酶活性抑制率呈显著正相关 ($r=0.659, P<0.05$)，其他 6 种单体与 α -葡萄糖苷酶活性抑制率均无明显相关性。此外，抗氧化活性与 α -葡萄糖苷酶抑制活性之间也无明显相关性（表 4）。

3 讨论

3.1 苦瓜品种皂苷含量

目前从苦瓜中分离得到的皂苷类化合物接近 150 种。按其结构可分为甾体类和三萜类。苦瓜皂苷以三萜皂苷为主，包括四环三萜和五环三萜。不同苦瓜品种由于其基因型和生长环境差异，皂苷的含量、组成及活性也有差异。曹晶晶等^[22]测定了浙江栽培的 41 个品种苦瓜果肉皂苷含量，变幅为 0.521%—5.221%，品种间差异为 10 倍。田力东等^[4]比较两广地区 35 个品种苦瓜果肉皂苷含量，变幅为 1.17%—4.07%，变异系数为 32%。张武君等^[5]比较福建产的 29 个品种苦瓜果肉皂苷含量，变幅为 0.75%—2.47%，变异系数

表4 不同品种苦瓜皂苷含量、单体组成对ORAC指数和抑制 α -葡萄糖苷酶活性的相关性分析

Table 4 Results of bivariate correlation among total saponin, components, ORAC value and the inhibition effects on α -glucosidase activities

	ORAC 指数 ORAC value	α -葡萄糖苷活性抑制率 The inhibition effects on α -glucosidase activities
皂苷总含量 The total saponin	-0.693*	0.683*
苦瓜皂 A Momorcharaside A	-0.711*	-0.152
苦瓜皂苷 A Momordicoside A	0.593	0.347
Karaviloside XI	0.262	0.261
苦瓜皂苷 F2 Momordicoside F2	-0.504	-0.356
苦瓜皂苷 K Momordicoside K	-0.158	0.456
(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al	0.327	0.659*
Kuguacin N	-0.559	0.412
ORAC 指数 ORAC Value	—	0.237

*不同小写字母表示在 0.05 水平上存在显著差异

*Values with no letters in common in each column are significantly different ($P < 0.05$)

29.04%。本研究比较了目前广东主栽苦瓜品种和马来西亚、印尼引进苦瓜品种果肉皂苷含量,发现其含量平均值为 0.79 g/100g DW,品种间皂苷差异为 2.31 倍。HABICH 等^[23]报道白苦瓜比其他品种含有更少的三萜皂苷。但本研究中白珍珠苦瓜(白色)皂苷含量最高。田力东等^[4]测定的广西白(白色)苦瓜皂苷含量为 1.97%,在测定的 35 种苦瓜里皂苷含量接近均值(1.96%)。说明皂苷含量与苦瓜果实颜色并无直接关系,可能更多的取决于遗传性状、栽培条件及成熟度等。

目前关于不同品种苦瓜皂苷单体组成及含量的比较分析较少。仅有张瑜等^[19]对山东、河南、河北、江西 4 个产地苦瓜中皂苷元 L 含量的分析比较。本研究首次采用 HPLC 法对 13 个品种苦瓜果肉皂苷中的 7 种皂苷单体物质进行了定量分析,发现 7 种单体含量在不同品种苦瓜间存在显著性差异。

3.2 苦瓜品种皂苷含量及组成与活性的相关性

对不同品种苦瓜皂苷总含量、单体组成含量和 ORAC 值进行双变量相关性分析,发现皂苷含量与 ORAC 值呈显著负相关。油绿 1302 号皂苷含量最低,其 ORAC 值最高,皂苷含量最高的白珍珠 ORAC 值排在倒数第三。黄龙等^[24]曾提出酚类物质是苦瓜抗氧化的重要活性物质基础。本研究也证实皂苷并非苦瓜果肉抗氧化活性的主要贡献物质。尽管如此,但苦瓜

皂苷仍具有一定的抗氧化活性,其抗氧化能力远高于苦瓜多糖^[25]。进一步相关性分析发现苦瓜皂 A 与 ORAC 值显著负相关,而苦瓜皂苷 A 与 ORAC 值呈正相关。苦瓜皂 A 和苦瓜皂苷 A 母核结构相同,只是 C-3 位置链接的糖分别为 β -D-Galactopyranose-(1→6)- β -D-Glcopyranosyl 和 β -D-Glc-(1→6)- β -D-Glcopyranosyl。糖基的不同导致了两者活性差异显著。已有研究证实皂苷类化合物的抗氧化活性与皂苷元配基的结构和糖残基的数量有关^[17]。BI 等^[26]提出 C-3 位置糖链的种类和排列顺序对活性的影响至关重要,但糖苷配基中的双键则对活性影响不大; C-3 位置上存在 β -D-glucopyranosyl-(1→2)-[β -D-glucopyranosyl-(1→3)]- β -D-glucuronopyranosyl oligosaccharide 是太白楤木根皮皂苷抗氧化作用的主要活性单元。此外,皂苷结构中的-OH 基团能够阻止活性氧的产生,也是其抗氧化的重要作用位点^[27]。

α -葡萄糖苷酶从低聚糖底物的非还原性末端断开 α -1,4 糖苷键,释放葡萄糖或将游离葡萄糖残基转移到另一糖底物形成 α -1,6 糖苷键,从而得到非发酵性低聚异麦芽糖或糖酯、糖肽等^[28]。抑制该酶活性,能够有效控制餐后血糖水平,对 2 型糖尿病的预防和治疗有非常积极的效果^[29]。已有研究证实苦瓜皂苷能够显著降低正常小鼠和 2 型糖尿病小鼠餐后血糖^[30]。本研究对不同品种苦瓜皂苷总含量、单体组成含量和 α -葡萄糖苷酶抑制率相关性分析发现, α -葡萄糖苷酶抑制率和皂苷含量呈显著正相关。并且 α -葡萄糖苷酶抑制率与 (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 呈显著正相关,表明皂苷是苦瓜抑制 α -葡萄糖苷酶活性的主要物质基础,(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 是其主要活性单体。Kuguacin N 与 (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 结构类似,Kuguacin N 在 C-23 有羧基取代,并在 C-24 和 C-25 间形成双键;(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 在 C-25 有羟基取代,并在 C-23 和 C-24 间形成双键。但 Kuguacin N 与 α -葡萄糖苷酶抑制活性无显著相关性, α -葡萄糖苷酶与底物结合时,需要底物有恰当的羟基构象、阳离子、三角形的异头碳中心,并且有一个共价连接的环所形成的半椅状或椅状构型^[31]。Kuguacin N 与 (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 在活性上的差别可能是由于 Kuguacin N 在 C-23 羧基的取代影响了其与 α -葡萄糖苷酶的结合;而 (23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubita-5,23-dien-19-al 在 C-25 的羟基更加利于其与 α -葡萄糖苷酶

结合。此外,虽然数据分析显示 α -葡萄糖苷酶抑制率和皂苷含量、(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubit-5,23-dien-19-al含量之间显著相关,但其相关系数并不是太大(分别为0.683和0.659),因此推测苦瓜果肉皂苷中的7种单体物质或皂苷与其他多种营养成分之间还存在协同作用,有待进一步探讨验证。

4 结论

13个苦瓜品种果肉皂苷含量、抗氧化值和 α -葡萄糖苷酶抑制活性具有显著的基因型差异。7种单体的含量在品种间也存在差异。皂苷是苦瓜抑制 α -葡萄糖苷酶活性的主要物质基础,但并不是苦瓜抗氧化活性主要贡献物质。(23E)-3 β ,7 β ,25-trihydroxycucubit-5,23-dien-19-al是苦瓜抑制 α -葡萄糖苷酶活性主要活性单体。研究结果可为苦瓜的精深加工和以皂苷为主要功能成分的健康食品开发提供参考。

References

- [1] 王琪,张名位,孙远明,张雁,唐小俊,魏振承,张瑞芬,刘军,张粹兰.苦瓜皂苷的超声-微波协同提取工艺优化.广东农业科学,2009(6): 120-126.
- [2] WANG Q, ZHANG M W, SUN Y M, ZHANG Y, TANG X J, WEI Z C, ZHANG R F, LIU J, ZHANG C L. Extraction of charantin in *Momordica charantia* L. using ultrasonic-microwave synergistic extraction. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2009(6): 120-126. (in Chinese)
- [3] POPOVICH D G, LI L, ZHANG W. Bitter Gourd triterpenoid extract reduces preadipocyte viability, lipid accumulation and adiponectin expression in 3T3-L1 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48: 1619-1626.
- [4] LIN K W, YANG S C, LIN C N. Antioxidant constituents from the stems and fruits of *Momordica charantia*. *Food Chemistry*, 2011, 127: 609-614.
- [5] 田力东,张名位,郭祀远,张瑞芬,池建伟,魏振承,张雁,唐小俊.不同苦瓜品种的皂苷含量及对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用的比较.中国农业科学,2008,41(10): 3415-3421.
- [6] TIAN L D, ZHANG M W, GUO S Y, ZHANG R F, CHI J W, WEI Z C, ZHANG Y, TANG X J. Comparison of saponin contents of different varieties of *Momordica charantia* L. and their inhibition on α -glucosidase activity. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10): 3415-3421. (in Chinese)
- [7] 张武君,黄颖桢,林永胜,张玉灿.29个苦瓜品种不同部位皂苷含量比较分析.福建农业学报,2016,31(6): 599-603.
- [8] ZHANG W J, HUANG Y Z, LIN Y S, ZHANG Y C. Comparative analysis of saponin contents in different parts of bitter gourds twenty-nine varieties. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 31(6): 599-603. (in Chinese)
- [9] CHEN J C, LAU C B, CHAN J Y, FUNG K P, LEUNG P C, LIU J Q, ZHOU L, XIE M J, QIU M H. The antigluconeogenic activity of cucurbitacins from *Momordica charantia*. *Planta Medica*, 2015, 81: 327-332.
- [10] MA C Y. Study on comeal constitutions and their bioactives of *Momordica charantia* L. and *Periploca* Linn [D]. Kunming: Traditional Chinese Medicine of Yunnan University, 2012. (in Chinese)
- [11] TAN M J, YE J M, TUME N, HOHNEN-BEHRENS C, KE C Q, TANG C P, CHEN T, WEISS H C, GESING E R, ROWLAND A, JAMES D E, YE Y. Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway. *Chemistry*, 2008, 15: 263-273.
- [12] NHIEM N X, KIEM P V, MINH C V, BAN N K, CUONG N X, TUNG N H, HA L M, HA D T, TAI B H, QUANG T H, NGOC T M, KWON Y L, JANG H D, KIM Y H. α -glucosidase inhibition properties of cucurbitane-type triterpene glycosides from the fruits of *Momordica charantia*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2010, 58(5): 720-724.
- [13] CHANG C I, TSENG H I, LIAO Y W, YEN C H, CHEN T M, LIN C C, CHENG H L. *In vivo* and *in vitro* studies to identify the hypoglycaemic constituents of *Momordica charantia* wild variant WB24. *Food Chemistry*, 2011, 125: 521-528.
- [14] HARINANTAINA L, TANAKA M, TAKAOKA S, ODA M, MOGAMI O, UCHIDA M, ASAKAWA Y. *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 54(7): 1017-1021.
- [15] KAI W L, SHYH C Y, LIN C N. Antioxidant constituents from the stems and fruits of *Momordica charantia*. *Food Chemistry*, 2011, 127: 609-614.
- [16] LIU C H, YEN M H, TSANG S F, GAN K H, HSU S Y, LIN C N. Antioxidant triterpenoids from the stems of *Momordica charantia*. *Food Chemistry*, 2010, 118: 751-756.

- [15] WU S B, YUE G G, TO M H, KELLER A C, LAU C B, KENNELLY E J. Transport in Caco-2 cell monolayers of antidiabetic cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* fruits. *Planta Medica*, 2014, 80(11): 907-911.
- [16] DENG Y F, HE K, YE X L, CHEN X, HUANG J, LI X G, YUAN L J, JIN Y L, JIN Q, LI P P. Saponin rich fractions from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce with more potential hypoglycemic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 141: 228-233.
- [17] LU J M, WANG Y F, YAN H L, LIN P, GU W, YU J. Antidiabetic effect of total saponins from *Polygonatum kingianum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 179: 291-300.
- [18] 朱群娣, 吴康郁, 袁伟彬. 苦瓜中总皂苷的比色法测定. 中医学报, 2014, 29(10): 1469-1472.
- ZHU Q D, WU K Y, YUAN W B. Colorimetric method determination of total saponin from *Momordica Charantia* L. *China Journal of Chinese Medicine*, 2014, 29(10): 1469-1472. (in Chinese)
- [19] 张瑜, 关键, 崔炯漠, 赵余庆. HPLC 测定不同产地苦瓜中降糖活性成分苦瓜皂苷元 L 含量. 中国中药杂志, 2010, 35(5): 620-622.
- ZHANG Y, GUAN J, CUI J M, ZHAO Y Q. Quantification of hypoglycemic active components of diosgenin L in *Momordica charantia* L. in different areas by HPLC. *Journal of traditional Chinese Medicine*, 2010, 35(5): 620-622. (in Chinese)
- [20] DAVALOS A, GOMEZ C C, BARTOLOME B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *Agricultural of Food Chemistry*, 2004, 52: 48-54.
- [21] WU T T, ZHOU X T, DENG Y F, JING Q, LIN M, YUAN L J. In vitro studies of *Gynura divaricata* (L.) DC extracts as inhibitors of key enzymes relevant for type2 diabetes and hypertension. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 136(2): 305-308.
- [22] 曹晶晶, 徐丽珊, 沈佳鑫, 俞金龙, 朱璞. 不同苦瓜品种多糖与皂苷的含量差异及最佳采摘期研究. 湖南农业科学, 2014(2): 63-66.
- CAO J J, XU L S, SHEN J X, YU J L, ZHU P. Differences in contents of polysaccharide and saponin among different varieties of *Momordica charantia* L. and its optimal harvesting period. *Hunan Agricultural Sciences*, 2014(2): 63-66. (in Chinese)
- [23] HABICH S D, KING V, RODLOFF S, BORSCH C, MUELLER A S, PALLAUF J, YANG R Y, KRAWINKEL M B. Quantification of antidiabetic extracts and compounds in bitter gourd varieties. *Food Chemistry*, 2011, 126: 172-176.
- [24] 黄龙, 邓媛元, 张名位, 张雁, 魏振承, 张瑞芬, 唐小俊. 不同苦瓜品种果肉中酚类物质含量及抗氧化能力比较. 中国农业科学, 2011, 44(22): 4660-4668.
- HUANG L, DENG Y Y, ZHANG M W, ZHANG Y, WEI Z C, ZHANG R F, TANG X J. Phenolic profiles and antioxidant activity of *Momordica charantia* L. of different varieties. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(22): 4660-4668. (in Chinese)
- [25] 邓媛元, 张名位, 刘接卿, 张雁, 张瑞芬, 魏振承, 陈海敏, 邱明华. 不同品种苦瓜多糖含量及其抗氧化和 α -葡萄糖苷酶抑制活性比较. 现代食品科技, 2014, 30(9): 102-108.
- DENG Y Y, ZHANG M W, LIU J Q, ZHANG Y, ZHANG R F, WEI Z C, QIU M H. Comparison of the content, antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory effect of polysaccharides from *Momordica charantia* L. species. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(9): 102-108. (in Chinese)
- [26] BI L L, TIAN X R, DOU F, HONG L J, TANG H F, WANG S W. New antioxidant and antiglycation active triterpenoid saponins from the root bark of *Aralia taibaiensis*. *Fitoterapia*, 2012, 83(1): 234-240.
- [27] XI M M, HAI C H, TANG H F, CHEN M S, FANG K Q, LIANG X. Antioxidant and antiglycation properties of total saponins extracted from traditional Chinese medicine used to treat diabetes mellitus. *Phytotherapy Research*, 2008, 22: 228-237.
- [28] 易菊阳, 梁钰婷, 陆兵, 吴昊, 黄桂华, 陈桂光, 梁智群. 高产 α -葡萄糖苷酶黑曲霉的微波选育及发酵条件优化. 食品科学, 2014, 35(15): 145-150.
- YI J Y, LIANG Y T, LU B, WU H, HUANG G H, CHEN G G, LIANG Z Q. Microwave breeding of *Aspergillus niger* with high α -glucosidase activity and optimization of its fermentation conditions. *Food Science*, 2014, 35(15): 145-150. (in Chinese)
- [29] SHODEHINDE S A, ADEMILUYI A O, OBOH G, AKINDAHUNSI A A. Contribution of *Musa paradisiaca* in the inhibition of α -amylase, α -glucosidase and angiotensin-I converting enzyme in streptozotocin induced rats. *Life Sciences*, 2015, 133: 8-14.
- [30] NAGARANI G, ABIRAMI A, SIDDHURAJU P. Food prospects and nutraceutical attributes of *Momordica* species: A potential tropical bioresources. *Food Science and Human Wellness*, 2014, 3: 117-126.
- [31] 陈海敏, 严小军, 林伟. α -葡萄糖苷酶抑制剂的构效关系. 中国生物化学与分子生物学报, 2003, 19(6): 780-784.
- CHEN H M, YAN X J, LIN W. Relationship between structure and of α -glucosidase inhibitors. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 19(6): 780-784. (in Chinese)

(责任编辑 赵伶俐)