

## 苦瓜子有效成分研究

朱照静 钟焯昌 罗泽渊 肖倬殷\*

(四川省中药研究所, 重庆 630065; 华西医科大学药学院, 成都 610041)

**提要** 从苦瓜(*Momordica charantia* L.)的种子中, 分离出五种成分, 经光谱和化学方法确定其结构为: 蚕豆甙, 海藻糖,  $24\beta$ -乙基- $5\alpha$ -胆甾-7, 反式-22E, 25(27)-三烯- $3\beta$ -羟基-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖甙, 苦瓜子甙A, 苦瓜子甙B。海藻糖系首次从该植物中分出, 甾醇甙系首次从苦瓜属植物中分出, 两个苦瓜子甙系新化合物。苦瓜子甙A对S180动物瘤组织DNA和RNA蛋白质合成有显著抑制作用。

**关键词** 苦瓜; 苦瓜子甙A; 苦瓜子甙B; 蚕豆甙; 海藻糖

苦瓜子系葫芦科苦瓜属植物苦瓜 *Momordica charantia* L. 的种子, 苦瓜因具特殊苦味而得名。苦瓜的根、茎、叶、花、果实和种子, 在世界许多地区都有药用记载。国外学者从不同地区所产的苦瓜子中分离出多种蛋白质和三萜皂甙等成分, 具有降血糖、抗肿瘤和堕胎等作用<sup>(1~3)</sup>。香港和台湾对苦瓜子蛋白质亦有少量报道。四川省中药研究所药理室初步药理实验证明, 苦瓜子粗提物具有显著雄激素样作用, 其醇浸膏对S180动物瘤株DNA和RNA蛋白质合成有明显抑制作用。川产苦瓜子经脱脂后, 以95%乙醇提取, 从该提取物中分出五种成分I~V。

I和II理化性质和光谱数据分别与文献报道的蚕豆甙(vicine)和海藻糖(myucose)一致<sup>(4~5)</sup>; 后者系首次从苦瓜中分出。

III为无色针晶, 间二硝基苯反应和Molish反应呈阳性,  $FD-MS m/z$  573 ( $M^+ + H$ ), 元素分析符合分子式  $C_{35}H_{56}O_6$ , 经水解检出D-葡萄糖。紫外光谱未见吸收; 红外、<sup>1</sup>HNMR和<sup>13</sup>CNMR数据与从*Cucurbita pepo* L. 分离出的化合物 $24\beta$ -乙基- $5\alpha$ -胆甾-7, 反式-22E, 25(27)-三烯- $3\beta$ -羟基-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖甙相应数据基本一致<sup>(6)</sup>。其<sup>13</sup>CNMR见表1, 系首次从苦瓜属植物中分出。

Tab 1. <sup>13</sup>CNMR chemical shift of 3-O-( $\beta$ -D-glu. pyr.)- $24\beta$ -ethyl- $5\alpha$ -cholesta-7, trans-22, 25(27)-trien- $3\beta$ -Ol (III)

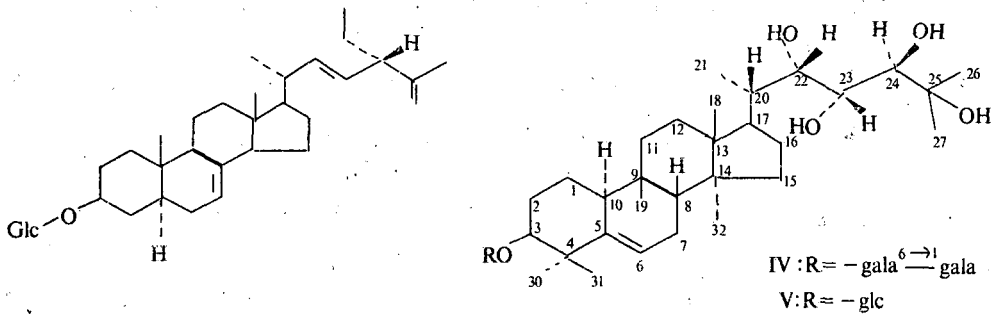
Carbon	III	Carbon	III	Carbon	III	Carbon	III
1	25.2	10	33.9	19	12.8	28	25.2
2	29.2	11	21.2	20	40.1	29	12.0
3	76.6	12	39.7	21	21.0	1	100.8
4	33.9	13	42.8	22	136.7	2	73.4
5	40.0	14	54.4	23	129.7	3	76.6
6	27.9	15	22.5	24	51.3	4	70.0
7	117.2	16	29.1	25	147.7	5	76.3
8	139.1	17	55.1	26	20.0	6	61.0
9	48.6	18	12.3	27	110.0		

IV 为无色方晶, 醋酐浓硫酸反应和 Molish 反应均呈阳性。FD-MS  $m/z$  839 ( $M+Na^+$ ), 817 ( $M^++H$ ), 474 ( $M^+-163-162-H_2O+H$ ) 等碎片, 经水解后检出 D-半乳糖, 甙元 FD-MS  $m/z$  492 系 IV 失去两分子半乳糖, 其  $^1H$ NMR 及  $^{13}C$ NMR 与从苦瓜子中分离出的 momordicoside A 水解甙元一致<sup>(7)</sup>。IV 的  $^{13}C$ NMR 出现  $\delta$ 104.7 和  $\delta$ 103.6 两峰, 示含两分子糖, 其 INEPT 谱中  $\delta$ 70.3 和  $\delta$ 61.35 两峰倒置, 与 D-半乳糖甲甙标准数据比较<sup>(5)</sup>, 其中一分子半乳糖的  $C_6$  信号向低场位移 8.3 ppm,  $C_5$  信号向高场位移 3.14 ppm, 提示二分子糖是 1 $\rightarrow$ 6 连接,  $C_3$  的  $^{13}C$ NMR  $\delta$ 85.5 可知系 3 位成甙 (见表 2)。 $^1H$ NMR 中糖端基 H 为  $\delta$ 4.34 (1H, d,  $J=7.2$  Hz,) 及  $\delta$ 4.25 (1H, d,  $J=7.0$  Hz), 表明糖均为  $\beta$ -型。故 IV 确定为葫芦烷-5-烯-3 $\beta$ , 22(S), 23(R), 24(R), 25-五羟基-3-O- $\beta$ -D-吡喃半乳糖(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖甙, 定名为苦瓜子甙 A, 为新化合物。

V 为无色针晶, 醋酐浓硫酸反应和 Molish 反应均呈阳性, 质谱中未见分子离子峰, 可见  $m/z$  492, 474 及 163 (糖基) 碎片, 水解后的甙元与 IV 的甙元经薄层层析比较 Rf 值一致, 二者  $^{13}C$ NMR 相同。V 水解后检出 D-葡萄糖,  $^{13}C$ NMR 出现  $\delta$ 103.4 信号, 示含一分子糖,  $C_3$  的化学位移  $\delta$ 86.0 示系 3 位成甙 (见表 2)。故确定其为葫芦烷-5-烯-3 $\beta$ , 22(S), 23(R), 24(R), 25-五羟基-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖甙, 定名为苦瓜子甙 B, 亦为新化合物。

Tab 2.  $^{13}C$ NMR chemical shift of IV, V and aglycone of IV

Carbon	IV	V	Aglycone of IV	Carbon	IV	V	Aglycone of IV
1	37.8	36.8	35.8	22	73.7	70.9	72.2
2	27.8	27.9	27.9	23	73.1	70.0	71.1
3	85.5	86.0	79.2	24	75.9	73.9	74.4
4	34.1	34.8	34.8	25	73.7	70.6	72.2
5	142.8	142.8	143.3	26	23.8	23.1	24.2
6	117.8	117.9	119.3	27	23.9	25.0	24.3
7	34.2	34.3	35.1	30	25.1	25.1	24.5
8	31.2	32.0	32.6	31	14.1	14.2	14.4
9	46.2	46.3	46.8	32	17.6	17.7	17.5
10	37.8	37.9	38.5	1'	104.7	103.4	
11	23.9	21.6	21.7	2'	73.7	74.7	
12	40.7	39.8	40.4	3'	74.4	79.1	
13	41.6	41.6	41.7	4'	73.1	70.9	
14	48.5	48.6	49.2	5'	76.9	79.1	
15	25.2	24.0	24.2	6'	70.4	61.5	
16	27.9	27.7	27.3	1''	103.2		
17	53.4	53.4	53.9	2''	73.9		
18	17.6	17.7	17.7	3''	74.0		
19	21.6	21.6	21.8	4''	70.4		
20	39.8	39.0	40.0	5''	76.0		
21	15.5	15.1	15.4	6''	61.4		



药理研究表明, IV 在 100  $\mu\text{g/ml}$  浓度时对 S180 移植性肿瘤细胞 DNA 和 RNA 生物合成的抑制率分别为 58% 和 55%, I, II 单用时抑制作用不明显, 但当将 I, II, 与 IV 等量混合, 总浓度为 100  $\mu\text{g/ml}$  时对 S180 细胞 DNA 和 RNA 合成抑制率分别为 44% 和 40%, 提示 I, II 和 IV 合用时有一定协同作用。

### 实验部分

熔点用 X-4 型显微熔点仪测定, 未校正。比旋度用 WZX-1 型旋光仪测定; 红外光谱用岛津 IR-400 仪和 IR-460 仪测定; 核磁共振谱用 FX-90Q 仪和 JNM-GX400 仪测定, 以 TMS 为内标准, 质谱用 MAT711 仪测定。

薄层层析用 0.7% CMC-Na 硅胶 G 板; 柱层析用硅胶 H(200 ~ 300 目), 糖部分薄层层析用 0.4% CMC-Na 硅胶 G 板(未活化); 纸层析用中华中速滤纸。溶剂系统: (1)  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -MeOH-Et<sub>2</sub>O (5:3:1); (2)  $\text{CHCl}_3$ -MeOH-H<sub>2</sub>O (4:1:0.1); (3)  $\text{CHCl}_3$ -MeOH-H<sub>2</sub>O (4:1:1); (4) EtOMe-MeOH(5:1); (5)  $\text{CHCl}_3$ -MeOH-H<sub>2</sub>O(30:12:4 下层) 9 ml 加冰 HOAc 1 ml 混合; (6) *n*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O (4:1:5); (7) EtOAc-C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N-H<sub>2</sub>O (12:5:4)。

显色剂: (1)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ (浓)- $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ - $\text{H}_3\text{PO}_4$ (85%)-H<sub>2</sub>O. (2) 苯胺-邻苯二甲酸, 浸湿, 100  $^\circ\text{C}$  显色。

药材采自重庆市南岸区, 经四川省中药研究所生药室陈俊华研究员鉴定。

#### 一. 提取和分离

苦瓜子 6 kg 粉碎, 溶剂汽油脱脂后, 用 95% EtOH 煮沸提取四次, 减压回收 3/4 的 EtOH, 冷却, 冰箱中放置 2 d, 析出沉淀(A) 25 g, 滤液继续放于冰箱中 7 d, 析出结晶(B) 9 g。减压回收滤液至无醇味后悬于水中, 依次用  $\text{CHCl}_3$  和 *n*-BuOH 提取,  $\text{CHCl}_3$  提取物(C) 8.8 g, *n*-BuOH 提取物(D) 46.5 g。

将 A 用 95% MeOH 250 ml 加热溶解, 过滤, 不溶物用热水溶解, 放置, 析出无色针晶, 热水重结晶, 得无色针晶 6.4 g (I)。

用 95% MeOH 加热溶解 A 后的滤液, 与 B 的 95% MeOH 溶液混合, 放置, 使其慢慢结晶, 得无色方晶 22.3 g (II)。

C 溶于 MeOH 中, 拌加硅藻土, 干燥后以硅胶 H 750 g (200 ~ 300 目) 进行柱层析, 用溶剂系统(1)洗脱得一固体, 吡啶中结晶两次得无色针晶 44.2 mg (III)。

取 D 10 g 溶于 MeOH 中, 拌硅藻土, 干燥后上硅胶 H 柱(750 g, 200 ~ 300 目), 溶剂系统(2)洗脱, 回收 2/3 洗脱液, 放置, 析出无色方晶 IV 1.6 g。母液经反复柱层析得 V,

以  $\text{CHCl}_3$ — $\text{MeOH}$  (1:1) 重结晶, 得无色针晶 26.5 mg.

## 二. 皂甙水解

IV, V 分别溶于 0.1 mol/L  $\text{HCl}$ — $\text{MeOH}$  (99.5:0.5) 中, 室温搅拌 5 d 挥去溶剂, 用硅胶 H (160 g) 柱层析, 以  $\text{CHCl}_3$ — $\text{Me}_2\text{CO}$  (5:1) 洗脱, 回收洗脱液, 得白色粉末, mp 181 ~ 184 °C。硅胶 G 作 TLC 检查呈单一色班, 展开剂为  $\text{CHCl}_3$ — $\text{Me}_2\text{CO}$  (5:1);  $\text{EtOH}$ ;  $\text{CHCl}_3$ — $\text{EtOH}$  (6:1)。

## 三. 糖的鉴定

将 I, II, III, IV 和 V 分别溶于  $\text{MeOH}$  中, 加 1 mol/L  $\text{HCl}$  在 60 °C 水解 1h,  $\text{CHCl}_3$  提取后的水液与七种糖标准品进行比较硅胶 G 薄板层析, 以 (4), (5) 两种溶剂系统展开; 纸层析用中华中速滤纸, 以 (6), (7) 系统展开, 发现这五种化合物中, 除 IV 含 D-半乳糖外, 其它均含 D-葡萄糖。

## 四. 化合物 I~V 的鉴定

I mp 238 ~ 240 °C (dec),  $[\alpha]_D^{19} - 15.2$  (c 1.02,  $\text{H}_2\text{O}$ )。元素分析:  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{N}_4$ , 计算值(%): C 39.47, H 5.26, N 18.42; 实验值(%): C 39.41, H 5.36, N 18.39。FAB-MS  $m/z$  305 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ), 143 (甙元 + H)。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3425 ( $\text{NH}_2$ ), 3335 (酚 OH), 3200 (br. OH), 1660 ~ 1600 ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{N}$ ), 1059 ( $\beta$ -甙), 890 ( $\beta$ -D-吡喃糖甙)<sup>(8)</sup>, 1380 ( $\text{C}-\text{N}$ ), 1250 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 1140 ~ 1000, 1498 ~ 1450 (芳环骨架)。UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm ( $\epsilon$ ) 0.1 mol/L  $\text{NaOH}$ : 235.5 (48000), 268 (9478); 0.1 mol/L  $\text{HCl}$ : 237.8 (15883); pH 6.8 (磷酸盐缓冲液): 237.2 (3803), 276 (12414)。<sup>1</sup>H NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 室温): 5.90 (s, 2H), 6.16 (s, 2H), 6.28 (s), 10.15 (s), 4.26 (d, 1H,  $J=7.2$  Hz), 4.56 (t,  $J=14.8$  Hz), 4.84 (s), 4.88 (s)。<sup>13</sup>C NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 室温): 158.5; 152.0, 113.7, 159.1, 107.7, 73.1, 77.4, 69.9, 76.2, 61.2。

II mp. 126 ~ 129 °C (95%  $\text{MeOH}$  结晶),  $[\alpha]_D^{19} + 184$  (c 0.68,  $\text{H}_2\text{O}$ )。元素分析:  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ , 计算值(%): C 42.11, H 6.43; 实验值(%): C 41.98, H 6.58。FD-MS  $m/z$  343 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ), 325 ( $\text{M}^+ + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$ ), 163, 145 (基峰)。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3500 ~ 3100 (br. 缔合 OH), 1690, 843 ~ 838 ( $\alpha$ -构型糖)<sup>(8)</sup>, 1096 ( $\delta$   $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ )。 <sup>1</sup>H NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 室温): 4.83 (d, 1H,  $J=3.6$  Hz)。 <sup>13</sup>C NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 室温): 93.3, 72.4, 73.2, 7.18, 70.6, 61.2。

III mp 262 ~ 265 °C,  $[\alpha]_D^{21} + 0.22$  (c 0.04,  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ )。元素分析:  $\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{O}_6$ , 计算值(%): C 73.42, H 9.79; 实验值(%): C 73.23, H 9.89。FD-MS  $m/z$  573 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ )。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3400 (OH), 1640 ( $\text{C}=\text{C}$ ), 1078, 895 ( $\beta$ -D-吡喃糖甙)<sup>(8)</sup>, 985 ( $\delta$   $\text{C}=\text{CH}_2$ )。UV: 无吸收。 <sup>1</sup>H NMR ( $\text{C}_5\text{d}_5\text{N}$ , 室温): 3.55 (1H, m, H-3), 5.12 (1H, m, H-7), 0.52 (3H, s, 18- $\text{CH}_3$ ), 0.74 (3H, s, 19- $\text{CH}_3$ ), 1.00 (3H, d, 21- $\text{CH}_3$ ), 5.20 (dd, H-22/23), 1.61 (s, 26- $\text{CH}_3$ ), 4.71 (d, 27- $\text{CH}_2$ ), 0.79 (t, 29- $\text{CH}_3$ ), 4.28 (d, 1H,  $J=7.5$  Hz, 1'-H); <sup>13</sup>C NMR ( $\text{C}_5\text{d}_5\text{N}$ , 室温) 见表 1。

IV mp 170 ~ 172 °C,  $[\alpha]_D^{19} + 0.80$  (c 1.07,  $\text{MeOH}$ )。元素分析:  $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{15} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 计算值(%): C 59.15, H 8.92; 实验值(%): C 58.79, H 8.95。FD-MS  $m/z$  839 ( $\text{M}^+ + \text{Na}$ ), 817 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ), 474 (甙元 -  $\text{H}_2\text{O}$ ), 149, 119, 89。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3400 (OH), 1639 ( $\text{C}=\text{C}$ ), 1078 ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ), 1170 (OH, 叔醇), 857 ( $\delta$   $\text{CR}_2=\text{CHR}$ )。 <sup>1</sup>H NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 室温): 4.34 (1H, d,  $J=7.2$  Hz), 4.25 (1H, d,  $J=7.0$  Hz),

5.36 (1H, m, H-6).  $^{13}\text{C}$ NMR (DMSO- $d_6$ , 室温): 见表2。

IV 甙元 mp 181 ~ 184 °C, FD-MS  $m/z$  493 ( $M^+ + H$ ), 492 ( $M^+$ )。元素分析:  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_5 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ , 计算值(%): C 71.86, H 10.56; 实验值(%): C 71.96, H 10.63。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 室温): 0.86 (3H, s,  $\text{>C}-\text{CH}_2$ ), 0.88 (3H, s,  $\text{>C}-\text{CH}_3$ ), 0.94 (3H, s,  $\text{>C}-\text{CH}_3$ ), 1.12 (3H, s,  $\text{>C}-\text{CH}_3$ ), 1.40 (3H, s,  $\text{>C}-\text{CH}_3$ ), 1.43 (3H, d,  $J=6.4$  Hz,  $=\text{CH}-\text{CH}_3$ ), 1.66, 1.75 (3H, each, s,  $\text{HO}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.74 (1H, br, s,  $=\text{CH}-\text{OH}$ ), 4.07 (1H, d,  $J=8.8$  Hz,  $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-$ ), 4.38 (1H, d,  $J=9.3$  Hz,  $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-$ ), 4.59 (1H, d,  $J=4$  Hz,  $=\text{CH}-\text{OH}$ ), 5.6 (1H, br,  $=\text{C}=\text{CH}-$ ),  $^{13}\text{C}$ NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 室温): 见表2。

V mp 186 ~ 189 °C, 元素分析:  $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_9 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ , 计算值(%): C 65.16, H 9.20; 实验值(%): C 65.03, H 9.24。FD-MS  $m/z$  492 (甙元), 474 (甙元 -  $\text{H}_2\text{O}$ ), 340, 163 (糖碎片), 119, 89, 59。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3300 (OH), 1640 ( $=\text{C}=\text{CH}-$ ), 1100 ~ 1000 ( $\beta$ -甙), 1380 (OH, 叔醇)。 $^1\text{H}$ NMR (DMSO- $d_6$ , 室温): 4.34 (1H, d,  $J=7.2$  Hz), 5.36 (1H, m, H-6)。 $^{13}\text{C}$ NMR (DMSO- $d_6$ , 室温): 见表2。

致谢 结构鉴定承蒙梁晓天教授指导; 核磁共振碳谱和氢谱承中国医学科学院药物研究所测定; 质谱和核磁共振谱承军事医学科学院分析测试中心测定; 红外光谱、紫外光谱、元素分析承四川省中药研究所中心实验室测定。本所陈俊华研究员鉴定生药, 石晓枫做药理实验。

### 参 考 文 献

1. Ng TB, et al. Insulin-like molecules in *Momordica charantia* seeds. *J Ethnopharmacol* 1986; 15:107.
2. Ishikawa T, et al. Steam volatile constituents from seed oils of *Momordica charantia* L. *Nihon Daigoku Kogakubu Kiyo, Bunrui A* 1985; (26):165.
3. Yeung HW, et al. Purification and partial characterization of momorcharins, abortifacient proteins from the Chinese drug Kugazi (*Momordica charantia* Linn, Seeds), *Adv Chin Med mater Res Int Symp* 1984; 311.
4. Dutta PK, et al. Vicine, a favisminducing toxin from *Momordica charantia* Linn. seeds. *Indian J Chem* 1981; 20B:669.
5. 龚运淮. 天然有机化合物  $^{13}\text{C}$  核磁共振化学位移. 昆明: 云南科技出版社, 1986:402, 406.
6. Hans WR, et al. A  $24\beta$ -ethyl- $\Delta^7$ -steryl glucopyranosides Cucurbita pepo seeds. *Phytochemistry* 1985; 24:2746.
7. Okabe H, et al. Studies on the constituents of *Momordica charantia* L. I. Isolation and characterization of momordicosides A and B glucosides of pentahydroxy-cucurbitane triterpene. *Chem Pharm Bull* 19080; 28:2753.
8. 徐文豪. 光谱分析在测定甙中结构时的应用. *药学报* 1987; 22:869.

## STUDIES ON THE ACTIVE CONSTITUENTS OF *MOMORDICA CHARANTIA* L.

ZJ Zhu, ZC Zhong, ZY Luo and ZY Xiao \*

**ABSTRACT** Five compounds were isolated from the seeds of *Momordica charantia*. This paper reports their structure determination by spectral (IR, UV,  $^1\text{H}$ NMR,  $^{13}\text{C}$ NMR, and MS) and chemical methods. The structures of I, II, III, IV and V were elucidated as vicine, mycose, 3-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-24 $\beta$ -ethyl-5 $\alpha$ -cholesta-7, *trans*-22E, 25(27)-trien-3 $\beta$ -ol, momorcharaside A and momorcharaside B respectively. Mycose was the first time found in this plant and compound III was the first time found in the genus *Momordica*. IV and V were new compounds. IV exhibited obvious inhibition of DNA and RNA syntheses in S180 tumor cells in preliminary pharmacological studies.

**Key words** *Momordica charantia* L; Momorcharaside A; Momorcharaside B; Vicine; Mycose