

罗汉果种仁中角鲨烯的提取及其结构表征

陈全斌¹, 程忠泉², 杨建香², 义祥辉², 董朝敏¹

(广西师范大学 资源与环境学系, 广西 桂林 541004; 桂林师范专科学校, 广西 桂林 541001)

摘要: 以石油醚为溶剂采用索氏提取法提取罗汉果种仁油脂, 采用 HPLC 检测, 初步确定罗汉果种仁中含有角鲨烯, 含量为 12.5%。经柱层析、HPLC 制备后得纯度为 98.5% 的化合物单体, 经 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 检测, 确认罗汉果种仁油中含有角鲨烯。

关键词: 罗汉果; 角鲨烯; 分离; 鉴定

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)06-0687-03

Extraction and structure identification of *Siraitia grosvenorii* squalene

CHEN Quan-bin¹, CHENG Zhong-quan², YANG Jian-xiang²,
YI Xiang-hui², DONG Chao-min¹

(1. Department of Natural Resources and Environment, Guangxi Normal University,
Guilin 541004, China; 2. Guilin Normal College, Guilin 541001, China)

Abstract: The seed oil of *Siraitia grosvenorii* was extracted by Soxhlets extractor with petrolether, squalene was qualified by HPLC at the first step and purified by silica gel column. The content was 12.5%. The purity was more than 98.5% by HPLC preparation. Squalene is identified by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS in the *S. grosvenorii* seed oil.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; squalene; separation; identification

罗汉果为广西桂北地区的传统特产, 属葫芦科罗汉果属植物 [*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffery] 果实, 其中所含的甜度极高的甜味物质是一种低卡路里的理想天然甜味剂, 广泛用于医药、饮料和调味品中(李典鹏等, 2000)。前人已对罗汉果果实中的甜甙(陈全斌等, 2005, 余丽娟等, 2003)、多糖(陈全斌等, 2003a)、黄酮(陈全斌等, 2003b)、块根中淀粉(陈全斌等, 2002)及其药用成分(陈全斌等, 2003c)、罗汉果叶的黄酮(陈全斌等, 2005)等进行了较多的研究, 还有人罗汉果的种仁油进行了提取, 对其性质进行了初步的研究(陈全斌等, 2004), 通过 GC-MS 检测, 发现罗汉果种仁油含有角鲨烯。角鲨

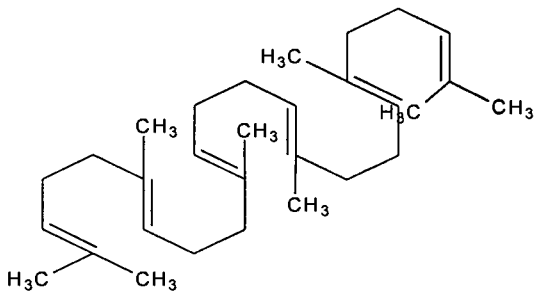
烯最初是从鲨鱼的肝油中发现的, 1914 年被命名为 Squalene, 其化学名称为 2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯。角鲨烯属开链三萜, 又称鱼肝油萜, 是鲨鱼肝脏中的重要化学活性物质。其结构如下:

角鲨烯具有增强体质和抗疲劳的功效, 可用于肝病治疗并具有一定的抗癌、防癌及保湿养颜作用。目前, 在陆地仅仅发现几种植物含有角鲨烯(阮栋梁等, 2003), 但含量低而无开发价值。为了证实罗汉果种仁是否含有角鲨烯, 我们对罗汉果种仁油脂进行了提取、分离、提纯, 并对其进行了结构表征。

收稿日期: 2005-07-08 修回日期: 2005-12-11

基金项目: 广西教育厅科研项目(桂教科研[2004]20号); 广西师范大学重点项目(师政 2005 第 1 号)[Supported by Scientific Research Foundation of Education Department of Guangxi(2004No. 20); Key Program of Guangxi Normal University(2005No. 1)]

作者简介: 陈全斌(1957-), 男, 广西北流人, 高级工程师, 从事天然产品开发与研究。



1 实验部分

1.1 材料与试剂

罗汉果:2004 年秋采于广西永福县。氯仿(A. R)、乙醚(A. R)、甲醇(HPLC 纯)、乙腈(HPLC 纯)。角鲨烯标准品(美国 Adrich chemical company Inc., 97.0%)。

仪器:RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);WS210S 型电子天平(北京塞多利斯仪器系统有限公司);高压液相色谱仪(P200 II 型大连依利特分析仪器有限公司);UV200 II 紫外可变波长检测器;色谱柱:Turner YWG C₁₈ (5 μm, 4.6 mm×250 mm), Echrom98 色谱工作站;Hi-Tech 半制备高效液相色谱仪(美国)。5-DX 红外光谱仪(美国 Nicolet 公司);BrukerAV500MHZ/DRX500 超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司);Finnigan Trace DSQ 四极杆质谱仪(电离方式:EI⁺, 电子能量:70eV, 扫描范围:50~1 000 Da)。

1.2 罗汉果种仁油的提取

采用索氏提取法对罗汉果种仁油脂进行提取:称取 30 g 罗汉果种仁置于研钵中研碎,用滤纸包裹装入索氏提取器内,同时控制水浴温度恒定为 65 °C,加入 200 mL 石油醚回流加热 2 h。石油醚层用旋转蒸发器旋转蒸发去除,先使温度为 30~40 °C,再缓慢加热至 80 °C 最后辅以真空泵抽真空,至溶剂全部除去,得 14.5 g 淡黄色罗汉果种仁油。

罗汉果种仁油的 PHLC 分析:色谱柱:Turner YWG C₁₈ (5 μm, 4.6 mm×250 mm);流动相:CH₃CN:CH₃OH=60:40(V/V);流速:2.0 mL/min;波长:210 nm;灵敏度:0.64;柱温:40 °C。

分别配制一定浓度的罗汉果种仁油和角鲨烯对照品的氯仿溶液分别进样,色谱图见图 1、2。样品中 2 号峰的保留时间与角鲨烯对照品相同, t_R = 16.52 min, 根据保留时间定性原理,说明罗汉果种

仁油中含有角鲨烯,用外标法定量,结果表明罗汉果种仁油中含角鲨烯 12.5%。

1.3 罗汉果种仁角鲨烯的分离提纯

1.3.1 柱层析的分离 称取硅胶 300 g,加入氯仿 500 mL,不断搅拌待空气泡除去,混和均匀。将上述附着氯仿的硅胶湿法装柱(40 mm×600 mm),不断轻敲管壁,使硅胶压紧,采用加压的方法,使柱内硅胶均匀、紧密。

取罗汉果种仁油 10 mL,加样。先以石油醚洗脱,体积约为柱体积的两倍,之后以石油醚、石油醚/乙醚=20/1~1/1,进行梯度洗脱,后以氯仿/甲醇体积比由高到低洗净柱体。以 50 mL 为单位收集柱流液,并用 HPLC 进行检测;收集合并 12~17 号柱流液,加热除去溶剂,得浅黄色液体。取上述样品进行 HPLC 分析(条件同 1.2),以外标法定量,结果样品中含角鲨烯 91.3%。

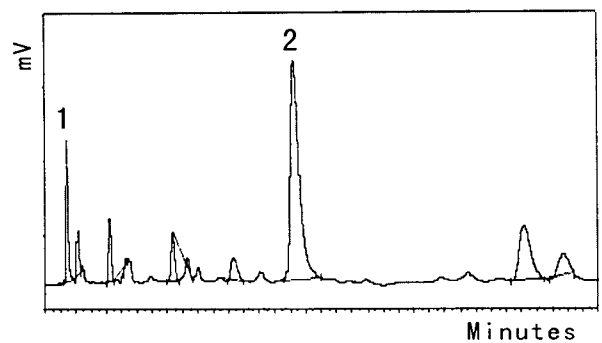


图 1 罗汉果种仁油色谱图

Fig. 1 Chromatogram of *Siraitia grosvenorii* seed oil

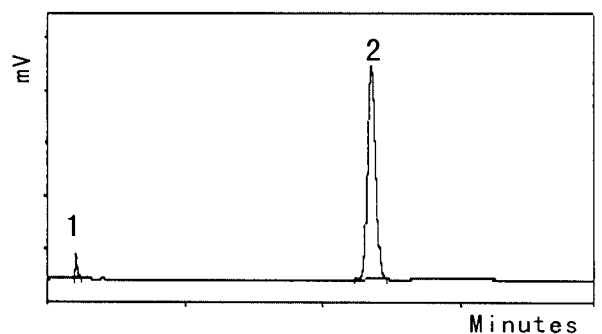


图 2 角鲨烯标准品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of squalene standard sample

1.3.2 制备色谱的提纯 制备采用 Hi-Tech 半制备高效液相色谱仪(美国),柱(9 mm×400 mm, 自填,柱材料 ODS-A, 20 μm, 美国 YMC CO. LTD)仪器

条件同 1.2, 进样量 500 μL 。多次收集 48~53 min 柱流液, 合并、加热除去溶剂, 得无色液体。取上述样品进行 HPLC 定量分析, 结果样品中含角鲨烯 98.53%。

1.4 样品的结构鉴定

取自制样品、角鲨烯标准品进行 IR、NMR、MS 分析, 结果如下。

1.4.1 IR 分析(KBr 压片涂抹法) 标准品(λcm^{-1}): 3 045, 2 962.5, 2 924.6, 2 851.1, 1 665.8, 1 442.5, 1 377.2, 983.9, 835.2。样品(λcm^{-1}): 3 040, 2 962.5, 2 924.6, 2 855.1, 1 667.8, 1 449.5, 1 381.2, 983.9, 835.0。样品的波数与标准品一致, 并检索样品红外图谱与机检图库(The Aldrich Library of FT-IR spectra)中角鲨烯(Squalene, 97%)的相对匹配度, 相对匹配度为 93.97%。

1.4.2 NMR 分析 (1) $^1\text{H-NMR}$ 分析: 标准品: 5.11~5.18(m, 6H), 1.89~2.13(m, 20H), 1.71(s, 6H), 1.63(s, 18H)。样品: 5.12~5.17, 1.98~2.11, 1.71, 1.62。样品的谱图中氢分为四组, 6 个不饱和的双键上的氢峰(δ 5.12~5.17, 6H), 10 个亚甲基峰(δ 1.98~2.11, 20H), 2 个端甲基(δ 1.71, 6H)和 6 个取代甲基(δ 1.62, 18H)。满足角鲨烯的结构特点, 同质谱给出的信号吻合, 与文献(阮栋梁等, 2003)吻合。

(2) $^{13}\text{C-NMR}$ 分析: 标准品: 135.09, 134.89, 131.22, 124.43, 124.33, 124.29, 26.68, 26.79, 28.30, 39.763, 39.781, 25.713, 17.689, 16.05, 16.01, 15.30。样品: 135.08, 143.9, 131.3, 124.45, 124.33, 124.4, 26.70, 26.79, 28.30, 39.76, 39.78, 25.72, 17.689, 16.01, 15.31。

角鲨烯的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图给出了 15 个碳信号, 说明了角鲨烯的结构是对称的; 与 $^1\text{H-NMR}$ 谱图相似, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图给出的信号, 结合 DEPT-90, 角鲨烯的碳可分为三组: 双键的碳信号出现在 δ 124~135($6 \times 2 = 12$), δ 26~39($5 \times 2 = 10$)为亚甲基的碳信号和出现在 δ 16~25($4 \times 2 = 8$)处的甲基的碳信号。

1.4.3 MS 分析 标准品: 411(M+11%), 410(M+4%), 395(M-CH₃ 2%), 341(10%), 231(6%), 177(8%), 149(30%), 137(40%), 121(42%), 81(100%), 69(92%); 样品: 411(M+12%), 410(M+6%), 395(M-CH₃ 2%), 341(7%), 231(6%), 177(5%), 149(30%), 137(40%), 121(40%), 81

(90%), 69(100%); 经 EI 标准图库检索, 样品与角鲨烯(图库)相对匹配度为 91.8%。

2 结论

实验结果证实罗汉果种仁油中含有角鲨烯; 采用 HPLC 外标法定量, 结果表明罗汉果种仁油中含角鲨烯 12.5%。实验结果为从陆地寻找角鲨烯、拓宽罗汉果的应用提供了依据。

参考文献:

- Chen QB(陈全斌), Chen HY(陈海燕), Li J(李俊), et al. 2003a. Mensuration relative molecular weight of *Siraitia grosvenorii*'s amylose by HPLC(HPLC 法测定罗汉果多糖的相对分子质量)[J]. *Chinse Traditinal and Herbal Drugs*(中草药), 34(12): 1 075-1 076.
- Chen QB(陈全斌), Yang RY(杨瑞云), Yi XH(义祥辉), et al. 2003b. Determination of flavone in *Siraitia grosvenorii* fresh fruits and its glycosides by RP-HPLC(RP-HPLC 法测定罗汉果鲜果及甜甙中总黄酮含量)[J]. *Food Science*(食品科学), 24(5): 133-135.
- Chen QB(陈全斌), Tan GM(汤桂梅), Yi XH(义祥辉). 2002. Extraction and properties study of starch of *Siraitia grosvenorii*'s root(罗汉果块根淀粉的提取及其性质研究)[J]. *Food Science*(食品科学), 23(4): 37-41.
- Chen QB(陈全斌), Tan GM(汤桂梅), Xu Q(徐庆), et al. 2003c. Extraction and pharmacology study of officinal composition from *Siraitia grosvenorii*'s root(罗汉果块根中药用成份提取及其药理初探)[J]. *Chemistry World*(化学世界), 44(1): 21-23.
- Chen QB(陈全斌), Yan JX(杨建香), Yi XH(义祥辉), et al. 2006. Separation, purification and determination of flavone aglycones from *Momordica grosvenorii* leaf(罗汉果叶中黄酮甙元的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(2): 217-220.
- Chen QB(陈全斌), Cheng ZQ(程忠泉), Yi XH(义祥辉). 2004. Study on the extraction and properties of oil from seeds of *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffery(罗汉果种仁油脂的提取及其性质研究)[J]. *Science and Technology of Food*(食品科技), 12(2): 25-27.
- Li DP(李典鹏), Zhang HR(张厚瑞). 2000. Studies and uses of Chinese medicine Luohanguo—a special local product of Guangxi(广西特产植物罗汉果的研究与应用)[J]. *Guihaia*(广西植物), 20(3): 270-276.
- Ruan DL(阮栋梁), Wang H(王晖), Li H(李和). 2003. Separate and analyse of hydrocarbon in seabuckthorn leaves(沙棘叶中烃类的分离分析)[J]. *Seabuckthorn*(沙棘), 16(2): 18-20.
- Yu LJ(余丽娟), Chen QB(陈全斌), Yi XH(义祥辉), et al. 2003. Preparation of mogrosin V from fresh fruits of *Siraitia grosvenorii* by high performance liquid chromatography(高效液相色谱法制备罗汉果甜甙 V 标准品)[J]. *Chromatogram*(色谱), 21(4): 397-399.