

文章编号:2095-6002(2013)02-0047-05

引用格式:刘晓英,刘光荣,朱晨瑜,等. 苦瓜提取物健美功效评价及其安全性研究. 食品科学技术学报,2013,31(2):47-51.  
LIU Xiao-ying, LIU Guang-rong, ZHU Chen-yu, et al. Preliminary Study on Evaluation of Weight Loss Efficacy and Security of *Momordica Charantia* Extracts. Journal of Food Science and Technology, 2013,31(2):47-51.

# 苦瓜提取物健美功效评价及其安全性研究

刘晓英<sup>1</sup>, 刘光荣<sup>1</sup>, 朱晨瑜<sup>2</sup>, 何聪芬<sup>2,\*</sup>, 祝钧<sup>2</sup>

(1. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510665;

2. 北京工商大学北京市植物资源研究开发重点实验室, 北京 100048)

**摘要:**从健美功效性与安全性两方面对苦瓜提取物进行研究,通过透皮吸收实验、促进脂肪分解能力实验以及脂肪酰合酶抑制实验,对苦瓜提取物的健美功效进行了评价;通过红细胞溶血性实验、鸡胚绒毛尿囊膜实验、人体斑贴实验,对其安全性进行了研究. 实验结果表明:苦瓜提取物具有一定的健美功效,在较低质量浓度(10.0 mg/mL及以下)时安全无刺激,因此可以作为外用健美功效添加剂.

**关键词:**苦瓜提取物;健美;安全性;功效性

**中图分类号:** TS255.5

**文献标志码:** A

苦瓜(*Momordica charantia* L.)别名凉瓜、癞瓜、锦荔枝等,葫芦科属一年生蔓性草本植物.之所以呈甘苦味是因为其含有罗汉果苷和苦瓜素等成分<sup>[1]</sup>.大量研究证明,苦瓜具有辅助降血糖、抗氧化、增强免疫力等功效<sup>[2-6]</sup>,另外以苦瓜果汁对糖尿病大鼠进行治疗可以使血清中非酯化胆固醇、磷脂及甘油三酯水平降低,高密度脂蛋白-胆固醇水平升高,趋于正常.进一步研究证明,苦瓜能够减少甘油三酯分泌以及微粒体甘油三酯转运蛋白的 mRNA 的表达,是载脂蛋白 B 的分泌以及甘油三酯的合成分泌的抑制剂,具有一定的预防肥胖的功效<sup>[7-9]</sup>.对苦瓜提取物(由无限极有限公司提供)的健美功效及安全性进行研究.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

苦瓜提取液,实验中用蒸馏水或其他溶剂将苦瓜提取物配置为 1.0, 5.0, 10.0, 30.0, 50.0 mg/mL 溶液;鸡血红细胞,无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级,北京梅里亚维通实验动物有限公司;

NaCl, 甲醇, 丙醇均为分析纯,北京化学试剂公司;十二烷基硫酸钠,分析纯,北京拜尔迪生物技术有限公司;斑试器,圆形,直径 12 mm,北京北医投资管理有限公司;L-抗坏血酸 2-葡糖苷(ascorbic acid 2-glucoside, AA2G),原料级,北京贝丽莱斯生物化学有限公司;豚鼠,原料级,北京军事医学院动物中心;W1002-2-500 型甘油测定试剂盒,北京科达宏伟生物技术有限公司.

### 1.2 仪器与设备

4K15 型冷冻离心机,美国 Sigma 公司;Purelab Ultra 型超纯水机,英国 ELGA 公司;UV2300 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;FMe-100B 型摇床,上海福玛实验设备有限公司;SMZ1000 型解剖显微镜,日本 NIKON 公司;SHP-150 型生化培养箱,上海森信实验仪器有限公司;MINI-V/PCR 型超净工作台,上海森信实验仪器有限公司;FT-ZDQ 型手提快速照蛋器,北京春明方通电子有限公司;MSE-1600 型透皮吸收仪,天津市正通科技有限公司;SN151000377C 型酶标仪,美国 Thermo Science Multiskan Go 公司.

收稿日期:2012-04-11

作者简介:刘晓英,女,硕士,主要从事化妆品基础研究开发工作;

\*何聪芬,女,教授,博士,主要从事植物资源研究开发工作. 通讯作者.

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 功效性实验

##### 1.3.1.1 透皮吸收实验

透皮吸收实验参考文献[10-11]。向透皮吸收仪恒温槽中加入适量水,开启电源和恒温槽磁力搅拌,设定恒温槽中水温为 $37 \pm 0.1 \text{ } ^\circ\text{C}$ 。将制备好的鼠皮用铁夹子固定在两室扩散池之间,向垂直扩散池的接受池内加入5.0 mL接受液,放入透皮吸收仪恒温槽中预热,设定接受池搅拌速度为700 r/min。向供给池内分别加入供给液(即待测苦瓜提取液),以保鲜膜封住上口。开始记时,当样品渗透0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4 h时,分别取样0.5 mL置具塞离心管中,在最大吸收峰处测量吸光度(实验中测得苦瓜提取物在490 nm处出现最大吸收峰),计算透光量。累计透过量计算见公式(1)。

$$Q = \frac{V_1 \rho_n + \sum_{i=1}^{n-1} \rho_i V_2}{S} \quad (1)$$

式(1)中, $Q$ 为累积透过量, $\text{mg}/\text{cm}^2$ ;  $S$ 为透皮扩散面积, $\text{cm}^2$ ;  $V_1$ 为Franz扩散池接受液体积,mL;  $\rho_n$ 为第 $n$ 次取样时接受液的质量浓度, $\text{mg}/\text{mL}$ ;  $\rho_i$ 为第 $i$ 次取样时接受液的质量浓度, $\text{mg}/\text{mL}$ ;  $V_2$ 为取样量,mL。通过式(1)计算后,作出累积量与时间的曲线图,及最终透过累积量。

##### 1.3.1.2 促进脂肪分解能力实验

按1 g/mL的比例加入制备好的脂肪底物与待测苦瓜提取液, $37 \text{ } ^\circ\text{C}$ 反应2 h,取10  $\mu\text{L}$ ,加入190  $\mu\text{L}$ 工作液(甘油含量测定试剂盒内含), $37 \text{ } ^\circ\text{C}$ 反应10 min。550 nm下测透光值,将其带入甘油含量标准曲线中计算甘油增加量,依此分析脂肪被分解程度。

##### 1.3.1.3 脂肪酸合酶抑制实验

脂肪酸合酶抑制实验参考文献[12-14]。将10  $\mu\text{L}$ 待测苦瓜提取液加入由1.8 mL磷酸缓冲液,25  $\mu\text{L}$ 乙酰辅酶A,50  $\mu\text{L}$ 丙二酰辅酶A,50  $\mu\text{L}$ 还原型辅酶II(triphosphopyridine nucleotide, NADPH)以及脂肪酸合酶组成的活性体系中,在340 nm下连续测定NADPH的质量浓度变化,进而计算样液对脂肪酸合酶的抑制作用情况。

#### 1.3.2 安全性实验

##### 1.3.2.1 红细胞溶血实验

红细胞溶血实验参考文献[15-16]。用质量比为0.1%的十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl-sulfate, SDS)检测所采集红细胞的完整性,同时在显微镜

下观察红细胞的形态和细胞膜的完整性。将样品用磷酸盐缓冲液(PBS)分别稀释成待测质量浓度,用其检测样品的刺激性。实验分为2组:1)阳性对照组(0.1% SDS)和2)待测苦瓜提取液组。

##### 1.3.2.2 鸡胚绒毛尿囊膜实验

鸡胚绒毛尿囊膜实验参考文献[17-19]。采用6 d龄鸡胚放入( $37.5 \pm 0.5 \text{ } ^\circ\text{C}$ ,相对湿度为60%~80%)的恒温孵箱中孵育1 d,标记、开窗放入无菌中速定性滤纸小片(直径5 mm),然后用灭菌透明胶封口,培养24 h后,加待测苦瓜提取液(溶剂换为生理盐水),设置0.1%的SDS为阳性对照组,生理盐水为阴性对照组。加样剂量为每次100  $\mu\text{L}$ ,每天1次,共3 d。实验结束后,鸡胚绒毛尿囊膜(chorioallantoic membrane, CAM)用甲醇:丙酮=1:1( $v:v$ )的固定液固定,用眼科镊去掉CAM平面以上的卵壳及卵壳膜,完整剪下CAM,标记药膜中心点,拍照观察。

##### 1.3.2.3 人体斑贴实验

人体斑贴实验参考文献[20-21]。用待测苦瓜提取液浸润滤纸后放入斑试器内,对照孔为空白对照(不置任何物质)。将样品和空白对照均贴于受试者的前臂曲侧,用手掌轻压使之均匀地贴敷于皮肤上,持续24 h,去除斑试器后间隔30 min,待压痕消失后观察皮肤反应。在除去斑试器48 h后再观察一次皮肤反应。

## 2 结果与分析

### 2.1 功效性检测结果

#### 2.1.1 透皮吸收实验

样品在不同质量浓度下的透过累积量随着时间的增加均呈递增趋势,说明苦瓜提取物有透皮吸收效果(见图1);随质量浓度的增加,样品的透过率逐渐降低(见表1)。综合透过累积量与透过率2个因素得出,

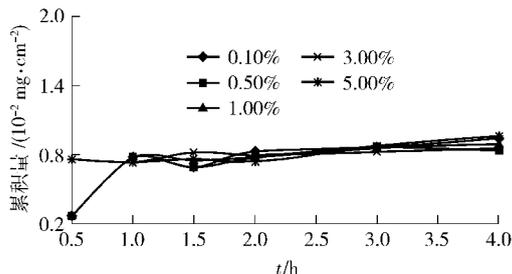


图1 苦瓜提取物随时间变化的累积透过量  
Fig. 1 Cumulative penetration change with time of *Momordica charantia* extracts

样品起始质量浓度为 1.0 mg/mL 时效果最佳.

表 1 苦瓜提取物的透过率

Tab.1 Transmittance of *Momordica charantia* extracts

样品的起始质量浓度/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	样品透过的最终质量浓度/ (10 <sup>-3</sup> mg·cm <sup>-2</sup> )	透过率/%
1.0	9.5	0.317
5.0	8.3	0.0553
10.0	8.9	0.030
30.0	8.6	0.010
50.0	9.6	0.001

### 2.1.2 促进脂肪分解能力实验

苦瓜提取物能够促进底物中的脂肪分解,使甘油含量上升,说明该提取物具有促进脂肪分解的能力,且随质量浓度的增高而增高(见图2).但即使在最大质量浓度 50.0 mg/mL 时也未达到 50%.

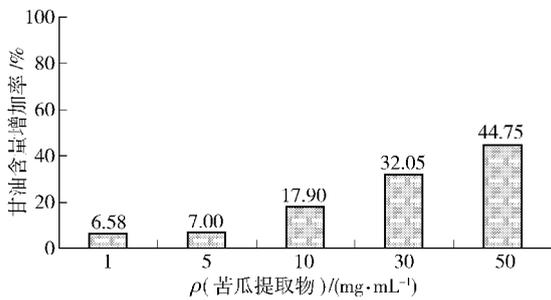


图 2 苦瓜提取物促进脂肪分解能力实验

Fig.2 Experiment of promoting lipolysis of *Momordica charantia* extracts

### 2.1.3 脂肪酸合酶抑制实验

结果显示,苦瓜提取物对脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)有抑制作用,且随着质量浓度的加大,抑制作用加强,见图3.说明苦瓜提取物能够抑制脂肪的合成,当质量浓度达到 50.0 mg/mL 时 FAS 抑制率达到 50.50%.

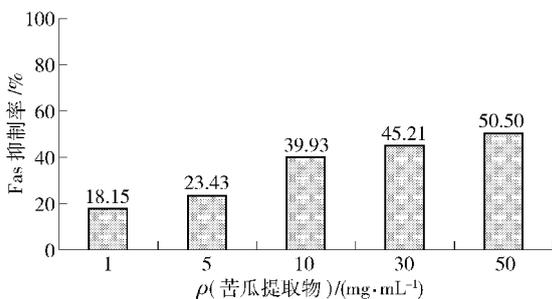


图 3 苦瓜提取物 FAS 抑制实验

Fig.3 Experiment of inhibiting fatty acid synthase of *Momordica charantia* extracts

## 2.2 安全性检测结果

### 2.2.1 红细胞溶血性实验

按照 RBC Test System 方法中对结果的判定:若

样品溶血率高于 20%,则判定为有刺激性,若低于 20%则无刺激性.结果显示,50.0,30.0 mg/mL 的苦瓜提取物的溶血率较高,均大于阈值 20%,对红细胞的刺激性较大;10.0,5.0,1.0 mg/mL 样液溶血率均低于 20%,可判定为无刺激性,见图4.

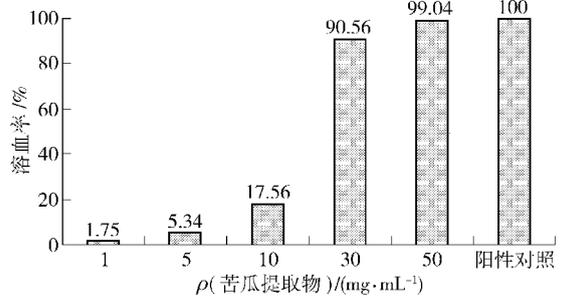


图 4 苦瓜提取物红细胞溶血性实验实验结果

Fig.4 Red blood cell hemolysis test of *Momordica charantia* extracts

### 2.2.2 鸡胚绒毛尿囊膜实验

图5是阴性对照组,各组鸡胚大多数血管较少,甚至可见无血管区域.载体放置区域多为无血管区或血管较少的分布区,可见鸡胚血管细小,微血管生成较少.图6是阳性对照组,鸡胚已完全死亡.图7a至图7e为苦瓜样液组,其中图7a为加样质量浓度 1 mg/mL 组,与阴性对照组比较,血管数目略有增加,血管分支数也有所增加;图7b为加样质量浓度 5 mg/mL 组,血管数目与分支数较 1 mg/mL 质量浓度组进一步增加,分布较零乱;图7c为加样质量浓度 10 mg/mL 组,较 5 mg/mL 组血管零乱程度加重,各药物组 CAM 血管开始向载体生长集中;图7d为加样质量浓度 30 mg/mL 组,较 10 mg/mL 质量浓度组,血管管径增宽,分布零乱无序,出现断裂血管,且平行实验中一只在距第一次加样 72 h 后死亡;图7e为加样质量浓度 50 mg/mL 组,可明显看出溶血现象,且平行实验中一只在距第一次加样 48 h 后即死亡.综上所述,苦瓜提取物的刺激性依质量浓度的增加而增加,在低质量浓度时刺激性较小,但是在高质量浓度,如 30,50 mg/mL 时刺激性比较大,甚至会出现鸡胚致死现象,见表2.

### 2.2.3 人体斑贴实验

对苦瓜提取物进行人体斑贴实验,结果见表3,此次实验中苦瓜提取物斑贴实验结果均符合《化妆品接触性皮炎诊断标准及处理原则》的要求.

表2 苦瓜提取物对鸡胚存活情况的影响

Tab.2 Effect of *Momordica charantia* extracts on survival condition of chicken embryos

质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )	存活时间/h												
	0			24			48			72			
	分配数	存活数	存活率/%	结余数	存活数	存活率/%	结余数	存活数	存活率/%	结余数	存活数	存活率/%	
阴性对照生理盐水	3	3	100	3	3	100	3	3	100	3	3	100	
阳性对照0.1% SDS	3	3	100	3	3	100	3	3	100	3	0	0	
苦瓜提取物	1	3	3	100	3	3	100	3	3	100	3	3	100
	5	3	3	100	3	3	100	3	3	100	3	3	100
	10	3	3	100	3	3	100	3	3	100	3	3	100
	30	3	3	100	3	3	100	3	3	100	3	2	67
	50	3	3	100	3	3	100	3	2	67	2	2	100

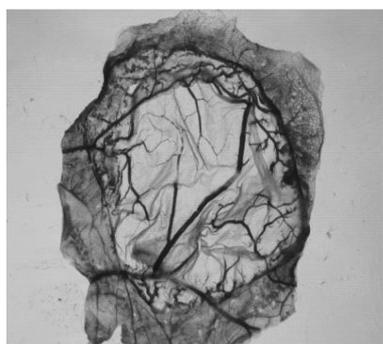


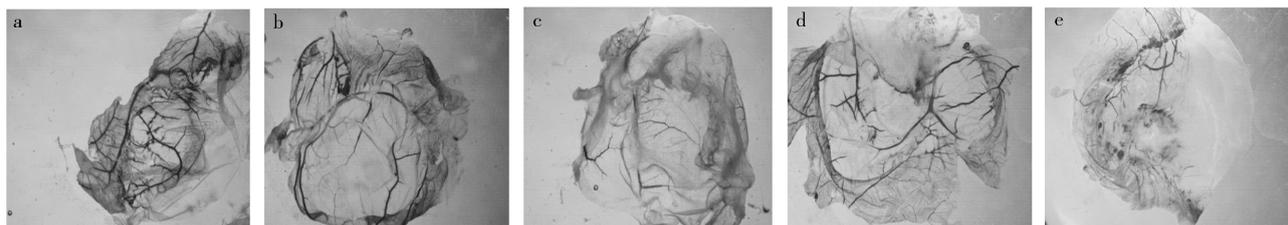
图5 阴性对照(生理盐水)

Fig.5 Negative contrast (normal saline)



图6 阳性对照(0.1% SDS)

Fig.6 Positive contrast (0.1% SDS)



a 1 mg/mL; b 5 mg/mL; c 10 mg/mL; d 30 mg/mL; e 50 mg/mL

图7 不同质量浓度苦瓜样液的鸡胚绒毛尿囊膜

Fig.7 Different concentrations of *Momordica charantia* extracts for chicken embryo villus allantoic membrane

表3 苦瓜提取物人体斑贴实验

Tab.3 Patch test of *Momordica charantia* extracts

$\rho$ (苦瓜提取物)/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	无反 应/人	淡红 斑/人	红斑、 浸润或 丘疹/人	水肿性 红斑、 丘疹/人	显著红肿、 伴丘疹 或疱/人
0	30	0	0	0	0
1	30	0	0	0	0
5	30	0	0	0	0
10	30	0	0	0	0
30	30	0	0	0	0
50	30	0	0	0	0

和酶抑制实验证实该提取物具有促进脂肪分解的能力与抑制脂肪合成的能力. 体外安全性实验——红细胞溶血性实验与鸡胚绒毛尿囊膜实验结果显示苦瓜提取物在较低质量浓度即1,5,10 mg/mL时安全无刺激;人体斑贴实验结果显示该提取物在任意检测质量浓度下对人体均无刺激性. 经过一系列的功效评价实验和安全性研究,确定苦瓜提取物具有一定的健美功效,且在较低质量浓度下安全无刺激,推荐选取10 mg/mL作为外用健美产品的添加量.

### 3 结论

透皮吸收实验证实,各质量浓度的苦瓜提取物均能够透过皮肤;促进脂肪分解能力实验与脂肪酸

#### 参考文献:

- [1] 陈敬鑫,张子沛,罗金凤. 苦瓜保健功能的研究进展[J]. 食品科学,2012,33(1):275.

- [2] 李志洲. 苦瓜中黄酮类化合物的提取及抗氧化性研究[J]. 中国生化药物杂志, 2007, 28(4): 264-266.
- [3] Maria L S M, Narain N, Pushkar S B. Characterisation of some nutritional constituents of melon (*Cucumis melo* hybrid AF-522) seeds[J]. Food Chemistry, 2000, 68(4): 411-414.
- [4] Sandhya L S, Shewade Y, Bhonde R. Role of bittergourd fruit juice in stz-induced diabetic state *in vivo* and *in vitro* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 73: 71-79.
- [5] Virdi J, Sivakami S, Shahani S. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2003, 88(1): 107-111.
- [6] 何新益, 刘仲华. 苦瓜多糖降血糖活性的高通量筛选研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 313-316.
- [7] Tan Minjia, Ye Jiming, Turner N, et al. Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway[J]. Chemistry and Biology, 2008, 15: 263-273.
- [8] Popovich D G, Li Lu, Zhang Wei. Bitter melon (*Momordica charantia*) triterpenoid extract reduces preadipocyte viability, lipid accumulation and adiponectin expression in 3T3-L1 cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48: 1619-1626.
- [9] Roffey W C, Atwal A S, Johns T. Water extracts from *Momordica charantia* increase glucose uptake and adiponectin secretion in 3T3-L1 adipose cells[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 112(1): 77-84.
- [10] 罗世英, 陈华萍. 透皮吸收常用的几种实验动物[J]. 中国药业, 2004, 13(4): 74.
- [11] 席萍, 吴敏, 孙亦群. 现代实验技术与方法在药物透皮吸收研究中的应用[J]. 中国药房, 2002, 13(5): 304-305.
- [12] 田维熙, 蒋若帆, 吴海斌. 鸭肝脂肪酸合成酶的 NADPH 底物抑制及作用动力学[J]. 生物化学杂志, 1994, 10(4): 413-418.
- [13] 赵光, 李瑁, 元华龙, 等. 天然产物中脂肪酸合酶抑制剂的筛选[J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(20): 2-3.
- [14] 赵春杨, 赵文华, 张瑾峰, 等. 不同季节元宝枫叶对 FAS 活性的抑制及其与总黄酮含量的相关性[J]. 首都医科大学学报, 2008, 29(1): 60-63.
- [15] 张文改, 杨杏芬, 杨颖, 等. 红细胞溶血试验作为眼刺激性替代方法的初步研究[J]. 中国预防医学杂志, 2010, 11(6): 544-547.
- [16] 薛金玉, 杨杏芬, 杨颖, 等. 红细胞溶血实验替代兔眼刺激性实验检测农药眼刺激性初步研究[J]. 中国职业医学, 2010, 37(6): 469-471.
- [17] 谢晓萍, 谭小华, 熊习昆, 等. 化妆品安全性评价中鸡胚绒毛膜尿囊膜试验应用研究[J]. 中国热带医学, 2009, 9(11): 2201-2202.
- [18] 谢晓萍, 熊习昆, 谭小华, 等. 鸡胚尿囊膜绒毛膜试验与动物试验结果的比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(6): 1133-1134.
- [19] 王飞, 宁岭. 鸡胚绒毛膜尿囊膜试验在评估表面活性剂及洗发香波刺激中的应用[J]. 日用化学工业, 1999(1): 40-43.
- [20] 郁辉, 赵辨. 应用化妆品进行斑贴试验时所需浓度及稀释剂的初步探讨[J]. 南京医科大学学报, 1995, 15(3): 651-652.
- [21] 张洁, 刘玮. 化妆品斑贴试验研究进展[J]. 中国美容医学, 2009, 18(8): 1203-1205.

## Preliminary Study on Evaluation of Weight Loss Efficacy and Security of *Momordica Charantia* Extracts

LIU Xiao-ying<sup>1</sup>, LIU Guang-rong<sup>1</sup>, ZHU Chen-yu<sup>2</sup>, HE Cong-fen<sup>2,\*</sup>, ZHU Jun<sup>2</sup>

(1. *Infinitus (China) Co. Ltd.*, Guangzhou 510665, China; 2. *Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development, Beijing Technology and Business University*, Beijing 100048, China)

**Abstract:** In this study, the weight loss efficacy and security of *Momordica charantia* extracts was investigated. By the experiment of percutaneous absorption, promoting lipolysis and inhibiting fatty acid synthase, the weight loss efficacy of *Momordica charantia* extracts were evaluated; By red blood cell hemolysis test, chicken embryo chorioallantoic membrane experiment and patch test, the security of *Momordica charantia* extracts were evaluated. The results showed that, *Momordica charantia* extracts has the efficiency of weight reduction, and has no stimulation at low concentration (lower than 10.0 mg/mL), thus, it can be used as a kind of topical additive with weight-loss efficacy.

**Key words:** *Momordica charantia* extracts; weight loss; security; efficacy

(责任编辑: 李 宁)