

文章编号:1009-038X(2005)01-0065-04

# 大叶紫薇叶中熊果酸的分离纯化及结构

纵伟<sup>1</sup>, 夏文水<sup>1\*</sup>, 崔宝良<sup>2</sup>

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 无锡杰西医药研究所, 江苏 无锡 214036)

**摘要:** 利用溶剂萃取、薄层层析对大叶紫薇提取物中三萜化合物进行分离, 通过 DSC, UV, IR 和 HPLC/MS 对分离产物中具有降血糖的成分 3 进行结构分析, 结果表明: 以氯仿: 丙酮为展开剂, 可在硅胶板中将大叶紫薇中三萜化合物有效分离。对分离出的成分 3, DSC 测定其熔点为 283 ~ 287 °C, 焓值为 43.727 J/g; UV 最大吸收波长为 206 nm; MS 测定其相对分子质量为 457; IR 光谱符合乌苏果烷型结构。经分析, 具有降血糖的成分 3 即为熊果酸。

**关键词:** 大叶紫薇; 熊果酸; 分离; 定性

中图分类号: O 652.6

文献标识码: A

## Isolation and Identification of Ursolic Acid from *Lagerstroemia speciosa* L.

ZONG Wei<sup>1</sup>, XIA Wen-shui<sup>1\*</sup>, CUI Bao-liang<sup>2</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Jiexi Pharmaceutical Technology, CO. Ltd, Wuxi 214000, China)

**Abstract:** Solvent-extraction and thin-layer chromatography were used to extract and separate triterpene from *Lagerstroemia speciosa* L. Structures of the composition #3 were identified by DSC, UV, IR and HPLC/MS. The results showed that, triterpene can be efficiently separated with thin-layer chromatography using: acetone as the developer. The result also indicated that, the melting point, enthalpy, optimum absorbance wave length, and molecular weight were 283 ~ 287 °C, 43.727 J/g, 206 nm, and 45%, respectively. IR spectrum fit that of ursane structure. The result showed compound #3 was ursolic acid.

**Key words:** *Lagerstroemia speciosa* L.; ursolic acid; isolation; identification

大叶紫薇(*Lagerstroemia speciosa* L.)为千屈菜科的落叶乔木, 具有降血糖<sup>[1,2]</sup>、抗氧化<sup>[3,4]</sup>和降血脂<sup>[5]</sup>等作用, 然而, 对大叶紫薇降血糖的功能成分还存在一定的争议, 因此, 研究大叶紫薇降血糖的分子结构具有重要意义。作者通过对大叶紫薇溶剂萃取、薄层层析分离, 将大叶紫薇中三萜类成分进行了有效分离, 并通过 DSC, UV, IR HPLC/MS

对其中具有降血糖功能的组分进行了结构分析, 确定了其中一降糖成分为熊果酸。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验材料和仪器

大叶紫薇叶(*Lagerstroemia speciosa* L.): 采

收稿日期: 2004-06-14; 修回日期: 2004-10-28.

作者简介: 纵伟(1965-), 男, 安徽肖县人, 副教授, 天然产物博士研究生; \* 通讯作者。

自广东省珠海市;硅胶 G:青岛海洋化工厂生产;乙腈为色谱纯;甲酸、乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、氯仿、丙酮、环己烷、三氯乙酸、碘、硫酸皆为分析纯;羧甲基纤维素钠为食品级。

SBXZ-1A 旋转蒸发器:上海申波仪器公司生产;SHB 型水循环真空泵:郑州杜甫仪器厂生产;101-3-BS 电热鼓风干燥箱:上海跃进医疗器械厂生产;奥林巴斯 U310 数码照相机:奥林巴斯公司生产;Waters Platform ZMD 液质联用仪:美国 Waters 公司生产。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 大叶紫薇叶的提取** 大叶紫薇叶原料经预处理,清洗干净并采用真空干燥,粉碎到 60 目,加 8 倍量的水(质量比),加热至沸,保持 30 min,过滤;滤渣继续提取 2 次,最后一次提取的滤渣加 8 倍量的体积分数 95% 乙醇,在超声功率 200 W 下提取时间 20 min,过滤;滤渣继续提取 2 次,合并 3 次乙醇提取液,真空浓缩,真空干燥。

### 1.2.2 醇提取物的萃取和薄层层析分离

1) 总三萜的萃取:醇提取物依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇分别萃取 3 次,各萃取液分别浓缩、干燥,得石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取物。

2) 展开剂的选择:首先按点滴实验法<sup>[6]</sup>确定展开剂的底剂,将总三萜提取物溶液间隔地点在质量分数为 5% 羧甲基纤维素钠硅胶板上,溶剂挥发干后,用吸满不同展开剂的毛细管依次将环己烷、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、氯仿、丙酮点在样品点的中心,借毛细管的作用,使得展开溶剂从圆心向外扩展,显色剂显色,形成不同的同心圆色谱,比较不

同展开剂的展开效果。

3) 显色条件的选择:碘加热产生碘蒸汽直接显色;三氯乙酸、碘蒸汽、硫酸甲醇和硫酸乙醇溶液用喷枪分别喷在展开后晾干的薄板上,三氯乙酸薄板以 105 °C 加热 20 min 显色;硫酸甲醇和硫酸乙醇溶液 105 °C 加热 5~10 min 显色,比较不同显色剂的显色效果。

4) 熊果酸的液质联用分析:液相色谱条件:分析柱:LunaC-18(2.6 mm×250 mm, 5 μm);V(流动相乙腈):V(0.1% 甲酸水溶液)=60:40;柱温:30 °C;体积流量:1 mL/min;进样量:20 μL;检测波长:205 nm。

质谱条件:离子方式:EIS-(m/z 200-1500);毛细管电压:3.88 kv,锥孔电压:38 V;离子源温度:120 °C;脱溶剂气温度:250 °C;光电倍增器电压:650 v;分析器真空度:2.6~5 mBar;气体流量:4.2 L/h。

## 2 结果与讨论

### 2.1 薄层层析分离条件的选择

**2.1.1 展开剂的选择** 从图 1 可见,采用氯仿作为基本展开剂时,在点样点周围的同心圆数量多于其它溶剂,表明氯仿对大叶紫薇叶总三萜具有较好的展开能力,可作为展开剂的底剂。为使得被分离物质在薄板上有较强的洗脱力,帮助化合物在薄板上移动,可加入丙酮作为调节剂。通过比较发现,采用 V(氯仿):V(丙酮)=4:1 作为展开剂,各斑点具有较好的分离度。



1. 石油醚; 2. 氯仿; 3. 乙酸乙酯; 4. 丙酮; 5. 正丁醇

图 1 不同溶剂对醇提取物的展开的影响

Fig. 1 The effect of different developer

**2.1.2 显色条件的选择** 三萜化合物常用的显色剂有三氯乙酸、碘蒸汽、硫酸甲醇和硫酸乙醇等,这些显色剂各有其优缺点。三氯乙酸为显色剂时,在 100 °C 加热 20 min,三萜类物质显黄色,但灵敏度不高,有时需要紫外灯下观察以提高灵敏度;碘蒸汽易挥发,显色后挥去碘,斑点可作定量分析,但它缺乏特异性,对非三萜物质也显色;硫酸甲醇和硫酸乙醇为显色剂时,105 °C 加热 5~10 min,三萜类物

质显红褐色或紫色,都具有较高的灵敏度。考虑到乙醇无毒,价格便宜,所以选用硫酸乙醇为显色剂。在此基础上,进一步优化显色剂中硫酸和乙醇的比例,经不同质量分数的硫酸乙醇显色,结果见表 1。

从表 1 可见,采用体积分数 10% 硫酸乙醇进行显色,斑点明显,背景浅,所以采用该体积分数的硫酸乙醇作为显色剂。

表 1 不同体积分数的硫酸乙醇显色效果

Tab. 1 The effect of different sulfuric acid ethanol concentration

硫酸乙醇 体积分数/%	显色结果
5	斑点浅,背景浅
10	斑点明显,背景浅
20	斑点明显,背景深

2.1.3 薄层层析分离结果 对乙醇提取物分别采用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取的各组分进行薄层分离,结果见图 2。从图 2 可见,三萜类成分主要存在于石油醚和乙酸乙酯萃取物中,石油醚和乙酸乙酯萃取物中三萜类成分基本相同,由于石油醚组分中还含有较多的低极性组分,产品呈油状,分离困难,所以采用乙酸乙酯萃取物进行分离。在制备薄板上分离得条带 1~6,分别刮取各条带,得 6 个样品。通过对所得的各样品进行降血糖功能测定,发现样品 3 具有较强的降血糖功能,因此,对其进行进一步的结构分析。

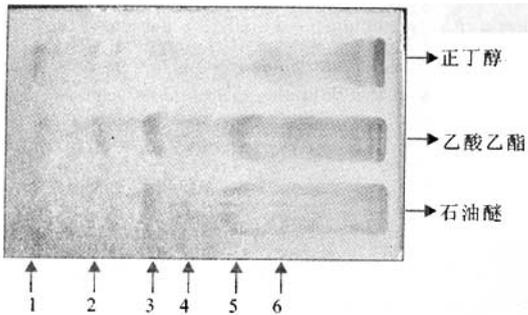


图 2 总三萜的萃取物的薄层层析分离

Fig. 2 TLC of triterpene

2.2 结构分析

2.2.1 DSC 曲线 对样品 3 进行 DSC 测定,其结果见图 3。从图 3 可见,其熔点为 283~287 °C,与熊果酸相同,且熔距较短,表明其纯度较高;其焓值为 43.727 J/g,也与熊果酸相同。

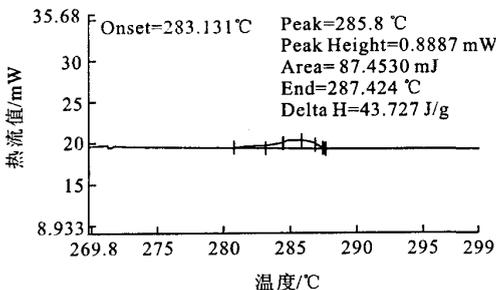


图 3 样品 3 的 DSC 曲线

Fig. 3 DSC of compound 3

2.2.2 紫外光谱 三萜类化合物一般具有较弱的紫外吸收,仅具有较弱的末端吸收,从图 4 可见,样品 3 的最大吸收为 206 nm,与熊果酸相同。

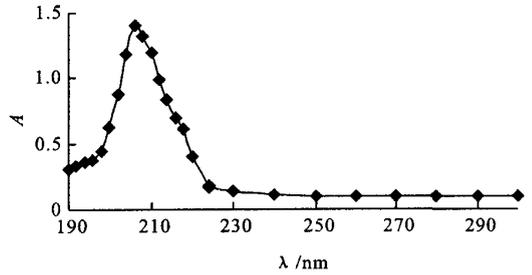


图 4 样品 3 的紫外光谱图

Fig. 4 UV of compound 3

2.2.3 红外光谱 三萜类化合物的结构分 A 区和 B 区,红外光谱测定三萜类化合物的结构,主要是根据区域 A 和区域 B 的碳氢吸收来区别齐墩果烷、乌苏果烷等三萜化合物的基本骨架。齐墩果烷型的 A 区有 2 个峰(1392~1397 cm<sup>-1</sup>, 1370~1355 cm<sup>-1</sup>),B 区有 3 个峰(1330~1315 cm<sup>-1</sup>, 1383~1370 cm<sup>-1</sup>, 1364~1359 cm<sup>-1</sup>);乌苏果烷型的 A 区有 3 个峰(1392~1386 cm<sup>-1</sup>, 1386~1370 cm<sup>-1</sup>, 1364~1359 cm<sup>-1</sup>),B 区也有 3 个峰(1312~1308 cm<sup>-1</sup>, 1276~1270 cm<sup>-1</sup>, 1250~1245 cm<sup>-1</sup>)。从图 5 可见,样品 3 具有 A 的 3 个峰(1387.10 cm<sup>-1</sup>, 1376.95 cm<sup>-1</sup>, 1359.59 cm<sup>-1</sup>)和 B 区的 3 个峰(1310.53 cm<sup>-1</sup>, 1273.09 cm<sup>-1</sup>, 1249.20 cm<sup>-1</sup>),具备乌苏果烷型的结构。

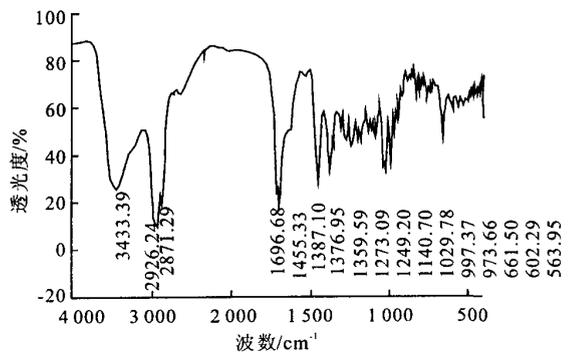


图 5 样品 3 的红外图谱

Fig. 5 IR of compound # 3

2.2.4 液质联用分析 对样品 3 进行 HPLC/MS 分析,其总离子流图和质谱图见图 6,7,从质谱图可见,其相对分子质量为 457.1,与熊果酸的相对分子质量相同。

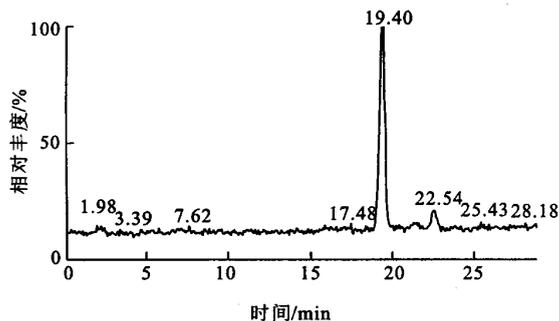


图6 样品3的总离子流图  
Fig. 6 TIC of compound 3

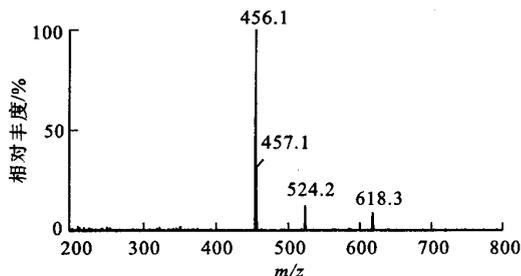


图7 样品3的质谱图  
Fig. 7 MS of compound 3

### 3 结论

采用以  $V(\text{氯仿}) : V(\text{丙酮}) = 4 : 1$  为展开剂, 可在硅胶板上将大叶紫薇中三萜化合物有效分离;

其中具有降血糖的功能性成分3其熔点为  $283 \sim 287 \text{ }^\circ\text{C}$ , 焓值为  $43.727 \text{ J/g}$ , UV 最大吸收波长为  $206 \text{ nm}$ , IR 光谱符合乌苏果烷型结构; MS 测定其相对分子质量为 457, 表明组分3为熊果酸。

### 参考文献:

- [1] Garcia F. On the hypoglycemic effect of decoction of *Lagerstroemia speciosa* administered orally[J]. *Journal of the Philippine Medicinal Associations*, 1940, 20: 395-402.
- [2] Garcia F. Plantisul tablets in the treatment of diabetes mellitus[J]. *Journal of the Philippine Medicinal Associations*, 1956, 31: 216-224.
- [3] Tomonori U, Iwao Ti, Masumizu M K, et al. Antioxidative activity of water extracts of *Lagerstroemia speciosa* leaves [J]. *Biosic Biotech Biochem*, 1997, 61(10): 1772-1774.
- [4] Kajimoto G, Murakami C. Antioxidant activity of several commercial teas and their components[J]. *Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science*, 1999, 52(4): 209-218.
- [5] Suzuki Yuko, Unno Tomonori, Ushitani Masao, et al. Antiobesity activity of extracts from *Lagerstroemia speciosa* L. leaves on female KK-Ay mice[J]. *Journal of Nutritional Science & Vitaminology*, 1999, 45(6): 791-795.
- [6] Randerath K. *Dunnschicht-Chromatographic*[M]. Weinheim: Verlag Chamie, 1962. 16.

(责任编辑:杨萌)