

女贞和小蜡中有效成分的分离与检测

徐娟华¹ 梁连军 黄亦佳 杨学运 陆 勇² 朱红燕*

(浙江医科大学植化室, 杭州 310031)

摘要 对女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 和小蜡 *L. sinense* Lour. 的果实、叶子及枝条中的 酪醇和齐墩果酸进行分析测定, 结果发现两种植物的几个部分中均含有以上两成分, 且小蜡果实明显高于女贞子。还对女贞子用醇提后酸水解再经柱层析分离的方法, 分得白色针状结晶, 并经多种方法检测证实为酪醇。

关键词 女贞 小蜡 酪醇 齐墩果酸

女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 为木犀科女贞属植物, 其干燥成熟果实女贞子是我国传统的扶正固本药物。女贞和其同属植物小蜡 *L. sinense* Lour. 在我国长江以南广泛分布, 资源十分丰富, 本文在前文基础上依照植物亲缘关系和民间用药习惯, 分别对女贞和小蜡的果实、叶子及枝条进行酪醇和齐墩果酸的分析测定, 并对女贞子的化学成分进行水解后的提取和分离。

本实验的材料均于1994年1月30日采自杭州市内, 由浙江医科大学生药教研室张如松博士鉴定。

实验部分

1 TLC 检测酪醇和齐墩果酸:

1.1 酪醇的检测: 分别称取女贞、小蜡的果实、叶子和枝条适量, 石油醚脱脂, 95%乙醇提取, 溶剂回收后加10倍量水并调 pH 4—5, 放置, 分得沉

淀 A_n , 滤液加适量酸水解, 乙酸乙酯萃取并浓缩, 在自制硅胶薄层板上点样, 以酪醇(由浙江医科大学药物化学教研室庄有才教授提供)作对照, 氯仿—乙酸乙酯(1:1)为展开剂进行层析, 碘熏显色, 结果见图1。

1.2 齐墩果酸的检测: 分别取上述各样品的水沉淀物 A_n , 烘干, 氯仿提取并浓缩, 在自制硅胶板上以齐墩果酸为标准品(中国药品生物制品检定所)。氯仿—甲醇(20:1)展开, 碘熏显色。结果见图2。

2 酪醇含量测定:

薄层及紫外测定条件和方法同前文^[1], 所得线性回归方程:

$$y = 17905.5 + 45071.6x \quad \gamma = 0.9986$$

样品分析测定的结果见表1。

回收率试验以小蜡果实样品液为对照, 加入酪醇标准品, 依前法操作, 结果见表2。

1 徐娟华, 女, 32岁。1985年浙江医科大学药学系毕业, 1991年获药学硕士学位, 讲师。

2 本校药学系九届毕业实习。

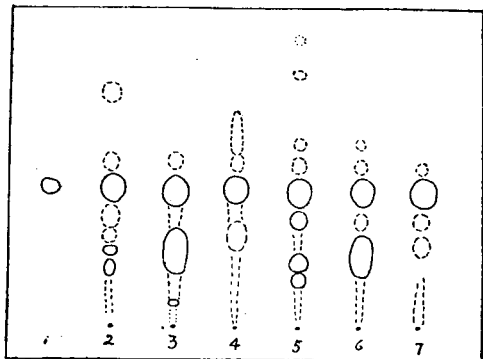


图 1

1. 酪醇对照品 2. 女贞子 3. 女贞枝条 4. 女贞叶子 5. 小蜡果实 6. 小蜡枝条 7. 小蜡叶子

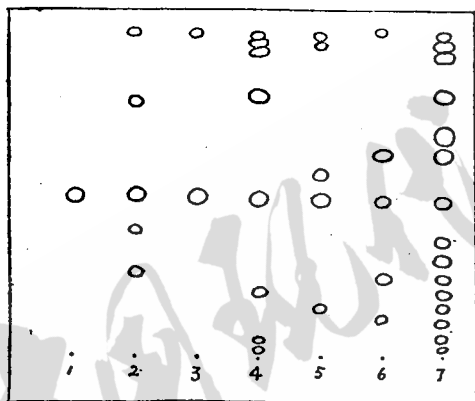


图 2

1. 齐墩果酸标准品 2. 女贞子 3. 女贞枝条 4. 女贞叶子 5. 小蜡果实 6. 小蜡枝条 7. 小蜡叶子(未经脱脂)

表 1 女贞子和小蜡的不同部位中酪醇的含量

样 品	酪醇含量(g/g) (%)	CV(%)
女 贞 子	0.670	2.01
女贞枝条	0.744	2.03
女贞叶子	1.889	2.07
小蜡果实	1.739	1.98
小蜡枝条	0.531	2.05
小蜡叶子	0.889	1.99

3 齐墩果酸含量测定⁽²⁾

3.1 测定条件: 高效硅胶铝泊板, 齐墩果酸标准

表 2 酪醇的回收率试验结果

酪醇加入量 (mg)	对照值 (mg)	加样值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	CV%
0.32	2.898	3.220	100.6		
1.02	2.903	3.926	100.3	100.7	0.455
2.30	2.145	4.472	101.2		

品, 氯仿-甲醇(20:1)展开, 50%硫酸显色, 80°C烘20分钟, 日本岛津 CS-930双波长扫描仪, 反射法锯齿扫描, $\lambda_S = 530 \text{ nm}$, $\lambda_R = 640 \text{ nm}$, $SX = 3$, 狭缝 $2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ 。

3.2 测定方法:

标准曲线绘制: 精密称取一定量齐墩果酸标准品, 用95%乙醇配成浓度为 1.12 mg/ml 的标准溶液, 分别点 2、4、6、8、10、12 μl 于同一薄层板上, 展开 8.5 cm , 50%硫酸显色, 80°C烘20分钟, 取出后立即用一洁净玻璃板上, 四周封牢, 稍冷后测定得标准曲线回归方程:

$$Y = 8585.6 + 11593.7x \quad \gamma = 0.9998$$

稳定性试验: 依上操作, 每隔半小时测定一次, 结果三小时内稳定性良好。

样品分析: 精密称取女贞子果实和枝条、小蜡果实和枝条粗粉各一克, 分别加入蒸馏水 8 ml , 浓盐酸 5 ml , 氯仿 20 ml , 于 85°C 水浴回流提取 2 h , 分出氯仿, 再提 2 次, 合并氯仿液并回收至近干, 定容 10 ml , 点样, 其它同上操作, 结果见表 3。

表 3 女贞和小蜡不同部位齐墩果酸的含量

样 品	齐墩果酸含量(g/g) (%)	CV(%)
女 贞 子	2.005	2.91
女贞枝条	0.586	2.95
小蜡果实	3.426	2.02
小蜡枝条	0.603	2.88

回收率试验: 精密吸取小蜡果实样品液 1.5 ml , 精密加入齐墩果酸标准品, 以未加标准品时为对照, 依上法操作, 结果见表 4。

4 女贞子中酪醇的提取分离和鉴定

4.1 提取: 取女贞子粗粉 1400 g , 石油醚脱脂 4 h , 残渣用 95% 乙醇回流提取 $3-4$ 次, 每次 1 h , 回收乙醇, 浸膏用 1% 硫酸加热水解 5 h , 酸水液

表4 齐墩果酸回收率试验

齐墩果酸加 入量(mg)	对特值 (mg)	加样值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	CV (%)
0.969	5.139	6.104	99.59		
1.120	5.138	6.258	101.60	100.36	1.08
2.024	5.141	7.163	99.90		

加碱调 pH 4—5 后用乙酸乙酯萃取, 回收溶剂得浸膏。

4.2 分离: 对上过浸膏用硅胶湿法装柱, 氯仿—甲醇(50:1)洗脱, 分别收集流份, 待酞醇量洗得差不多时加大洗脱剂极性至20:1, 合并相同或相近的流份, 将含酞醇的组份第二次上柱, 用氯仿—乙酸乙酯(6:1)洗脱, 合并含单一斑点的组份, 用氯仿和丙酮重结晶两次, 得白色针状结晶。

4.3 鉴定: 所得白色针状结晶, 熔点91°C—93°C, 与三氯化铁水溶液显褐绿色, 与氢氧化钠水溶液显红色, 稀盐酸化后红色消失, 表明含酚羟基, 紫外光谱测定入_{Max}^{MeOH} 222.0 nm、277 nm, 与文献⁽³⁾相同, 与酞醇对照品共薄层, 分别以氯仿—乙酸乙酯(1:1)、氯仿—丙酮(1:1)、苯—乙酸乙酯(1:1)在高效硅胶板上展开, R_f值一致; 在高效液相色谱仪(ODS-C18反相柱)以甲醇—水(1:1)为流动相, 流速为1 ml/min, 分别进样, 出峰时间相同, 混

合进样, 两峰位重合; 红外光谱扫描(波长范围500—4000 nm), 样品与对照品的图谱完全一致, 故确认其为酞醇。

结果与讨论

从 TLC 得出杭州产的女贞和小蜡的果实、枝条和叶子中均含有酞酸和齐墩果酸, 而含量测定表明小蜡果实明显高于女贞子。鉴于女贞子是传统常用中药, 又是生产齐墩果酸片的主要原料, 本文为小蜡果实作为提取齐墩果酸的另一很好资源提供了科学依据, 但是否能替代女贞子入药应用及其它地区产的女贞与小蜡中两成份的含量如何有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 徐娟华, 杨学运, 孙礼富等. 女贞子中红景天甙元的分析与测定. 现代应用药 学, 1995, 12(4), 20
- 2 刘红亚, 钟炽昌, 杨大坚等. 女贞子齐墩果酸含量测定及样品制备方法的改造. 中 草药, 1993, 24(4), 219
- 3 尹双, 唐秀忠, 吴立军等. 女贞子化学成分研究. 沈阳药科大学学报, 1995, 12(12), 125

收稿日期: 1996—01—05

Studies on Active Constituents of *Ligustrum Lucidum* Ait and *L. sinense* Lour

Xu Juan-hua, Luan Lian-jun et al

(Dept. of Pharmacy, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310031)

Abstract By analyzing constituents of Tyrosol and Oleanolic acid and determining their contents in *Ligustrum Lucidum* Ait and *L. sinense* Lour, results showed: there are two constituents in the parts of fructus, leaves and branches of the two plants, and their contents in *L. sinense* are higher than those in *L. Lucidum*. The white needle-like crystal have been obtained from *Fructus Ligustri lucidi* by extracting with alcohol and hydrolyzing with acid and then isolating with column chromatography. It was proved to be Tyrosol by using a few methods.

Key words *Ligustrum Lucidum*, *L. sinense*, Tyrosol, Oleanolic acid

(on page 14)