

甘遂醋炙前后石油醚部位的GC-MS分析^Δ

石典花*, 孙立立#, 张 军(山东省中医药研究院, 济南 250014)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)43-4070-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.43.13

摘要 目的:为甘遂醋炙减毒增效机制的研究提供数据支持。方法:采用索氏提取法提取甘遂生品和醋炙品的石油醚部位,采用气相色谱-质谱联用技术对其进行成分分析;色谱柱为RESTEK Rxi-5 ms毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为高纯氮气,载气流量为1 ml/min,汽化室温度为240 ℃,采用程序升温,电离方式为电轰击电离,电离电压70 eV,离子源温度为200 ℃,接口温度为280 ℃,质量扫描范围为30~450 amu;采用面积归一化法测定各成分的质量分数。结果:甘遂生品和醋炙品各检出21个成分,其中生品和醋炙品的共有成分有16个;甘遂经醋炙后9个成分的质量分数增大了,7个成分的质量分数降低了,新产生了5个成分,消失了5个成分。结论:甘遂醋炙后石油醚部位发生了明显的变化,有量变,也有质变。

关键词 甘遂;醋炙;气相色谱-质谱联用技术;石油醚部位;成分变化

Analysis of Petroleum Ether Fraction of *Euphorbia kansui* before and after Stir-baked with Vinegar by GC-MS

SHI Dian-hua, SUN Li-li, ZHANG Jun(Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide data support for the mechanism of reducing the toxicity and enhancing the efficacy of *E. kansui* after stir-baked with vinegar. METHODS: Petroleum ether part of *E. kansui* and *E. kansui* stir-baked with vinegar were extracted by soxhlet extraction. GC-MS was used: RESTEK Rxi-5 ms capillary column (30 m×0.25 mm×0.25 μm), high purity nitrogen as carrier gas, carrier flow of 1 ml/min, vaporizer temperature of 240 ℃, temperature programming, electron ionization, ionization voltage of 70 eV, ion source temperature of 200 ℃, interface temperature of 280 ℃, mass scan range 30-450 amu. Mass fraction of each fraction was determined by area normalization method. RESULTS: 21 components were detected in *E. kansui* and *E. kansui* stir-baked with vinegar, and 16 components were mutual. The relative content of 9 components were increased, while the relative content of 7 components were reduced. 5 components were newly produced, while 5 components were disappeared. CONCLUSIONS: The petroleum ether part of *E. kansui* is changed significantly after stir-baked with vinegar not only in quantity, but also in quality.

KEY WORDS *Euphorbia kansui*; Stir-baked with vinegar; GC-MS; Petroleum ether fraction; Component change

ed-liposomes; molecular and cellular level studies on the kinetics of drug release and on binding to cell monolayers [J]. *Biochim biophys Acta*, 1994, 1189(1):13.

- [2] Chary RB, Vani G, Rao YM. *In vitro* and *in vivo* adhesion testing of mucoadhesive drug delivery systems[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 1999, 25(5):685.
- [3] 吴钉红, 杨立伟, 苏薇薇. 野菊花化学成分及药理作用研究进展[J]. *中药材*, 2004, 27(2):142.
- [4] 苏冀彦, 谭丽容, 赖平, 等. 复方野菊花抗感染软胶囊清热解

毒作用的实验研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2011, 22(5):479.

- [5] 魏艳, 王大伟, 孟昭礼, 等. 野菊花中杀菌活性物质的分离和结构鉴定[J]. *西北农业学报*, 2009, 18(4):74.
 - [6] 黄勇, 苏韞, 明海霞, 等. 野菊花提取物对慢性支气管炎大鼠肺功能及自由基水平的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(19):3723.
 - [7] 王志东, 梁容瑞, 李宗芳. 中药野菊花的药理作用研究进展[J]. *医学综述*, 2009, 15(6):906.
 - [8] 陈传丁, 沈艳平, 屈跃丹, 等. 野菊花提取物药理作用研究进展[J]. *吉林医药学院学报*, 2010, 31(3):175.
 - [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录30.
- (收稿日期:2013-06-06 修回日期:2013-08-27)

Δ 基金项目: 国家中医药管理局中医药行业科研专项项目(No.200807039); 山东省中医药科技发展计划项目(No.2011-178)

* 助理研究员, 硕士。研究方向: 中药炮制。电话: 0531-82949829。E-mail: shidianhua81@163.com

通信作者: 研究员。研究方向: 中药炮制。电话: 0531-82949829。E-mail: xingerx@163.com

甘遂为大戟科植物甘遂 *Euphorbia kansui* T. N. Liou ex T. P. Wang 的干燥块根,始载于《神农本草经》,因其性味苦寒、药性峻烈,列为下品。甘遂具有泻水逐饮、消肿散结的功效,临床上常用于治疗水肿胀满、胸腹积水、痰饮积聚、气逆喘咳、二便不利、风痰癫痫、痈肿疮毒等证^[1]。现代研究表明,甘遂具有抗肿瘤、抗生育、抗病毒、调节免疫系统等活性^[2],临床常用于治疗晚期食道癌、乳腺癌等恶性肿瘤以及慢性支气管炎、哮喘等症^[3]。2010年版《中国药典》(一部)甘遂炮制项下记载的炮制方法为醋炙法,甘遂经醋炙后可显著降低毒性、缓和药性。笔者通过前期研究发现,甘遂中的毒性和药效部位都集中在石油醚部位,因此本试验采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对甘遂生品和醋炙品的石油醚部位进行分析测定,以期找出醋炙对甘遂石油醚部位的影响,为甘遂的醋炙减毒机制的研究提供数据支持。

1 材料

1.1 仪器

GC-MS-QP2010Ultra型GC-MS联用仪(日本岛津公司);十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);索氏提取器(山东省化工研究院玻璃仪器技术服务部)。

1.2 试剂

石油醚、乙酸乙酯均为分析纯。

1.3 药材

甘遂购自安徽亳州药材市场,产地为陕西,经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为大戟科大戟属植物甘遂 *E. kansui* T. N. Liou ex T. P. Wang 的干燥块根;醋甘遂为同批甘遂生品按实验室优选最佳醋炙工艺由笔者自制。

2 方法与结果

2.1 甘遂生品和醋炙品石油醚部位的提取

精密称取甘遂生品与醋炙品粉末(过40目筛)各10g,置于滤纸筒中,再置索氏提取器中,加入100ml石油醚(60~90℃)回流提取10h,回收石油醚,得甘遂和醋甘遂石油醚提取部位。经计算,甘遂生品石油醚部位得率为1.1%,醋炙品石油醚部位得率为1.0%。用适量乙酸乙酯溶解甘遂和醋甘遂石油醚提取部位至10ml量瓶中,并用乙酸乙酯定容,摇匀,作为GC-MS联用分析的供试品溶液。

2.2 GC-MS分析条件^[4]

2.2.1 GC条件 色谱柱:RESTEK Rxi-5ms毛细管柱(30m×0.25mm×0.25μm);载气:高纯氦气;载气流量:1ml/min;汽化室温度:240℃;柱前压:57kPa;程序升温:初始温度为80℃,先以8℃/min升至200℃,再以3℃/min升至260℃,保持5min,最后以2℃/min升至300℃,保持5min;进样量:0.1μl。

2.2.2 MS条件 离子源:电轰击电离(EI)源;电离电压:70eV;离子源温度:200℃;接口温度:280℃;溶剂延时:2min;质量扫描范围:30~450amu。

2.3 数据分析

按上述GC-MS分析条件对甘遂生品和醋炙品的石油醚部位进行分析测定,得到总离子流图,分别见图1、图2。运用NIST08图谱库检索确定甘遂生品和醋炙品MS图中各化合物可能的结构,结合参考文献对其进行定性鉴别和定量分析,结果见表1。

3 讨论

由本试验结果可见,甘遂生品和醋炙品的石油醚部位主

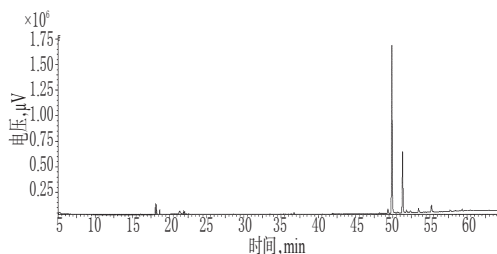


图1 甘遂生品的GC-MS图

Fig 1 GC-MS chromatograms of *E. kansui*

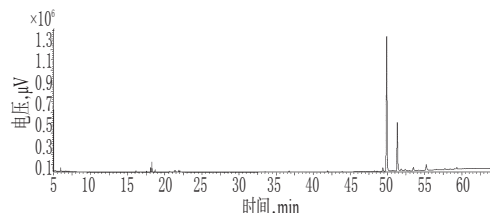


图2 甘遂醋炙品的GC-MS图

Fig 2 GC-MS chromatograms of *E. kansui* stir-baked with vinegar

要含有脂肪族、芳香族、三萜类等成分。甘遂生品和醋炙品均检出21个成分,其中生品和醋炙品的共有成分有16个,甘遂经醋炙后9个成分的质量分数增加了,7个成分的质量分数降低了;5个成分消失了,分别是丁香烯、3,7-二甲基壬烷、羊毛甾醇、(Z,Z)9,12-十八碳二烯酸、齿孔醇;此外还产生了5个新成分,分别是苯甲酸、十六酸甲酯、(Z,Z)9,12-十八碳二烯-1-醇、17-十八炔酸甲酯、(Z,Z)9,12-十八碳二烯-1-醇。结果表明,甘遂经醋炙后石油醚部位发生了明显的变化,不仅有量变,还有质变。

甘遂生品和醋炙品中均含有羊毛甾醇,且羊毛甾醇的质量分数均在85%以上。甘遂生品和醋炙品在保留时间49.890min附近的羊毛甾醇质量分数均在63%以上,此处羊毛甾醇的出现是药材自身所含有还是其他成分经高温汽化转化而来,尚需进一步研究确证;另外,生品中保留时间在52.408min处的羊毛甾醇经醋炙后消失了,推测是转化成了其他成分。

笔者通过检索发现,羊毛甾醇和大戟二烯醇互为13、14、17位不同的光学异构体(二者化学结构式见图3),而大戟二烯醇是甘遂中的主要有效成分之一,2010年版《中国药典》(一部)甘遂项下以大戟二烯醇作为其含量测定的指标成分,且前期研究结果表明甘遂经醋炙后大戟二烯醇含量降低了,但本试验测定结果未发现大戟二烯醇,推测其可能在一定的条件下能转化成羊毛甾醇。为了验证这一推测,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法测定甘遂醋炙前、后羊毛甾醇的含量。结果显示,甘遂生品中羊毛甾醇的质量分数为0.025%,醋制品中羊毛甾醇的质量分数为0.032%,说明甘遂经醋炙后无毒副作用的羊毛甾醇含量升高了,也说明甘遂在醋炙过程中具有泻下作用的大戟二烯醇部分转化成了无毒副作用的羊毛甾醇。

为了进一步验证这一推测,笔者还采用GS-MS联用技术仅对大戟二烯醇对照品进行测定,结果表明保留时间在51.321min处的羊毛甾醇的确是由大戟二烯醇在GC-MS高温汽化过程中转化而来的(详见图4)。本试验中,甘遂生品和醋炙品分别在保留时间51.331min和51.323min处测出了羊毛甾醇,其质量分数均在22%左右;与大戟二烯醇对照品经高温

表1 甘遂生品和醋炙品中石油醚部位的GC-MS分析结果

Tab 1 GC-MS determination of petroleum ether fraction of *E. kansui* and *E. kansui* stir-baked with vinegar

编号	保留时间, min	甘遂生品中的成分	质量分数, %	保留时间, min	甘遂醋炙品中的成分	质量分数, %
1	9.805	Decane, 2,3,8-trimethyl- 2,3,8三甲基十烷	0.06	5.960	Benzoic acid 苯甲酸	0.55
2	10.376	Caryophyllene 丁香烯	0.05	9.812	Decane, 2,3,8-trimethyl- 2,3,8三甲基十烷	0.08
3	12.833	Nonane, 3,7-dimethyl-3,7-二甲基壬烷	0.05	16.096	2H-Pyran, 6-heptyltetrahydro-2,2-dimethoxy- 6-庚基四氢-2,2-二甲氧基-2H-吡喃	0.24
4	16.090	2H-Pyran, 6-heptyltetrahydro-2,2-dimethoxy- 6-庚基四氢-2,2-二甲氧基-2H-吡喃	0.08	17.536	Hexadecanoic acid, methyl ester 十六酸甲酯	0.21
5	18.081	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanolate 1-(+)-抗坏血酸2,6-双十六酯	1.89	18.072	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanolate 1-(+)-抗坏血酸2,6-双十六酯	0.96
6	18.238	Dibutyl phthalate 邻苯二甲酸二丁酯	1.46	18.243	Dibutyl phthalate 邻苯二甲酸二丁酯	1.90
7	18.678	Hexadecanoic acid, ethyl ester 十六酸乙酯	0.74	18.681	Hexadecanoic acid, ethyl ester 十六酸乙酯	0.47
8	21.288	9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z) (Z,Z)9,12-十八碳二烯酸	0.44	20.569	9,12-Octadecadien-1-ol(Z,Z) (Z,Z)9,12-十八碳二烯-1-醇	0.15
9	21.376	7-Hexadecenal, (Z)- (Z)-7-十六烯醛	0.91	20.690	17-Octadecacynoic acid, methyl ester 17-十八炔酸甲酯	0.14
10	21.885	9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z)-2,3-dihydroxypropyl ester (Z,Z)9,12-十八碳二烯酸-2,3-二羟基丙基酯	0.55	21.262	9,12-Octadecadien-1-ol(Z,Z) (Z,Z)9,12-十八碳二烯-1-醇	0.42
11	22.004	Ethyl oleate 油酸乙酯	0.59	21.367	7-Hexadecenal, (Z)- (Z)-7-十六烯醛	0.43
12	36.741	Squalene 角鲨烯	0.41	21.889	9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z)-2,3-dihydroxypropyl ester (Z,Z)9,12-十八碳二烯酸-2,3-二羟基丙基酯	0.36
13	49.366	Lupeol 蛇麻醇酯	1.49	22.015	Ethyl oleate 油酸乙酯	0.34
14	49.892	Lanosterol 羊毛甾醇	63.26	36.745	Squalene 角鲨烯	0.33
15	51.331	Lanosterol 羊毛甾醇	22.01	49.362	Lupeol 蛇麻醇酯	1.69
16	51.845	Cycloartane-3.beta.,25-diol 3β,25-二醇环菠萝烷	0.84	49.890	Lanosterol 羊毛甾醇	63.91
17	52.408	Lanosterol 羊毛甾醇	0.48	51.323	Lanosterol 羊毛甾醇	22.49
18	53.478	Cycloartenol 环阿屯醇	1.55	51.846	Cycloartane-3.beta.,25-diol 3β,25-二醇环菠萝烷	0.62
19	55.215	24-Methylenecholesterol 24-亚甲基环木菠萝烷醇	2.49	53.471	Cycloartenol 环阿屯醇	1.58
20	57.727	Ebericol 酋孔醇	0.20	55.212	24-Methylenecholesterol 24-亚甲基环木菠萝烷醇	2.60
21	59.355	14-Oxatricyclo[9.2.1.(1,10)]tetradecane, 2,6,6,10,11-pentamethyl-2,6,6,10,11-五甲基-14-氧杂三环[9.2.1.(1,10)]十四烷	0.46	59.326	14-Oxatricyclo[9.2.1.(1,10)]tetradecane, 2,6,6,10,11-pentamethyl-2,6,6,10,11-五甲基-14-氧杂三环[9.2.1.(1,10)]十四烷	0.53

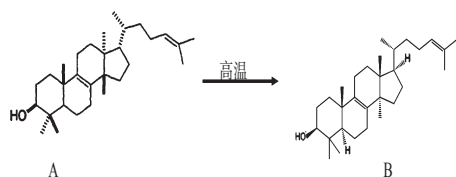


图3 大戟二烯醇和羊毛甾醇的化学结构式

A.大戟二烯醇;B.羊毛甾醇

Fig 3 Chemical structure of euphadienol and lanosterol

A.euphadienol;B.lanosterol

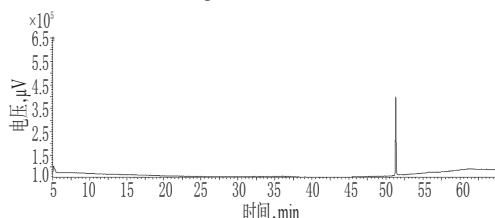


图4 大戟二烯醇的GC-MS谱图

Fig 4 GC-MS chromatograms of euphadienol

汽化转化成羊毛甾醇的峰面积比较可得,生品中羊毛甾醇的

相对含量为0.063%,醋炙品中羊毛甾醇的相对含量为0.061%,因此说明甘遂经醋炙后大戟二烯醇的含量降低了,此结果与HPLC测定结果一致。

本试验首次发现并证实了大戟二烯醇在高温汽化过程中转化成其光学异构体羊毛甾醇,并根据此结果明确了甘遂中具有泻下作用的大戟二烯醇在醋炙过程中部分转化成了无毒副作用的羊毛甾醇。本结果可为甘遂的进一步研究提供试验依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:81.
- [2] 郭晓庄.有毒中草药大辞典[M].天津:天津科技翻译出版公司,1992:7.
- [3] 王立岩.甘遂的化学成分及其生物活性的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2003.
- [4] 张宁.狼毒炮制机理研究[D].南京:南京中医药大学,2010.

(收稿日期:2012-12-11 修回日期:2013-05-02)

国家卫生和计划生育委员会副主任孙志刚在京会见香港医学专科学院代表团

本刊讯 2013年10月11日,国家卫生和计划生育委员会副主任孙志刚在京会见了由香港医学专科学院院长李国栋率领的代表团一行。

孙志刚高度赞赏内地与香港医学专科学院长期良好的合作,并表示建立健全专科医师制度对于内地医药卫生事业的改革和发展具有重要意义。他说,国家卫生和计划生育委员

会重视与香港在专科医师制度方面的合作,希望今后进一步学习借鉴香港专科医师的培养、准入等管理制度,逐步扩大专科试点范围,建立培训基地,规范培训内容,严格准入制度等。

香港医学专科学院代表团介绍了近年来与内地合作概况和取得的成绩,希望继续为内地专科医师制度的建立健全做出更大贡献。