

# 京大戟中大戟二烯醇对照品的制备研究<sup>Δ</sup>

葛秀允\*,孙立立#,张乐林(山东省中医药研究院/国家中医药管理局中药蜜制和制炭炮制技术与原理重点实验室,济南 250014)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)27-3831-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.27.31

**摘要** 目的:研究制备京大戟中大戟二烯醇对照品的分离方法。方法:取京大戟药材醇提浸膏的石油醚萃取部分,用硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(95:5~70:30, V/V) 梯度洗脱,收集大戟二烯醇富集流份,以甲醇反复重结晶,通过核磁共振、质谱等波谱方法鉴定化合物结构,采用薄层鉴别、紫外鉴别、高效液相色谱和液质联用等技术进行质量分数检测。结果:从京大戟中制备分离的大戟二烯醇对照品,质量分数>99%。结论:该方法得到的大戟二烯醇对照品符合中药新药质量标准含量测定用对照品的相关技术要求,可作为京大戟药材和含京大戟的成方制剂的质量控制及药效物质基础研究中的对照品。

**关键词** 京大戟;大戟二烯醇;对照品;制备

## Study on the Preparation of Euphol Reference Substance in *Euphorbia pekinensis*

GE Xiu-yun, SUN Li-li, ZHANG Le-lin(Shandong Provincial Academy of Chinese Medicine/State Key Laboratory of Processing Technology and Principle of Honey and Charcoal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a preparative separation method for euphol reference substance in *Euphorbia pekinensis*. METHODS: Parts of petroleum ether extraction from *E. pekinensis* ethanol extract were separated by silica gel column chromatography with petroleum ether-ethyl acetate(95:5-70:30, V/V) by gradient elution. The enriched fractions of euphol were collected. With the methanol repeated recrystallization, nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) method, mass spectrometry (MS) method and other spectroscopic methods were used to identify the chemical structures, and thin layer chromatography (TLC), UV, HPLC-UV, HPLC-MS were combined to detect the mass fraction. RESULTS: The mass fraction of euphol reference substance separated from *E. pekinensis* was>99%. CONCLUSIONS: The reference substance of euphol acquired by this method meet the relative requirements of the chemical reference substance in the content determination of TCM new drug quality standard. It provides chemical reference substance for the quality control of *E. pekinensis* and prescription preparations containing *E. pekinensis* and the basic research of effective substances.

**KEYWORDS** *Euphorbia pekinensis*; Euphol; Reference substance; Preparation

### 3.3 12批饮片的质量评价

根据相似度计算结果,12批青蒿饮片中有1批相似度过低,该分析结果与主成分分析和聚类分析结果相同,其余11批饮片之间相似性较高、差异性较小,化学成分种类和含量接近,间接说明重庆市售青蒿饮片质量总体较好。个别样品存在质量问题,这可能与青蒿药材的栽培、饮片加工和存放等多种因素有关,也不排除不法商贩以假充真,以次充好的可能性,具体原因有待深入研究。为解决此问题,相关部门仍应着重加大对青蒿药材种植,饮片加工、贮存方式的监督管理,以保证良好的药材、饮片供应。

(致谢:重庆市中药研究院中药种植研究所李隆云研究员对青蒿饮片进行了鉴别)

### 参考文献

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上

Δ 基金项目:国家中医药局公益性行业科研专项经费项目(No.200807039)

\* 博士,副研究员。研究方向:中药炮制原理。电话:0531-82949829。E-mail:xiuyunge@163.com

# 通信作者:研究员。研究方向:中药炮制原理与中药新药。电话:0531-82949829。E-mail:xingerx@163.com

海:上海科学技术出版社,1999:658-661.

- [2] 金美花.青蒿的药理作用与临床新用[J].现代医药卫生,2009,25(15):2352.
- [3] 丁小芬,胡红.青蒿治疗类风湿性关节炎的免疫药理作用[J].中国中医基础医学杂志,2006,12(1):75.
- [4] 呼文亮,姚丽,谢红,等.青蒿素抗肿瘤作用机制研究[J].中国药房,2008,19(36):2804.
- [5] 杨忠顺,李英.与青蒿素相关的1,2,4-三噁烷及臭氧化物的研究进展[J].药学报,2005,40(12):1057.
- [6] 尹海波,王吉华,涂秀文,等.老鹳草的HPLC指纹图谱及模式识别研究[J].中国药房,2014,25(27):2538.
- [7] 刘永锁,孟庆华,蒋淑敏,等.相似系统理论用于中药色谱指纹图谱的相似度评价[J].色谱,2005,23(2):158.
- [8] 白根本,王敏,彭玉帅,等.市售青蒿饮片的质量一致性的高效液相色谱指纹图谱法分析[J].时珍国医国药,2013,24(9):2283.
- [9] 雷欣潮,杨焕琪,赖茂祥,等.广西不同产区两面针HPLC指纹图谱研究[J].中草药,2012,43(5):1003.

(收稿日期:2015-01-07 修回日期:2015-04-12)

(编辑:余庆华)

京大戟系大戟科植物大戟 *Euphorbia peginensis* Rupr. 的干燥根,是临床常用的有毒中药,具有泻水逐饮、消肿散结的作用。为了分析京大戟的活性成分,本课题组对京大戟化学成分和毒性药效作用进行了系统的研究。有研究发现,京大戟中三萜类成分是其利尿作用的药效物质基础<sup>[1]</sup>。其中,大戟二烯醇的含量较大,质量分数约占1%。2010年版《中国药典》(一部)京大戟药材质量标准只收录了显微、化学法鉴别等方法。为此,本试验以京大戟为原料,采用硅胶柱色谱、凝胶色谱、重结晶等分离方法制备大戟二烯醇化学对照品并进行标准物质研究,以期对京大戟药材和含京大戟的成方制剂的质量控制及药效物质基础研究奠定基础。

## 1 材料

XT-4型双目显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司);500 MHz核磁共振波谱仪(瑞士Bruker公司,以四甲基硅烷为内标);2020型液质联用仪,包括LC-20 AD高压二元泵、SPD-M20A型二级管阵列检测器、SIL-20 AC型自动进样器、CTO-20 AC型柱温箱、LC-MS 2020型单级四极杆质谱、LC-Solution工作站(日本岛津公司);1100型高效液相色谱(HPLC)仪,包括G1361型高压二元泵、G1365 B型多波长检测器(美国Agilent公司)。

大戟二烯醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111866-201001,纯度:98.6%);石油醚、乙酸乙酯、正丁醇(天津市富宇精细化工有限公司,分析纯,批号分别为20140304、20140226、20140423),乙腈(天津市德恩化学试剂有限公司,色谱纯,批号:20140217),水为超纯水。色谱柱及薄层色谱(TLC)用硅胶(青岛海洋化工厂);聚酰胺板(浙江黄岩化工厂); $C_{18}$ 薄层色谱板及色谱柱用 $C_{18}$ (40~63  $\mu\text{m}$ )(德国Merck公司)。

京大戟药材采自山东省淄博市,经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为大戟科植物大戟 *E. peginensis* Rupr. 的干燥根。

## 2 方法与结果

### 2.1 原料处理

取京大戟药材10 kg,粉碎成粗粉,加入10倍量的95%乙醇,浸泡0.5 h,水浴回流提取1.5 h;后加入10倍量的95%乙醇,浸泡0.5 h,水浴回流提取1 h;再加入10倍量的95%乙醇,浸泡0.5 h,水浴回流提取0.5 h;合并醇提液,减压浓缩至浸膏状,加水溶解,分别用石油醚、乙酸乙酯及正丁醇萃取;取石油醚部位浓缩成浸膏(260 g),加硅胶拌样,上样于硅胶柱(200~300目),以石油醚-乙酸乙酯(95:5~70:30,  $V/V$ )梯度洗脱;取洗脱流份(9:1,  $V/V$ ),用TLC法进行鉴别。以石油醚-乙酸乙酯(9:1,  $V/V$ )为展开剂,展开,取出,晾干,喷以硫酸乙醇溶液显色,105  $^{\circ}\text{C}$ 加热5 min,结果显示,京大戟药材中含大戟二烯醇成分。合并大戟二烯醇富集流份,减压回收至干,得大戟二烯醇粗品(560 mg,纯度约78%)。

### 2.2 对照品的纯化

取大戟二烯醇粗品适量,加甲醇溶解,常温条件下反复重结晶,得到无色针状晶体,减压回收至干后置于恒温干燥箱

(60  $^{\circ}\text{C}$ )干燥24 h,得到无色针状晶体(120 mg)。

### 2.3 样品的检测

2.3.1 TLC鉴别 取“2.2”项下(共2批)大戟二烯醇自制品10 mg,加入甲醇5 ml,制成质量浓度为2 mg/ml的溶液,作为供试品溶液。另取大戟二烯醇对照品(批号:111866-201001)适量,加甲醇制成每1 ml含2 mg大戟二烯醇的溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各5  $\mu\text{l}$ ,分别点于同一硅胶G薄层色谱板上,以石油醚-乙酸乙酯(9:1,  $V/V$ )为展开剂,展开,取出,晾干,以硫酸乙醇溶液为显色剂,105  $^{\circ}\text{C}$ 加热5 min,置于日光下检视。结果,供试品色谱中,与对照品色谱相应位置显相同颜色的斑点,其余杂质无干扰。TLC图见图1。

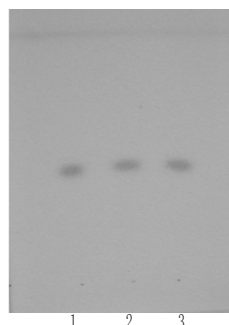


图1 大戟二烯醇的薄层色谱图

1~2.大戟二烯醇自制品;3.大戟二烯醇对照品

Fig 1 TLC identification of euphol

1-2.self-made products of euphol; 3.reference substance of euphol

2.3.2 HPLC-紫外(UV)法检测 取“2.2”项下大戟二烯醇自制品适量,加甲醇制成质量浓度为100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液。色谱柱:Benetnack  $C_8$ (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈-0.2%磷酸(83:17,  $V/V$ );流速:1.0 ml/min;检测波长:203 nm;柱温:30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:20  $\mu\text{l}$ 。理论板数以大戟二烯醇峰计不得少于4 000。精密称取大戟二烯醇对照品适量,加入甲醇制成质量浓度为0.4 mg/ml的对照品溶液,按上述色谱条件进样测定,记录色谱,详见图2。以峰面积归一化法计算大戟二烯醇质量分数为99.7%,符合中药新药质量标准含量测定用对照品的要求(纯度为98.0%以上)。

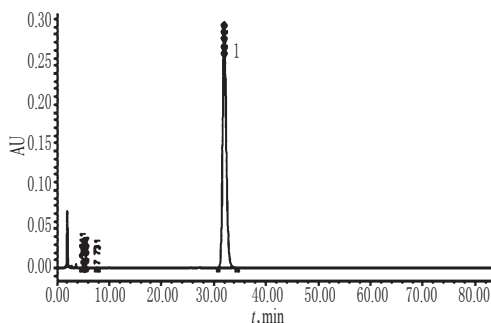


图2 大戟二烯醇的高效液相色谱图

1.大戟二烯醇

Fig 2 HPLC chromatograms of euphol

1.euphol

2.3.3 HPLC-质谱(MS)法检测 取“2.2”项下大戟二烯醇自制品适量,加甲醇配制质量浓度为100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液,精密吸取20  $\mu\text{l}$ ,使用液质联用仪进行检测。质谱条件:ESI源,负离子

模式,离子源电压4.5 V,采用总离子流(TIC)监测方式,扫描进样物质的TIC,扫描范围( $m/z$ )为50~2 000,扫描间隔0.5 s, HPLC-MS 质量分数检查图谱见图3。由图3可知,样品经HPLC柱分离,仅产生一个显著的离子峰,该离子峰经选择性离子监测发现其为负离子 $m/z$ 为426.7的化合物,未见其他离子峰。

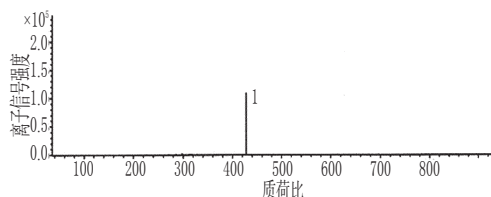


图3 大戟二烯醇的离子碎片

1.大戟二烯醇

Fig 3 Ion fragments of euphol

1.euphol

## 2.4 结构鉴定

本品为无色针状晶体,mp 115~117 °C (甲醇);ESI-MS 分子离子峰为425[M-H]<sup>-</sup>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.05 (1H, t, J=2.3 Hz, H-12)、3.23 (1H, dd, J=5.7, 10.35 Hz, H-3)、1.11 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>)、0.93 (3H, d, J=6.6 Hz)、0.89 (3H, s)、0.84 (3H, d, J=6.6 Hz)、0.79 (3H, s)、0.76 (3H, s)、0.73 (3H, s)。 <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 38.03 (C-1)、27.15 (C-2)、79.11 (C-3)、38.81 (C-4)、55.56 (C-5)、18.61 (C-6)、32.57 (C-7)、39.29 (C-8)、48.12 (C-9)、37.62 (C-10)、23.56 (C-11)、117.94 (C-12)、145.48 (C-13)、41.65 (C-14)、25.07 (C-15)、34.63 (C-16)、40.06 (C-17)、52.65 (C-18)、22.83 (C-19)、28.39 (C-20)、60.12 (C-21)、31.73 (C-22)、28.06 (C-23)、15.38 (C-24)、15.28 (C-25)、16.33 (C-26)、22.22 (C-27)、18.57 (C-28)、22.50 (C-29)、22.64 (C-30)。

以上光谱数据经与文献<sup>[2]</sup>对照,确定该化合物为大戟二烯醇(C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O)。

## 3 讨论

京大戟常用于胸膜炎积水、腹水型晚期血吸虫病、肝硬化

腹水及精神分裂症等,主产于湖南、江苏、山东等地,四川、福建、江西等地亦产<sup>[3-4]</sup>。

京大戟中主要含有三萜类、二萜类、黄酮类、生物碱、有机酸、鞣质、树脂胶和大戟色素A、B、C等成分,具有利尿、泻下、抗炎和抗肿瘤等药理作用。

本研究将大戟二烯醇作为京大戟的特征性指标成分并进行标准物质研究,专属性较强,制备方法简单可行,符合国家食品药品监督管理局颁布的“中药新药质量标准用对照品研究的技术要求”的相关规定,可为京大戟药材和含京大戟的成方制剂的质量控制及药效物质基础研究奠定基础<sup>[2,5-9]</sup>。

## 参考文献

- [1] 张乐林.京大戟炮制原理的初步研究[D].济南:山东中医药大学,2011.
- [2] 梁侨丽,戴传超,吴启南,等.京大戟的化学成分研究[J].中草药,2008,39(12):1 779.
- [3] 孟庆安,徐志尧,刘秀书.大戟用药品种的探讨[J].天津药学,2007,19(6):25.
- [4] 李伟,蔡霞,胡正海,等.大戟属药用植物的研究进展[J].中国野生植物资源,2008,27(5):1.
- [5] 宗倩倩,唐于平,沈祥春,等.大戟科中药材的毒性作用研究进展[J].南京中医药大学学报,2008,24(4):283.
- [6] 严亨波,肖新月,马双成,等.大戟科5种有毒中药材的活性成分及质量标准研究进展[J].中国药师,2007,10(6):544.
- [7] 姜文红,刘静,麻风华,等.京大戟石油醚提取部分化学成分的研究[J].中医药信息,2009,26(6):15.
- [8] 郭增军,左建峰.九牛造化化学成分研究[J].中药材,2007,30(4):412.
- [9] 葛秀允,孙立立,张乐林.醋制前后京大戟饮片石油醚部位的HPLC指纹图谱比较[J].中国药房,2013,24(39):3 691.

(收稿日期:2014-09-22 修回日期:2015-01-12)

(编辑:余庆华)

# 国家卫生计生委副主任崔丽出席省级卫生计生部门负责人健康促进领导力培训班

**本刊讯** 2015年8月24—25日,国家卫生计生委宣传司在京举办省级卫生计生部门负责人健康促进领导力培训班。来自全国31个省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团的省级卫生计生部门负责人及相关工作人员共40余人参加了此次培训。国家卫生计生委副主任崔丽出席培训班并讲话。

崔丽强调了健康促进工作的重大意义,充分肯定了近年来健康促进工作取得的成绩,分析了健康促进工作面临的形势和任务。要求从服务卫生计生工作大局、服务健康中国战略的高度,以筹办第九届全球健康促进大会为契机,加强与相关部门的协同配合,提高健康促进领导力,全面推进健康促进工作。

世界卫生组织驻华代表处总代表施贺德分享了对健康促进领导力的理解和看法。国家卫生计生委宣传司司长毛群安

介绍了第九届全球健康促进大会筹备进展。来自国务院研究中心、世界卫生组织驻华代表处、北京大学国家发展研究院、北京大学医学部等单位的专家就健康促进工作愿景与领导力、健康与经济社会发展、将健康融入所有政策、深化医改等内容进行授课。国外优秀案例介绍环节中,泰国吸烟与健康行动基金会秘书长Prakit Vthesatogkit分享了泰国控烟及健康促进经验,俄罗斯消费合作社联合会主席、卫生部顾问团成员Dmitriy Yannin分享了俄罗斯控烟立法的相关经验。

本次培训班旨在提升省级卫生计生部门负责人健康促进领导力,提高各省(区、市)健康促进工作能力。培训班采用参与式培训模式,充分调动了代表们的积极性,参会代表和授课教师进行了深入交流和探讨。培训班的举办将对下一阶段各地开展健康促进工作起到积极的推动作用。