

## RP-UPLC-PDA 法同时测定不同产地雷公藤饮片中 6 个活性成分\*

周国梁<sup>1,2</sup>, 宿树兰<sup>1\*\*</sup>, 尚尔鑫<sup>1</sup>, 钱大玮<sup>1</sup>, 段金厥<sup>1</sup>, 俞浩<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心 国家中医药管理局中药资源循环利用研究重点实验室 江苏省方剂高技术研究重点实验室, 南京 210023;

2. 安徽科技学院 生命与健康科学学院, 蚌埠 233100)

**摘要** 目的: 建立同时测定雷公藤饮片中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素 6 个活性成分 RP-UPLC-PDA 分析方法。方法: 雷公藤饮片采用乙酸乙酯超声提取, 甲醇溶解分离, 利用 RP-UPLC-PDA 法对其 6 个成分进行定量分析, 采用 Acquity™ UPLC BEH C<sub>18</sub> (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 柱温 30 °C, 以乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B) 为流动相, 进行梯度洗脱, 流速 0.4 mL · min<sup>-1</sup>, 进样量 2 μL。结果: 6 个活性成分在测定浓度范围内线性关系良好(0.999 2 ≤ r ≤ 0.999 7); 加样回收试验中平均回收率为 99.2%~103.1%, RSD 为 1.2%~2.9%。对 10 批不同产地雷公藤饮片进行含量测定, 结果显示不同产地饮片中成分含量具有差异性, 雷公藤甲素含量最高为 140.2 μg · g<sup>-1</sup>, 最低为 103.2 μg · g<sup>-1</sup>; 雷公藤内酯酮含量最高为 224.7 μg · g<sup>-1</sup>, 最低为 112.2 μg · g<sup>-1</sup>; 雷酚内酯含量最高为 306.7 μg · g<sup>-1</sup>, 最低为 189.6 μg · g<sup>-1</sup>; 雷公藤次碱含量最高为 283.2 μg · g<sup>-1</sup>, 最低为 211.2 μg · g<sup>-1</sup>; 雷公藤内酯甲含量最高为 31.2 μg · g<sup>-1</sup>, 最低为 16.8 μg · g<sup>-1</sup>; 雷公藤红素含量最高为 87.6 μg · g<sup>-1</sup>, 最低为 52.1 μg · g<sup>-1</sup>。结论: 建立 RP-UPLC-PDA 法能够同时测定雷公藤饮片中 6 个成分, 方法稳定, 结果可靠, 适用于雷公藤饮片定量分析测定。

**关键词:** 雷公藤饮片; 反相超高效液相色谱-二极管阵列检测法; 不同产地; 雷公藤甲素; 雷公藤内酯酮; 雷酚内酯; 雷公藤次碱; 雷公藤内酯甲; 雷公藤红素; 定量分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)07-1137-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2023-0298

## Determination of six active components in Tripterygii Radix from different habitats by RP-UPLC-PDA\*

ZHOU Guo-liang<sup>1,2</sup>, SU Shu-lan<sup>1\*\*</sup>, SHANG Er-xing<sup>1</sup>,QIAN Da-wei<sup>1</sup>, DUAN Jin-ao<sup>1</sup>, YU Hao<sup>2</sup>

(1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. College of Life and Health Science, Anhui Science and Technology University, Bengbu 233100, China)

**Abstract Objective:** To establish the RP-UPLC-PDA method for simultaneous determination of triptolide,

\* 国家自然科学基金面上项目(81973708); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX23\_2044); 南京中医药大学康缘学院创新创业项目(kyxyc19); 安徽省教育厅自然科学基金项目(KJ2021A0882); 安徽科技学院校级自然项目(2021zryb22)

\*\* 通信作者 Tel: (025)85811917; E-mail: sushulan@njucm.edu.cn

第一作者 Tel: (025)85811916; E-mail: zhoughuoliang96@163.com

triptonide, triptophenolide, wilforine, wilforlide A and celastrol in *Tripterygii Radix*. **Methods:** *Tripterygii Radix* were extracted with ethyl acetate and the extracts were dissolved and separated by methanol. The six components were determined by RP-UPLC-PDA method. The chromatographic column was Acquity™ UPLC BEH C<sub>18</sub> column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), the column temperature was 30 °C, the injection volume was 2 μL, the flow rate was 0.4 mL · min<sup>-1</sup> and the mobile phase was acetonitrile (A) - 0.1% formic acid (B). **Results:** The linear relationship of six components was good ( $0.9992 \leq r \leq 0.9997$ ) in the concentration ranges. The average recoveries were 99.2% - 103.1% and RSDs were 1.2% - 2.9%. The contents in 10 batches of *Tripterygii Radix* from different habitat were determined. The results showed that the contents of *Tripterygii Radix* in prepared pieces from different producing areas were different. The highest content of triptolide was 140.2 μg · g<sup>-1</sup>, and the lowest content was 103.2 μg · g<sup>-1</sup>. The highest content of triptonide was 224.7 μg · g<sup>-1</sup> and the lowest content was 112.2 μg · g<sup>-1</sup>. The highest content of triptophenolide was 306.7 μg · g<sup>-1</sup> and the lowest content was 189.6 μg · g<sup>-1</sup>. The highest and lowest contents of wilforine were 283.2 μg · g<sup>-1</sup> and 211.2 μg · g<sup>-1</sup>. The highest content of wilfhabit was 31.2 μg · g<sup>-1</sup> and the lowest content was 16.8 μg · g<sup>-1</sup>. The highest content of celastrol was 87.6 μg · g<sup>-1</sup>, and the lowest content was 52.1 μg · g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The RP-UPLC-PDA method can simultaneously determine six components in *Tripterygii Radix*. The method is reliable and stable, which is suitable for quantitative analysis and determination of *Tripterygii Radix*.

**Keywords:** *Tripterygii Radix*; RP-UPLC-PDA method; different origin; triptolide; triptonide; triptophenolide; wilforine; wilfhabit; celastrol; quantitative analysis

雷公藤来源于卫矛科雷公藤属植物雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 的干燥根,其味苦,有大毒,具有活血化瘀、消肿止痛、祛风通络、舒筋活血、杀虫止血等功效<sup>[1]</sup>,在临床上主要用于风湿性关节炎、糖尿病肾病、紫癜性肾炎、系统性红斑狼等疾病的治疗<sup>[2]</sup>。雷公藤药材中主要活性成分为二萜内酯类、生物碱类及三萜类化合物,但它们同时又是毒性成分<sup>[3]</sup>。根据2012年国家药品不良反应监测中心报告,自2004年1月到2011年9月,我国共报道雷公藤839例不良反应事件。2004—2019年河南省雷公藤制剂不良反应事件分析表明,有关雷公藤制剂不良反应报道203例<sup>[4]</sup>。雷公藤饮片虽在临床上应用广泛,但在市场上不同来源、产地、加工及储存方法等差异性,导致饮片质量亦有所不同<sup>[5]</sup>,进而对其安全使用存在严重影响<sup>[6]</sup>。目前,对于雷公藤药材的质量评价主要集中在对有效成分雷公藤甲素及雷公藤红素的定量分析<sup>[7]</sup>,但单一成分定量分析不能全面反映药材质量,因此,本研究运用RP-UPLC-PDA法对不同产地雷公藤饮片中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内

酯甲、雷公藤红素6个成分含量进行测定,以期为临床安全有效用药进一步研究提供实验依据。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Waters 2695型UPLC色谱仪,2998 PDA检测器,Empower色谱工作站(Waters公司);MS-105DU电子天平(十万分之一,梅特勒-托利多仪器有限公司);KQ-500DE数控超声仪(昆山舒美超声仪器有限公司);7310040型CentriVap离心浓缩机(Labconco公司)。

### 1.2 试药

乙腈、甲醇均为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为实验室自制超纯水。对照品雷公藤甲素(质量分数≥98%,批号Y29S9H71524)、雷公藤内酯酮(质量分数≥98%,批号P20S10P96113)、雷公藤内酯甲(质量分数≥98%,批号J29HB186695),上海源叶生物科技有限公司;雷酚内酯(质量分数≥98%,批号21040802)、雷公藤次碱(质量分数≥98%,批号21081001)、雷公藤红素(质量分数≥98%,批号20221407),成都普菲德生物有限公司。试验用饮片购买公司、产地及药材来源见表1。

表1 雷公藤饮片来源与鉴定  
Tab.1 Source and identification of Tripterygii Radix

样品编号 (sample No.)	样品来源 (sample source)	药材基原 (origin of medicinal material)	产地 (habitat)	批号 (batch number)
S1	苏州天灵中药饮片有限公司 (Suzhou Tianling Traditional Chinese Medicine Slicing Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	江苏 (Jiangsu)	20220113
S2	安徽沪淮医药有限公司 (Anhui Huoqiao Pharmaceutical Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	安徽 (Anhui)	20220319
S3	四川省中药饮片有限责任公司 (Sichuan Traditional Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	四川 (Anhui)	20210917
S4	江西齐仁堂中药饮片有限公司 (Jiangxi Qirentang Herbal Decoction Pieces Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	江西 (Jiangxi)	20211018
S5	昆明福林堂中药饮片有限公司 (Kunming Fulintang Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	云南 (Yunnan)	20220416
S6	广州白云山中药饮片有限公司 (Guangzhou Baiyun Mountain Traditional Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	江西 (Jiangxi)	20210817
S7	湖南松龄堂中药饮片有限公司 (Hunan Songlingtang Traditional Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	湖南 (Hunan)	20220413
S8	安徽和济堂中药饮片有限公司 (Anhui Hejitang Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	安徽 (Anhui)	20220517
S9	江西国都中药饮片有限公司 (Jiangxi Capital Traditional Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	江西 (Jiangxi)	20211016
S10	湖南南国药都中药饮片有限公司 (Hunan Nanguo Medicinal Capital Traditional Chinese Medicine Slices Co., Ltd.)	雷公藤 ( <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.)	湖南 (Hunan)	20220618

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液** 分别精密称定雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素的对照品适量,用甲醇配成质量浓度分别为 1.12、1.15、1.32、1.27、1.16、1.17 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品储备液。分别精密吸取上述对照品储备液各 1.0 mL,置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 将不同饮片样品在 60 ℃ 烘箱中干燥后,粉碎过 10 目筛网备用。精密称取各组药材样品粉末 0.5 g,分别放置在带塞的三角瓶中,加入乙酸乙酯 50 mL 后超声(500 W,50 kHz) 3 h,4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后吸取上清液,置离心浓缩机上挥去乙酸乙酯,精密加入甲醇 50 mL,超声(500 W,50 kHz) 1 h 后浓缩至 0.5 mL,吸取溶液过 0.22 μm 有机微孔滤膜,即得<sup>[8]</sup>。

### 2.2 色谱条件

采用 Acquity™ UPLC BEH C<sub>18</sub> (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱,柱温 30 ℃,流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>,以乙腈(A) - 0.1% 甲酸水(B)为流动相,进行

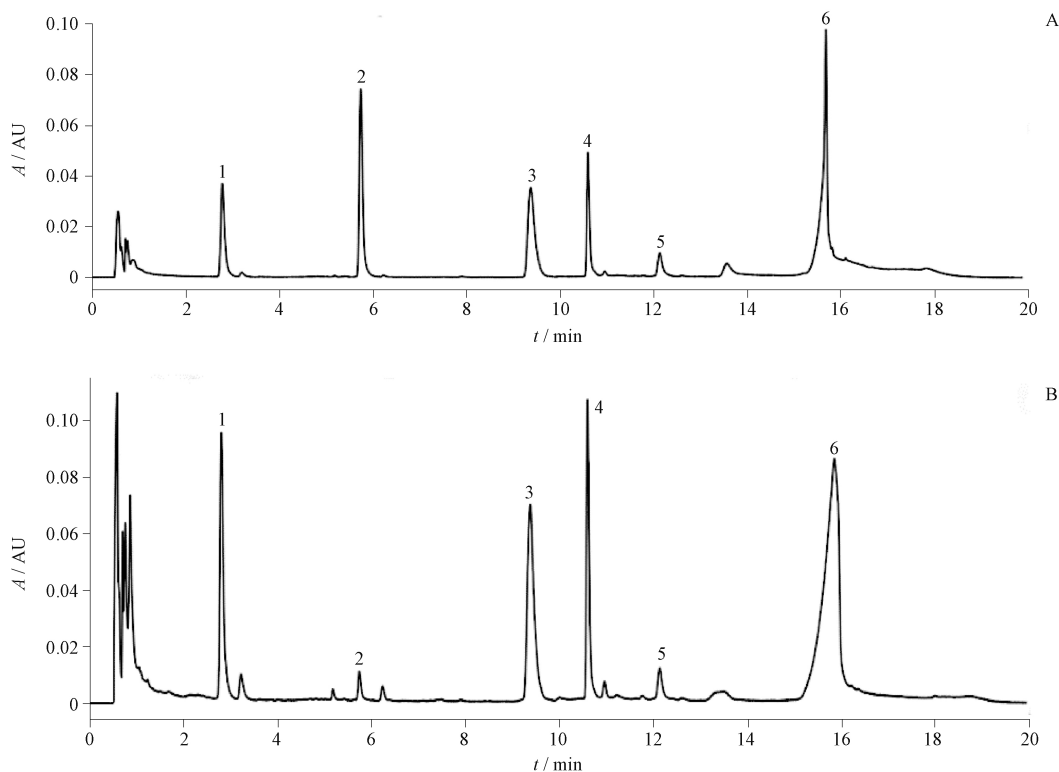
梯度洗脱(0 ~ 3 min,28% A;3 ~ 4 min,28% A→40% A;4 ~ 7 min,40% A;7 ~ 9 min,40% A→45% A;9 ~ 14 min,45% A→60% A;14 ~ 18 min,60% A→80% A;18 ~ 20 min,80% A→28% A),检测波长 240 nm,进样 2 μL。

### 2.3 系统适用性试验

取混合对照品溶液,按照“2.2”项条件连续进样 6 次,记录色谱图,依法测定峰面积。6 次进样的雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素峰面积的 RSD 分别为 0.23%、0.42%、0.25%、0.21%、0.43% 和 0.18%,理论塔板数均 ≥ 10<sup>3</sup>,表明系统适用性试验符合要求。

### 2.4 专属性考察

取混合对照品溶液、供试品溶液各 2 μL,分别注入 UPLC 色谱仪,记录色谱图,见图 1。由图 1 可知,在建立的色谱条件下,雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素的保留时间分别为 2.734、5.796、9.380、10.604、12.140、15.687 min,各成分峰与相邻峰之间分离度均 ≥ 1.5,表明各峰之间无相互干扰,符合定量分析要求,待测成分和其他成分达到了完全分离。



1. 雷公藤甲素 (triptolide) 2. 雷公藤内酯酮 (triptonide) 3. 雷酚内酯 (triptophenolide) 4. 雷公藤次碱 (wilforine) 5. 雷公藤内酯甲 (wilforlide) 6. 雷公藤红素 (celastrol)

图 1 混合对照品 (A) 和雷公藤饮片 (B) 的 RP-UPLC 图谱

Fig. 1 RP-UPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and Tripterygii Radix (B)

## 2.5 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 分别置 5.0 mL 量瓶中, 以甲醇定容, 分别按照“2.2”项条件进样分析, 记录色谱图并依法测定各峰

面积, 以峰面积积分值 ( $A$ ) 为纵坐标, 进样浓度 ( $C$ ,  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标, 得到回归方程、相关系数及线性范围, 同时将混合对照品溶液进行梯度稀释, 以信噪比  $\geq 10$  时测得的浓度为待测成分定量限, 结果见表 2。

表 2 6 个成分的线性关系考察

Tab. 2 Results of liner relationships for six components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	$r$	线性范围 (linear range) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	定量限 (LOQ) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
雷公藤甲素 (triptolide)	$A = 2\ 005C + 20\ 266$	0.999 7	11.20 ~ 56.00	0.5
雷公藤内酯酮 (triptonide)	$A = 2\ 667.8C + 33\ 240$	0.999 6	11.50 ~ 58.50	0.8
雷酚内酯 (triptophenolide)	$A = 5\ 627.2C + 17\ 389$	0.999 2	13.20 ~ 66.00	0.6
雷公藤次碱 (wilforine)	$A = 2\ 295C + 22\ 471$	0.999 2	12.70 ~ 63.50	0.5
雷公藤内酯甲 (wilforlide)	$A = 689.3C + 7\ 832.9$	0.999 6	11.60 ~ 58.00	0.9
雷公藤红素 (celastrol)	$A = 7\ 211.9C + 52\ 892$	0.999 4	11.70 ~ 58.50	0.8

## 2.6 精密度试验

精密吸取各对照品储备液适量, 按照“2.2”项条件连续进样 6 次进行分析, 记录色谱图并依法测定

雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素色谱峰面积, 计算得 RSD 分别为 2.3%、2.7%、3.0%、2.7%、2.5%、2.1%, 表

明仪器精密良好。

### 2.7 稳定性试验

取 S1 号样品的供试品溶液, 分别于制备后每隔 4 h 按照“2.2”项条件进样分析 1 次, 共 6 次, 记录色谱图并依法测定各峰面积, 结果表明雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素峰面积的 RSD 分别为 2.1%、2.8%、1.7%、1.1%、2.0%、1.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.8 重复性试验

按“2.1.2”项下方法制备 6 份 S1 号样品的供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图并依法测定各峰面积, 并计算雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公

藤红素的平均含量 ( $n = 6$ ) 分别为 126.7、205.3、284.0、270.9、26.1、60.6  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD<sup>[9]</sup> 分别为 1.2%、1.4%、2.7%、1.7%、1.9%、1.4%。表明方法重复性良好。

### 2.9 加样回收试验

精密称定 6 份 S1 号样品粉末 0.25 g。根据已测知的含量, 分别精密吸取对照品储备液雷公藤甲素 283  $\mu\text{L}$ 、雷公藤内酯酮 446  $\mu\text{L}$ 、雷酚内酯 538  $\mu\text{L}$ 、雷公藤次碱 533  $\mu\text{L}$ 、雷公藤内酯甲 56  $\mu\text{L}$ 、雷公藤红素 130  $\mu\text{L}$ , 混合均匀后加入上述的样品粉末中, 按“2.1.2”项下方法制备供试溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定 6 个成分的量, 每个溶液重复进样测定 6 次, 计算加样回收率及 RSD<sup>[10]</sup>, 结果见表 3。

表 3 加样回收试验及结果 ( $n = 6$ )

Tab. 3 The results of recovery test

成分 (component)	样品含量 (content)/ng	加入量 (added)/ng	测定总量 (measured)/ng	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
雷公藤甲素 (triptolide)	31.675	31.696	63.75	101.2	99.9	1.5
	31.675	31.696	63.96	101.9		
	31.675	31.696	62.82	98.3		
	31.675	31.696	63.18	99.4		
	31.675	31.696	62.86	98.4		
	31.675	31.696	63.38	100.0		
雷内酯酮 (triptonide)	51.325	51.29	101.93	98.7	99.8	1.4
	51.325	51.29	103.51	101.7		
	51.325	51.29	102.55	99.9		
	51.325	51.29	103.17	101.1		
	51.325	51.29	102.5	99.8		
	51.325	51.29	101.52	97.9		
雷酚内酯 (triptophenolide)	71.0	71.016	141.12	98.7	99.8	1.5
	71.0	71.016	143.83	102.6		
	71.0	71.016	141.34	99.1		
	71.0	71.016	140.98	98.5		
	71.0	71.016	142.47	100.6		
	71.0	71.016	141.69	99.5		
雷公藤次碱 (wilforine)	67.725	67.691	134.34	98.4	99.2	1.3
	67.725	67.691	135.14	99.6		
	67.725	67.691	136.34	101.4		
	67.725	67.691	134.02	97.9		
	67.725	67.691	135.14	99.6		
	67.725	67.691	134.31	98.4		
雷公藤内酯甲 (wilforlide)	6.525	6.496	12.89	97.9	101.0	2.9
	6.525	6.496	13.26	103.7		

表 3(续)

成分 (component)	样品含量 (content)/ng	加入量 (added)/ng	测定总量 (measured)/ng	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
雷公藤红素(celastrol)	6.525	6.496	12.98	99.4	103.3	1.2
	6.525	6.496	13.03	100.1		
	6.525	6.496	12.96	99.1		
	6.525	6.496	13.38	105.5		
	15.15	15.21	30.66	101.9		
	15.15	15.21	30.98	104.1		
	15.15	15.21	30.87	103.4		
	15.15	15.21	31.08	104.7		
	15.15	15.21	30.62	101.7		
	15.15	15.21	30.97	104.0		

### 2.10 样品含量测定

取 10 批不同产地样品, 每批样品分别按照“2.1.2”项方法平行制备 3 份供试品溶液, 按照“2.2”项条件注入 UPLC 色谱仪中进行分析, 记录

色谱图并依法测定各峰面积, 根据外标法计算样品中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素含量, 结果见表 4。

表 4 雷公藤不同饮片含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab. 4 Content determination results of different samples of Tripterygii Radix

样品编号 (sample No.)	含量(content)/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )					
	雷公藤甲素 (triptolide)	雷公藤内酯酮 (triptonide)	雷酚内酯 (triptophenolide)	雷公藤次碱 (wilforine)	雷公藤内酯甲 (wilforlide)	雷公藤红素 (celastrol)
S1	126.7 ± 2.5	205.3 ± 4.3	284.0 ± 5.3	270.9 ± 5.2	26.1 ± 0.48	60.6 ± 1.2
S2	130.3 ± 2.6	112.2 ± 2.2	306.7 ± 6.1	283.2 ± 5.4	28.9 ± 0.56	87.6 ± 1.8
S3	105.6 ± 2.1	185.4 ± 3.7	189.6 ± 3.6	231.2 ± 4.4	18.7 ± 0.39	56.3 ± 1.1
S4	132.5 ± 2.7	224.7 ± 4.6	293.8 ± 5.6	268.9 ± 5.2	31.2 ± 0.63	83.2 ± 1.7
S5	128.4 ± 2.6	221.1 ± 4.4	272.4 ± 5.5	275.6 ± 5.4	16.8 ± 0.36	73.4 ± 1.5
S6	103.2 ± 2.1	212.3 ± 4.1	192.4 ± 3.7	211.2 ± 4.1	27.3 ± 0.55	52.1 ± 1.0
S7	140.2 ± 2.8	118.6 ± 2.3	276.3 ± 5.4	276.5 ± 5.7	26.8 ± 0.54	78.4 ± 1.6
S8	131.6 ± 2.6	125.8 ± 2.2	298.9 ± 5.3	273.7 ± 5.4	27.0 ± 0.51	82.9 ± 1.7
S9	125.7 ± 2.5	213.2 ± 4.3	283.6 ± 5.4	279.3 ± 5.6	28.8 ± 0.58	81.6 ± 1.8
S10	138.9 ± 2.8	194.4 ± 3.3	269.8 ± 5.4	268.7 ± 5.4	28.4 ± 0.57	79.6 ± 1.7

## 3 讨论

### 3.1 提取方法的选择

本试验过程中考察了回流提取法及超声提取法对雷公藤中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素 6 个成分含量测定的影响<sup>[11]</sup>, 结果发现回流提取法能够提高测定结果, 但是提取溶液比较浑浊, 后期需要再离心分离, 严重影响了对样品中成分的精确定量分析, 故本试验采用超声提取法。

### 3.2 提取溶剂的选择

本试验过程中曾经采用甲醇、乙醇、正丁醇、乙酸乙酯、三氯甲烷对雷公藤中的 6 个成分提取率进行比较, 结果发现甲醇、乙醇、正丁醇提取成分含量均较低, 三氯甲烷对雷公藤次碱提取率较高, 但是对于其余成分提取率相对较低, 因此综合考虑, 本试验采用乙酸乙酯作为提取溶剂。

### 3.3 测定波长的选择

本试验中分别测定了雷公藤甲素、雷公藤内酯

酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素的最大吸收波长,结果分别为 220、223、230、270、210、430 nm,综合考虑各化合物最大吸收波长以及样品中各成分含量差异性关系,最终选择 240 nm 为测定波长。

### 3.4 流动相的选择

本试验分别考察了乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.3%磷酸水溶液、甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.3%甲酸水溶液等多种流动相体系梯度洗脱溶剂,结果表明乙腈-0.1%甲酸水溶液及乙腈-0.3%甲酸水溶液梯度洗脱效果均较好,色谱图基线稳定,6个成分均达到了完全分离,但考虑到流动相强酸性对分离柱的影响,因此本实验最终采用乙腈-0.1%甲酸水溶液作为梯度洗脱溶剂。

### 3.5 雷公藤饮片加工工艺选择

雷公藤全植物毒性较强,尤其在肝毒性方面最为显著<sup>[12]</sup>,并且毒性在植物不同部位分布具有差异性<sup>[13-14]</sup>,依照中药传统临床使用要求,雷公藤主要为根部入药,根据 2018 年至 2022 年安徽、江苏、湖北、湖南等地方《中药材质量标准》及《中药饮片炮制加工标准》,雷公藤饮片加工中需要把根部除去皮质部后,再切成厚片作为饮片使用。现代药理分析已经证明<sup>[15]</sup>,分别采用雷公藤根皮质部、全根及根木质部水煎液对小鼠腹腔注射,全根水提取物 LD<sub>50</sub>为 1.3 g·kg<sup>-1</sup>(相当于 24.6 g 生药),雷公藤根木质部水提取物 LD<sub>50</sub>为 1.9 g·kg<sup>-1</sup>(相当于 37.0 g 生药),雷公藤根皮质部水提取物 LD<sub>50</sub>为 0.7 g·kg<sup>-1</sup>(相当于 12.5 g 生药),表明根皮质部毒性较强,因此临床采用雷公藤木质部作为药用部位,便于控制剂量,同时提高了临床使用的安全性,本实验中分析的饮片均为除去根皮质部后的木质部饮片。

## 4 结论

本试验建立了 RP-UPLC-PDA 法测定雷公藤饮片中 6 个成分含量,并对 10 批不同产地样品进行含量测定,结果表明不同厂家、不同产地饮片中成分含量具有差异性,雷公藤甲素含量最高为 140.2 μg·g<sup>-1</sup>,最低为 103.2 μg·g<sup>-1</sup>;雷公藤内酯酮含量最高为 224.7 μg·g<sup>-1</sup>,最低为 112.2 μg·g<sup>-1</sup>;雷酚内酯含量最高为 306.7 μg·g<sup>-1</sup>,最低为 189.6 μg·g<sup>-1</sup>;雷公藤次碱含量最高为 283.2 μg·g<sup>-1</sup>,最低为

211.2 μg·g<sup>-1</sup>;雷公藤内酯甲含量最高为 31.2 μg·g<sup>-1</sup>,最低为 16.8 μg·g<sup>-1</sup>;雷公藤红素含量最高为 87.6 μg·g<sup>-1</sup>,最低为 52.1 μg·g<sup>-1</sup>。

本检测条件下测定成分稳定,各成分含量范围波动较小,检测方法方便可行,准确可靠,可有效用于雷公藤饮片中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷酚内酯、雷公藤次碱、雷公藤内酯甲、雷公藤红素 6 个成分的质量控制。

## 参考文献

- [1] 姚会婷, 苏凤艳, 姚慧敏. RP-HPLC 法同时测定五加参口服液中 10 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(2): 201  
YAO HT, SU FY, YAO HM, et al. Simultaneous determination of 10 components in Wujiashen oral liquid by RP-HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2023, 43(2): 201
- [2] 陈殊, 刘莉, 蒋红霞, 等. 雷公藤药理与毒理机制代谢组学研究进展[J]. 海峡药学, 2022, 34(2): 1  
CHEN S, LIU L, JIANG HX, et al. Advances in pharmacology and toxicological mechanisms of *Tripterygium wilfordii* based on metabolomics[J]. Strait Pharm J, 2022, 34(2): 1
- [3] 薛琼, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤化学成分及其毒性研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 726  
XUE J, JIA XB, TAN XB, et al. Chemical constituents of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. and its toxicity[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2010, 25(5): 726
- [4] 张玉萌, 朱丽萍. 雷公藤制剂致肝毒性、生殖毒性和血液系统毒性不良反应回顾性分析[J]. 中国药物应用与监测, 2014, 11(3): 173  
ZHANG YM, ZHU LP. Retrospective analysis on hepatotoxicity, reproductive toxicity and hematotoxicity caused by *Tripterygium wilfordii* preparations[J]. Chin J Drug Appl Monit, 2014, 11(3): 173
- [5] 龚泽丹, 刘三波, 龚达林, 等. 氮磷钾配施对不同年限雷公藤根鲜重和甲素含量的影响[J]. 中药材, 2021, 44(8): 1801  
GONG ZD, LIU SB, GONG DL, et al. Effects of combined application of nitrogen, phosphorus and potassium on fresh weight and triptolide content in roots of *Tripterygium wilfordii* with different growth years[J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(8): 1801
- [6] 陈海兰, 徐伟, 沙玫, 等. 不同产地雷公藤与南蛇藤中雷公藤红素的含量测定[J]. 海峡药学, 2020, 32(10): 57  
CHEN HL, XU W, SHA M, et al. Determination of celastrol in *Tripterygium wilfordii* Hook. f. and *Celastrus orbiculatus* Thunb. from different habitats[J]. Strait Pharm J, 2020, 32(10): 57
- [7] 高丽, 聂中标, 岳晓华, 等. 不同产地雷公藤药材中雷公藤甲素含量测定[J]. 山西中医, 2012, 28(8): 42  
GAO L, NIE ZB, YUE XH, et al. Assaying triptolide in *Tripterygium wilfordii* in different habitat[J]. Shanxi J Tradit Chin Med, 2012, 28(8): 42

- [ 8 ] 姬翔宇, 张子雯, 陈姿伊, 等. 一测多评法同时测定雷公藤药材及制剂雷公藤多苷片中 7 个质控成分[J]. 中草药, 2022, 53(17): 5338  
JI XY, ZHANG ZW, CHEN ZY, *et al.* Simultaneous quantitative determination of seven components in *Tripterygium wilfordii* herbs and preparations of *Tripterygium wilfordii* polyglycosides tablets by QAMS method[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(17): 5338
- [ 9 ] 周燕青, 刘永红, 李艳婷, 等. HPLC - PDA 测定黄楠树叶提取液中绿原酸和芦丁的含量[J]. 中国药学(英文版), 2023, 32(1): 45  
ZHOU YQ, LIU YH, LI YT, *et al.* Determination of chlorogenic acid and rutin in extractive solution of *Ficus virens* leaves by HPLC - PDA[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2023, 32(1): 45
- [ 10 ] 彭平, 杜菁, 王志斌, 等. 基于 UPLC - PDA 色谱法的同仁大活络丸质量控制方法研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(4): 590  
PENG P, DU J, WANG ZB, *et al.* Study on the quality control method of Tongren Dahuoluo pills based on UPLC - PDA chromatography[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(4): 590
- [ 11 ] 张璐, 史国富. 超声提取雷公藤中雷公藤甲素的提取工艺研究[J]. 山西中医学院学报, 2014, 15(3): 35  
ZHANG L, SHI GF. Study on extraction process of triptolide in *Tripterygium wilfordii* by ultrasonic extraction[J]. *J Shanxi Coll Tradit Chin Med*, 2014, 15(3): 35
- [ 12 ] 周国梁, 宿树兰, 华永庆, 等. 雷公藤肝毒性机制及配伍减毒研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(24): 8263  
ZHOU GL, SU SL, HUA YQ, *et al.* Research progress on hepatotoxicity mechanism and attenuated compatibility of *Tripterygium wilfordii*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(24): 8263
- [ 13 ] 江静, 杨臣. 不同部位、来源雷公藤药材的雷公藤红素含量比较[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(5): 65  
JIANG J, YANG C. Comparison on content of tripteryrin from different parts and sources upon *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. *Asia Pac Tradit Med*, 2019, 15(5): 65
- [ 14 ] 张奉芬, 房克慧, 阮洪生, 等. 不同产地、不同部位雷公藤药材中挥发性成分 GC - MS 分析[J]. 现代中药研究与实践, 2021, 35(4): 11  
ZHANG FS, FANG KH, RUAN HS, *et al.* GC - MS analysis of volatile oil from *Tripterygium wilfordii* of different origin and parts [J]. *Res Pract Chin Med*, 2021, 35(4): 11
- [ 15 ] 肖百全, 雷夏凌, 柳璐, 等. 雷公藤根不同部位提取物急性毒性比较研究[C]//第六届全国药物毒理学年会论文集. 重庆: 中国毒理学会遗传毒理专业委员会, 2016: 113  
XIAO BQ, LEI XL, LIU L, *et al.* Comparative Study on acute toxicity of extracts from different parts of *Tripterygium wilfordii* root [C]//Proceedings of the 6th National Annual Meeting of Drug Toxicology. Chongqing: Genetic Toxicology Professional Committee of The Chinese Society of Toxicology, 2016:113

(本文于 2024 年 6 月 16 日修改回)