

## 雷公藤属植物及其制剂定性定量研究进展

高芳<sup>1,2</sup>, 张小梅<sup>2</sup>, 陈一龙<sup>2</sup>, 姚媛媛<sup>2</sup>, 梁旭明<sup>2</sup>, 何英蒙<sup>1</sup>, 杨大坚<sup>2</sup>, 励娜<sup>2\*</sup><sup>1</sup>重庆邮电大学 生物信息学院; <sup>2</sup>重庆市中药研究院, 重庆 400065

**摘要:**雷公藤属药用植物在我国有雷公藤、昆明山海棠和东北雷公藤三种。该属植物中的生物碱和萜类活性成分具有免疫调节、抗炎、抗肿瘤等药理作用, 临床应用广泛, 已成为国内外学者研究的热点之一。该综述以雷公藤属植物及其制剂中活性成分的定性定量研究进展为中心进行综述, 以期对相关研究提供参考。

**关键词:**雷公藤属植物; 活性成分; 定性分析; 定量分析; 综述

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.S.035

## Research Progress on Qualitative and Quantitative Analysis of Plants and Preparations on *Tripterygium* Hook.

GAO Fang<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiao-mei<sup>2</sup>, CHEN Yi-long<sup>2</sup>, YAO Yuan-yuan<sup>2</sup>,LIANG Xu-ming<sup>2</sup>, HE Ying-meng<sup>1</sup>, YANG Da-jian<sup>2</sup>, LI Na<sup>2\*</sup><sup>1</sup>School of Bio-information of Chongqing University of Posts and Telecommunications;<sup>2</sup>Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

**Abstract:** There are three species in medicinal plant of *Tripterygium* Hook. f., including *Tripterygium wilfordii* Hook. f., *Tripterygium hypoglaucom* (Levl.) Hutch and *Tripterygium regellii* Sprague et Takeda. As the principal active ingredients in the *Tripterygium* Hook. f., alkaloids and terpenoids have anti-immune, anti-inflammatory, anti-tumor and other pharmacological effects, which have widely used in clinical practice. The medicinal plant of *Tripterygium* Hook. f. has been a hot topic for scholars worldwide. Here is to make a review for the research progress on the qualitative and quantitative analysis of plants and preparation in *Tripterygium* Hook. f., to provide a reference for related research.

**Key words:** *Tripterygium* Hook. f.; active ingredients; qualitative analysis; quantitative analysis; summary

我国境内现有的雷公藤属植物 (*Tripterygium* Hook. f.) 有三种, 分别为雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)、昆明山海棠 (*Tripterygium hypoglaucom* (Levl.) Hutch) 和东北雷公藤 (*Tripterygium regellii* Sprague et Takeda)<sup>[1]</sup>。雷公藤属植物被各地沿用的别名很多: 雷公藤最早载于东汉时期的《神农本草经》, 名莽草, 在《本草纲目拾遗》中, 又名断肠草、山砒霜和南蛇藤<sup>[2]</sup>; 昆明山海棠在明代《本草纲目》中被收载, 又名火把花、紫金皮、六方藤、紫荆皮、紫荆藤<sup>[3]</sup>、掉毛草、红毛山藤等, 民间也有断肠草之称; 东北雷公藤, 也称黑蔓。雷公藤属药物沿用历史悠久, 为我国传统中药材, 全属植物药味均辛苦、微温且大毒, 归肝、脾、肾经, 有祛风湿、消肿镇痛、清热

解毒、舒经活络、活血化瘀、利水消肿、杀虫止血解毒等功效。

现代药理研究表明, 雷公藤属三个种植物提取物中的活性成分(生物碱、二萜类及三萜类化合物等)均有免疫调节、抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗过敏、抗 HIV 病毒、抗生育作用等多种药理活性<sup>[4,5]</sup>。其中, 雷公藤在类风湿性关节炎的治疗中有显著效果, 还可治疗各种肾病, 如原发或继发性肾病综合症、慢性肾小球肾炎、IgA 肾病, 以及甲状腺疾病、风湿病、结缔组织疾病、躯体神经性疼痛、系统性红斑狼疮、重型支气管哮喘、激素依赖型阿司匹林性哮喘、多发性大动脉炎、春季结膜炎和一些皮肤病<sup>[6-8]</sup>等; 昆明山海棠在治疗肿胀、发热、寒战、疮痍、感染、跌打骨折、半身不遂、出血不止、风湿痹痛等症状中有较好效果; 东北雷公藤则主要治疗瘰疬、黄疸、跌打损伤、膨胀水肿、皮肤瘙痒、头癣和毒蛇咬伤等。Feng-Qiao Li 等<sup>[9]</sup>通过实验还证明雷公藤甲素可能存在

收稿日期: 2016-07-15 接受日期: 2016-09-29

基金项目: 重庆市应用开发计划(重大)(cstc2014yyk fC10005); 重庆市科委应用开发(重大)项目(cstc2013jcsf10011); 重庆市卫生计生委中医药科技项目(ZY201601011)

\* 通讯作者 Tel: 86-23-89029055, E-mail: lina@cqacmm.com

治疗帕金森病的潜力。

本文通过大量的文献考证,从雷公藤属植物的活性成分及定性定量分析等方面综述其研究进展,旨在为雷公藤属植物物质基础研究、量毒量效关系、制剂开发以及临床用药安全等方面研究提供一定数据参考。

## 1 雷公藤属植物的活性成分研究进展

1936年赵承暇<sup>[10]</sup>首次从雷公藤根部提取到雷公藤红素(又名南蛇藤素)。此后,越来越多的学者在雷公藤活性成分的研究进展中做出了不可小觑的贡献。雷公藤属药用植物成分复杂,其主要活性成分为生物碱类、二萜类和三萜类化合物。药理研究及临床证明,雷公藤生物碱具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤、抑制雄性生育、抗艾滋病、杀虫等作用<sup>[5]</sup>。雷公藤生物碱类成分主要包括:倍半萜类生物碱、眯类生物碱、卫矛醇、翹卫矛辛宁等<sup>[1]</sup>化合物。除此之外,还有雷公藤定碱<sup>[5]</sup>、雷公藤辛碱<sup>[5]</sup>、雷公藤宁碱<sup>[5]</sup>、雷公藤碱戊<sup>[11]</sup>、雷公藤碱乙<sup>[12]</sup>、雷公藤碱己<sup>[12]</sup>、雷公藤碱庚<sup>[12]</sup>、雷公藤康碱<sup>[13]</sup>、雷公藤精碱<sup>[14]</sup>、雷公藤碱<sup>[14]</sup>、雷公藤晋碱<sup>[15]</sup>、雷公藤灵碱<sup>[15]</sup>、雷公藤增碱<sup>[15]</sup>、雷公藤吉碱<sup>[15]</sup>、雷公藤特碱<sup>[15]</sup>等。雷公藤特碱和雷公藤次碱为雷公藤生物碱中具有较强生物活性的化合物,是治疗类风湿性关节炎的有效成分<sup>[15]</sup>;雷公藤碱、雷公藤宁碱和雷公藤春碱具有较强的免疫活性<sup>[10]</sup>;雷公藤康碱、雷公藤明碱、雷公藤特碱、雷公藤次碱、雷公藤新碱和异雷公藤春碱都具有较明显的体液免疫抑制作用<sup>[5]</sup>;生物碱抑制剂对关节的消肿、止痛作用也很明显<sup>[5]</sup>。

临床资料表明,雷公藤萜类物质具有免疫调节作用<sup>[16]</sup>,二萜类有效成分也为毒性成分<sup>[5]</sup>。据报道,雷公藤属中二萜类化合物包括:雷公藤甲素、雷公藤乙素、雷公藤内酯二醇、雷公藤内酯三醇、雷公藤内酯四醇等<sup>[1]</sup>。雷公藤甲素和雷公藤乙素具有较强的抗肿瘤活性和免疫抑制作用<sup>[10]</sup>;雷公藤甲素、乙素、雷公藤内酯等对胃癌、乳腺癌细胞集落的形成及白血病细胞等有抑制作用<sup>[16]</sup>;雷公藤甲素对雄性生殖系统表现出抗生育作用<sup>[17]</sup>。

三萜类化合物是治疗自身免疫疾病的有效成分,同生物碱与二萜类化合物相似的是,三萜类化合物也具有抗 HIV 病毒活性<sup>[18]</sup>。雷公藤属中具有代表性的三萜类化合物有雷公藤红素<sup>[1]</sup>、雷公藤内酯

甲<sup>[19]</sup>、雷公藤内酯乙<sup>[19]</sup>、雷公藤三萜酸 A<sup>[20]</sup>、雷公藤三萜酸 B<sup>[21]</sup>、雷公藤三萜酸 C<sup>[22]</sup>、雷公藤酮<sup>[1]</sup>、雷二羟酸甲酯<sup>[23]</sup>、黑蔓酮酯甲<sup>[10]</sup>、黑蔓酮酯乙<sup>[10]</sup>、黑蔓醇酯乙<sup>[10]</sup>、黑蔓醇酯甲<sup>[24]</sup>、黑蔓酮酯丙<sup>[24]</sup>、黑蔓酮酯丁<sup>[24]</sup>等。报道显示,雷公藤红素、雷公藤三萜酸 A、雷公藤三萜酸 C、黑蔓酮酯甲和黑蔓酮酯乙具有免疫活性<sup>[10]</sup>。

雷公藤是近半个世纪以来发生中毒事件最多的中草药之一,其毒性在传统中草药中排第三<sup>[25]</sup>。雷公藤全植株具有不同程度的毒性,嫩芽及叶最大,花次之,根皮再次之,木质部最小<sup>[26]</sup>。同属植物昆明山海棠也具有一定毒性<sup>[27]</sup>。相关毒理报道<sup>[5]</sup>显示,雷公藤属药用植物的主要活性成分的毒性大小依次为:二萜类、生物碱、三萜类,生物碱类对肝脏损害较大,可引起贫血、损伤中枢神经系统等;二萜类对心脏、肝脏、胃肠道及骨髓有损伤,临床试验证明,雷公藤甲素还对胸、脾、肾及生殖系统等有毒性<sup>[17]</sup>。

在雷公藤属植物中被报道的其他活性成分还有:倍半萜类化合物(如雷藤素<sup>[28]</sup>)、甙类<sup>[28]</sup>、有机酸<sup>[28]</sup>、 $\beta$ -谷甾醇<sup>[28]</sup>、1-表儿茶酸<sup>[28]</sup>、酚性成分<sup>[29]</sup>、葱醌化合物<sup>[30]</sup>、葡萄糖<sup>[30]</sup>、卫矛醇 Dulcitol<sup>[30]</sup>及少量木质素<sup>[18]</sup>等,相关药理作用尚待完善。

## 2 雷公藤属植物的定性研究进展

学者多采用薄层层析法、指纹图谱法等方法做相关定性分析,以更好鉴定其所含成分。

### 2.1 薄层层析鉴别(Thin Layer Chromatography, TLC)

薄层层析法是色谱法中的一种,又可称为薄层色谱法,是快速分离和定性分析混合物的一种常用的重要实验技术。

张崇璞等<sup>[31]</sup>通过薄层层析法,雷公藤叶乙醇提取浓缩液,加氯仿上柱,氯仿-乙醇梯度洗脱,用石油醚-乙酸乙酯(1:1.5)展开,Kedde's 试剂显色,结果从雷公藤叶提取物中鉴定出二萜类化合物雷公藤内酯酮、雷公藤内酯醇、雷公藤内酯二醇、雷醇内酯、16-羟基雷公藤内酯醇、雷藤氯内酯醇以及雷藤内酯三醇。黄耀峰等<sup>[32]</sup>以乙醚、氯仿和乙酸乙酯依次提取浓缩处理样品,用石油醚-乙酸乙酯(8:2)展开,在紫外灯下观察,证明雷公藤及昆明山海棠根中成分基本相似,均含有萜类、酯性物质、醛酮化合物、酚类化合物以及不饱和化合物。

夏志林等<sup>[33]</sup>用薄层层析法检查雷公藤红素、雷

公藤二萜内酯类化合物、雷公藤三萜类化合物和雷公藤生物碱类化合物,展开剂依次为石油醚-乙醇(1:2)、醋酸乙酯-石油醚(7:4)、氯仿-甲醇(10:1)和氯仿-丙酮(4:1),显色剂依次为:10% 氢氧化钠溶液、2% 3,5-二硝基苯甲酸乙醇溶液和 10% 氢氧化钠溶液(1:3 混合)、三氯化铋氯仿饱和液和改良碘化铋试液;得到雷公藤中红素和二萜内酯类化合物含量大于昆明山海棠、雷公藤三萜类化合物含量小于昆明山海棠、雷公藤中生物碱类化合物含量和昆明山海棠差别不大;同种药材中,根皮中的红素、二萜内酯及生物碱含量大于根芯、根芯中三萜含量大于根皮的结论。

## 2.2 指纹图谱(Fingerprint Chromatogram)

中药指纹图谱是目前被国内外广泛接受的一种天然药物质量评价模式<sup>[34]</sup>,指纹图谱的运用已成为中药现代化领域的一种新趋势,其具有特征性和稳定性的优点,能够有效鉴别样品的真伪或产地,能够有效控制样品的质量,确定样品质量的相对稳定性。

### 2.2.1 LC 指纹图谱(LC Fingerprint Chromatogram)

HPLC 指纹图谱(HPLC Fingerprint Chromatogram),即为高效液相色谱分析手段,通过该技术,可以得到能够标示化学特征的色谱图,常用来分析物种间的相似度、考察稳定性等。高旋等<sup>[34]</sup>就化学成分定性和含量两方面,对不同产地雷公藤药材和市售雷公藤片剂的 HPLC 指纹图谱进行定性和定量相似性评价。结果显示:不同产地的药材及不同厂家生产的制剂,在定性和定量相似度上都有较大的差异。

UPLC 指纹图谱(UPLC Fingerprint Chromatogram),又称超高效液相色谱,其专属性强,检测速度快,分离度好<sup>[35]</sup>。邓金宝<sup>[35]</sup>等通过建立 UHPLC 指纹图谱分析雷公藤类制剂,得到不同厂家雷公藤制剂的指纹图谱明显不同,其效应成分有显著性差异的结论。通过该项研究测定雷公藤制剂中主要有效成分,为其质量控制、临床用药安全作出保障。

### 2.2.2 GC-MS 指纹图谱(GC-MS Fingerprint Chromatogram)

GC-MS 指纹图谱,即气相色谱和质谱联用的方法,被广泛应用于复杂组分的分离与鉴定,其具有气相色谱的高分辨率和质谱的高灵敏度。

郭志峰等<sup>[36]</sup>利用 GC-MS 联用法,定性分析了雷公藤中的萜和生物碱类化合物,分离得到 58 种醇、醛、醚等化合物、40 种生物碱类化合物以及其他

酸酯类化合物。

### 2.2.3 DNA 指纹图谱(DNA Fingerprint Chromatogram)

DNA 指纹图谱,是一种利用分子生物学技术将生物物种或个体的 DNA 序列的特异性通过特异的 DNA 条带图谱展示出来的一种技术。包括:限制性内切酶片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性 DNA(RAPD)、任意引物 PCR 技术(AP-PCR)、DNA 测序法、扩增片段长度多态性(AFLP)、简单重复序列区间(ISSR)、序列特异扩增(SCAR)等<sup>[37]</sup>。该技术将不断被应用于中药品资源分析、质量评价等领域<sup>[38]</sup>。

刘万水等<sup>[39,40]</sup>采用 RAPD 分子指纹技术,阐明雷公藤属药用植物 3 个植物种内和种间遗传性水平和遗产关系,通过聚类图得东北雷公藤与其他种有显著的遗传差异,除去东北雷公藤,其他居群间分化明显,即具有遗传多样性。邢建宏等<sup>[41]</sup>从 DNA 序列的差异上揭示了不同产地雷公藤之间的差异,且合理分析其有效成分的含量及与其 DNA 序列上的关系。李键等<sup>[42]</sup>对不同地理种源的雷公藤进行多态性分析,并对种源及所有个体进行聚类分析,结果显示,种源之间具有较高的遗传多样性水平。胡迪科<sup>[43]</sup>采用 ISSR 和 SRAP 分子标记技术,探究雷公藤的遗传多样性和亲缘关系。结果显示:雷公藤遗传多样性效率高,在分子水平上遗传多样性丰富,南方各省雷公藤个体间存在较大的遗传差异,各种源间的遗传变异保持较高的稳定性。

## 3 雷公藤属植物的定量研究进展

迄今为止,雷公藤属植物的定量研究多采用紫外分光光度法、高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱法、滴定法、重量法、毛细管气相色谱法、高速逆流色谱法等方法做定量研究,用以检测化合物中所含成分的精确含量。

### 3.1 紫外分光光度法(Ultraviolet Spectrophotometry,UV)

紫外分光光度法,即用可见光、紫外线照射待测物质,通过产生的紫外吸收光谱判断出待测物质所含成分的方法。

张荣等<sup>[44]</sup>以雷公藤次碱为对照,在 268 nm 下测定雷公藤口服液中的雷公藤倍半萜类生物碱的含量。张洁等<sup>[45]</sup>采用 UV 法,以雷公藤吉碱为对照,在 267 nm 测定雷公藤多苷片中总生物碱的含量,结

果显示:不同生产厂家的雷公藤制剂中总生物碱的含量差异明显。

### 3.2 色谱法(Chromatography)

#### 3.2.1 气相色谱法(Gas Chromatography, GC)

张亮等<sup>[46]</sup>利用柱前衍生化毛细管 GC 法,测定不同产地雷公藤去皮根部和雷公藤根皮中雷公藤甲素的含量。实验药材采自江西不同产地或购自药材公司,氯仿提取供试品,酸除去生物碱,经重氮甲烷甲酯化、三甲基硅基咪唑衍生化后进行气象色谱分析,色谱柱为 CBP<sub>1</sub> (25 m × 0.25 mm i. d., df 0.25 mm),正三十六烷为内标物,实验显示:各产地甲素含量差异较大,同一产地根皮含量最高,茎次之,去皮根心最低。

#### 3.2.2 高效液相色谱法(HPLC Chromatography)

高效液相色谱法是 20 世纪 70 年代发展起来的一项高效、快速的分离方法。其具有高压、高速、高

效、高灵敏度的突出特点,在技术上采用了高压泵、高效固定相和高灵敏度检测器,实现了分析速度快、分离效果高和操作自动化。其可用于进行液固吸附、液液分配、离子交换和空间排阻色谱(凝胶渗透色谱)分析,应用非常广泛<sup>[47]</sup>。

高效液相色谱法包括正向高效液相色谱法和反相高效液相色谱法两种。正向高效液相色谱法中流动相的极性小于固定相的极性,常见的固定相有:氨基、氰基键合相等,即为极性键合相;反相高效液相色谱法中流动相的极性大于固定相的极性,常见的固定相有十八硅烷 C<sub>18</sub>、辛烷 C<sub>8</sub>、甲基 C<sub>1</sub>、苯基等,即为非极性键合相。在雷公藤属植物定量研究中,学者多采用反向高效液相色谱法,检测成分多为生物碱和萜类成分,如雷公藤甲素、雷公藤次碱和雷公藤内酯醇等(见表 1)。

表 1 HPLC 法对雷公藤类植物及其制剂的定量研究

Table 1 Quantitative analysis of UPLC of *Tripterygium* Hook. f. and it's preparations

检测成分 Detected component	药材/ 制剂 Medicinal material/ preparation	样本来源 Sample source	色谱柱 Column	柱温 Column temperature (°C)	流动相 The mobile phase	检测波长 Detection wavelength (nm)	流速 Velocity of flow (mL/min)	保留时间 keep time (min)
雷公藤甲素 <sup>[48]</sup>	雷公藤片、雷公藤多苷片和昆明山海棠片	三九黄石制药厂、上海复旦复华制药厂、湖南株洲市制药三厂等 5 家单位	C <sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	25	乙腈-水	218	1.0	13.5
雷公藤定碱 <sup>[49]</sup>	雷公藤根皮提取物	浙江	Microsorb-100C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	35	乙腈-磷酸二氢钾水溶液(梯度洗脱)	254	1.0	6.7
雷公藤吉碱 <sup>[49]</sup>	雷公藤根皮提取物	浙江	Microsorb-100C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	35	乙腈-磷酸二氢钾水溶液(梯度洗脱)	254	1.0	9.0
雷公藤次碱 <sup>[49]</sup>	雷公藤根皮提取物	浙江	Microsorb-100C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	35	乙腈-磷酸二氢钾水溶液(梯度洗脱)	254	1.0	10.5
雷公藤甲素 <sup>[50]</sup>	雷公藤属植物根部	浙江、福建、湖南等 9 省 22 市县	Lichrospher-100RP-18e (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) Shim Pack CLC ODSφ6.0mm × 150 mm, 预柱: ODS (φ4.6 mm × 20 mm, 10 μm)	22	甲醇-水	218	0.75	12.33
雷公藤内酯醇 <sup>[51]</sup>	雷公藤片	市售	YWG-C <sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)	30	甲醇-磷酸盐缓冲液(PH4.0)	224	1.0	15.0
雷公藤甲素 <sup>[52]</sup>	雷公藤口服液	解放军第 175 医院自制	YWG-C <sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)	60	磷酸钾-甲醇	218	1.0	8.383
雷公藤甲素 <sup>[53]</sup>	雷公藤饮片	市售	Hypersil ODS2 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm)	25	甲醇-水	218	0.8	10.01

检测成分 Detected component	药材/ 制剂 Medicinal material/ preparation	样本来源 Sample source	色谱柱 Column	柱温 Column temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	流动相 The mobile phase	检测波长 Detection wavelength (nm)	流速 Velocity of flow (mL/min)	保留时间 keep time (min)
雷公藤红 素 <sup>[54]</sup>	雷公藤(带皮)	湖南岳阳	Agilent Zorbax SC- C <sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	25	甲醇-1% 醋酸溶 液	425	1.0	13.5
雷公藤红 素 <sup>[54]</sup>	雷公藤片	三九黄石制药 厂	Agilent Zorbax SC- C <sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	25	甲醇-1% 醋酸溶 液	425	1.0	14.0
雷公藤内 酯醇 <sup>[55]</sup>	雷公藤饮片(氯 仿提取)	重庆市第一人 民医院	Shim-Packvp ODS (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	50	乙腈-水	218	1.0	13.0
雷公藤内 酯醇 <sup>[55]</sup>	雷公藤饮片(乙 酸乙酯提取)	重庆市第一人 民医院	Shim-Packvp ODS (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	50	乙腈-水	218	1.0	17.5

### 3.2.3 色谱联用检测法

近年来,色谱联用技术在雷公藤属植物的定量研究中的应用不断发展普及,目前应用最广泛的有气相色谱-质谱联用(GC-MS)、液相色谱-质谱联用(LC-MS),也有一些更先进的联用技术,如毛细管电泳-质谱联用(HPCE-MS)、液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)、高效液相色谱-核磁共振-质谱联用(HPLC-NMR-MS)等也出现在了雷公藤属植物和制剂的定量研究中。

Xiao-kun OuYang 等<sup>[56]</sup>利用液相色谱-大气压化学源-串联质谱法(LC-APCI-MS/MS),测定雷公藤属药材中雷公藤甲素和雷公藤乙素的含量:采用 Waters AccQ. Tag<sup>TM</sup> C<sub>18</sub>(150 mm × 3.9 mm, 5  $\mu\text{m}$ )柱分离,在柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ 下,用 0.5 ml/min 的流速,以乙腈-水(30:70, V/V)洗脱,应用高效液相色谱/大气压化学电离正离子选择离子监测模式(SIM)测定,雷公藤甲素和雷公藤乙素的定量例子分别为  $m/z$  359 和 375。

陈晓红等<sup>[57]</sup>利用 LC-MS/MS 法,测定雷公藤浸膏中雷公藤春碱、雷公藤定碱、雷公藤吉碱和雷公藤次碱的定量:采用 Zorbax SB-C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )柱分离,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,流动相为 0.05% 醋酸-醋酸铵溶液/乙腈,流速为 0.8 mL/min,应用高效液相色谱/大气压化学电离正离子选择离子监测模式(SIM)测定,雷公藤春碱、雷公藤定碱、雷公藤吉碱和雷公藤次碱的定量离子分别为  $m/z$  874、884、858 和 868。

谷升盼等<sup>[58]</sup>同样采用 LC-MS/MS 法,测定雷公藤片中雷公藤甲素、雷公藤红素、雷公藤内酯甲、雷

公藤定碱和雷酚内酯的含量。采用 Agilent Zorbax XDB-C<sub>18</sub>(2.1 mm × 50 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ )柱分离,以 0.5 mL/min 的流速,用甲酸铵水溶液-0.1% 甲酸甲醇洗脱,应用正离子模式大气压化学电离源(APCI 源)测定,检测成分的离子对质荷比分别为:(361.0/105.0)、(451.2/201.0)、(455.3/409.7)、(884.8/856.5)、(313.2/225.2)。

Zhuo RJ 等<sup>[59]</sup>利用高速飞行时间质谱法(UH-PLC-QTOF-MS),测定雷公藤中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、化合物 demethylzelastra、雷公藤红素和雷公藤内酯 A 1 的含量:采用 Agilent Poroshell 120 SB C<sub>18</sub>(150 mm × 3.0 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ )柱分离,柱温 50  $^{\circ}\text{C}$ ,流动相为乙腈-0.2% 甲酸,流速为 0.6 ml/min,保留时间依次为:1.3 min、1.47 min、2.48 min、3.3 min 和 5.79 min。此实验证明,该方法能快速和灵敏的评价雷公藤及其产品质量。

### 3.2.4 高效逆流色谱法(High-speed Counter-current Chromatography, HSCCC)

Xiao-Kun OuYang 等<sup>[60]</sup>利用高效逆流色谱法(HSCCC),分离纯化雷公藤中的生物碱。以乙醚-乙酸乙酯-乙醇-水(6:4:5:8)为固定相,水为流动相。得到 700 mg 左右生物碱中,含 210 mg 雷公藤春碱、90 mg 雷公藤定碱、220 mg 雷公藤晋碱,以及 100 mg 雷公藤次碱,纯度分别为 90.3%、92%、99.5% 和 93.5%。

### 3.3 其他定量测定方法

滴定法是根据指示剂的颜色变化指示滴定终点、目测标准溶液消耗体积、分析计算结果的一种样

品定量分析方法。滴定法包括自动电位滴定法和人工滴定法,前者通过电位的变化,仪器自动判断终点,后者则为人工操作,因此,自动电位滴定法的精密度优于人工滴定法。该样品分析方法在测量化合物含量时具有快速、准确、可靠性高等优点,是实验室试剂分析的常用方法。李小进<sup>[61]</sup>利用容量法测定雷公藤总生物碱的含量。实验药材采自福建,采用超声提取仪提取,用碘化铊钾试液判断生物碱是否提取完全,至生物碱提尽、除去氯仿溶剂后,加入新煮沸的纯水和甲基红做指示剂,滴定试剂为氢氧化钠溶液。实验结果表明:取样 2 g,氯水 5 mL,浸泡 5 h,其含量测定 RSD 为 0.075 % ( $n=6$ )。滴定法测定雷公藤总生物碱含量,方法快速、准确,结果可靠。

重量法是根据单质或化合物的重量,计算出在供试品中的含量的一种定量分析方法。戴克敏等<sup>[62]</sup>采用重量法,测定了不同地区的雷公藤和昆明山海棠的不同药用部位的总生物碱的含量。取样 20 g,采用超声提取仪提取,用碘化铊钾试液判断生物碱是否提取完全,氯仿多次洗涤,盐酸液提取洗涤液,浓氨水调节溶液 PH 值至碱性,最后再用氯仿多次洗涤、过滤、烘干、称重,计算结果显示:其根部总生物碱的含量在 1% 左右。

## 4 展望

定性研究中,学者多采用薄层层析法和指纹图谱鉴别法;定量研究中,学者则多采用高效液相色谱法。就实验方法而言,三者实验中均具有很强的可操作性及实验结果稳定性,这也使得实验方法过于单一化。学者可多涉足光谱分析法,包括用红外分光光度法(IR)分析化合物官能团的存在;用核磁共振波谱分析(NMR)分析氢分布、碳骨架及分子间相互耦合情况等;此外,应探寻更多分析效果好、分析数量大、分析快捷灵敏的先进方法或设备联用方法,以便更好的研究。

目前为止,对雷公藤的化学成分、药理、临床等方面都进行了较为深入的研究,相关报道较多;对昆明山海棠及东北雷公藤的研究则相对较少。雷公藤属药物待发现的作用甚广,学者亦可多探索昆明山海棠及东北雷公藤的未知领域,深入对其活性成分的研究,使其生物活性较强的展现出来,推动临床研究的进展。加强对雷公藤属药用植物有效成分和作用机制的研究,全方位认识雷公藤属植物有效药用

部位,合理利用并结合现代研究方法和定性或质量控制等方面的研究成果,让特征有效成分可控、药理活性强的物质更深更广的使用等。

## 参考文献

- 1 Lin GM(林光美), et al. Research progress on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), 2009, 25(23):90-93.
- 2 Liu PY(刘佩岩), et al. Research progress of chemical composition and pharmacological effects on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *J North Pharm*(北方药学), 2013, 10(1):46.
- 3 Li XG(李贤光), et al. Pharmacological control study between *Tripterygium Hypoglauca* Hutch and *Tripterygium Wilfordii*. *J Kunming Med Coll*(昆明医学院学报), 2006, 2:107-110.
- 4 Miao KL(苗抗立), et al. Pharmacological research of chemical composition on *Tripterygium* Hook. *Chin J Clin Med*(中国现代临床医学), 2005, 4(4):35-38.
- 5 Shu XS(舒孝顺), et al. Research progress of chemical and pharmacological activity on alkaloids from *Tripterygium*. *Acad J Guangdong Coll Pharm*(广东药学院报), 2003, 19:150-152.
- 6 Wang JH(王家骅), et al. Research progress on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Qilu Intell Tradit Chin Med*(齐鲁中医药情报), 1992, 1:13-14.
- 7 Yang XH(杨小红), et al. The application and the Side Effects on *Tripterygium* Preparation. *Clin J Tradit Chin Med*(中医药临床杂志), 2004, 16:511-512.
- 8 Zhang XM(张小蒙). Research Progress of Pharmacological Effects and Clinical Application on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Chin J Clin Rational Drug Use*(临床合理用药), 2012, 5:180.
- 9 Li FQ, et al. Neurotrophic and Neuroprotective Effects of Tripchlorolide, an Extract of Chinese Herb *Tripterygium Wilfordii* Hook F, on Dopaminergic Neurons. *Exp Neurol*, 2003, 179:28-37.
- 10 Zhang L(张亮), et al. Research Progress of Chemical Composition on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 1990, 21:251-256.
- 11 He ZS(何直升), et al. The Structure of New Alkaloids Named *Tripterygium amyl*. *Acta Chim Sin*(化学学报), 1985, 43:593-596.
- 12 He ZS(何直升), et al. Structures of Wilforgine, Wilforzine and Wilformine from *Tripterygium Wilfordii*. *Acta Chim Sin*(化学学报), 1987, 19:510-513.
- 13 Lin S(林绥), et al. Study of Sesquiterpene Alkaloids from *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2001, 36:116-119.

- 14 Zhang MZ(张明哲), *et al.* Isolation of Wilforgine and Wilforine and the Determination of Their Structures. *Acta Sci Nat Univ Pekinensis* (北京大学学报, 自科版), 1988, 24: 392-395.
- 15 Wang CD(王翠娣), *et al.* The Active Ingredients, Pharmacological Effects and Clinical Application on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Chin J Integr Tradit Western Med* (中国中西医结合杂志), 1993, 13: 507-509.
- 16 Gao XY(高晓英), *et al.* Research Progress on Traditional Chinese Medicine of *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Shandong J Biomed Eng* (山东生物医学工程), 2001, 20(1): 46-48.
- 17 Liu MX(刘明星), *et al.* Progress in Research on Triptolide. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30: 170-174.
- 18 Xia Y(夏焱), *et al.* Advances in Studies on Medicinal Plant of *Tripterygium* Hook. f. . *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36: 1093-1096.
- 19 Qin GW(秦国伟), *et al.* The Structures of Two New Triterpene Lactones from *Tripterygium Wilfordii*-Wilforlides A and B. *Acta Chim Sin* (化学学报), 1982, 40: 637-646.
- 20 Miao KL(苗抗立), *et al.* Studies on Triterpenoids Constituents of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12: 1-7.
- 21 Zhang CP(张崇璞), *et al.* Studies on Triterpenoids of Total Glucosides of *Tripterygium Wilfordii* (T II) . *Acta Acade Med Sin* (中国医学科学院学报), 1989, 11: 322-325.
- 22 Zhang CP(张崇璞), *et al.* Isolation and Identification of *Tripterygium* Triterpenes C from *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1989, 24: 225-228.
- 23 Deng FX(邓福孝), *et al.* The Structure of Triptodihydroxy Acid Methyl Ester and Wilfortrine. *Acta Botan Sin* (植物学报), 1987, 29(1): 73-76.
- 24 Pang GM(庞国茂), *et al.* Studies on New Triterpenoids of *Tripterygium Regelii*. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1989, 24(1): 75-79.
- 25 Guo YH(郭艳红), *et al.* Summary of Toxicity and Research on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *J Chin Med Mater* (中药材), 2007, 30: 112-117.
- 26 Tong J(童静), *et al.* Studies on Long-term Toxicity and Time Rhythm on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27: 933-935.
- 27 Jian XN(简晓娜), *et al.* Studies on the Pharmacology Evaluation Methods on Crude Drug Quality about *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2008, 24(3): 63-65.
- 28 Cao M(曹敏), *et al.* Research Progress on Traditional Chinese Medicine of *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1996, 18(4): 40-42.
- 29 Wan DW(万大武), *et al.* Studies on Phenolic Compounds from Traditional Chinese Medicine of *Tripterygium Wilfordii* Hook. . *Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med* (云南中医中药杂志), 2013, 34(8): 58.
- 30 Li WM(李卫民), *et al.* Research Progress of Chemistry and Pharmacology on *Tripterygium Wilfordii* Hook. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1991, 13(9): 34-35.
- 31 Zhang CP(张崇璞), *et al.* Studies on Diterpenoids from Leaves of *Tripterygium Wilfordii*. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1993, 28: 110-115.
- 32 Huang YF(黄耀峰), *et al.* Similarity Analysis of Chemical Composition between *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. and *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch. *J Anhui Agric* (安徽农业科学), 2009, 37: 5961-5963.
- 33 Xia ZL(夏志林), *et al.* TLC Detection between *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. and *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch. . *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25: 464-465.
- 34 Gao X(高璇), *et al.* Study of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. and *Tripterygium* Tables by HPLC Fingerprint Chromatogram. 2008 Annual Conference of Chinese Pharmaceutical Association and the 8th China Pharmacist Week.
- 35 Deng JB(邓金宝), *et al.* Fingerprints and Content Determinations of Four Active Components of *Tripterygium Preparations* by UPLC. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni* (中山大学学报, 自科版), 2015, 54(2): 92-99.
- 36 Guo ZF(郭志峰), *et al.* Gas Chromatography-mass Spectrometry Analysis of Terpenes and Alkaloids in *Tripterygium Wilfordii*. *J Hebei Univ, Nat Sci Ed* (河北大学学报, 自科版), 2013, 33: 167-174.
- 37 Wu Y(吴幼), *et al.* Research Progress on DNA Fingerprinting Technology to Identify the Quality of Traditional Chinese medicine. *J Tradit Chin Veterin Med* (中兽医医药杂志), 2008, 1: 24-26.
- 38 Cao H(曹晖), *et al.* Status and Prospects on DNA Fingerprinting and Sequencing Technology on the Quality Research of Traditional Chinese Medicine. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23: 643-645.
- 39 Liu WS(刘万水). Analysis about Genetic Relationships and Genetic Diversity on *Tripterygium Wilfordii* Hook. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine(北京中医药大学), PhD, 2006.
- 40 Liu WS(刘万水), *et al.* RAPD Analysis for Genetic Relationship and Diversity of Three Species of Genus *Tripterygium*. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2007, 32: 1615-1620.
- 41 Xing JH(邢建宏), *et al.* Studies on Establishment of RAPD-PCR Reaction Conditions in *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. .

- J Sanming Univ* (三明学院学报), 2009, 26: 442-445.
- 42 Li J (李健), *et al.* RAPD Analysis Among Different Geological Provenances in *Tripterygium Wilfordii*. *J Sichuan Agric Univ* (四川农业大学学报), 2011, 29: 327-333.
- 43 Hu DK (胡迪科). ISSR and SRAP Analysis of Genetic Diversity of *Tripterygium Wilfordii*. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University (福建农林大学), PhD, 2011.
- 44 Zhang R (张荣), *et al.* Determination of Alkaloids in *Tripterygium* Oral by UV. *West China J Pharm Sci* (华西药理学杂志), 2000, 15: 133-135.
- 45 Zhang J (张洁), *et al.* Determination of Total Alkaloids in Leigongtengduogan pian and *Tripterygium Wilfordii* from Different Regions by Ultraviolet Spectrophotometry. *J Tianjin Med Univ* (天津医科大学学报), 2009, 15: 354-355.
- 46 Zhang L (张亮), *et al.* The Determination of Triptolide in *Tripterygium Wilfordii* by Capillary Gas Chromatography. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1992, 23: 158-160.
- 47 Zhu MH (朱明华). Instrumental Analysis (仪器分析). Beijing: Higher Education Press, 2010: 66-67.
- 48 Shen L (申琳), *et al.* Determination of *Tripterygium* Rough-preparation by HPLC. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2005, 17(4): 28-29.
- 49 Chen LZ (陈列忠), *et al.* Simultaneous RP-HPLC Determination of 3 Alkaloids in *Tripterygium Wilfordii* Root Back from Different Regions. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, 27: 191-193.
- 50 Huang WH (黄文华), *et al.* Triptolide in Different Populations and Individuals of Three Species of *Tripterygium* Hook. f. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36: 1065-1068.
- 51 Ye XC (叶晓川), *et al.* Examination of Content Uniformity of Triptolide in *Tripterygium Wilfordii* Tablets of HPLC. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1997, 17: 319-320.
- 52 Hu YS (胡永狮), *et al.* Determination of Triptolide in *Tripterygium* Preparations by Gradient High Performance Liquid Chromatography. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1999, 17: 265-267.
- 53 Chi YM (池玉梅), *et al.* Determination of Content of Triptolide in *Tripterygium Wilfordii* Herbal pieces with HPLC Method. *J Nanjing TCM University, Nat Sci* (南京中医药大学学报, 自科版), 2001, 17(1): 32-33.
- 54 Xia Y (夏焱), *et al.* Determination of Tripterine in *Tripterygium Wilfordii* and Its Tablets by HPLC. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36: 1154-1156.
- 55 Chen XM (陈晓明). Content Determination of Triptolide in *Tripterygium Wilfordii* Cut Crude Drugs by HPLC. *China Pharm* (中国药房), 2006, 17: 696-697.
- 56 OuYang XK, *et al.* Simultaneous Determination of Triptolide and Triptidolide in Extract of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. by LC-APCI-MS. *Chromatographia*, 2007, 65: 373-375.
- 57 Chen XH (陈晓红), *et al.* Determination of Four Sesquiterpene Alkaloids in *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. Extracts by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. *Chin J Clin Pharm* (中国临床药理学杂志), 2011, 20(2): 73-77.
- 58 Gu SP (谷升盼), *et al.* Simultaneous Determination and Quality Evaluation of Five Effective Components in *Tripterygium* Tables. *Tianjin J Tradit Chin Med* (天津中医药), 2015, 32(1): 38-41.
- 59 Zhuo RJ, *et al.* Rapid Simultaneous Quantitative Determination of Terpenoids in *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. by Ultra-high-performance Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry. *Analytical Methods*, 2013, 5: 2046-2052.
- 60 OuYang XK, *et al.* Preparative Separation of Four Major Alkaloids from Medicinal Plant of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. Using High-speed Counter-current Chromatography. *Sep Purific Technol*, 2007, 56: 319-324.
- 61 Li XJ (李小进). Content Determination of Alkaloids in *Tripterygium Wilfordii*. *J Shanxi Coll Tradit Chin Med* (山西中医学院学报), 2014, 15(3): 5-7.
- 62 Dai KM (戴克敏), *et al.* Determination of Alkaloids in Different Parts of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. and *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch from Different Regions. *Chin Tradit Patent Med* (中成药杂志), 1999, 16(11): 41.

(上接第 326 页)

- 7 GB/T 19609-2004. Cigarettes-Determination of total particulate matter and tar using a routine analytical smoking machine. Beijing: Standards Press of China, 2004.
- 8 GB/T 23355-2009. Cigarettes-Determination of nicotine in smoke condensates-Gas-chromatographic method (ISO 10315: 2000, MOD). Beijing: Standards Press of China, 2009.
- 9 Jiang JF (蒋锦锋), Li L (李莉), Zhao MY (赵明月). Rapid determination of main chemical components in tobacco leaf by NIR diffuse reflectance spectroscopy. *Acta Tabacaria Sin* (中国烟草学报), 2006, 12(2): 8-12.
- 10 Wang JJ (王家俊), Wang F (汪帆), Ma L (马玲). The quality assessment of cigarette paper by SIMCA and PLS combined with near infrared spectrum. *Spectrosc Spectral Anal* (光谱学与光谱分析), 2006, 26: 1858-1862.