

## 不同厂家雷公藤多苷片 HPLC 指纹图谱研究

李晓红<sup>1,2</sup>, 刘姿<sup>3</sup>, 姜明燕<sup>1,2\*</sup>

1. 中国医科大学附属第一医院 药学部, 辽宁 沈阳 110001

2. 中国医科大学药学院, 辽宁 沈阳 110001

3. 大连医科大学药学院, 辽宁 大连 116044

**摘要:** 目的 建立雷公藤多苷片的高效液相指纹图谱, 考察不同生产厂家的雷公藤多苷片的一致性, 为更好的完善该制剂的质量评价奠定基础。方法 采用高效液相色谱法, Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱 (0~70 min, 35:65→100:0); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 218 nm; 进样量 20 μL。结果 测定了 7 个厂家的指纹图谱, 色谱图差距较大, 提示不同厂家的雷公藤多苷片的化学成分不同或同成分但含量差别较大。确定了 22 个峰为雷公藤多苷片的共有峰, 并利用主成分分析法 (PCA) 对指纹图谱进行处理, 不同厂家的雷公藤多苷片可明显区分。结论 市售雷公藤多苷片的质量参差不齐, 不同生产厂家雷公藤多苷片 HPLC 指纹图谱差异较大, 该方法为更好地控制雷公藤多苷片的内在质量提供了有益的参考。

**关键词:** 高效液相色谱法; 指纹图谱; 雷公藤多苷片; 主成分分析法

中图分类号: R917.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2016)06-0995-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.06.014

## HPLC Fingerprint of Tripterygium Glycosides Tablet from different manufactures

LI Xiao-hong<sup>1,2</sup>, LIU Zi<sup>3</sup>, JIANG Ming-yan<sup>1,2</sup>

1. Department of Pharmacy, The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

2. College of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110001, China

3. College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC fingerprint method of Tripterygium Glycosides Tablets (TGT), and to apply this method to determining the consistency of TGT from different manufacturers and supporting the foundation of quality control. **Methods** An HPLC analysis was performed on C<sub>18</sub> column with water-acetonitrile gradient elution, flow-rate of 1.0 mL/min, column temperature of 30 °C, detecting wavelength of 218 nm. **Results** HPLC fingerprints were obviously different among the seven manufacturers, which indicated that there were different chemical compositions or the same composition with different contents. Twenty-two common peaks were named as characteristic fingerprint peaks. Significant differences were observed among different manufacturers in the principal components analysis score plot. **Conclusion** Significant differences of quality in tripterygium glycosides tablets on the market are observed. The HPLC fingerprint of TGT is established which provides useful reference for quality control.

**Key words:** HPLC; fingerprint; Tripterygium Glycosides Tablet; principal components analysis

雷公藤多苷是从卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. F. 去皮根中提取精制的有效部位混合物, 为我国首先研究利用的抗炎免疫调节中药提取物<sup>[1]</sup>。雷公藤多苷片与其他雷公藤制剂相比具有用量小、不良反应少等优点, 早在 1984 年就投入临床使用, 广泛应用于治疗类风湿性

关节炎、肾病综合征、白塞综合征、麻风、自身免疫性肝炎及皮肤病等疾病, 疗效显著, 其生理活性是由二萜内酯、生物碱、三萜等多种成分协同产生<sup>[2-4]</sup>。雷公藤多苷片是目前临床上使用较多的非甾体类免疫抑制剂。

目前国内雷公藤多苷片还没有很完善的质量控

收稿日期: 2016-03-24

作者简介: 李晓红 (1982—), 女, 沈阳, 助教, 硕士, 研究方向为药物分析及医院药学。Tel: 15640205479 E-mail: shelling23951037@163.com

\*通信作者 姜明燕, 女, 硕士, 教授, 硕士生导师, 主要从事药物分析及医院药学。Tel: (024)83282564 E-mail: syjmy@126.com

制标准,报道中多以有效成分的含量测定为指标进行控制<sup>[5-9]</sup>,以至不同厂家的产品存在不同程度的差异,为了准确地控制雷公藤多苷片中有效成分群的含量,建立雷公藤多苷片的指纹图谱<sup>[10]</sup>,对其临床用药的有效性和安全性有很大的意义。本实验采用高效液相色谱法建立雷公藤多苷片指纹图谱,对市售的多个厂家的雷公藤多苷片进行指纹图谱研究,并利用主成分分析法(PCA)对指纹图谱进行统计分析,为更好地控制雷公藤多苷片的内在质量提供有用的参考。

## 1 仪器与试剂

Agilent LC 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),Agilent 1100 型 DAD 检测器(美国 Agilent 公司),Chemstation for LC 3D 色谱工作站(美国 Agilent 公司),AE200 电子天平(Mettler),KQ2200B 超声仪(昆山市超声仪器有限公司)

雷公藤粉末(江苏 A 制药有限公司),雷公藤多苷片(M1,江苏 A 制药有限公司,批号 140319、140422、140513),雷公藤多苷片(M2,浙江 B 天然药物有限公司,批号 131102),雷公藤多苷片(M3,黄石 C 制药有限公司,批号 20140101),雷公藤多苷片(M4,上海 D 制药有限公司,批号 140201),雷公藤多苷片(M5,安徽 E 药业有限公司,批号 130701),雷公藤多苷片(M6,浙江 F 有限公司,批号 1404123B),雷公藤多苷片(M7,湖南 G 药业有限公司,批号 20140201),中性氧化铝(天津

市科密欧化学试剂有限公司),乙腈(国药集团化学试剂有限公司),醋酸乙酯(国药集团化学试剂有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 供试品溶液的制备

采用均匀取样法从雷公藤多苷片中取出 15 片,研细成粉,精密称取 400 mg,置于 25 mL 三角烧瓶中。加入 20 mL 醋酸乙酯,超声提取 30 min,滤过,滤液过 15 g 中性氧化铝柱,用 30 mL 醋酸乙酯洗脱,收集全部过柱后的洗脱液。回收醋酸乙酯,得残存物,加 1.5 mL 乙腈溶解,0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

### 2.2 色谱条件<sup>[6]</sup>

色谱柱为 Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水,梯度洗脱(0~70 min, 35:65→100:0);体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 °C;检测波长 218 nm;进样量 20 μL。

### 2.3 指纹图谱方法学建立与测定

按上述方法制备样品,测定了 7 个厂家的指纹图谱,色谱图差距较大,其中厂家 A 的指纹峰较多,因此以厂家 A 的 3 批雷公藤多苷片为供试品,注入色谱仪,记录色谱图,其典型的 HPLC 的色谱指纹图谱见图 1。共确立 22 个共有峰,其中 20 号色谱峰较强,且为 7 个厂家共有的色谱峰,选定其为内参比峰。其余 6 各厂家色谱图见图 2。

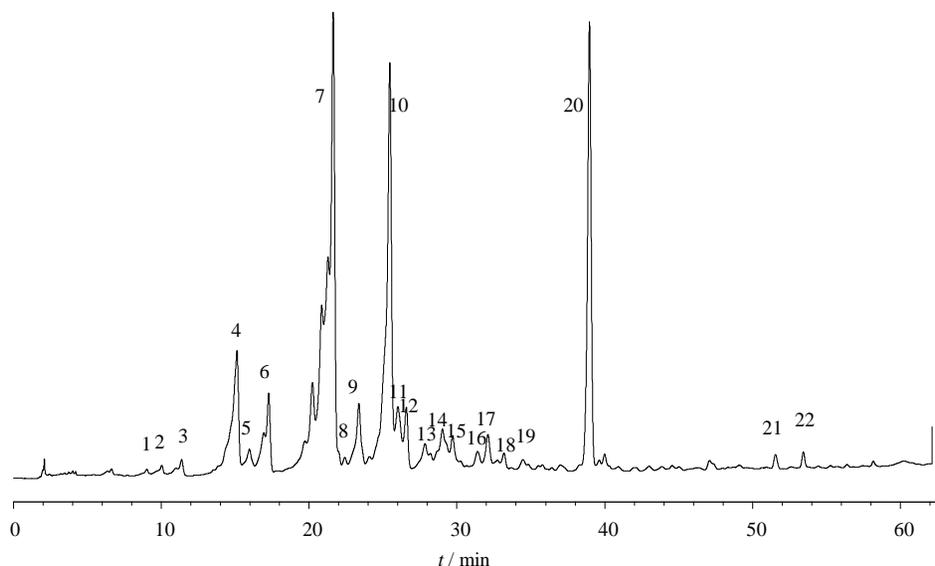


图 1 雷公藤多苷片(厂家 A)的 HPLC 色谱指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of TGT

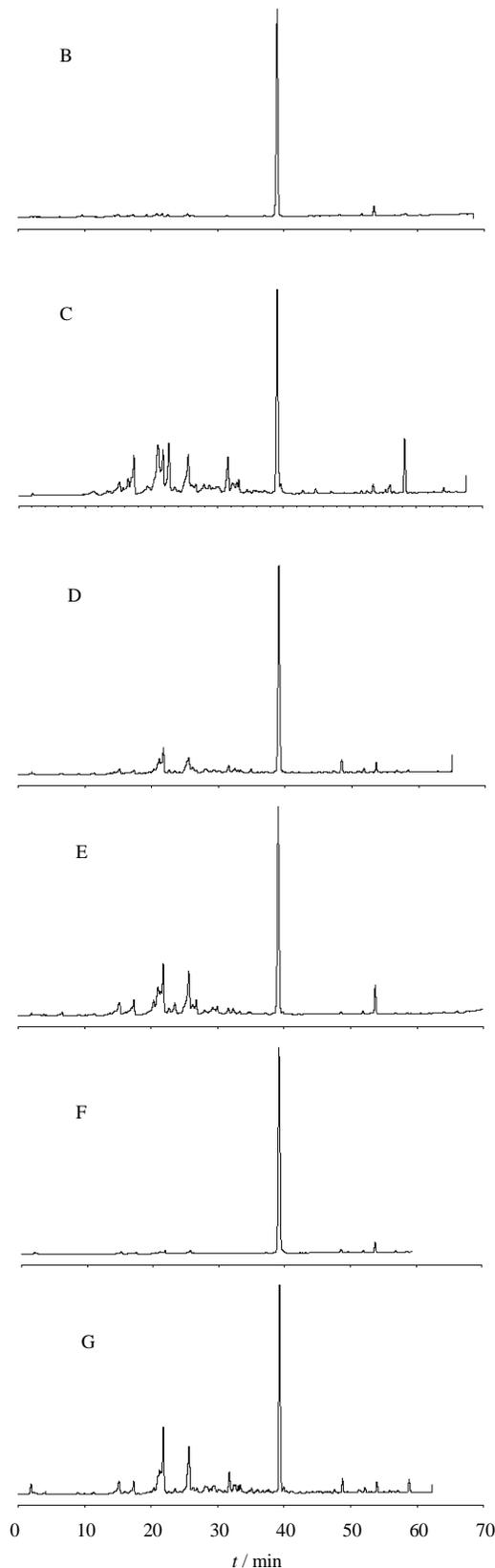


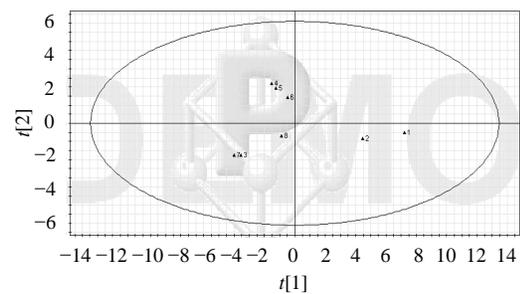
图2 其余各厂家的HPLC色谱图  
Fig. 2 HPLC Chromatogram of TGT of rest of the manufacturers

**2.3.1 稳定性试验** 取厂家A雷公藤多苷片样品的供试品溶液,分别在0、2、4、8、12h进样测定。以20号峰为内参比峰,计算各共有峰的色谱相对保留时间和相对峰面积。结果显示,22个共有峰的色谱相对保留时间的RSD均小于0.58%、相对峰面积的RSD均小于5.78%。

**2.3.2 精密度试验** 取厂家A雷公藤多苷片样品的供试品溶液,连续进样5次,计算各共有峰的色谱相对保留时间和相对峰面积。结果22个共有峰的色谱相对保留时间的RSD均小于0.54%、相对峰面积的RSD均小于4.65%。

**2.3.3 重复性试验** 取厂家1雷公藤多苷片样品,平行取5份,按供试品溶液制备方法提取,得供试品溶液,分别进样检测,计算各共有峰的色谱相对保留时间和相对峰面积。结果显示,22个共有峰的色谱相对保留时间的RSD均小于0.66%、相对峰面积的RSD均小于5.85%。

**2.3.4 指纹图谱的评价方法** 采用SIMCA-P软件进行PCA统计分析,以各主要色谱峰的保留时间和峰面积为变量得到score图和loading图。由score图可见厂家A的片剂和多苷提取物聚集在一个区域,而其他厂家则分散在不同区域,其中浙江产地的厂家B和F紧密聚集在同一区域,结果见图2、3。



1-雷公藤多苷提取物; 2-M1; 3-M2; 4-M3; 5-M4; 6-M5; 7-M6; 8-M7  
1- tripterygium glycosides; 2- M1; 3- M2; 4- M3; 5- M4; 6- M5; 7- M6; 8- M7

图2 Score 分布图

Fig. 2 Score plots

### 3 讨论

目前市售的雷公藤多苷片共有11家(2015年新增3家),本研究收集购买了7家产品进行研究比较,并采用SIMCA-P软件进行PCA统计分析,可更加直观的表明不同产地、不同厂家的雷公藤多苷片的区分情况,且划分区域明显,提示不同厂家因

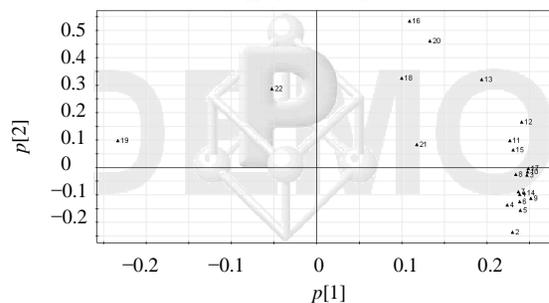


图3 Loading 分布图

Fig. 3 Loading plots

所用药材产地不同,所含化学成分及其含量有较大差别。本研究为更好地控制雷公藤多苷片的内在质量提供了有用的参考。

#### 参考文献

- [1] 姚骥如, 孙莹, 罗顺葵, 等. 雷公藤多苷的临床应用进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(3): 179-182.
- [2] 郭雪红. 雷公藤多苷的药理作用及临床应用概述 [J]. 中成药, 2010, 32(7): 1199-1202.
- [3] 张月琴. 雷公藤多苷抗炎作用的研究 [J]. 医药导报, 2012, 31(3): 295-297.

- [4] Wong K F, Yuan Y, Luk J M. Tripterygium wilfordii bioactive compounds as anticancer and anti-inflammatory agents [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2012, 39(3): 311-320.
- [5] 鲍立曾, 刘法千, 熊仕强. HPLC 法测定雷公藤多苷中雷公藤内酯醇的含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(6): 896-898.
- [6] 庄莹, 宋敏, 杭太俊, 等. 雷公藤多苷片中雷公藤总内酯及雷公藤内酯醇的测定 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1): 36-40.
- [7] 刘法千, 鲍立曾, 熊仕强. HPLC 法测定雷公藤多苷中雷公藤内酯甲的含量 [J]. 中国药品标准, 2007, 8(4): 38-40.
- [8] 农凤鸣, 陆兴毅. HPLC 法测定雷公藤多苷片中雷公藤内酯甲的含量 [J]. 中国药师, 2011, 14(4): 507-509.
- [9] 何昱, 石森林, 张茹萍, 等. 雷公藤多苷主要有效成分的含量研究 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(2): 197-200.
- [10] 梁健, 沈熊, 朱孝国, 等. 雷公藤多苷片的 HPLC 指纹图谱 [J]. 中国临床药学杂志, 2013, 22(1): 9-13.