

# HPLC 指纹图谱结合主成分分析评价不同产地雷公藤药材质量

张茹萍, 何昱\*, 石森林, 范永升, 王新昌(浙江中医药大学, 杭州 310053)

**摘要:** 目的 建立雷公藤药材的 HPLC 指纹图谱, 并结合主成分分析法(PCA)评价不同产地的雷公藤药材质量。方法 采用 HPLC 构建雷公藤药材的指纹图谱, 并运用 PCA 法对指纹图谱进行统计分析, 以各主要色谱峰的保留时间和峰面积为变量建立得分图和载荷图。结果 标定了雷公藤药材 HPLC 指纹图谱的 18 个共有峰, 并指认了其中的 6 个共有峰, 分别为雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷公藤晋碱、雷公藤次碱、雷公藤红素、雷公藤内酯甲, 11 批雷公藤药材的相似度为 0.587~0.913。PCA 结果表明, 前 5 个主成分的累积贡献率达到 89.603%, 选择这 5 个因子即可对雷公藤药材进行综合评价。根据综合得分可知, 来自四川阿坝、四川大巴山、云南西双版纳产地的雷公藤药材质量较好。结论 HPLC 指纹图谱结合 PCA 可以快速、客观地评价不同产地雷公藤药材的质量差异。

**关键词:** 雷公藤; 高效液相色谱; 指纹图谱; 主成分分析

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)11-1338-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.11.010

## Evaluation of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. from Different Habitats by HPLC Fingerprint and Principal Component Analysis

ZHANG Ruping, HE Yu\*, SHI Senlin, FAN Yongsheng, WANG Xinchang(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To scientifically evaluate and effectively control the quality of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. (TW) by HPLC fingerprint combined with principal component analysis (PCA). **METHODS** An HPLC method was developed to establish the fingerprint of TW from different habitats, and PCA was applied to get score chart and loading diagram with the main components as the variables. **RESULTS** The common mode of the HPLC characteristic chromatographic profile was set up with 18 common peaks, and six of the common peaks were identified as triptolide, triptonide, wilforine, wilforine, tripterine and wilforlide A. The similar degrees of eleven batches of TW to the common mode were between 0.587 and 0.913. The result of PCA showed that the accumulative contribution rate of the first five principal components was 89.603%, so as long as the five factors were chosen, the quality of TW could be evaluate basically. According to the composite score, the quality of TW from the areas of Sichuan Aba, Sichuan Dabashan, Yunnan Xishuangbanna were better than others. **CONCLUSION** The application of HPLC combined with PCA could quickly and objectively evaluate the quality of TW from different regions.

**KEY WORDS:** *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; HPLC; chromatographic fingerprint; principal component analysis

雷公藤系卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的根, 主产于浙江、江西、安徽等地。近千年的临床应用和现代药理研究证明, 雷公藤药材具有抗炎、抗菌、免疫抑制、抗肿瘤等作用, 对类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病具有独特的疗效<sup>[1-5]</sup>。

主成分分析法<sup>[6]</sup>也称主分量分析, 是一种通过降维技术, 根据贡献率的大小( $\geq 85\%$ )用少数几个具有代表性的综合指标代替多个原始变量, 化繁为简的多元统计分析方法。近年来已广泛应用于中药, 成为一种独具特色的多指标评价技术。如

武艳红等<sup>[7]</sup>用主成分分析法结合高效液相色谱研究人参不同部位的差异, 袁玉峰等<sup>[8]</sup>用红外光谱结合主成分分析鉴别不同产地黄柏的质量差异。雷公藤药材化学成分复杂, 自 1936 年首次从雷公藤根部提取到雷公藤红素<sup>[9]</sup>至今, 已分离鉴定出 100 多种成分<sup>[10-15]</sup>。目前定量单一活性成分(如雷公藤甲素<sup>[16]</sup>、雷公藤红素)的模式, 并不能有效控制雷公藤药材的质量, 故有必要建立雷公藤药材的指纹图谱, 以更全面地控制其质量。因此, 本实验通过高效液相指纹图谱结合主成分分析法, 选择具代表性指标来评价不同产地雷公藤药材的质量差异。

基金项目: 浙江省重点科技创新团队项目(2009R50042-10); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目

作者简介: 张茹萍, 女, 硕士生, 中药师 Tel: (0571)86613657  
教授 Tel: (0571)86613657 E-mail: heyu0923@sina.com

E-mail: zhangruping198811@126.com

\*通信作者: 何昱, 女, 博士,

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);METTLER AL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 公司);水为 Millipore 超纯水;甲醇、氯仿、磷酸、三乙胺均为分析纯;柱层层析硅胶(100~200 目,青岛海洋化工厂,批号:0100449);玻璃层析柱(内径 1.5 cm,杭州汇普化工仪器有限公司)。

### 1.2 药材

11 个批次的雷公藤药材分别产自浙江 A(批号:201012)、浙江 B(批号:201108)、河南(批号:201104)、广西玉林(批号:201107)、江西南昌(批号:201105)、湖北黄石(批号:201106)、云南昆明(批号:201107)、云南西双版纳(批号:201107)、云南邵通(批号:201107)、四川大巴山(批号:201106)和四川阿坝(批号:201106),经浙江中医药大学资源与鉴定教研室陈孔荣教授鉴定为雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的根。

## 2 方法和结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相 A: 0.1%磷酸-0.2%三乙胺水溶液,流动相 B: 乙腈,进行梯度洗脱:0~15 min, 10%→35%B; 15~22 min, 35%B; 22~30 min, 35%→55%B; 30~35 min, 55%B; 35~40 min, 55%→60%B; 40~70 min, 60%→85%B; 70~75 min, 85%→95%B; 75~80 min, 95%→10%B;检测波长: 0~65 min 为 225 nm, 65 min 时切换为 210 nm;柱温: 35 °C;流速: 0.75 mL·min<sup>-1</sup>。

### 2.2 雷公藤药材供试品溶液的制备<sup>[17]</sup>

雷公藤药材干燥粉碎后过 40 目筛,精密称定 10 g,加入甲醇回流提取 2 次,过滤,合并滤液,浓缩。用 3 倍量的硅胶拌样,氯仿超声,静置后,滤取上清液,浓缩至 5 mL。样品液上柱(4.0 g 硅胶干法装填)后,用氯仿-甲醇(97:3)50 mL 洗脱,洗脱液浓缩至干。残渣用甲醇溶解,转移入 2 mL 量瓶中,定容后过 0.22 μm 滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

### 2.3 指纹图谱的建立

取 11 批雷公藤药材样品,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,分别进样,用“2.1”项下的色

谱条件分析,得到各批次样品的 HPLC 色谱图,见图 1。

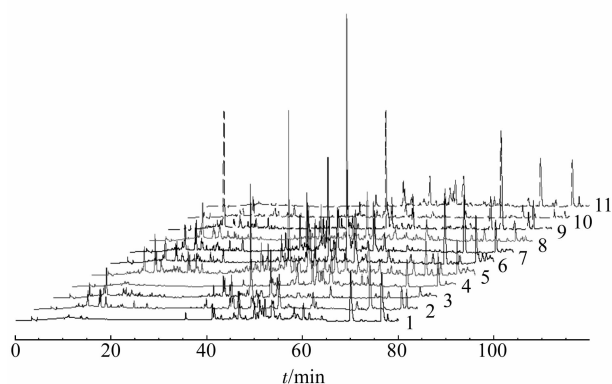


图 1 不同产地雷公藤药材的色谱叠加图

1-浙江 A; 2-浙江 B; 3-河南; 4-湖北黄石; 5-四川大巴山; 6-四川阿坝; 7-云南西双版纳; 8-云南邵通; 9-江西南昌; 10-广西玉林; 11-云南昆明。

Fig. 1 The overlapped chromatogram of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. from different areas

1-Zhejiang A; 2-Zhejiang B; 3-Henan; 4-Huangshi, Hubei; 5-Dabashan, Sichuan; 6-Aba, Sichuan; 7-Xishuangbanna, Yunnan; 8-Shaotong, Yunnan; 9-Nanchang, Jiangxi; 10-Yulin, Guangxi; 11-Kunming, Yunnan.

在各产地雷公藤药材样品图谱中,雷公藤晋碱的色谱峰的分离良好,峰位居中,峰面积较大,在图谱中较稳定且为所有样品共有,所以确定雷公藤晋碱为参比峰(S)。

将 11 批雷公藤药材的色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”,以 S1 批药材的图谱为校正参照,时间窗宽度设为 0.50 s,得到不同产地雷公藤药材共有模式图谱,见图 2。18 个峰为 11 批样品所共有,通过对比相对保留时间,指认活性组分雷公藤甲素为 5 号峰,雷公藤内酯酮为 6 号峰,雷公藤晋碱为 8 号峰,雷公藤次碱为 9 号峰,雷公藤红素为 13 号峰,雷公藤内

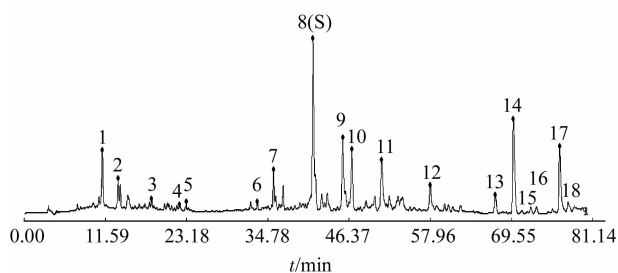


图 2 雷公藤药材的 HPLC 共有模式图

5-雷公藤甲素; 6-雷公藤内酯酮; 8-雷公藤晋碱(S); 9-雷公藤次碱; 13-雷公藤红素; 16-雷公藤内酯甲。

Fig. 2 The HPLC common pattern of *Tripterygium wilfordii* Hook. f.

5-triptolide; 6-triptonide; 8-wilforgine(S); 9-wilforine; 13-tripterine; 16-wilfortide A.

酯甲为 16 号峰。以雷公藤晋碱作为参比峰(S)，计算各共有峰的相对保留时间(Rt<sub>R</sub>)及相对峰面积(R<sub>A</sub>)，具体数据见表 1 和表 2。分析结果表明，11 批雷公藤药材样品的 18 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.262%~1.98%，相对峰面积的 RSD 为 99.4%~306%。

表 1 雷公藤药材指纹图谱共有峰的相对保留时间

Tab. 1 Relative retention time of common peaks in chromatographic fingerprint of *Tripterygium wilfordii* Hook. f.

| 序号 | 已知       | 相对保留时间   |          |          |       |           |          |          |          |            |       |       | 均值    | RSD/% |
|----|----------|----------|----------|----------|-------|-----------|----------|----------|----------|------------|-------|-------|-------|-------|
|    |          | 广西<br>玉林 | 湖北<br>黄石 | 云南<br>邵通 | 河南    | 四川<br>大巴山 | 四川<br>阿坝 | 云南<br>昆明 | 江西<br>南昌 | 云南西<br>双版纳 | 浙江 A  | 浙江 B  |       |       |
| 1  |          | 0.190    | 0.190    | 0.196    | 0.195 | 0.193     | 0.190    | 0.192    | 0.192    | 0.190      | 0.192 | 0.191 | 0.192 | 1.020 |
| 2  |          | 0.279    | 0.280    | 0.282    | 0.289 | 0.282     | 0.276    | 0.292    | 0.282    | 0.277      | 0.278 | 0.290 | 0.282 | 1.980 |
| 3  |          | 0.399    | 0.400    | 0.404    | 0.401 | 0.401     | 0.403    | 0.398    | 0.404    | 0.399      | 0.401 | 0.401 | 0.401 | 0.473 |
| 4  |          | 0.502    | 0.502    | 0.500    | 0.508 | 0.508     | 0.506    | 0.501    | 0.506    | 0.502      | 0.503 | 0.504 | 0.504 | 0.579 |
| 5  | 雷公藤甲素    | 0.569    | 0.554    | 0.564    | 0.562 | 0.560     | 0.571    | 0.558    | 0.580    | 0.568      | 0.564 | 0.570 | 0.566 | 1.25  |
| 6  | 雷公藤内酯酮   | 0.824    | 0.826    | 0.825    | 0.829 | 0.833     | 0.828    | 0.829    | 0.829    | 0.821      | 0.825 | 0.824 | 0.827 | 0.396 |
| 7  |          | 0.860    | 0.860    | 0.861    | 0.868 | 0.869     | 0.867    | 0.860    | 0.871    | 0.867      | 0.863 | 0.863 | 0.865 | 0.478 |
| 8  | 雷公藤晋碱(S) | 1.00     | 1.00     | 1.00     | 1.00  | 1.00      | 1.00     | 1.00     | 1.00     | 1.00       | 1.00  | 1.00  | 1.00  | 0.000 |
| 9  | 雷公藤次碱    | 1.10     | 1.10     | 1.10     | 1.10  | 1.10      | 1.11     | 1.10     | 1.11     | 1.10       | 1.11  | 1.10  | 1.10  | 0.476 |
| 10 |          | 1.15     | 1.15     | 1.16     | 1.16  | 1.16      | 1.16     | 1.16     | 1.16     | 1.16       | 1.16  | 1.16  | 1.16  | 0.344 |
| 11 |          | 1.23     | 1.23     | 1.24     | 1.24  | 1.24      | 1.24     | 1.23     | 1.24     | 1.23       | 1.24  | 1.24  | 1.24  | 0.421 |
| 12 |          | 1.40     | 1.40     | 1.40     | 1.41  | 1.41      | 1.41     | 1.40     | 1.41     | 1.40       | 1.40  | 1.40  | 1.40  | 0.262 |
| 13 | 雷公藤红素    | 1.63     | 1.63     | 1.63     | 1.64  | 1.64      | 1.64     | 1.62     | 1.64     | 1.63       | 1.63  | 1.63  | 1.63  | 0.319 |
| 14 |          | 1.69     | 1.69     | 1.70     | 1.70  | 1.70      | 1.70     | 1.68     | 1.69     | 1.69       | 1.69  | 1.70  | 1.69  | 0.348 |
| 15 |          | 1.75     | 1.73     | 1.75     | 1.76  | 1.76      | 1.76     | 1.74     | 1.76     | 1.75       | 1.75  | 1.76  | 1.75  | 0.448 |
| 16 | 雷公藤内酯甲   | 1.81     | 1.82     | 1.81     | 1.82  | 1.82      | 1.82     | 1.82     | 1.83     | 1.81       | 1.82  | 1.82  | 1.82  | 0.373 |
| 17 |          | 1.88     | 1.88     | 1.88     | 1.89  | 1.89      | 1.89     | 1.88     | 1.90     | 1.88       | 1.89  | 1.89  | 1.89  | 0.321 |
| 18 |          | 1.93     | 1.93     | 1.93     | 1.94  | 1.94      | 1.94     | 1.93     | 1.94     | 1.93       | 1.94  | 1.94  | 1.93  | 0.301 |

表 2 雷公藤药材指纹图谱共有峰的相对峰面积

Tab. 2 Relative peak area of common peaks in chromatographic fingerprint of *Tripterygium wilfordii* Hook. f.

| 序号 | 已知       | 相对峰面积    |          |          |       |           |          |          |          |            |       |       | 均值    | RSD/% |
|----|----------|----------|----------|----------|-------|-----------|----------|----------|----------|------------|-------|-------|-------|-------|
|    |          | 广西<br>玉林 | 湖北<br>黄石 | 云南<br>邵通 | 河南    | 四川<br>大巴山 | 四川<br>阿坝 | 云南<br>昆明 | 江西<br>南昌 | 云南西<br>双版纳 | 浙江 A  | 浙江 B  |       |       |
| 1  |          | 0.081    | 1.67     | 0.020    | 0.038 | 0.025     | 0.436    | 0.188    | 3.73     | 0.078      | 0.996 | 0.179 | 0.676 | 168   |
| 2  |          | 0.125    | 1.16     | 0.007    | 0.025 | 0.043     | 1.69     | 0.388    | 55.7     | 0.321      | 0.125 | 0.469 | 5.46  | 305   |
| 3  |          | 0.018    | 0.180    | 0.025    | 0.041 | 0.039     | 0.138    | 0.194    | 4.67     | 0.043      | 0.080 | 0.079 | 0.501 | 276   |
| 4  |          | 0.054    | 0.241    | 0.036    | 0.018 | 0.020     | 0.600    | 0.044    | 5.15     | 0.113      | 0.249 | 0.272 | 0.619 | 245   |
| 5  | 雷公藤甲素    | 0.061    | 0.248    | 0.032    | 0.049 | 0.093     | 1.05     | 0.063    | 3.12     | 0.193      | 0.297 | 0.291 | 0.500 | 183   |
| 6  | 雷公藤内酯酮   | 0.027    | 0.110    | 0.039    | 0.043 | 0.091     | 0.228    | 0.078    | 0.550    | 0.069      | 0.114 | 0.100 | 0.132 | 113   |
| 7  |          | 0.036    | 0.722    | 0.071    | 0.130 | 0.098     | 1.32     | 0.136    | 0.813    | 0.099      | 0.601 | 0.168 | 0.382 | 111   |
| 8  | 雷公藤晋碱(S) | 1.00     | 1.00     | 1.00     | 1.00  | 1.00      | 1.00     | 1.00     | 1.00     | 1.00       | 1.00  | 1.00  | 1.00  | 0.00  |
| 9  | 雷公藤次碱    | 0.217    | 0.935    | 0.242    | 0.364 | 0.421     | 3.72     | 0.999    | 15.0     | 1.30       | 0.645 | 0.481 | 2.21  | 197   |
| 10 |          | 0.009    | 0.399    | 0.011    | 0.017 | 0.023     | 0.437    | 0.394    | 3.83     | 0.082      | 0.234 | 0.125 | 0.506 | 221   |
| 11 |          | 0.092    | 4.30     | 0.124    | 0.055 | 0.286     | 4.71     | 1.58     | 13.9     | 0.706      | 1.76  | 1.31  | 2.62  | 156   |
| 12 |          | 0.084    | 0.503    | 0.111    | 0.100 | 0.277     | 1.63     | 0.330    | 0.350    | 0.133      | 0.681 | 0.184 | 0.399 | 113   |
| 13 | 雷公藤红素    | 0.045    | 0.315    | 0.040    | 0.043 | 0.109     | 0.763    | 0.729    | 18.6     | 0.040      | 0.096 | 0.343 | 1.92  | 288   |
| 14 |          | 0.160    | 2.87     | 0.068    | 0.058 | 0.217     | 4.86     | 3.20     | 57.6     | 0.770      | 0.037 | 2.03  | 6.53  | 260   |
| 15 |          | 0.056    | 0.083    | 0.024    | 0.008 | 0.039     | 0.149    | 0.246    | 4.37     | 0.012      | 0.276 | 0.240 | 0.501 | 257   |
| 16 | 雷公藤内酯甲   | 0.007    | 0.335    | 0.016    | 0.025 | 0.022     | 0.067    | 0.070    | 9.35     | 0.014      | 0.084 | 0.052 | 0.913 | 307   |
| 17 |          | 0.016    | 0.781    | 0.012    | 0.032 | 0.035     | 0.892    | 0.458    | 1.00     | 0.064      | 0.347 | 0.620 | 0.387 | 99.4  |
| 18 |          | 0.029    | 0.345    | 0.005    | 0.029 | 0.043     | 0.484    | 0.062    | 2.40     | 0.028      | 0.090 | 0.079 | 0.327 | 216   |

2.4 指纹图谱的方法学考察

2.4.1 仪器精密度试验 取同一批雷公藤药材(广西玉林),按“2.2”项下制备供试品溶液,连续进样6次,按“2.1”项下的色谱条件测定,以参比峰的保留时间和峰面积为参照,计算得供试品溶液中各共有峰相对保留时间的RSD为0.005%~0.092%,相对峰面积的RSD为0.112%~2.67%,表明仪器稳定,仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取雷公藤药材(广西玉林产地),分别于制备供试品溶液后0,2,4,8,12,24 h测定6次。以参比峰的保留时间和峰面积为参照,计算得供试品溶液中各共有峰相对保留时间RSD在0.021%~0.084%,相对峰面积的RSD在0.929%~31.6%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.4.3 重复性试验 取雷公藤药材(广西玉林产地),平行制备6份供试品溶液,进样测定。以参比峰的保留时间和峰面积为参照,计算得供试品溶液中各共有峰相对保留时间的RSD为0.020%~0.504%,相对峰面积的RSD为5.52%~

36.9%,表明提取和检测方法重复性好。

2.5 不同产地雷公藤药材相似度评价

以雷公藤药材共有模式为标准,进行整体相似度评价,结果11批次雷公藤药材的相似度分别为广西玉林0.624、河南0.610、湖北黄石0.681、江西南昌0.802、四川阿坝0.913、四川大巴山0.735、云南昆明0.846、云南邵通0.587、云南西双版纳0.789、浙江A0.799、浙江B0.888。

2.6 主成分分析

采用SPSS 19.0统计软件对11个产地雷公藤药材的指纹图谱数据进行主成分分析,计算相关系数矩阵,主成分特征值、累积贡献率及主成分综合得分等。

2.6.1 元素相关性分析 相关系数矩阵见表3。由表3可见,雷公藤甲素与雷公藤次碱具有较大的正相关性;雷公藤内酯酮与雷公藤晋碱、成分12均有较大的正相关性;成分14与成分2、成分10具有较大的正相关性;成分2、成分3、雷公藤红素及雷公藤内酯甲之间均有较大的正相关性。

表3 相关系数矩阵

Tab. 3 The matrix of correlation coefficient

| 成分         | 1      | 2      | 3      | 4      | 雷公藤<br>甲素 | 雷公藤<br>内酯酮 | 7      | 雷公藤<br>晋碱 | 雷公藤<br>次碱 | 10     | 11     | 12     | 雷公藤<br>红素 | 14     | 15     | 雷公藤<br>内酯甲 | 17     | 18     |
|------------|--------|--------|--------|--------|-----------|------------|--------|-----------|-----------|--------|--------|--------|-----------|--------|--------|------------|--------|--------|
| 1          | 1.00   | -0.017 | -0.427 | -0.168 | -0.319    | -0.421     | -0.141 | -0.470    | -0.428    | -0.063 | 0.070  | -0.298 | -0.316    | -0.257 | -0.275 | 0.003      | -0.036 | -0.103 |
| 2          | -0.017 | 1.00   | 0.623  | 0.594  | 0.059     | -0.279     | -0.374 | -0.391    | 0.033     | 0.603  | 0.085  | -0.323 | 0.827     | 0.826  | 0.452  | 0.909      | -0.186 | 0.295  |
| 3          | -0.427 | 0.623  | 1.00   | 0.279  | 0.165     | 0.421      | 0.058  | 0.352     | 0.329     | 0.290  | -0.101 | 0.251  | 0.827     | 0.455  | 0.526  | 0.804      | -0.423 | 0.336  |
| 4          | -0.168 | 0.594  | 0.279  | 1.00   | 0.529     | -0.016     | 0.053  | -0.032    | 0.409     | 0.383  | 0.431  | -0.025 | 0.386     | 0.616  | 0.296  | 0.391      | 0.129  | 0.199  |
| 雷公藤<br>甲素  | -0.319 | 0.059  | 0.165  | 0.529  | 1.00      | 0.619      | 0.592  | 0.295     | 0.826     | 0.270  | 0.727  | 0.667  | 0.115     | 0.302  | -0.025 | -0.109     | 0.248  | 0.655  |
| 雷公藤<br>内酯酮 | -0.421 | -0.279 | 0.421  | -0.016 | 0.619     | 1.00       | 0.627  | 0.817     | 0.637     | -0.189 | 0.232  | 0.916  | 0.102     | -0.186 | 0.174  | -0.109     | -0.124 | 0.435  |
| 7          | -0.141 | -0.374 | 0.058  | 0.053  | 0.592     | 0.627      | 1.00   | 0.525     | 0.502     | -0.144 | 0.394  | 0.781  | -0.171    | -0.274 | -0.301 | -0.291     | 0.121  | 0.525  |
| 雷公藤<br>晋碱  | -0.470 | -0.391 | 0.352  | -0.032 | 0.295     | 0.817      | 0.525  | 1.00      | 0.506     | -0.512 | -0.173 | 0.661  | -0.109    | -0.450 | 0.065  | -0.167     | -0.400 | 0.016  |
| 雷公藤<br>次碱  | -0.428 | 0.033  | 0.329  | 0.409  | 0.826     | 0.637      | 0.502  | 0.506     | 1.00      | 0.277  | 0.510  | 0.548  | 0.038     | 0.197  | -0.227 | -0.066     | -0.138 | 0.351  |
| 10         | -0.063 | 0.603  | 0.290  | 0.383  | 0.270     | -0.189     | -0.144 | -0.512    | 0.277     | 1.00   | 0.606  | -0.109 | 0.533     | 0.835  | 0.065  | 0.410      | 0.226  | 0.276  |
| 11         | 0.070  | 0.085  | -0.101 | 0.431  | 0.727     | 0.232      | 0.394  | -0.173    | 0.510     | 0.606  | 1.00   | 0.405  | 0.071     | 0.465  | -0.173 | -0.127     | 0.543  | 0.540  |
| 12         | -0.298 | -0.323 | 0.251  | -0.025 | 0.667     | 0.916      | 0.781  | 0.661     | 0.548     | -0.109 | 0.405  | 1.00   | 0.072     | -0.175 | 0.109  | -0.203     | 0.018  | 0.599  |
| 雷公藤<br>红素  | -0.316 | 0.827  | 0.827  | 0.386  | 0.115     | 0.102      | -0.171 | -0.109    | 0.038     | 0.533  | 0.071  | 0.072  | 1.00      | 0.761  | 0.714  | 0.873      | -0.110 | 0.458  |
| 14         | -0.257 | 0.826  | 0.455  | 0.616  | 0.302     | -0.186     | -0.274 | -0.450    | 0.197     | 0.835  | 0.465  | 0.175  | 0.761     | 1.00   | 0.360  | 0.621      | 0.257  | 0.391  |
| 15         | -0.275 | 0.452  | 0.526  | 0.296  | -0.025    | 0.174      | -0.301 | 0.065     | -0.227    | 0.065  | -0.173 | 0.109  | 0.714     | 0.360  | 1.00   | 0.551      | -0.029 | 0.099  |
| 雷公藤<br>内酯甲 | 0.003  | 0.909  | 0.804  | 0.391  | -0.109    | -0.109     | -0.291 | -0.167    | -0.066    | 0.410  | -0.127 | -0.203 | 0.873     | 0.621  | 0.551  | 1.00       | -0.351 | 0.251  |
| 17         | -0.036 | -0.186 | -0.423 | 0.129  | 0.248     | -0.124     | 0.121  | -0.400    | -0.138    | 0.226  | 0.543  | 0.018  | -0.110    | 0.257  | -0.029 | -0.351     | 1.00   | 0.193  |
| 18         | -0.103 | 0.295  | 0.336  | 0.199  | 0.655     | 0.435      | 0.525  | 0.016     | 0.351     | 0.276  | 0.540  | 0.599  | 0.458     | 0.391  | 0.099  | 0.251      | 0.193  | 1.00   |

**2.6.2 特征值、方差贡献率** 相关系数的特征值和方差贡献率见表 4，初始因子载荷矩阵见表 5。以特征值>1 为提取标准，得到前 5 个主成分的累计方差贡献率为 89.603%>85%，故选取前 5 个主成分即可进行评价，它代表了雷公藤药材中 18 个元素含量的 89.603%的信息量，具有很好的代表性。由表 6 可知第 1 主成分的特征根为 5.672，累计贡献率为 31.511%，成分 2，3，4，10，14，18，雷公藤红素及雷公藤内酯甲在第 1 主成分上有较高载荷，说明第 1 主成分主要反映了这 8 个成分指标的信息；同理，第 2 主成分特征根为 5.026，累计贡献率为 59.434%，主要反映了雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷公藤晋碱、雷公藤次碱、成分 7 及 12 这 6 个成分指标的信息。

表 4 特征值和方差贡献率

Tab. 4 Total variance explained

| 成分 | 初始特征值 |       |       | 主因子贡献率 |       |       |
|----|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
|    | 总计    | 方差百分比 | 方差累计值 | 总计     | 方差百分比 | 方差累计值 |
| 1  | 5.67  | 31.5  | 31.5  | 5.67   | 31.5  | 31.5  |
| 2  | 5.03  | 27.9  | 59.4  | 5.03   | 27.9  | 59.4  |
| 3  | 3.02  | 16.8  | 76.2  | 3.02   | 16.8  | 76.2  |
| 4  | 1.24  | 6.90  | 83.1  | 1.24   | 6.90  | 83.1  |
| 5  | 1.17  | 6.49  | 89.6  | 1.17   | 6.49  | 89.6  |

表 5 初始因子载荷矩阵

Tab. 5 Component matrix

| 化合物    | 成分     |        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|        | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      |
| 1      | -0.388 | -0.298 | 0.309  | 0.123  | 0.678  |
| 2      | 0.743  | -0.615 | -0.051 | -0.121 | 0.165  |
| 3      | 0.757  | -0.051 | -0.588 | -0.037 | 0.103  |
| 4      | 0.653  | -0.083 | 0.228  | -0.345 | -0.195 |
| 雷公藤甲素  | 0.594  | 0.655  | 0.344  | -0.114 | -0.048 |
| 雷公藤内酯酮 | 0.338  | 0.830  | -0.339 | 0.127  | -0.016 |
| 7      | 0.143  | 0.832  | 0.101  | 0.112  | 0.250  |
| 雷公藤晋碱  | 0.039  | 0.735  | -0.613 | -0.165 | -0.107 |
| 雷公藤次碱  | 0.505  | 0.644  | 0.089  | -0.541 | 0.008  |
| 10     | 0.644  | -0.316 | 0.482  | -0.145 | 0.040  |
| 11     | 0.472  | 0.339  | 0.760  | 0.028  | 0.068  |
| 12     | 0.322  | 0.863  | -0.121 | 0.300  | 0.093  |
| 雷公藤红素  | 0.847  | -0.363 | -0.279 | 0.243  | 0.000  |
| 14     | 0.816  | -0.427 | 0.311  | -0.047 | -0.160 |
| 15     | 0.483  | -0.283 | -0.450 | 0.442  | -0.353 |
| 雷公藤内酯甲 | 0.677  | -0.552 | -0.364 | 0.021  | 0.275  |
| 17     | 0.016  | 0.060  | 0.722  | 0.442  | -0.441 |
| 18     | 0.639  | 0.349  | 0.209  | 0.408  | 0.348  |

以主成分为变量得到载荷图和得分图见图 3。载荷图结果与初始因子载荷矩阵表相同，由图可知，距离原点较远的几个点就是主成分 1 和 2 中权重值大的成分，表明其在决定产地差异中的重大作用。由得分图可见大部分产地的雷公藤药材分散在图中的不同区域，提示雷公藤药材的质量与地域分布有关，不同产地雷公藤药材的质量之间存在着明显的差异。

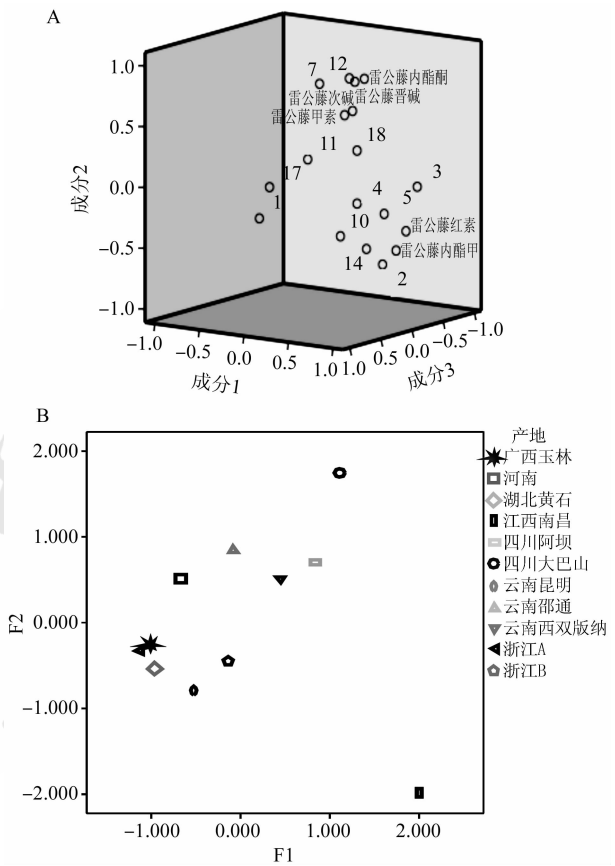


图 3 不同产地雷公藤药材的载荷图(A)和得分图(B)  
Fig. 3 The score chart(A) and loading diagram(B) of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. from different areas

**2.6.3 不同产地雷公藤药材的综合评价** 用 5 个主成分对雷公藤药材进行综合评价，计算主成分得分及综合得分，见表 6。结果表明四川阿坝产地的雷公藤药材中雷公藤内酯酮、雷公藤次碱、成分 7，11，12，14，17 等的含量较高，且在所有样品中综合得分为 0.923，排第 2 位，表明其试验条件，成分含量较好；而广西玉林产地的雷公藤药材中雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷公藤晋碱、雷公藤次碱、成分 2，3，4，7，10，12，14，18 等成分的含量低，其综合得分也最低，2 个产地之间的差异充分地说明这些成分与雷公藤药材质量之间存在一定的相关性。

表 6 主成分得分、综合得分排序

Tab. 6 The rank of principal component scores and comprehensive scores

| 产地     | 主成分 1 得分 | 主成分 2 得分 | 主成分 3 得分 | 主成分 4 得分 | 主成分 5 得分 | 综合得分   | 排名 |
|--------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|----|
| 广西玉林   | -0.996   | -0.257   | -0.803   | -0.203   | -0.316   | -0.619 | 11 |
| 湖北黄石   | -0.947   | -0.535   | 0.760    | 0.416    | 1.59     | -0.210 | 7  |
| 云南邵通   | -0.071   | 0.848    | -1.28    | -0.695   | -0.532   | -0.092 | 5  |
| 河南     | -0.654   | 0.516    | -0.906   | -0.373   | 0.502    | -0.231 | 8  |
| 四川大巴山  | 1.12     | 1.75     | -0.750   | 1.38     | 0.344    | 0.928  | 1  |
| 四川阿坝   | 0.843    | 0.704    | 1.91     | 0.426    | 0.230    | 0.923  | 2  |
| 云南昆明   | -0.511   | -0.789   | 0.006    | 0.198    | -1.06    | -0.486 | 10 |
| 江西南昌   | 2.00     | -1.98    | -0.813   | -0.104   | 0.591    | -0.030 | 4  |
| 云南西双版纳 | 0.457    | 0.513    | 0.959    | -2.43    | -0.182   | 0.300  | 3  |
| 浙江 A   | -1.11    | -0.324   | 0.232    | 0.410    | 0.906    | -0.350 | 9  |
| 浙江 B   | -0.131   | -0.444   | 0.683    | 0.974    | -2.08    | -0.132 | 6  |

3 讨论

建立指纹图谱的优势在于指纹图谱中每个峰具体是何种物质尚不明确时，依然能够给出充分的、可靠的信息，用以控制药材质量。目前，对于雷公藤药材的 HPLC 指纹图谱已有相关报道，如董林毅等<sup>[18]</sup>对湖南产的雷公藤药材进行了研究，但是其样品的地域较为局限，仅为岳阳市辖县一个地区，各雷公藤药材间指纹图谱的相似程度较高，相似度数值均在 0.948 之上。本实验收集了全国 11 个不同产地的雷公藤药材，并改进了相应的色谱条件，建立了雷公藤药材的 HPLC 指纹图谱，可以反映雷公藤药材的特异性与整体性，为雷公藤药材的质量控制提供更有力的参考依据。在雷公藤药材的 18 个共有峰中，其中 6 个经过指认分别为雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷公藤次碱、雷公藤晋碱、雷公藤红素、雷公藤内酯甲。

在用中药色谱指纹图谱相似度评价系统对不同产地雷公藤药材进行分析的过程中发现，不同产地的雷公藤药材相似度不高，差异最大的产地与共有模式的相似度仅为 0.587。指纹图谱中相对保留时间的 RSD 值差异不大，但相对峰面积的 RSD 值相差较大，这可能是由于其产地、生长年限、环境等因素对所收集的雷公藤药材的内在质量造成了一定的影响。

主成分分析作为数据挖掘的一种方法能够用于中药指纹图谱的统计分析。在不损失样本特征值的数量和信息前提下，采用降维模式分类方法，仅用 5 个主成分就能基本描述雷公藤药材指纹图谱中原有的多维数据特征，起到了降维作用，便于数据分析，而且原有信息损失少。得出的综合

得分，能对不同产地雷公藤药材的质量做出综合评价，这为雷公藤药材的进一步利用提供了可靠的理论依据。但从相关系数矩阵(表 3)可以看出：18 个变量之间部分相关性不是很高，变量之间可能存在非线性关系<sup>[19]</sup>；初始因子载荷矩阵(表 5)中主成分因子负荷的符号有正有负，综合评价函数的意义不是很明确，这些也是主成分分析法在指纹图谱评价中的不足之处。

有关雷公藤药材的药理及化学研究较多，但因为雷公藤的成分较为复杂，又兼具药效和毒性，合理评价和控制其质量需借助多学科手段。将指纹图谱和主成分分析相结合应用于雷公藤的研究中，可制定出更加合理的质量控制标准，从而为雷公藤临床的合理应用及新药开发提供科学依据。

REFERENCES

[1] RAO Y, WEI H Z, CHEN Y F, et al. Advances in studies compatibility applied toattenuation and synergy of *Tripterygium wilfordii* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(14): 1658-1661.

[2] WONG K F, YUAN Y, LUK J M, et al. *Tripterygium wilfordii* bioactive compounds as anticancer and anti-inflammatory agents [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2012, 39(3): 311-320.

[3] CANTE P H, LEE H S, EMST E, et al. A systematic review of randomised clinical trials of *Tripterygium wilfordii* for rheumatoid arthritis [J]. Phytomedicine, 2006, 13(5): 371-377.

[4] GOLDBACH-MANSKY R, WILSON M, FLEISCHMANN R, et al. Comparison of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. versus sulfasalazine in the treatment of rheumatoid arthritis: a randomized trial [J]. Ann Intern Med, 2009, 151(4): 229-240.

[5] BAO J, DAI S M. A Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook. f. in the treatment of rheumatoid arthritis: mechanism, efficacy, and safety [J]. Rheumatol Int, 2011, 31(9): 1123-1129.

[6] HUANG C K, WANG Y Q. Application research of principal component analysis method [J]. Mod Business Trade Indust(现

- 代商贸工业), 2011, 24(17): 26-28.
- [7] WU Y H, ZHENG Y, ZHANG L Y, et al. Diversity evaluation in different parts of Ginseng with HPLC coupled with principal component analysis [J]. Computer Appl Chem(计算机与应用化学), 2011, 28(2): 161-163.
- [8] YUAN Y F, TAO Z H, LIU J X, et al. Identification of Cortex Phellodendri by fourier-transform infrared spectroscopy and principal component analysis [J]. Spectrosc Spec Anal(光谱学与光谱分析), 2011, 31(5): 1258-1261
- [9] TIMOTHY W C, CRAIG M C. Molecular understanding and modern application of traditional medicines triumphs and trial [J]. Cell, 2007, 130(5): 769-774.
- [10] TAO X, CAI J J, LIPSKY P E. The identity of immunosuppressive components of the ethyl acetate extract and chloroform methanol extract (T2) of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1995, 272(3): 1305-1312.
- [11] KUPCHAN S M, COURT W A, DAILEY R G, et al. Triptolide and triptolide, novel antileukemic diterpenoid triepoxides from *Tripterygium wilfordii* [J]. J Am Chem Soc, 1972, 94(20): 7194-7195.
- [12] ISHIWATE H, SHIZURI Y, YAMADA R. Three sesquiterpene alkaloids from *Euonymus alatus* form atstriatus [J]. Phytochemistry, 1983, 22(12): 2839-2841.
- [13] MA P C, LYU Y, CHEN Y, et al. A new element(triptolide) was isolated from *Tripterygium wilfordii* [J]. Chin Med Sci J(中国医学科学院学报), 1990(2): 114.
- [14] QIN G W, YANG X M, GU W H, et al. Identification the structure of two new terpene lactones (wilforlide A and B) from *Tripterygium wilfordii* Hook. [J]. Acta Chim Sin(化学学报), 1982, 40(7): 637-646.
- [15] ZHU K D, CHENG L D, NING F, et al. Experimental study of alkaloids of *Tripterygium wilfordii* Hook. [J]. Pharmacol Clin Chin Mater(中药药理与临床), 2011, 27(1): 33-36.
- [16] YANG D N. Study on the optimized extraction technology of triptolide in rhemeutoid-arthritis cataplasm [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2012, 29(9): 811-813.
- [17] ZHANG R P, HE Y, SHI S L, et al. Determination of six effective components, total diterpenoids, total alkaloids and total triterpenes in *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2013, 28(1): 224-229.
- [18] DONG L Y, ZHANG Q W, DUAN H Q, et al. Study on HPLC fingerprint of *Tripterygium wilfordii* [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2009, 44(6): 422-426.
- [19] XU Y Z, HUA H C. Three improvement on principal component analysis [J]. Sci Technol Manage Res(科技管理研究), 2009, 29(6): 128-130.

收稿日期: 2014-02-24

## 预知子不同部位中常春藤皂苷元含量的比较

石慧慧<sup>1,2</sup>, 吴凡<sup>1</sup>, 鞠建明<sup>1\*</sup>, 华俊磊<sup>1,3</sup>, 李振华<sup>1,3</sup>, 霍介格<sup>1</sup> (1.中国中医科学院江苏分院, 江苏省中医药研究院, 江苏 210028; 2.安徽中医药大学药学院, 安徽 230031; 3.南京中医药大学药学院, 南京 210046)

**摘要:** 目的 建立预知子中常春藤皂苷元的 HPLC-ELSD 含量测定方法, 并比较果实、种子和果皮 3 个不同部位中常春藤皂苷元含量差异。方法 色谱条件: 色谱柱为 Ultimate XB 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-甲酸(70:30:0.1), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温为 35 ℃, ELSD 漂移管温度为 90 ℃, 载气流速为 2.5 L·min<sup>-1</sup>。结果 常春藤皂苷元在 0.36~3.60 μg 内峰面积积分值常用对数与进样量常用对数有良好的线性关系( $r=0.999\ 4$ ); 平均回收率为 99.04%, RSD 为 2.0%。预知子果实、种子、果皮中常春藤皂苷元含量范围分别为 24.28~35.18, 37.21~58.38, 7.83~19.44 mg·g<sup>-1</sup>。结论 本研究所建立的含量测定方法简便、准确、重复性强, 可用于预知子药材的质量控制。预知子不同部位中常春藤皂苷元的含量存在显著差异, 在临床应用中应根据使用部位确定药材用量。

**关键词:** 预知子; HPLC-ELSD; 常春藤皂苷元

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)11-1344-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.11.011

### Comparatively Study on Content of Hederagenin from Different Parts of Fructus Akebiae

SHI Huihui<sup>1,2</sup>, WU fan<sup>1</sup>, JU Jianming<sup>1\*</sup>, HUA Junlei<sup>1,3</sup>, LI Zhenhua<sup>1,3</sup>, HUO Jiege<sup>1</sup> (1.Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2.College of Pharmacy Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 3.College of Pharmacy Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

基金项目: 江苏省中医药研究院医院制剂开发专项(Y1201)

作者简介: 石慧慧, 女, 硕士生 Tel: (025)85639640 E-mail: jingmeng2006321@126.com \*通信作者: 鞠建明, 男, 博士, 研究员 Tel: (025)85639640 E-mail: jjm405@sina.com