

HPLC-QTOF-MS 法鉴别雷公藤多苷工艺残渣中的化学成分

李明炀¹, 侯继芹¹, 韦丹丹¹, 江振洲², 严明², 汪豪^{1*}

(¹中国药科大学天然药物化学教研室, 天然药物活性组分与药效国家重点实验室,
南京 210009; ²中国药科大学新药筛选中心, 南京 210009)

摘要 建立高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱法(HPLC-QTOF-MS)快速鉴定雷公藤多苷柱色谱工艺残渣化学成分。采用 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈-0.2% 甲酸溶液, 梯度洗脱, 采用 ESI-Q-TOF 检测, 正离子模式扫描。根据色谱峰精确相对分子质量、碎片离子信息及液相色谱保留时间比较鉴别化合物。结果表明, 采用 HPLC-QTOF-MS 法鉴定了雷公藤多苷工艺残渣中 30 个成分, 包括 15 个生物碱类化合物, 10 个二萜类化合物, 4 个三萜类化合物, 1 个不饱和脂肪酸。本研究工作为雷公藤多苷工艺残渣的综合开发利用提供定性分析依据。

关键词 雷公藤多苷; 工艺残渣; HPLC-QTOF-MS; 定性分析

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)06-0689-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150609

Identification of major constituents from process residue of tripterygium glycosides by HPLC-QTOF-MS

LI Mingyang¹, HOU Jiqin¹, WEI Dandan¹, JIANG Zhenzhou², YAN Ming², WANG Hao^{1*}

¹Department of Natural Medicinal Chemistry, State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ²National Center for Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract A qualitative analytical method of liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (HPLC-QTOF-MS) was developed for identification of major constituents in process residue of tripterygium glycosides. The HPLC-QTOF-MS assay was performed on a Zorbax SB-C₁₈ column (4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile and water containing 0.2% formic acid in gradient mode. Positive ion mode was used for TOF-MS. According to the accurate molecular weight, MS fragment pathway, comparison with the retention time of reference compounds, total 30 compounds, including fifteen alkaloids, ten diterpenoids, four triterpenoids and an unsaturated fatty acid were identified or tentatively characterized in process residue of tripterygium glycosides. This study may be helpful to the comprehensive exploitation and utilization of process residue of tripterygium glycosides.

Key words tripterygium glycosides; process residue; HPLC-QTOF-MS; qualitative analysis

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81172955) and the Program to Cultivate Middle-aged and Young Science Leaders of Colleges and Universities of Jiangsu Province

雷公藤多苷是从卫矛科(Celastraceae)植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)根中提取的中药混合成分,其生物活性成分主要包括二萜内酯、生物碱类及三萜类化学成分,临床上广泛用于类风湿性关节炎、肾炎以及系统性红斑狼疮等自身免

性疾病的治疗,疗效确切^[1-3]。

LC-MS 联用技术具有高效液相色谱法优秀的分离分析能力及质谱良好的特异性、高度的灵敏度等优点,通过对样品进行简单处理,即可对中药混合成分尤其是微量成分进行分析^[4-5]。

雷公藤多苷工艺残渣系雷公藤多苷工业生产硅胶柱层析分离过程中洗脱废液的浓缩物,工厂中一般对其做废弃处理,未能进行充分利用^[6]。本文采用 HPLC-QTOF-MS 法鉴定了雷公藤多苷工艺残渣中 30 个成分,包括 15 个生物碱类化合物,10 个二萜类化合物,4 个三萜类化合物,1 个不饱和脂肪酸,以上研究作为雷公藤多苷柱色谱工艺残渣的综合利用开发提供定性分析依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

雷公藤多苷工艺残渣为福建汇天药业有限公司提供(批号:131202)。

乙腈(色谱纯)、甲酸(色谱纯)(美国 Merck 公

司); Milli-Q 超纯水(美国 Millipore 公司),其他试剂均为分析纯。

化学对照品 wilforgine, wilforine, tripterygiumine B, wilfortrine, wilfordine, triptolide, neotripterifordin, triptophenolide, cangorone, wilforlide A, wilforlide B 为实验室自制对照品,结构经 NMR, IR, MS 等波谱技术鉴定,纯度经 HPLC 检测,面积归一化法下纯度大于 95%,结构式见图 1。

1.2 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪、Agilent 6520 型 Q-TOF 质谱仪、Agilent Mass Hunter B. 04. 00 型工作站定量分析软件(美国 Agilent 公司); XS 105DU 型电子天平(0.01 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

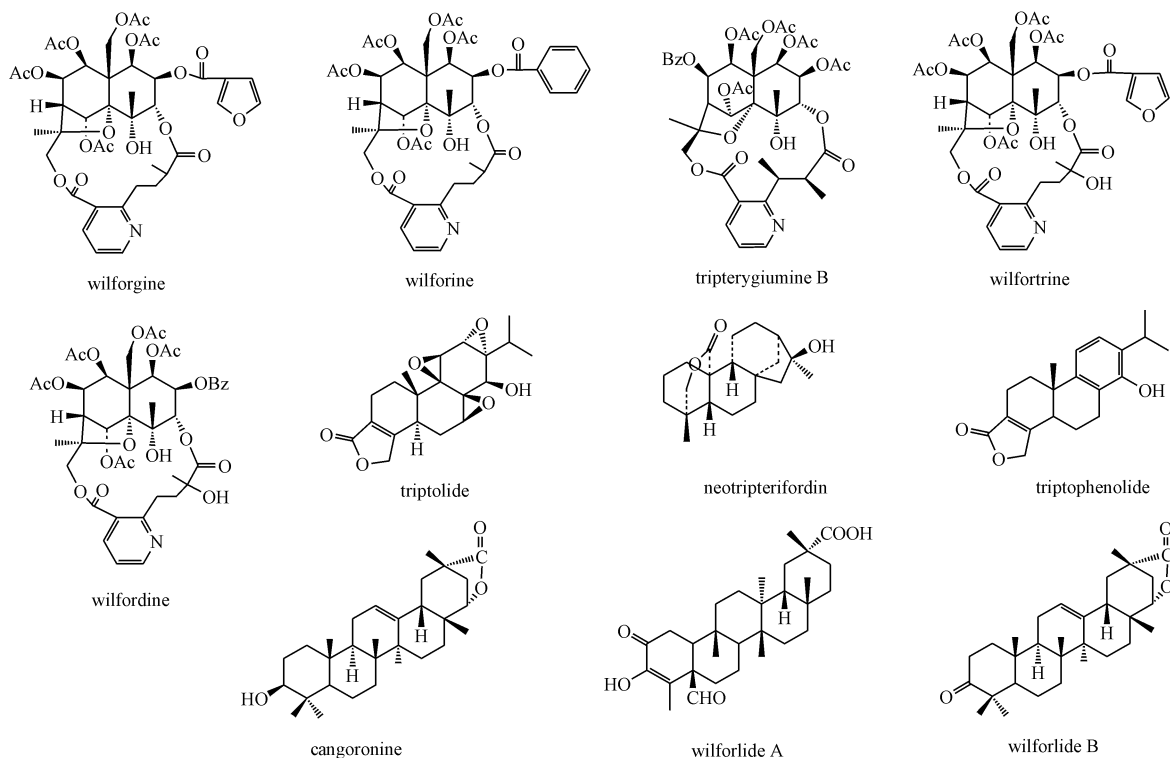


Figure 1 Chemical structures of the reference compounds

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别取材料项下各对照品适量,精密称定,用乙腈溶解,制成质量浓度为 15 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液。

2.1.2 样品溶液的制备 取雷公藤多苷工艺残渣

约 1.0 g,加甲醇 50 mL,超声提取 30 min,滤过,取适量滤液加乙腈稀释 10 倍后,过 0.45 μm 滤膜,作为样品溶液。

2.2 HPLC 条件

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 柱(4.6 mm \times 50 mm, 1.8 μm); 流动相 A: 0.2% 甲酸溶液, 流动相 B: 乙腈, 梯度洗脱: 0 min, 10% B, 10 min, 40% B,

40 min,65% B,50 min,80% B,60 min,95% B;柱温:25 ℃;流速:0.5 mL/min;进样量:2 μL。

2.3 MS 条件

离子源为 ESI,正离子模式,氮气为雾化气。去溶剂气体温度:325 ℃,去溶剂气体流速:8 mL/min,喷雾器压力:40 psi (1 psi = 6.895 kPa),毛细管电压:4 000 V,碎裂电压:100 V,碰撞能量:30 V,质谱检测范围:MS: m/z 100 ~ 1 000;MS/MS: m/z 50 ~ 1 000。

3 结 果

通过“2.2”项下色谱条件对雷公藤多苷工艺残渣样品溶液进行 QTOF-MS 分析,正离子模式下总离子流图见图 2,根据总离子流色谱峰上所得到的精确化合物相对分子质量信息,通过 Agilent Mass Hunter B. 04. 00 软件计算出可能的化合物分

子式,文献检索匹配的已知化合物,进行初步的鉴定。选择合适分子离子峰进行碰撞诱导解离 (CID),通过二级质谱裂解,获得化合物相应的碎片离子,根据离子的裂解情况,综合对照品化合物的保留时间,共鉴定了 30 个化合物,详细信息见表 1。

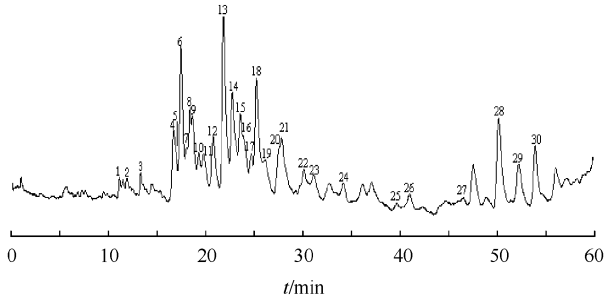


Figure 2 Postive total ion chromatogram of process residue of tripterygium glycosides

Table 1 Identification of chemical consitituents in process residue of tripterygium glycosides

Peak	t_R/min	Compound	Molecular formula	$[M+H]^+$ (m/z)	Calculated (m/z)	Error	Product ion
1	11.17	Tripfordine A	C ₃₆ H ₄₅ NO ₁₈	780.272 0	780.270 9	-1.36	762,752,744,204
2	11.92	Triptolide	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	361.165 4	361.164 6	-2.22	343
3	13.30	Alatusinine	C ₃₈ H ₄₇ NO ₁₉	822.280 1	822.281 5	1.71	794,204,176
4	16.70	Wilfordine E	C ₃₈ H ₄₇ NO ₁₈	806.286 8	806.286 6	-0.26	788,206
5	16.74	Wilfortrine	C ₄₁ H ₄₇ NO ₂₀	874.278 9	874.276 4	-2.84	856,846,204,176
6	17.53	Tripterifordin	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	319.228 7	319.226 8	-6.04	255,131
7	17.95	Wilfordconine	C ₄₁ H ₄₇ NO ₂₀	874.278 9	874.276 4	-2.84	856,846,176
8	18.40	Triptonoterpenol	C ₂₁ H ₃₀ O ₄	347.221 8	347.221 7	-0.33	219,205
9	18.66	Peritassine A	C ₃₈ H ₄₇ NO ₁₈	806.286 8	806.286 6	-0.26	788,206
10	19.33	Wilfordine	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₉	884.296 8	884.297 2	0.40	866,856,204,176
11	19.82	Neotripterifordin	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	319.227 7	319.226 8	-2.91	255,131
12	20.78	Triptoquinone B	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	331.191 6	331.190 4	-3.67	229,203
13	21.86	Wilforgine	C ₄₁ H ₄₇ NO ₁₉	858.279 3	858.281 5	2.57	840,206,178
14	22.76	Euonymine	C ₃₈ H ₄₇ NO ₁₈	806.284 4	806.286 6	2.72	788,206
15	23.56	Triptonoditerpenic acid	C ₂₁ H ₂₈ O ₄	345.207 4	345.206 0	-3.95	229,203
16	23.95	Triptophenolide	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	313.180 0	313.179 8	-0.57	255
17	24.65	Wilfornine A	C ₄₅ H ₅₁ NO ₂₀	926.309 0	926.307 7	-1.38	804,204
18	25.24	Wilforine	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₈	868.303 7	868.302 2	-1.68	850,808,206
19	26.30	Triptinin B	C ₂₀ H ₂₆ O ₃	315.195 2	315.195 5	0.86	243,219,205
20	27.54	Triptoquinone A	C ₂₀ H ₂₄ O ₄	329.175 4	329.174 7	-2.02	163
21	27.87	Triptonine B	C ₄₆ H ₄₉ NO ₂₂	968.284 1	968.281 9	-2.27	204,186,176
22	30.12	Peritassine B	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₈	868.300 4	868.302 2	-1.68	206,188,178
23	31.45	Triptonoterpene methyl ether	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	331.226 4	331.226 8	1.12	231,219
24	34.22	Tripterygiumine B	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₈	868.302 4	868.302 2	-1.68	850,808,206
25	39.80	Regelindiol B	C ₃₁ H ₅₀ O ₄	487.379 4	487.378 2	-2.49	201,187
26	41.02	Ebenifoline E-II	C ₄₈ H ₅₁ NO ₁₈	930.316 4	930.317 9	1.60	310,206,188,105
27	46.67	Cangoronine	C ₃₀ H ₄₄ O ₅	485.326 1	485.326 2	0.11	189
28	50.19	Wilforlide A	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	455.352 0	455.352 0	-0.06	437,201,187
29	52.20	Linoleic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	281.247 6	281.247 5	-0.33	69,55
30	53.94	Wilforlide B	C ₃₀ H ₄₄ O ₃	453.336 3	453.336 3	0.05	409,201,187

3.1 生物碱类

峰1在ESI⁺模式下得到 m/z 780 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 762 [M + H - H₂O]⁺, 752 [M + H - CO]⁺, 744 [M + H - 2H₂O]⁺, 734 [M + H - H₂O - CO]⁺ 的碎片峰, 碎片峰 m/z 204 为吡啶二羧酸部分碎片离子。通过其精确相对分子质量及与对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 tripfordine A。峰5在ESI⁺模式下得到 m/z 874 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 856 [M + H - H₂O]⁺, 846 [M + H - CO]⁺, 828 [M + H - H₂O - CO]⁺, 通过其精确相对分子质量以及和对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 wilfortrine。峰10在ESI⁺模式下得到 m/z 884 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 866 [M + H - H₂O]⁺, 856 [M + H - CO]⁺, 204, 186, 176 碎片离子峰, 结合其精确相对分子质量并与对照品比对, 鉴定其为 wilfordine。峰13在ESI⁺模式下得到 m/z 858 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 840 [M + H - H₂O]⁺, 通过其精确相对分子质量以及和对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 wilforgine。雷公藤中含有的生物碱大多为倍半萜吡啶生物碱, 母核中多会发生 H₂O 及 CO 中性分子的丢失, 该类型生物碱中含有许多乙酰基, 又可能会丢失 CH₃COOH 产生碎片离子峰。峰18在ESI⁺模式下得到 m/z 868 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 850 [M + H - H₂O]⁺, 808 [M + H - CH₃COOH]⁺, 790 [M + H - CH₃COOH - H₂O]⁺, 746 [M + H - CH₃COOH - H₂O - CO₂]⁺, 728 [M + H - CH₃COOH - H₂O - CO₂ - H₂O]⁺, 704 [M + H -

CH₃COOH - H₂O - CO₂ - C₂H₂O]⁺, 686 [M + H - CH₃COOH - H₂O - CO₂ - C₂H₂O - H₂O]⁺, 以及吡啶二羧酸部分 m/z 206, 188, 178 碎片离子, 通过其精确相对分子质量及与对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 wilforine。峰24在ESI⁺模式下得到 m/z 868 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 850 [M + H - H₂O]⁺, 808 [M + H - CH₃COOH]⁺, 790 [M + H - CH₃COOH - H₂O]⁺, 748 [M + H - CH₃COOH - H₂O - C₂H₂O]⁺, 以及吡啶二羧酸部分 m/z 206, 188, 160 碎片离子, 通过精确相对分子质量以及和对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 tripterygiumine B。

通过总结上述化合物碎片离子峰信息可发现, 该类型化合物易脱去 H₂O, CO, CO₂, CH₃COOH 等中性小分子而产生碎片峰, 此外, 以 wilfortrine 为例, 其二级质谱中基峰为脱去 1 分子 CO 的 m/z 846 峰, 另有丰度较好的脱 1 分子 H₂O 的 m/z 856 峰和脱 1 分子 HCOOH 的 m/z 828 峰, 其 m/z 210 以下区域具有 m/z 204 峰, 应为大环开裂产生的吡啶二羧酸部分脱水产生的碎片离子, 该离子进一步脱水或脱羧可分别产生 m/z 186 峰和 m/z 176 峰。而 wilforgine 中吡啶二羧酸部分较 wilfortrine 中少一个羟基, 故其易产生 m/z 206 峰, 通过脱水或脱羧产生 m/z 188 峰和 m/z 178 峰^[7], 它们的一级及二级质谱图见图3。不难发现, 吡啶二羧酸部分含有羟基的生物碱会产生 m/z 204 系列特征碎片离子峰, 不含羟基的生物碱则产生 m/z 206 系列特征碎片离子峰。

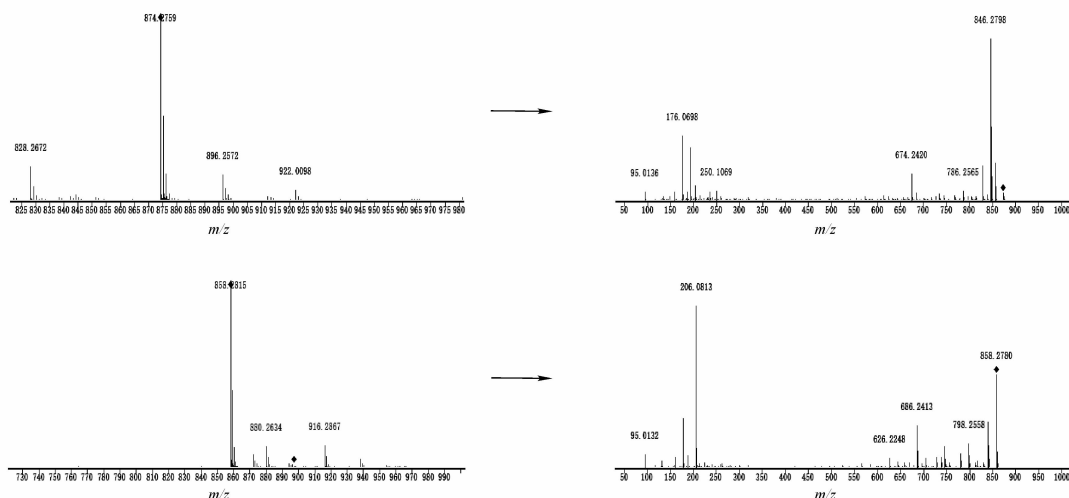


Figure 3 Positive ion MS and MS/MS spectra of wilfortrine (compound 5, up) and wilforgine (compound 13, down)

峰7在ESI⁺模式下得到 m/z 868 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 176 碎片离子峰, 可知其吡啶二羧酸部分含有羟基基团, 结合精确相对分子质量, 鉴定其为 wilfordconine。峰22在ESI⁺模式下得到 m/z 868 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 206 系列特征离子峰, 则其吡啶二羧酸部分不含羟基, 结合精确相对分子质量, 鉴定其为 peritassine B。峰3在ESI⁺模式下得到 m/z 822 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 204, 176 碎片离子峰, 结合精确相对分子质量, 鉴定其为 alatusinine。

峰4, 峰9, 峰14具有相同的准分子离子峰 m/z 806 [M + H]⁺ 以及相同的碎片离子峰 m/z 788 [M + H - H₂O]⁺, 并且都有特征碎片离子峰 m/z 206, 考虑其为吡啶二羧酸部分不含羟基基团的倍半萜吡啶生物碱, 且互为同分异构体, 通过其极性大小并对比文献[8], 鉴定为 wilfordine E, peritassine A, euonymine。

峰21在ESI⁺模式下得到 m/z 968 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 204 系列碎片离子峰, 结合其精确相对分子质量, 判断其为 triptonine B。其吡啶二羧酸部分虽然不含羟基, 但是具有 FuO-基团, 可以脱去 FuOH 分子, 同样产生 m/z 204 的碎片离子。峰17在ESI⁺模式下得到 m/z 926 [M + H]⁺, 其二级质谱同样得到 m/z 204 碎片离子峰, 结合精确相对分子质量, 鉴定其为 wilformine A。其 m/z 204 碎片离子, 是由吡啶二羧酸部分脱去 BzOH 分子得到的。

峰26在ESI⁺模式下得到 m/z 930 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 310, 188, 105 的碎片离子峰, 显示其裂解过程中经过一个离子-偶极复合体的中间阶段^[9], 其中 m/z 105 为脱去的 BzOH 所产生的离子, 该离子被生物碱大环开裂所生成的羧基亲电取代, 产生一个离子-偶极复合体, 该复合体吡啶二羧酸部分完全断裂, 产生 m/z 310 的碎片离子, 该离子进一步脱去 BzOH 基团产生 m/z 188 碎片离子, 结合其精确相对分子质量, 鉴定该化合物为 ebenifoline E-II。

倍半萜吡啶类生物碱可能发生中性小分子的丢失以及大环断裂后吡啶二羧酸部分的进一步裂解, 本研究以 wilfordine 为例, 对该类型化合物可能发生的裂解途径进行归纳总结, 结果如图4。

3.2 二萜类

峰2在ESI⁺模式下得到 m/z 361 [M + H]⁺, 其二级质谱得到 m/z 343 [M + H - H₂O]⁺, 通过其精确相对分子质量及与对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 triptolide。峰11在ESI⁺模式下得到 m/z 319 [M + H]⁺, 通过其精确相对分子质量及与对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 neotriptetofordin, 其二级质谱得到 m/z 255 的强丰度碎片离子峰, 可能是分子中内酯环开裂, 脱去2分子 H₂O 及1分子 CO 所产生。峰6在ESI⁺模式下得到 m/z 319 [M + H]⁺, 其二级质谱也产生 m/z 255 的碎片离子峰, 考虑其与峰11互为同分异构体, 且二者具有相似的母核结构, 故鉴定峰6为 tripterifordin。峰8在ESI⁺模式下得到 m/z 347 [M + H]⁺, 二级质谱中具有 m/z 219, 205 的碎片离子峰, 通过其精确相对分子质量以及文献对比, 鉴定其为 triptonoterpenol, 其通过10位角甲基的丢失, 在A环上产生双键, 进而A环发生 RDA 裂解反应产生 m/z 219, 205, 188 的碎片离子峰^[10], 其一级与二级质谱图如图5所示。峰12在ESI⁺模式下得到 m/z 331 [M + H]⁺, 二级质谱中得到 m/z 229, 203 的碎片离子峰, 结合精确相对分子质量并对照文献[11], 鉴定其为 triptoquinone B。峰15在ESI⁺模式下得到 m/z 345 [M + H]⁺, 二级质谱中得到 m/z 229, 203 的碎片离子峰, 结合精确相对分子质量并对照文献[7], 鉴定其为 triptonoditerpenic acid。峰16在ESI⁺模式下得到 m/z 313 [M + H]⁺, 二级质谱中具有 m/z 225 碎片离子峰, 通过其精确相对分子质量以及对照品保留时间对比, 鉴定其为 triptophenolide。峰19在ESI⁺模式下得到 m/z 315 [M + H]⁺, 二级质谱中得到 m/z 243, 219, 205 的碎片离子峰, 结合精确相对分子质量并对照文献[11], 鉴定其为 triptinin B。峰20在ESI⁺模式下得到 m/z 329 [M + H]⁺, 二级质谱中具有 m/z 163 的碎片离子峰, 结合精确相对分子质量并与文献[11]对照, 鉴定其为 triptoquinone A。

3.3 三萜类

峰25在ESI⁺模式下得到 m/z 487 [M + H]⁺, 二级质谱中得到 m/z 201, 187 的碎片离子峰, 结合精确相对分子质量并与对照品保留时间比较, 鉴定其为 regelindiol B。峰27在ESI⁺模式下得到 m/z 485 [M + H]⁺, 二级质谱中得到 m/z 189 碎片离子

峰, 结合精确相对分子质量并与对照品保留时间比较, 鉴定其为 cangoronine。峰 30 在 ESI⁺ 模式下得到 m/z 453 $[M + H]^+$, 二级质谱中得到 m/z 409, 201, 187, 173, 159, 145 碎片离子峰, 结合精确相对分子质量并与对照品保留时间比较, 鉴定其为 wilforlide B。峰 28 在 ESI⁺ 模式下得到 m/z 437

$[M + H - H_2O]^+$, 其二级质谱得到 m/z 201, 187 碎片离子峰, 结合相对分子质量并与对照品保留时间比较, 鉴定其为 wilforlide A。 m/z 201, 187 碎片离子可能是由于三萜化合物中 C 环发生 RDA 反应裂解所产生^[10]。

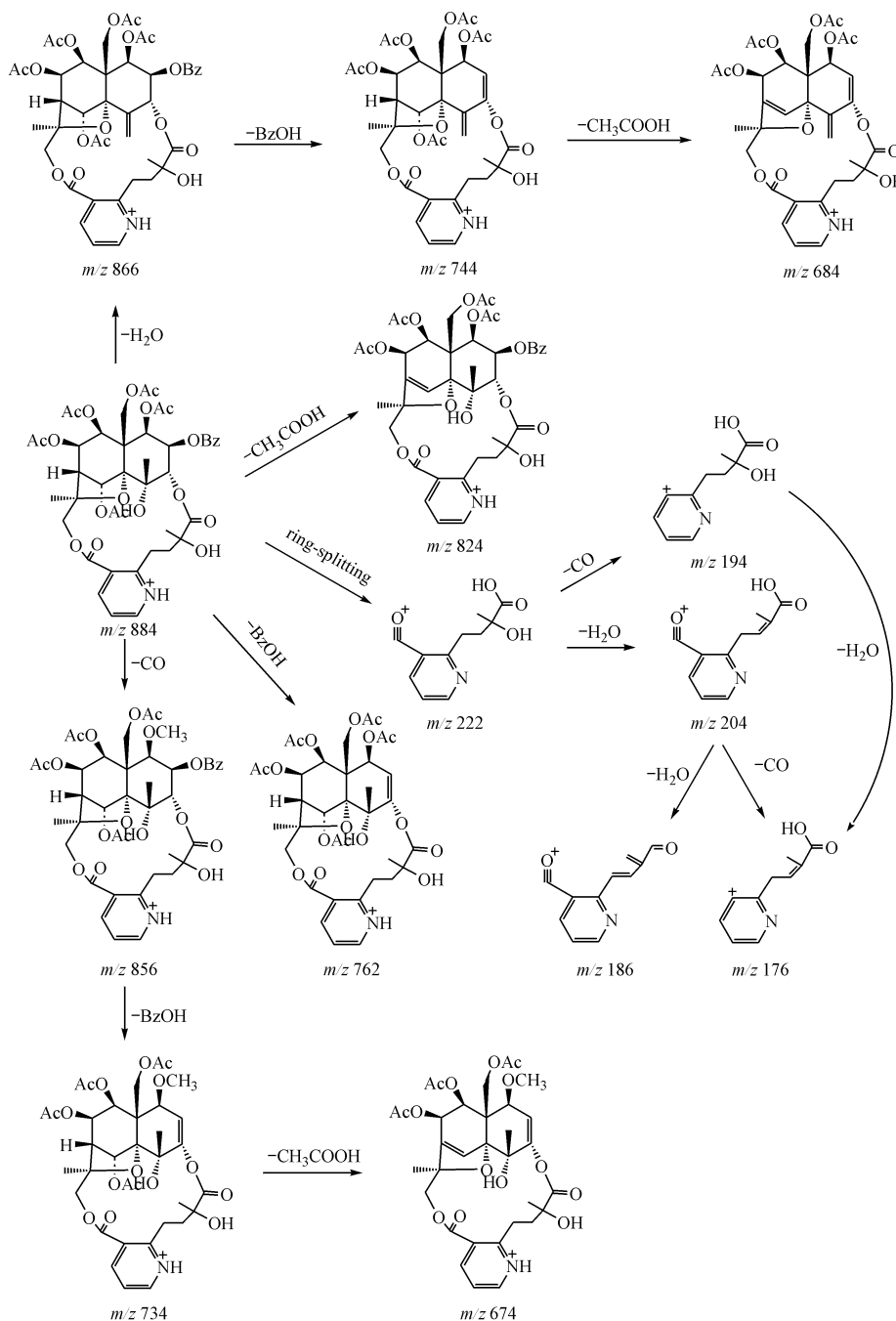


Figure 4 Fragmentation pathway of wilfordine (compound 10)

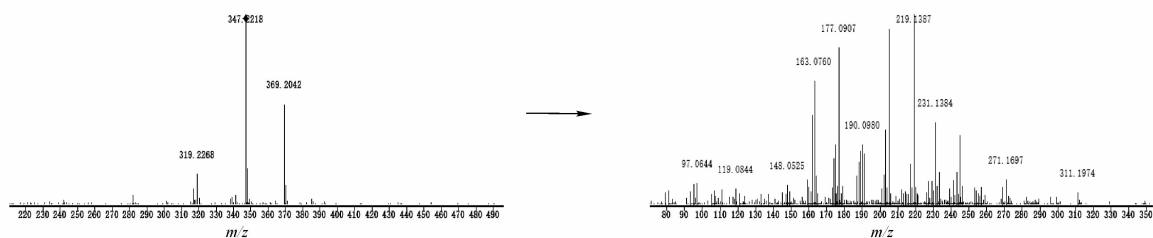


Figure 5 Positive ion MS and MS/MS spectra of triptonoterpenol (compound 8)

3.4 其他类

峰 29 二级质谱中产生一系列 m/z 相差 14 的碎片离子峰,推测其结构可能为链烃,结合相对分子质量信息,参照文献[12],鉴定其结构为 linoleic acid。

4 讨论

本实验用 HPLC-QTOF-MS 法对雷公藤多苷工艺残渣中主要成分进行分析,流动相水相分别尝试了水和甲酸溶液,结果发现在水相中加入甲酸可有效改善色谱峰拖尾现象。质谱检测分别采用正负离子两种扫描模式进行扫描,结果发现正离子模式下质谱响应更好,故选择正离子模式进行解析。共鉴定了 30 个化合物:15 个生物碱类化合物、10 个二萜类化合物、4 个三萜类化合物、1 个不饱和脂肪酸。结果表明,HPLC-QTOF-MS 方法可以快速、准确地对混合物中各成分进行定性分析,同时,本实验结果也对雷公藤多苷工艺残渣的综合利用开发奠定了一定的研究基础。

参考文献

- [1] Yao JR, Sun Y, Luo SK, *et al.* Progress of tripterygium glycosides in clinical application[J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床杂志), 2010, **29**(3): 179 – 182.
- [2] Liu F. Pharmacological research and clinical application of tripterygium glycosides[J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, **24**(5): 385 – 387.
- [3] Zhang XL, Li AP, Huan F, *et al.* Effects of celastrol on the proliferation and apoptosis of human leukemia cells HL-60 and Jurkat[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46**(1): 89 – 93.

- [4] Hu ZY, Tian JX, Li XL. Advances in studies on liquid chromatography-tandem mass spectrometry to analysis of non-target compounds in Chinese materia medica[J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2011, **42**(1): 180 – 184.
- [5] He BK, Yang MH, Gao Y. Application of LC-MS in research of Chinese traditional medicine[J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, **27**(9): 1497 – 1500.
- [6] Liu NF. Studies on quality improving in the *Leigongteng Duodai*'s column chromatography procedure(雷公藤多甙生产柱层析工序质量改进的研究)[D]. TianJin; TianJin University, 2004.
- [7] Zeng F, Wang W, Guan S, *et al.* Simultaneous quantification of 18 bioactive constituents in *Tripterygium wilfordii* using liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry[J]. *Planta Med*, 2013, **79**(9): 797 – 805.
- [8] Jing L, Ke CQ, Li XQ, *et al.* Isolation and structural identification of sesquiterpene alkaloids from *Tripterygium wilfordii*[J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2008, **18**(3): 210 – 214, 218.
- [9] Cai T, Luo YG, Zhou M, *et al.* Analysis of sesquiterpene pyridine alkaloids using ESI-MS/MS: the product ion at m/z 310 formed by an ion-dipole intermediate[J]. *Int J Mass Spectrom*, 2015, **376**: 54 – 57.
- [10] Su P, Cheng Q, Wang X, *et al.* Characterization of eight terpenoids from tissue cultures of the Chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii*, by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, **28**(9): 1183 – 1192.
- [11] Wang YS, Huang R, Yang QH. Research on diterpenoid constituents of *Tripterygium wilfordii*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2010, **41**(8): 1252 – 1254.
- [12] Guo ZF, Wu XY, Zhang XX, *et al.* Gas chromatography-mass spectrometry analysis of terpenes and alkaloids in *Tripterygium wilfordii*[J]. *J Hebei Univ* (河北大学学报), 2013, **33**(2): 167 – 174.