

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202110005



应用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析 生物诱导后雷公藤悬浮细胞化学成分

张景红^{1,2}, 何秀枝¹, 戴培委¹

(1. 华侨大学 医学院, 福建 泉州 362021;
2. 华侨大学 分子药物研究院, 福建 泉州 362021)

摘要: 利用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱连用技术(UPLC-Q-TOF-MS/MS)和化学计量学结合的方法,分析生物诱导后雷公藤悬浮细胞体系中化学成分的变化.分析样品相似度、层次聚类分析(HCA)和主成分分析(PCA),建立 554 个共有峰的质谱指纹图谱.结果表明:通过对雷公藤离体培养体系中的质谱指纹图谱分析,鉴定了 104 种化学成分;生物诱导后雷公藤悬浮细胞和培养液中部分化学成分质量比显著升高,雷公藤内酯乙、山海棠酸衍生物 1、TH1、雷公藤甲素衍生物 2、雷酚内酯、雷公藤甲素衍生物 1、雷酚新内酯质量比分别提高了 7.41, 6.50, 6.07, 5.85, 3.63, 1.59, 1.13 倍;质荷比(m/z)为 224, 278, 678, 701 的未鉴定成分质量比分别提高了 2.88, 1.57, 4.04, 6.27 倍.

关键词: 雷公藤悬浮细胞;超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱连用技术;诱导子;指纹图谱;化学成分
中图分类号: R 931.71; R 914.1; R 932 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-5013(2022)03-0355-06

Analysis of Chemical Components in *Tripterygium wilfordii* Suspension Cells After Biological Induction Using UPLC-Q-TOF-MS/MS Technique

ZHANG Jinghong^{1,2}, HE Xiuzhi¹, DAI Peiwei¹

(1. School of Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;
2. Institute of Molecular Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: The changes of chemical components in *Tripterygium wilfordii* suspension cells system after biological induction were analyzed by ultra high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry combined technique (UPLC-Q-TOF-MS/MS) and chemometrics chromatography. Similarity, hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) of samples were analyzed, and the mass spectrum fingerprints of 554 common peaks were established. The results showed that, 104 chemical constituents were identified by analyzing the mass spectrometry fingerprints of *Tripterygium wilfordii* *in vitro* culture system. After induction, the mass ratios of some chemical components in *Tripterygium wilfordii* suspension cells and culture medium increased significantly. The mass ratios of wilforlide B, hypoglycic acid derivative 1, TH1, triptolide derivative 2, triptophenolide, triptolide derivative 1 and eotriptophenolide were increased to 7.41, 6.50, 6.07, 5.85, 3.63, 1.59 and 1.13 times respectively. The mass ratios of unidentified

收稿日期: 2021-10-05

通信作者: 张景红(1966-),女,教授,博士,主要从事天然药物分离和新药的研究. E-mail: zjh@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81173503);福建省引导性项目(2018Y0062);福建省泉州市高层次人才基金资助项目(2018C075R)

components with charge mass ratio (m/z) of 224, 278, 678, 701 were increased to 2.88, 1.57, 4.04 and 6.27 times, respectively.

Keywords: *Tripterygium wilfordii* suspension cells; UPLC-Q-TOF-MS/MS; elicitor; fingerprint; chemical component

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)属卫矛科植物,被列为福建省道地药材,具有抗炎、抗肿瘤、抑制免疫等药理作用,临床上主要用于治疗类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、肾脏疾病、系统性红斑狼疮、自身免疫性疾病和皮肤病等疾病^[1]. 目前,已从雷公藤中分离出 380 多种化学成分,主要为二萜类、三萜类和倍半萜类生物碱等. 虽然利用化学提取法、化学合成法、人工栽培及半合成法都已经得到多种雷公藤类的成分单体,但是从生长年限 7 a 以上的雷公藤原药材中提取的雷公藤甲素质量比仅为 $120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[2],与目前日益增长的需求相比,雷公藤新药的开发仍显得远远不足.

针对这一现状,国内外学者体外培养雷公藤悬浮细胞、发状根和不定根,并采用各种生物和非生物诱导子对系统进行调控研究,研究结果发现,生物诱导后雷公藤悬浮细胞、发状根和不定根的雷公藤甲素、雷公藤红素、雷公藤次碱、雷公藤定碱和雷公藤吉碱等活性成分的质量比大幅度提升^[3-9],而其他成分的质量比提升仍旧有限.

鉴于各种雷公藤体外培养体系中其他成分的质量比较低、难以分离这一现状,本文利用超高效相色谱-四级杆-飞行时间质谱连用技术(UPLC-Q-TOF-MS/MS)和化学计量学对悬浮细胞中微量特征峰进行表征和分析,比较诱导前后悬浮细胞和培养液中化学成分的变化.

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 雷公藤 雷公藤由福建省三明市汉堂生物制药股份有限公司雷公藤 GAP(good argricultine practice)种植基地提供,经扦插至华侨大学医学院试验基地.

1.1.2 仪器 UPLC-Q-TOF-MS/MS(美国应用生物系统公司)

1.1.3 试剂 MS (murashige and skoog)固体培养基、6,7-V 液体培养基(北京海博生物技术有限公司);茉莉酸甲酯(MeJA,质量分数 $\geq 95\%$)、酵母提取物(Ye,质量分数 $\geq 98\%$,上海晶纯实业有限公司);硝酸银(AgNO_3 ,上海国药化学试剂有限公司);乙腈、甲醇均为色谱纯(上海麦克林试剂公司).

1.2 实验方法

1.2.1 雷公藤悬浮细胞体系的建立 选取扦插雷公藤嫩叶,分别用体积分数为 75%的酒精、质量分数为 0.1%的氯化汞(HgCl_2)和无菌水清洗后,切成 $0.5\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$ 左右的方块,接种于 40 mL 的 MS 固体培养基中. 雷公藤愈伤组织培养至 4 代之后,将生长状态良好、质地疏松的雷公藤愈伤组织转入 6,7-V 液体培养基中进行悬浮细胞培养,继代培养后,加入联合诱导子(MeJA 浓度为 $80\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, Ye 质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, AgNO_3 质量浓度为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),培养期间检测指纹图谱,分析化学成分的质量比变化,待其质量比达标后,即得到诱导后雷公藤悬浮细胞体系.

1.2.2 悬浮细胞中化学成分分离 将悬浮细胞烘干后,用适量乙酸乙酯回流提取,并合并提取液. 使用旋转蒸发仪回收溶剂,残渣蒸干后,用适量的甲醇溶解. 将适量甲醇溶解液和硅胶粉末混合拌样,上样,硅胶填料量为 20 g. 依次用 200 mL 不同比例的石油醚与乙酸乙酯洗脱液(石油醚:乙酸乙酯分别为 9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,4:6,3:7,2:8,1:9,0:10)进行洗脱,收集 10 个馏分洗脱液. 使用旋转蒸发仪回收溶剂,残渣蒸干后,加适量的甲醇溶解成 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,装于进样瓶中保存备用.

1.2.3 培养液中化学成分的分离 将培养液与等体积石油醚充分混合,重复萃取 3 次,再用 1/2 体积的乙酸乙酯萃取 3 次,合并萃取液,使用旋转蒸发仪回收溶剂,残渣蒸干后,用适量的甲醇溶解备用.

1.2.4 色谱分析方法 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析各种提取液的化学成分,色谱柱为 Acqity Uplc BEH C_{18} ($1.7\text{ }\mu\text{m}$);柱温为 $25\text{ }^\circ\text{C}$;流动相为乙腈,流动相水梯度洗脱;流速为 $0.25\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$.

流动相梯度洗脱条件,如表 1 所示. 表 1 中: t 为时间; w 为质量分数; V 为流速.

1.2.5 数据处理的方法 UPLC-Q-MS/MS 的数据由 Analyst 软件分析,样品相似度、聚类、共有峰等由 ChemPattern 软件(北京科迈恩科技有限公司)分析. 根据解卷积色谱峰提供的化合物特征碎片离子信息,自动匹配不同样品所表征的成分. 以化合物的色谱分离信息(色谱峰保留时间)为主,结构信息(化合物的解卷积质谱)为辅,匹配化合物的质谱信息.

2 实验结果与分析

2.1 悬浮细胞和培养液指纹图谱的建立

悬浮细胞和培养液的总离子流叠加色谱,如图 1 所示. 图 1 中:4-67-0-PYY 为诱导 0 d 的培养液;4-67-0-XF 为诱导 0 d 的悬浮细胞;4-67-5-PYY 为诱导 5 d 的培养液;4-67-5-XF 为诱导 5 d 的悬浮细胞;4-67-7-PYY 为诱导 7 d 的培养液;4-67-7-XF 为诱导 7 d 的悬浮细胞;4-67-9-PYY 为诱导 9 d 的培养液;4-67-9-XF 为诱导 9 d 的悬浮细胞; I 为强度.

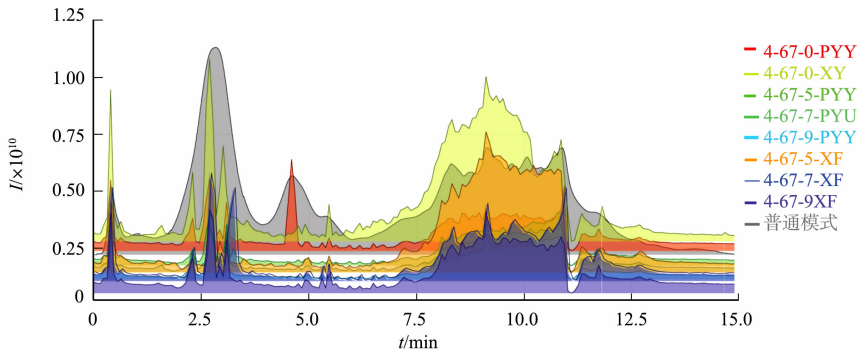


图 1 悬浮细胞和培养液的总离子流叠加色谱

Fig. 1 Total ion flow superposition chromatography of suspension cells and culture medium

悬浮细胞和培养液的总离子流共有模式色谱,如图 2 所示. 由图 2 可知:共有模式图谱得到 554 个共有峰的质谱指纹图谱;诱导后的悬浮细胞及其培养液的色谱峰群峰密集;诱导后峰面积增幅较大;诱导后化学成分群从悬浮细胞向培养液流动,生物诱导促进了多种化学成分的溶出和积累.

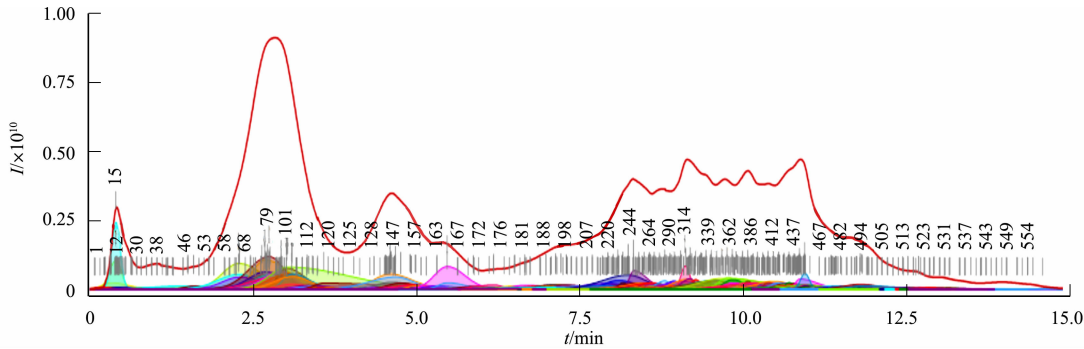


图 2 悬浮细胞和培养液的总离子流共有模式色谱

Fig. 2 Total ion flow common mode chromatography of suspension cells and culture medium

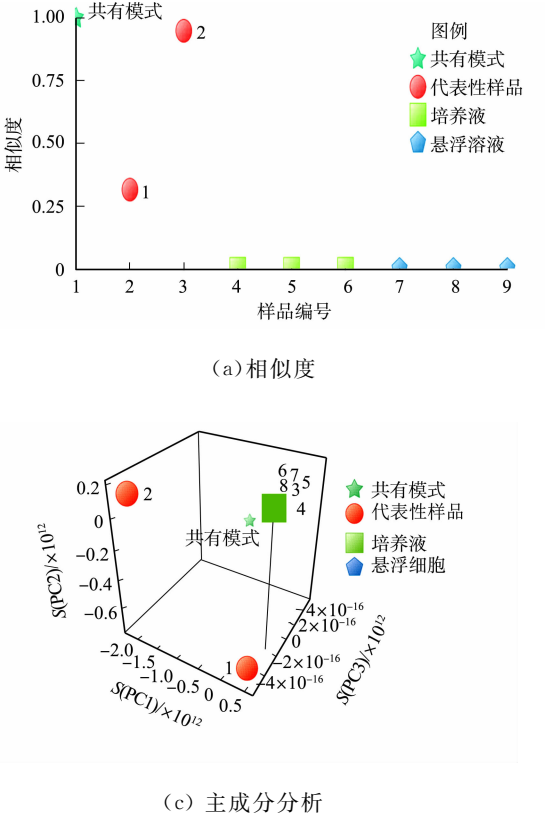
2.2 相似度、聚类(HCA)分析和主成分分析(PCA)

悬浮细胞和培养液的总离子流差异性分析,如图 3 所示. 图 3 中:1 为诱导 0 d 的培养液;2 为诱导 0 d 的悬浮细胞;3 为诱导 5 d 的培养液;4 为诱导 7 d 的培养液;5 为诱导 9 d 的培养液;6 为诱导 5 d 的悬浮细胞;7 为诱导 7 d 的悬浮细胞;8 为诱导 9 d 的悬浮细胞.

实验通过 ChemPattern 软件中夹角余弦法计算各样品相似度,并与共有模式进行比较,如图 3(a)所示。由图 3(a)可知:2 号样品的相似度为 0.95,与共有模式有较强相似性,而其余样品的相似度比共有模式低;3,4,5,6,7,8 号样品的相似度一致;1 号样品的相似度比其余样品偏低。

各样品聚类分析的结果,如图 3(b)所示。图 3(b)中:样品分为 3 类,第 I 类包含 4,3,5,6,7,8 号 6 个样品,第 II、III 类均包含 1 个样品,分别为 1,2 号; s 为距离。由图 3(b)可知:诱导后的悬浮细胞及其培养液中的次生代谢产物有密切的化学亲缘关系,但是与诱导前的化学关系疏远。

各样品主成分分析结果,如图 3(c)所示。图 3(c)中: S 为得分。由图 3(c)可知:PC1 累积方差为 90.02,PC2 累积方差为 100.00,因此,样品间 100% 的差异满足数据分析要求,说明诱导前后悬浮细胞和培养液中主



(b) 聚类分析

(c) 主成分分析

图 3 悬浮细胞和培养液的总离子流差异性分析

Fig. 3 Total ion flow difference analysis of suspension cells and culture medium

成分变化较大,具有显著的差异。诱导后,不论是悬浮细胞还是培养液,其化合物的种类和质量比都有很大的不同,相似度差异明显。

2.3 悬浮细胞和培养液中化学成分的变化

通过对雷公藤离体培养体系中的质谱指纹图谱的比对,鉴定了 104 种化学成分,70 个共有峰,其中,悬浮细胞共有成分有 44 种,已鉴定的有 33 种,而培养液中共有成分有 26 种,已鉴定的有 19 种。诱导后,在悬浮细胞和培养液中化学成分均发生较大的变化。

在悬浮细胞中,雷公藤甲素的质量比提高了 1.24 倍,而雷公藤内酯乙、山海棠酸衍生物 1、TH1、雷公藤甲素衍生物 2、雷酚内酯、雷公藤甲素衍生物 1 和雷酚新内酯的质量比则分别提高了 7.41,6.50,6.07,5.85,3.63,1.59,1.13 倍,其 m/z 值分别为 224,278,678,701 的未鉴定成分的质量比分别提高了 2.88,1.57,4.04,6.27 倍。在培养液中,诱导子能有效提高 31 种化合物的质量比,已鉴定的萜类有 11 种,分别为雷公藤甲素、雷公藤红素、雷公藤甲素衍生物 5、雷公藤甲素衍生物 2、槲儿茶酸(gallocatechin)、雷酚萜甲醚衍生物 1、TH1、TH5、齐墩果酸、儿茶素和雷酚萜;已经鉴定的生物碱有 1 种,为雷公藤酸 C;未鉴定的化合物有 19 种,其 m/z 值分别为 223,227,246,278,287,301,309,339,362,374,383,464,475,481,539,566,685,700,905。

在悬浮细胞中,雷公藤甲素衍生物 1、雷酚新内酯、wilformine A 的质量比分别提高了 2.05,2.18 和 1.08 倍;在培养液中, m/z 值为 224 的未鉴定成分的质量比升高最显著,提高了 8.11 倍,而 m/z 值为 409 和 701 的未鉴定成分的质量比分别升高了 1.01 和 2.14 倍。说明诱导促进了多种代谢产物从悬浮细胞中转移,无论从化合物的类别或种类上都与悬浮细胞有很大的差异,培养液中也出现了各种代谢产物的积聚和变化。经过共有峰比对和并参阅参考文献[10-13],可以得到部分共有峰的化学信息确认和分析,如表 2 所示。

表 2 部分共有峰的化学信息确认和分析

Tab. 2 Chemical information confirmation and analysis of part common peaks

<i>m/z</i>	<i>M</i>	分子式	<i>M</i> 偏差	化合物	<i>m/z</i>	<i>M</i>	分子式	<i>M</i> 偏差	化合物
280	280	C ₁₉ H ₂₀ O ₂	0	雷公藤甲素衍生物 4	282	282	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	0	雷公藤甲素衍生物 2
284	284	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	0	雷公藤甲素衍生物 3	288	288	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	0	雷公藤甲素衍生物 1
290	290	C ₁₆ H ₁₈ O ₅	0	儿茶素	300	300	C ₂₀ H ₂₅ O ₂	0	雷酚萜
302	302	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	0	triptobenzene B	308	307	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	1	galocatechin B
310	310	C ₁₉ H ₂₂ N ₃ O ₄	0	TH2	312	311	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	1	雷酚内酯
313	314	C ₂₁ H ₂₆ O ₃	1	雷酚萜甲醚衍生物 1	318	318	C ₁₉ H ₂₆ O ₄	0	triptobenzene Y
327	328	C ₂₀ H ₂₄ O ₄	1	tripterlide A	327	328	C ₂₀ H ₂₄ O ₄	1	雷藤三萜酸
330	330	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	0	雷酚萜甲醚	340	340	C ₂₀ H ₃₆ O ₄	0	山海棠酸衍生物
341	343	C ₂₁ H ₂₆ O ₄	2	雷酚新内酯	344	344	C ₂₁ H ₂₈ O ₄	0	类酚二萜酸
346	346	C ₂₁ H ₃₀ O ₄	0	雷酚萜醇	351	352	C ₁₉ H ₃₃ N ₃ O ₃	1	TH1
358	360	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	2	雷公藤甲素	359	358	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	1	雷公藤内酯酮
370	370	C ₂₁ H ₂₅ O ₆	0	呋喃南蛇碱	375	376	C ₂₀ H ₂₇ O ₇	1	雷公藤乙素
414	414	C ₂₉ H ₅₀ O	0	β -谷甾醇	449	450	C ₂₉ H ₃₈ O ₄	1	雷公藤红素
453	453	C ₃₀ H ₄₄ O ₃	0	雷公藤内酯乙	454	454	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	0	雷公藤内酯甲
459	456	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	3	齐墩果酸	475	473	C ₃₀ H ₄₉ O ₄	2	雷公藤酸 C
481	480	C ₂₉ H ₃₆ O ₆	1	去甲基泽拉木醛	577	577	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	0	原花青素 B1
607	610	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	3	槲皮素-3- <i>O</i> -新橙皮糖苷	766	763	C ₃₆ H ₄₇ NO ₁₆	3	2- <i>O</i> -去乙酰-雷公藤新碱
805	805	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₉	0	雷公藤定碱	808	806	C ₃₈ H ₄₇ NO ₁₈	2	peritassine A
858	858	C ₄₁ H ₄₇ NO ₁₉	0	雷公藤吉碱	867	867	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₈	0	雷公藤次碱
927	925	C ₃₈ H ₄₇ NO ₁₈	2	wilformine A					

3 结论

利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS^[14-15] 和化学计量学^[8] 成功建立了含有 554 个共有峰的质谱指纹图谱。以往对雷公藤悬浮细胞中的色谱分析大多以雷公藤甲素、雷公藤吉碱和雷公藤次碱 3 种化学成分为主, 涉及的种类和数量均较少^[16-17]。Zeng 等^[13] 利用液相和质谱联合的分析方法, 确定 18 种雷公藤药材中的化学成分。刘超等^[10] 利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 建立雷公藤叶片的指纹图谱, 结合化学计量学进行 PCA 分析, 鉴定了 23 种与昆明山海棠叶片差异的代谢物。但是鲜有对雷公藤离体细胞培养体系进行全成分、全景式的指纹图谱鉴定和分析, 可能是因为雷公藤药材生长周期长达 20 a, 许多活性成分质量比极低。生物诱导和体外培养技术成功提高雷公藤中活性成分的质量比, 将雷公藤类指纹图谱表征的化学成分数量从 23 种, 提高到 554 种, 这对于整体挖掘雷公藤类整体活性成分、建立雷公藤离体培养体系的评价标准都是有积极意义的。

通过对诱导前后悬浮细胞的化学成分分析, 发现诱导子对悬浮细胞本身的固有成分有促进和积聚作用, 例如, 悬浮细胞诱导后, 可增加 19 种成分, 其中, 已知成分共有 10 种, 萜类产物共有 7 种, 分别为枹儿茶酸、雷酚萜甲醚、tripterinin、雷酚萜、TH5、雷酚萜甲醚衍生物 1 和雷公藤红素; 而生物碱类成分则有 3 种, 包括 wilformine A、雷公藤酸 C 和 wilforsinine B。另外, 未鉴定成分有 9 种, 其 *m/z* 值分别为 222, 246, 339, 409, 453, 685, 579, 679 和 701。雷公藤内酯乙、山海棠酸衍生物 1、TH1 和雷公藤甲素衍生物 1 的质量比分别提高了 7.41, 6.50, 6.07, 1.59 倍, *m/z* 值为 453, 224, 278, 678, 701 的未鉴定化合物质量比分别提高了 7.40, 2.88, 1.57, 4.04, 6.27 倍。结合化学计量学分析和 UPLC-Q-TOF-MS/MS, 对雷公藤离体培养体系中的多种化学成分进行分析和表征, 这不仅为雷公藤的整体化学成分的表征提供了有益的思路, 也为雷公藤的活性成分评价和药效基础的研究提供了理论依据和技术方法。

诱导后, 培养液中化学成分种类也变得极为丰富, 部分产物的质量比极大地提高, 特别是部分水不溶解的次生代谢产物从悬浮细胞中发生代谢流, 从而转移积聚到培养液中。诱导子促进了 18 种化合物在培养液中的快速积累, 已鉴定的萜类成分有 11 种, 分别为雷公藤甲素、雷公藤红素、雷公藤甲素衍生物 5、雷公藤甲素衍生物 2、枹儿茶酸、雷酚萜甲醚衍生物 1、TH2、TH5、齐墩果酸、儿茶素和雷酚萜; 已

鉴定的生物碱有 1 种,为雷公藤酸 C;未鉴定的化合物有 6 种,其 m/z 值分别为 227,246,278,339,685,579. 目前未见到相关诱导子可以同时 对 18 种萜类和生物碱进行调控. 诱导子不仅对未知的代谢产物调控非常显著(m/z 值为 224 和 701 产物的质量比分别提高了 8.22,8.14 倍),而且可以提高已知成分包括雷公藤甲素衍生物 1、雷酚新内酯和雷公藤甲素衍生物 4 的质量比(分别提高了 2.05,2.22 和 1.16 倍). 这是因为这些成分质量比较低,难于分离,且生物诱导子可以调控特殊的代谢酶,启动代谢酶调控代谢流的快速流动,次生代谢产物从悬浮细胞中发生代谢流,转移积聚到培养液中. 实验也发现部分成分存在诱导子抑制现象,这可能与诱导子对不同代谢酶的调控机制不同有关. 试验不仅为雷公藤活性成分的挖掘提供了有效的技术方法,而且为解决雷公藤类药材野生资源匮乏的问题提供了有意义的探索,具有一定的实际应用价值.

参考文献:

[1] 薛璟,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):726-733.

[2] LI Xiaojiaoyang, JIANG Zhenzhou, ZHANG Luyong. Triptolide: Progress on research in pharmacodynamics and toxicology[J]. Journal of Ethnopharmacology,2014,155(1):67-79. DOI:10.1016/j.jep.2014.06.006.

[3] 祝传书,冯明星,缪国鹏,等. 紫外辐照(UV-B)及超声波处理对雷公藤悬浮细胞中三种次生代谢产物合成的影响[J]. 农业生物技术学报,2013,21(9):1052-1059. DOI:10.3969/j.issn.1674-7968.2013.09.006.

[4] 吴晓毅,张睿,马允,等. 独脚金内酯类似物 GR24 对雷公藤悬浮细胞中二萜类次生代谢产物累积的影响[J]. 中国中药杂志,2019,44(16):3582-3587. DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20190605.502.

[5] 叶龙飞,王金海,张景红. 联合诱导子提高药用植物代谢产物产量的研究进展[J]. 广东化工,2014,41(10):207-208. DOI:10.3969/j.issn.1007-1865.2014.10.107.

[6] 张景红,王金海. 雷公藤甲素及其衍生物组合物的制备方法: 201310067482.8[P]. 2013-03-04.

[7] 张景红,谢深霞,唐圆圆. 一种雷公藤内酯醇衍生物的制备方法及其产物和应用: 201310598500.5[P]. 2013-11-21.

[8] 李钦,侯新文,田润涛,等. 用于复杂体系及仪器大数据分析的化学计量学软件 ChemPattern 的研制与应用[J]. 计算机与应用化学,2014,31(3):268-274. DOI:10.11719/com.app.chem20140303.

[9] ZHANG Hui,JIANG Huijie,ZHANG Xiaojing,*et al.* Development of global chemical profiling for quality assessment of *Ganoderma* species by chempattern software[J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry,2018,2018:1675721. DOI:10.1155/2018/1675721.

[10] 刘超,郝庆秀,金艳,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 比较雷公藤与昆明山海棠叶片的代谢产物差异[J]. 中国中药杂志,2015,40(9):1710-1717. DOI:10.4268/cjcm20150915.

[11] 赵庆国. 基于谱-效相关的雷公藤效/毒物质初步研究[D]. 上海:中国人民解放军军事医学科学院,2015.

[12] 朱精英. 雷公藤药材 HPLC 特征图谱研究[D]. 福州:福建中医药大学,2011.

[13] ZENG Feng, WANG Wei, GUAN Shuhong, *et al.* Simultaneous quantification of 18 bioactive constituents in *Tripterygium wilfordii* using liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Planta Medica,2013,79(9):797-805. DOI:10.1055/s-0032-1328596.

[14] GAO Boyan,QIN Fang,DING Tingting, *et al.* Differentiating organically and conventionally grown oregano using ultraperformance liquid chromatography mass spectrometry (UPLC-MS), headspace gas chromatography with flame ionization detection (headspace-GC-FID), and flow injection mass spectrum (FIMS)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2014,62(32):8075-8084. DOI:10.1021/jf502419y.

[15] YANG Na,XIONG Aizhen,WANG Rui, *et al.* Quality evaluation of traditional Chinese medicine compounds in Xiaoyan Lidan tablets: Fingerprint and quantitative analysis using UPLC-MS[J]. Molecules,2016,21(2):83. DOI:10.3390/molecules21020083.

[16] 薛丹平,张美敬,余越,等. 雷公藤不同乙醇提取物指纹图谱及与小鼠肾小球系膜细胞的谱效关系研究[J]. 中国药师,2017,20(4):617-620. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2017.04.005.

[17] 邵莉,谢培山. 雷公藤色谱指纹图谱方法学研究及质量评价[J]. 中药新药与临床药理,2013,24(3):289-293. DOI:10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.022.

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 刘源岗)