

基于 UPLC-Q-TOF MS 研究煨制 对雷公藤化学成分的影响

刘建群, 罗素花, 张 锐, 舒积成, 杨瑞昆, 闫 君

(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要:雷公藤具有清热解毒、祛风通络、消肿止痛等功效,但其严重的毒副作用限制了临床应用。研究发现,雷公藤经 200 °C 煨制后有显著的减毒增效作用。为阐明雷公藤煨制减毒增效的物质基础,提高雷公藤临床应用的安全性及有效性,本研究采用 UPLC-Q-TOF MS 结合主成分分析(PCA)法和正交偏小二乘判别分析(OPLS-DA)法对雷公藤煨制后的化学成分变化进行统计,根据一级和二级质谱信息,结合数据库、文献以及对照品对照进行差异成分鉴定。结果表明,煨制后雷公藤中共有 81 种成分的含量变化显著,主要为生物碱,占 69%。鉴定了其中 35 种成分,有 26 种成分含量降低,7 种成分含量升高,新产生 2 种成分。煨制后,生物碱和雷公藤红素的含量变化显著,这两类成分均为雷公藤抗炎有效成分,且毒性较大。因此,生物碱和雷公藤红素的含量变化可能是雷公藤煨制减毒增效的物质基础。该研究可为研发新的抗类风湿性关节炎的先导化合物提供参考。

关键词:雷公藤;煨制;化学成分;液质联用;主成分分析

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2018)05-0573-10

doi:10.7538/zpxb.2017.0188

Changes of Chemical Constituents of *Tripterygium wilfordii* During Roasting Processing Based on UPLC-Q-TOF MS

LIU Jian-qun, LUO Su-hua, ZHANG Rui, SHU Ji-cheng,
YANG Rui-kun, YAN Jun

(Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education,
Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: *Tripterygium wilfordii* is a very excellent Chinese medicine for the treatment of Rheumatoid arthritis (RA), while its clinical applications are confined by its severe side effects. Previous investigation indicated that roasting processing in an oven at 200 °C can not only significantly reduce the toxicity but also enhance the therapeutic efficacy of *Tripterygium Wilfordii*. In order to disclose the rationality of roasting processing, improve the safety and effectiveness of *Tripterygium wilfordii* in clinical

收稿日期:2017-12-05;修回日期:2018-03-19

基金项目:江西省自然科学基金项目(20151BAB205075);江西省教育厅科技重点项目(GJJ150832)资助

作者简介:刘建群(1970—),男(汉族),江西萍乡人,教授,从事中药药效物质基础及质量评价研究。

E-mail: liu5308@sina.com

网络出版时间:2018-07-27;网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20180726.1954.004.html>

application and obtain excellent anti-inflammatory leader compounds, the UPLC-Q-TOF MS method was used to analyze the two groups, which were untreated and processed *Tripterygium wilfordii* groups. Data were processed by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squared discriminant analysis (OPLS-DA) to find the difference between two groups. The accurate m/z values of Q-TOF MS, MS^2 fragments were applied to constituent identification. The results indicated that 81 constituents had significant differences between two groups. The structures of 35 compounds were identified, of which the contents of 26 constituents including celastrol and celafurine were decreasing, while the contents of 7 constituents including 1-desacetylwilfordine were increasing, meanwhile two new components were occurring. Of the 81 components, alkaloids accounted for 69%, and triterpenes accounted for 12%. The result indicated that celastrol and many alkaloids significantly changed after processing, which were primary active and toxic components of *Tripterygium wilfordii*. The results indicated that thermal changes of alkaloids and celastrol probably play an important role in the toxicity reducing and efficacy enhancing of *Tripterygium wilfordii* under roasting processing.

Key words: *Tripterygium wilfordii*; roasting processing; chemical constituent; HPLC/MS; PCA

雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 为卫矛科雷公藤属植物^[1], 其根可药用, 具有清热解毒、祛风通络、舒筋活血、消肿止痛、杀菌止血之功效^[2], 临床上主要用于肾病综合征、类风湿关节炎和系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病^[3-4]。但雷公藤具有肝、肾、心、消化系统和生殖系统等毒性^[5], 是近年来毒副作用和不良反应报道最多的中药之一, 这严重制约了它的临床应用推广。雷公藤的主要有效成分包括二萜、三萜和生物碱等, 多数具有毒性, 如雷公藤甲素、雷公藤红素和雷公藤次碱等^[6-9]。

古云“有毒宜制”, 炮制是降低中药毒性的传统有效方法。有文献报道^[10], 从减毒效果来看, 雷公藤煨制、米醋蒸制和药汁制可能具有较好的应用前景。其中, 烘箱煨制、莱菔子汁炮制和羊血炖能提高雷公藤抗炎效果; 蒸制、甘草汁制和双向固体发酵能保持雷公藤抗炎效果; 水煮与微波煨制则会降低甚至消除雷公藤抗炎效果。目前, 对雷公藤炮制后的化学成分研究较少, 仅见对个别成分的分析, 而未见对雷公藤化学成分整体、系统的研究。

本课题组^[11]研究发现, 雷公藤经 200 °C 烘箱中煨制后, 在减毒、增效以及工艺可控性三方面均有较大优势, 值得深入研究。为阐明雷公

藤烘箱煨制减毒、增效的物质基础, 提高雷公藤临床应用的安全性及有效性, 本工作拟采用 UPLC-Q-TOF MS 技术结合主成分分析 (PCA) 法和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 法对雷公藤煨制前后的化学成分变化进行系统研究。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

岛津 LC-30A 液相色谱仪: 日本岛津公司产品; AB Sciex Triple TOF 5600 质谱仪: 美国 AB Sciex 公司产品; Agilent 1260 高效液相色谱仪: 美国 Agilent 公司产品; GZX-9140 MBF 数显鼓风干燥箱: 上海博讯实业有限公司产品; PS-40 洁康超声仪: 东莞市洁康超声波设备有限公司产品; BT25S 型十万分之一电子天平: 德国 Sartorius 公司产品; Milli-Q 超纯水制备仪: 美国 Millipore 公司产品。

甲醇: 色谱纯, 迪马公司产品; 甲酸: 色谱纯, 阿拉丁公司产品; 乙腈: 色谱纯, ACS 公司产品; 实验用水为 Milli-Q 超纯水; 氯化钠、乙醇、盐酸、氨水、乙醚: 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司产品。雷公藤根药材: 采自江西萍乡市, 经刘建群教授鉴定为卫矛科雷公藤属植物雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook.

f.)。雷公藤甲素、雷公藤内酯酮、雷公藤次碱、雷公藤吉碱、雷酚内酯、去甲泽拉木醛、雷公藤内酯甲、雷公藤红素对照品:含量均大于 98%, 郑州丰耀农业科技有限公司产品;南蛇藤肉桂酰胺碱、tripfordine A、雷酚新内酯苷、雷公藤定碱、1-羟基-2,5,8-三甲基-9-茛酮、25(9→8), 26(13→14) Abeo-24-nor-8, 14-seco-friedelan-2, 3-dihydroxy-1, 3, 5(10), 6, 8-pentaen-29(13)-olide 对照品:由本实验室分离制得,经 HPLC 检测,纯度均大于 98%。

1.2 供试品溶液的制备

1.2.1 雷公藤药材及其煨制品溶液的制备

分别称取 2 份各 10 g 药材,作为生品和煨制品组。煨制品按以下方法制备:取晒干后的黄土过 4 号筛,按每 4 g 黄土中加入 1 mL 10% 食盐水的比例混匀得到黄泥,用锡箔纸包住药材,再用黄泥均匀包裹,晾干后置于 200 °C 烘箱中煨制 45 min,剥离黄泥即得。将生品和煨制品粉碎,用 100 mL 甲醇超声提取 30 min,取 1 mL 上清液,过 0.22 μm 有机滤膜,得生品和煨制品溶液,采用同样的方法制备平行样品溶液各 10 份。

1.2.2 雷公藤总生物碱及其煨制品溶液的制备 称取 40 g 雷公藤药材,加入 700 mL 95% 乙醇,超声提取 30 min,过滤,将滤液减压蒸干。向残渣中加入 300 mL 1% 盐酸溶液溶解,过滤,向滤液中加入 10 mL 浓氨水调节 pH 9,用 400 mL 乙醚萃取,挥干乙醚液,得到总生物碱。精密称取 12 mg 总生物碱 2 份,其中 1 份用 10 mL 甲醇溶解,过 0.22 μm 滤膜,得总生物碱溶液;另一份按照 1.2.1 节方法煨制后,制得总生物碱煨制品溶液。

1.2.3 雷公藤次碱、雷公藤红素及其煨制品溶液的制备 称取约 14 mg 雷公藤次碱和雷公藤红素对照品各 2 份,其中 1 份用 10 mL 甲醇溶解,过 0.22 μm 滤膜,得雷公藤次碱和雷公藤红素溶液;另一份按照 1.2.1 节方法煨制后,用同样的方法制得雷公藤次碱和雷公藤红素煨制品溶液。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱: Thermo C18 柱 (100 mm×2.1 mm×2.2 μm); 流动相: A 为

0.1% 甲酸-水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~30 min(5%~60% B), 30~52 min(60% B), 52~57 min(60%~100% B), 57~60 min(100% B); 60~60.1 min(100%~5% B), 60.1~63 min(5% B); 流速 0.3 mL/min; 进样量 5 μL; 柱温 30 °C。

1.3.2 质谱条件 离子源喷雾电压 5 500 V; 离子源温度 600 °C; 裂解电压 100 V; 碰撞能量 55 eV, 碰撞能量扩展为 20 eV; 雾化气为 N₂; 辅助气压力: GS1, GS2 均为 0.41 MPa, 气帘气 (CUR) 压力 0.24 MPa; 母离子扫描范围 m/z 100~1 000。

1.4 样品测定及数据分析

取制备好的雷公藤药材及其煨制品溶液各 10 份,进行 UPLC-Q-TOF MS 分析。得到的质谱数据经 Marker View 软件处理后,将数据导入 SIMCA-P 14.1 统计软件,进行 PCA 和 OPLS-DA 分析。以同样的方法将制备好的总生物碱、雷公藤次碱、雷公藤红素及其煨制品、混合对照品溶液进行分析。

2 结果与讨论

2.1 UPLC-Q-TOF MS 图谱分析

正离子模式下,雷公藤药材、总生物碱、雷公藤次碱、雷公藤红素及各自煨制品的基峰强度离子流图(BPI)示于图 1。对比可知,煨制后各成分发生了显著变化。煨制后,雷公藤次碱(26.176 min)的色谱峰面积减小;雷公藤红素(35.273 min)的色谱峰消失,结合 MS 分析发现,产生了多个降解(27.145, 32.550, 34.330 min 等)和重排化合物(36.315, 40.209, 41.587 min 等)。对比雷公藤药材、总生物碱、雷公藤红素煨制前后的 BPI 图,发现雷公藤药材煨制后,保留时间为 6.566、8.655、12.117、25.119、34.334 min 等的色谱峰消失;保留时间为 25.720、26.591 min 等的色谱峰面积增加;保留时间为 35.587、35.859 min 等是新产生的色谱峰。通过与总生物碱和雷公藤红素 BPI 图比较,推测 6.566、8.655 min 峰为生物碱类成分,34.334 min 为雷公藤红素。雷公藤总碱煨制后,保留时间在 4~10 min、20~25 min 的多个色谱峰消失。

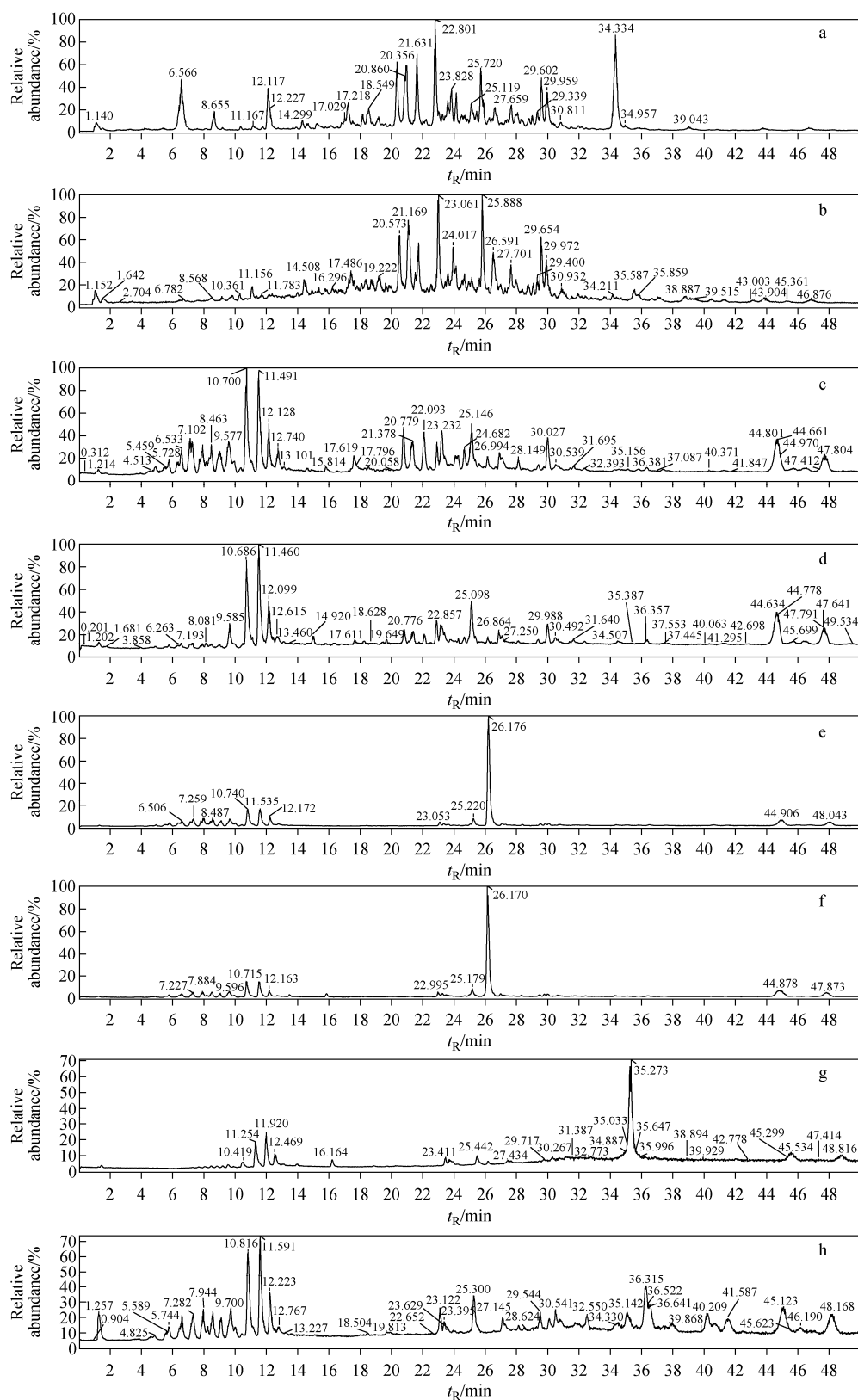


图1 雷公藤药材生品(a)及其煨制品(b),雷公藤总生物碱(c)及其煨制品(d),
雷公藤次碱(e)及其煨制品(f),雷公藤红素(g)及其煨制品(h)的BPI图

Fig. 1 BPI of untreated (a, c, e, g) and processed (b, d, f, h) *Tripterygium wilfordii*,
total alkaloid, wilforine and celastrol

2.2 PCA 分析

雷公藤药材生品及其煨制品的 UPLC-Q-TOF MS 数据 PCA 分析得分图示于图 2。每个点代表 1 个样品,横、纵坐标分别为第一、第二主成分得分。可以看出,雷公藤生品及其煨制品在第一主成分得分上分别聚向横轴的相反方向,表明二者的 UPLC-Q-TOF MS 数据差异特征明显。

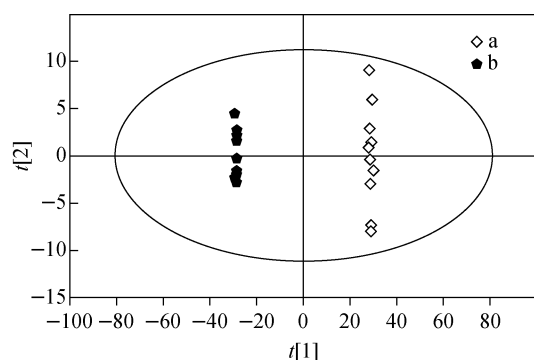


图 2 雷公藤生品(a)和煨制品(b)的 PCA 得分图

Fig. 2 Score plots of PCA for untreated (a) and processed (b) *Tripterygium wilfordii*

2.3 OPLS-DA 分析

雷公藤生品及其煨制品的 UPLC-Q-TOF MS 数据 OPLS-DA 分析的 S-plot 图示于图 3。S-plot 图中每个点代表 1 个变量,即位于某保留时间的某质荷比信号。横坐标代表变量的贡献度(协方差),纵坐标代表变量的相关性(可信度),在-1~1 之间取值。雷公藤生品及其煨制品之间差异显著的分子离子峰分布于 S 曲线

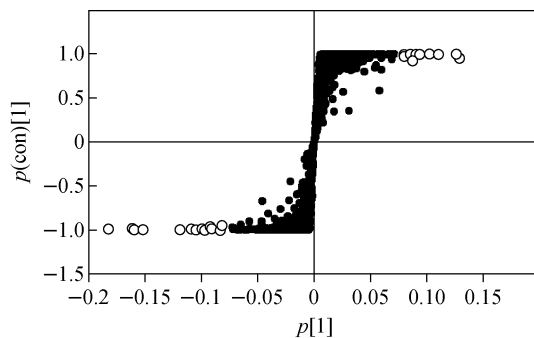


图 3 雷公藤生品和煨制品的 OPLS-DA 差异成分的 S-plot 曲线

Fig. 3 S-plot curve of OPLS-DA for untreated and processed *Tripterygium wilfordii*

的两端,S 曲线的右上角代表雷公藤煨制后含量升高的化合物的分子离子峰,S 曲线的左下角代表雷公藤煨制后含量降低的化合物的分子离子峰,越靠近 S 曲线两端的点,所代表的分子离子峰对两组样品间的差异贡献越大。

通过分析 OPLS-DA 模型,并结合雷公藤生品煨制前后的 BPI 谱图,共发现 81 种化学成分的含量具有显著性差异。

2.4 雷公藤生品及其煨制品差异性成分鉴定

根据化合物质谱裂解规律,结合文献及对照品对照对煨制前后的 81 种差异成分进行结构解析,鉴定出其中 35 种化合物^[12-30],列于表 1,并推测了其余 48 种成分的结构类型及来源。鉴定的 35 种化合物中,包含 27 种生物碱和 5 种三萜,煨制后有 26 种成分含量降低,7 种成分含量升高,2 种为新生成的化合物。将鉴定的每种化学成分在雷公藤生品与煨制品中峰面积的比值作为量化指标,能够反映出 35 种差异性化学成分的量变趋势及幅度。煨制前后峰面积差异较大的代表性化合物包括雷公藤红素、南蛇藤糠酰胺碱和 1-去乙酰基雷公藤定碱,其可能的二级质谱裂解途径示于图 4。其余 48 种成分中,含有 29 种生物碱,5 种三萜;煨制后 25 种成分含量下降,21 种成分含量增加,推测煨制后 17 种成分来源于生物碱,4 种成分来源于雷公藤红素。综上,煨制后含量显著变化的成分大部分为生物碱,占 69%;其次为三萜,占 12%。由此推测,生物碱和雷公藤红素的变化可能是雷公藤煨制减毒增效的物质基础。

3 结论

采用 UPLC-Q-TOF MS 结合 PCA 法、OPLS-DA 法系统研究了煨制对雷公藤化学成分的影响,发现雷公藤煨制后有 81 种化学成分含量变化显著,鉴定了其中 35 种成分,这些化合物绝大部分为生物碱,其次为三萜(含雷公藤红素)。由于生物碱和雷公藤红素均为雷公藤抗炎的有效成分,且毒性较大,因此,生物碱和雷公藤红素的变化可能是雷公藤煨制减毒增效的物质基础。该研究可为研发新的抗类风湿性关节炎的先导化合物提供参考。

表 1 UPLC-Q-TOF MS 鉴定的 35 种雷公藤煨制前后的显著性差异化合物

Table 1 35 significant difference constituents in untreated and processed *Tripterygium wilfordii* based on UPLC-Q-TOF MS

编号 No.	保留时间 t_R /min	$[M+H]^+$	分子式 Formula	碎片离子 Fragment ions	峰面积比 Ratio of peak areas	鉴定结果 Identification compounds
1	6.52	370.2116	$C_{21}H_{27}N_3O_3$	160.1106, 95.0142, 100.0767, 91.0561, 166.0854, 249.1227	114.89(↓)	南蛇藤糠酰胺碱 ^[12]
2	8.61	380.2328	$C_{23}H_{29}N_3O_2$	160.1110, 105.0345, 100.0771, 176.1062	51.75(↓)	苯代南蛇碱 ^[12]
3	12.05	406.2504	$C_{25}H_{31}N_3O_2$	160.1113, 131.0492, 103.0556, 202.1222	42.51(↓)	南蛇藤肉桂酰胺碱 ^[12] (对照品)
4	15.05	780.2700	$C_{36}H_{45}NO_{18}$	176.0695, 194.0810, 752.2746, 734.2643, 762.2593, 204.0646	0.83(↑)	Tripfordine A ^[13] (对照品)
5	16.80	505.2431	$C_{27}H_{36}O_9$	343.1899, 255.1369, 297.1844, 205.1211, 85.0311	3.37(↓)	雷酚新内酯苷 ^[14] (对照品)
6	18.32	822.2829	$C_{38}H_{47}NO_{19}$	794.2853, 176.0682, 674.2427	16.13(↓)	翅卫矛辛宁 ^[15]
7	19.25	764.2759	$C_{36}H_{45}O_{17}N$	426.3125, 427.3162, 443.1515	0.33(↑)	雷公藤定宁 A ^[16]
8	19.40	832.2656	$C_{39}H_{45}O_{19}N$	194.0805, 804.2731, 176.0700	0.3(↑)	Hypoglaunine E ^[16]
9	20.58	806.2905	$C_{38}H_{47}NO_{18}$	194.0816, 176.0728, 204.0662, 788.2708	2.29(↓)	Peritassine A ^[16]
10	21.63	842.2866	$C_{41}H_{47}NO_{18}$	176.0695, 814.2953, 194.0801, 204.0643, 824.2805	0.39(↑)	1-去乙酰基雷公藤定碱 ^[17]
11	21.72	874.2772	$C_{41}H_{47}NO_{20}$	846.2871, 176.0700, 194.0807, 856.2727, 204.0651	10.79(↓)	雷公藤康碱 ^[15]
12	21.78	806.287	$C_{38}H_{47}NO_{18}$	206.0810, 178.0857, 686.2492, 746.2702, 788.2827	2.68(↓)	雷公藤新碱 ^[16]
13	22.61	816.2729	$C_{39}H_{45}NO_{18}$	206.0797, 178.0847, 160.0760, 756.2440, 798.2541	0.16(↑)	1-去乙酰基雷公藤吉碱 ^[18]
14	22.95	962.3354	$C_{45}H_{55}O_{22}N$	134.0593, 152.0697, 920.3217	30.04(↓)	雷公藤素 B ^[19]
15	23.04	884.2977	$C_{43}H_{49}NO_{19}$	762.2649, 204.0644, 744.2547, 176.0692	2.12(↓)	雷公藤定碱 ^[20] (对照品)
16	23.66	916.2881	$C_{43}H_{49}NO_{21}$	206.0816, 898.3137	2.34(↓)	雷公藤宁碱 D ^[21]
17	23.98	858.2814	$C_{41}H_{47}NO_{19}$	206.0791, 178.0848, 686.2436, 840.2710	1.66(↓)	雷公藤吉碱 ^[20] (对照品)
18	24.59	313.1804	$C_{20}H_{24}O_3$	225.1262, 183.0792, 133.0645, 165.0688	1.27(↓)	雷酚内酯 ^[22] (对照品)

续表 1

编号 No.	保留时间 t_R/min	$[\text{M}+\text{H}]^+$	分子式 Formula	碎片离子 Fragment ions	峰面积比 Ratio of peak areas	鉴定结果 Identification compounds
19	24.78	826.2915	$\text{C}_{41}\text{H}_{47}\text{NO}_{17}$	206.0795, 706.2485, 178.0867, 808.2891	0.13(↑)	雷公藤碱庚 ^[23]
20	25.16	926.3074	$\text{C}_{45}\text{H}_{51}\text{NO}_{20}$	804.2711, 786.2624, 204.0642, 684.2296, 158.0594, 186.0540	2.73(↓)	雷公藤宁碱 A ^[21]
21	25.64	936.2917	$\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{NO}_{20}$	908.3038, 814.2606, 176.0706	1.74(↓)	Tripterygiumine O ^[24]
22	25.86	868.3009	$\text{C}_{43}\text{H}_{49}\text{NO}_{18}$	206.0804, 686.2483, 178.0840, 850.2081, 746.2630	1.38(↓)	雷公藤次碱 ^[20] (对照品)
23	25.97	946.3376	$\text{C}_{45}\text{H}_{55}\text{O}_{21}\text{N}$	928.3245, 886.3148, 225.0750, 206.0804, 197.0806	9.81(↓)	雷公藤素 A ^[21]
24	26.55	453.2633	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_5$	203.0696, 203.1797, 147.1160	0.065(↑)	23-nor-6-oxo-Demethyl- pristimerol ^[25]
25	26.67	968.2806	$\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{NO}_{22}$	856.2650, 838.2559, 204.0635, 684.2286	2.58(↓)	雷公藤素 B ^[23]
26	26.77	826.2901	$\text{C}_{41}\text{H}_{47}\text{NO}_{17}$	206.0795, 808.2813, 748.2610, 178.0856	1.81(↓)	Tripterygiumine I ^[24]
27	27.69	858.2844	$\text{C}_{41}\text{H}_{47}\text{NO}_{19}$	206.0800, 840.2747, 178.0851, 728.2560, 160.0745	1.46(↓)	Hyponine B ^[26]
28	28.01	978.3024	$\text{C}_{48}\text{H}_{51}\text{NO}_{21}$	856.2670, 866.2692, 176.0691, 204.0644	1.93(↓)	9'-O-呋喃酰基雷公藤定碱 ^[20]
29	28.08	497.2906	$\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_6$	229.0851, 203.1790, 147.1166, 95.0875, 243.1013, 479.2792	196.55(↓)	Triptohypol A ^[25]
30	28.22	239.1049	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2$	178.0774, 193.1008, 152.0619	0(↑)	1-羟基-2,5,8-三甲基-9-茛酮 ^[27] (对照品)
31	28.86	978.3057	$\text{C}_{48}\text{H}_{51}\text{NO}_{21}$	503.3375, 504.3407, 331.2277, 926.3461	2.95(↓)	Triptonine A ^[23]
32	29.63	868.3012	$\text{C}_{43}\text{H}_{49}\text{NO}_{18}$	206.0797, 850.2955, 178.0852, 790.2710, 686.2476	1.7(↓)	雷公藤定宁 F ^[28]
33	29.89	481.2584	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_6$	231.0640, 213.0538, 245.0804, 147.1164, 95.0877	1.61(↓)	去甲泽拉木醛 ^[28] (对照品)
34	34.32	451.2825	$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_4$	201.0891, 215.1048, 200.0818, 203.1780	71.55(↓)	雷公藤红素 ^[29] (对照品)
35	35.57	451.2826	$\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{O}_4$	201.0903, 215.1059, 200.0822	0(↑)	25(9→8), 26(13→14) Abeo-24-nor- 8,14-seco-friedelan-2,3-dihydroxy- 1,3,5(10),6,8-pentaen-29(13)-olide ^[30] (对照品)

注: ↓表示煨制后化合物含量降低; ↑表示煨制后化合物含量升高

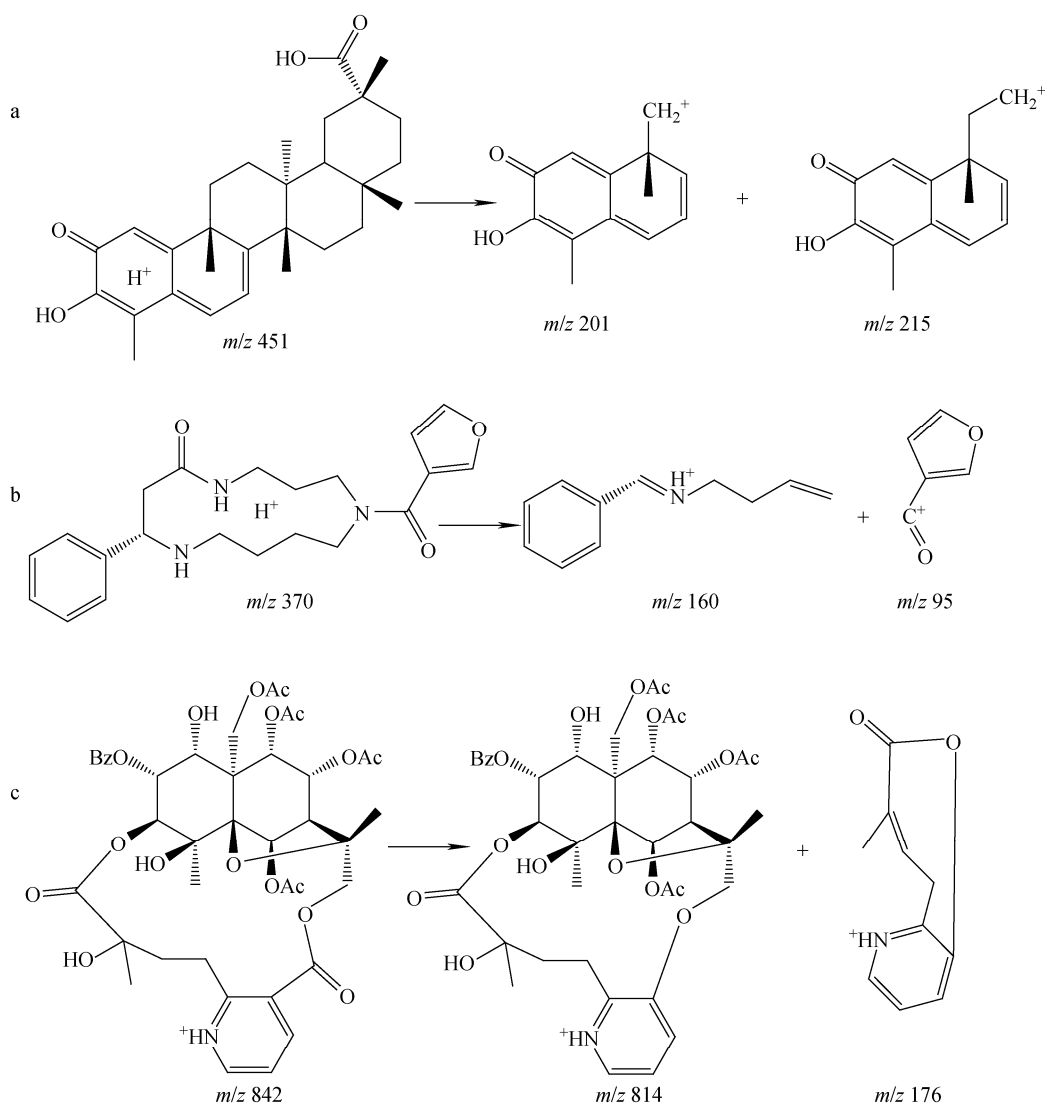


图4 雷公藤红素(a)、南蛇藤酰胺碱(b)和1-去乙酰基雷公藤定碱(c)的二级质谱裂解途径

Fig. 4 MS/MS fragmentation pathways of celastrol (a), celafurine (b) and 1-desacetylwilfordine (c)

参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 178.
- [2] 苏桂花, 苑述刚, 马少丹, 等. 雷公藤的本草学及临床应用研究[J]. 河南中医, 2011, 31(4): 412-414.
SU Guihua, YUAN Shugang, MA Shaodan, et al. Study on herbal medicine and clinical application of *Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Henan Traditional Chinese Medicine, 2011, 31(4): 412-414 (in Chinese).
- [3] 刘雪梅, 刘志宏, 张晶, 等. 雷公藤临床应用及不良反应的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(2): 110-113.
- [4] LIU Xuemei, LIU Zhihong, ZHANG Jing, et al. Study progress on clinical application and side effects of *Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2015, 33(2): 110-113 (in Chinese).
- [5] BAO J, DAI S M. A Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook F in the treatment of rheumatoid arthritis: mechanism, efficacy, and safety [J]. Rheumatology international, 2011, 31(9): 1123-1129.
- [6] 郭艳红, 谭垦. 雷公藤的毒性及其研究概况[J]. 中药材, 2007, 35(1): 112-117.
- [7] GUO Yanhong, TAN Ken. Toxicity and study progress of *Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2007, 35(1): 112-117.

- 112-117(in Chinese).
- [6] 刘建群,伍秋珊,余昭芬. 雷公藤化学成分及其热稳定性研究[J]. 林产化学与工业,2017,37(2):72-78.
- LIU Jianqun, WU Qiushan, YU Zhaofen. Chemical constituents from *Tripterygium wilfordii* Hook. F. and their thermal stability[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2017, 37(2): 72-78(in Chinese).
- [7] LIU J Q, WU Q S, SHU J C, et al. Three new abietane-type diterpene glycosides from the roots of *Tripterygium wilfordii*[J]. Fitoterapia, 2017, 120: 126-130.
- [8] 李春杏,李太生,朱珠,等. 雷公藤抗炎免疫调节活性单体的研究进展[J]. 中国中药杂志,2014,39(21):4 159-4 164.
- LI Chunxing, LI Taisheng, ZHU Zhu, et al. Advance in studies on anti-inflammatory and immunoregulatory monomers of *Tripterygium wilfordii*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39 (21): 4 159-4 164 (in Chinese).
- [9] 许羚,胡玥,丁晓霜,等. 雷公藤红素体内与体外急性毒性试验结果的比较[J]. 环境与职业医学,2015,32(6):535-538,548.
- XU Ling, HU Yue, DING Xiaoshuang, et al. Comparison on acute toxicity of celastrol derived from *in vivo* and *in vitro* methods[J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2015, 32(6): 535-538, 548(in Chinese).
- [10] 蒋且英,罗素花,杨瑞昆,等. 炮制对雷公藤毒效及其化学成分影响的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(4):216-221.
- JIANG Qieying, LUO Suhua, YANG Ruikun, et al. Progress in research on the effect of processing on the toxicity, activity and constituent of *Tripterygium Wilfordii*[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(4): 216-221(in Chinese).
- [11] 刘建群,张国华,高俊博. 烘箱煨制雷公藤药效毒性及成分变化研究[J]. 亚太传统医药,2015,11(10):7-9.
- LIU Jianqun, ZHANG Guohua, GAO Junbo. Study on efficacy and toxicity and constituents changes of *Tripterygium wilfordii* under roasting processing[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2015, 11(10): 7-9(in Chinese).
- [12] KUPCHAN S M, HINTZ H P, SMITH R M, et al. Celacinnine, a novel macrocyclic spermidine alkaloid prototype[J]. Journal of the Chemical Society Chemical Communications, 1974, 9(9): 329-330.
- [13] HORIUCH M, MURAKAMI C, FUKAMIYA N, et al. Tripfordines A-C, sesquiterpene pyridine alkaloids from *Tripterygium wilfordii*, and structure anti-HIV activity relationships of *Tripterygium* alkaloids[J]. Journal of Natural Products, 2006, 69(9): 1 271-1 274.
- [14] 陈玉,杨光忠,赵松,等. 雷公藤二萜成分研究[J]. 林产化学与工业,2005,25(2):35-38.
- CHEN Yu, YANG Guangzhong, ZHAO Song, et al. Diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* Hook. F. [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2005, 25(2): 35-38(in Chinese).
- [15] 李明炀,侯继芹,韦丹丹,等. HPLC-Q-TOF MS 法鉴别雷公藤多苷工艺残渣中的化学成分[J]. 中国药科大学学报,2015,46(6):689-695.
- LI Mingyang, HOU Jiqin, WEI Dandan, et al. Identification of major constituents from process residue of tripterygium glyco-sides by HPLC-Q-TOF MS[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2015, 46(6): 689-695(in Chinese).
- [16] WANG C, LI C J, YANG J Z, et al. Anti-inflammatory sesquiterpene derivatives from the leaves of *Tripterygium wilfordii*[J]. Journal of Natural Products, 2013, 76(1): 85-90.
- [17] LI Y, STRUNZ G M, CALHOUN L A. Sesquiterpene alkaloids from *Tripterygium wilfordii*(Hook): a nuclear magnetic resonance study of 1-desacetylwilfordine, 1-desacetylwilfortrine, and 2-debenzoyl-2-nicotinoylwilforine[J]. Canadian Journal of Chemistry, 1990, 68(3): 371-374.
- [18] WU C M, ZHOU L M, CHAI Y F, et al. Three new sesquiterpene alkaloids from the root of *Tripterygium wilfordii* [J]. Chinese Chemical Letters, 2010, 21(7): 830-833.
- [19] DUAN H, TAKAISHI Y, IMAKURA Y, et al. Sesquiterpene alkaloids from *Tripterygium hypoglaucom* and *Tripterygium wilfordii*: a new class of potent anti-HIV agents[J]. Journal of Natural Products, 2000, 63(3): 357-361.
- [20] LUO Y, ZHOU M, YE Q, et al. Dihydroagaro-furan derivatives from the dried roots of

- Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Natural Products, 2012, 75(1): 98-102.
- [21] DUAN H, TAKAISHI Y, MOMOTA H, et al. Immunosuppressive sesquiterpene alkaloids from *Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Natural Products, 2001, 64(5): 582-587.
- [22] 邓福孝, 黄寿卿, 周炳南, 等. 雷公藤二萜成份研究[J]. 福建医药杂志, 1986, 8(4): 26-27.
DENG Fuxiao, HUANG Shouqing, ZHOU Bingnan, et al. Diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* Hook. F. [J]. Journal of Fujian Medical, 1986, 8(4): 26-27 (in Chinese).
- [23] MOROTA T, YANG C X, IKEYA Y, et al. Sesquiterpene alkaloids from *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1995, 39(5): 1 219-1 222.
- [24] LUO Y, PU X, LUO G, et al. Nitrogen-containing dihydro- β -agarofuran derivatives from *Tripterygium wilfordii* [J]. Journal of Natural Products, 2014, 77(7): 1 650-1 657.
- [25] DUAN H, KAWAZOE K, BANDO M, et al. Di- and triterpenoids from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Phytochemistry, 1997, 46(3): 535-543.
- [26] DUAN H, KAWAZOE K, TAKAISHI Y. Sesquiterpene alkaloids from *Tripterygium hypoglaucum* [J]. Phytochemistry, 1999, 52(8): 1 735-1 738.
- [27] WU X Y, QIN G W, FAN D J, et al. 1-hydroxy-2, 5, 8-trimethyl-9-fluorenone from *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1994, 36(2): 477-479.
- [28] ZHANG Z, KOIKE K, JIA Z, et al. New saponins from the seeds of *Aesculus chinensis* [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1999, 47(11): 1 515-1 520.
- [29] ZHOU L M, DU J, WU C M. A new triterpenoid from the roots of *Tripterygium wilfordii* [J]. Chinese Chemical Letters, 2010, 21(5): 600-602.
- [30] WU J, ZHOU Y, WANG L, et al. Terpenoids from root bark of *Celastrus orbiculatus* [J]. Phytochemistry, 2012, 75: 159-168.