

利用 HPLC-IT-TOF-MS 表征通关藤化学轮廓

颜 昱^{1,2}, 李 军², 宋月林², 屠鹏飞², 刘同祥^{1*}

1. 中央民族大学药学院, 民族医药教育部重点实验室(中央民族大学), 北京 100081

2. 北京中医药大学 中药学院中药现代研究中心, 北京 100029

摘要: 目的 利用 HPLC-IT-TOF-MS 对通关藤的化学轮廓进行全面地解析。方法 通关藤甲醇超声提取后, 采用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱, 乙腈-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱; 采用正、负离子自动多级质谱模式检测。利用多个孕甾烷类对照品推导该类化合物的质谱裂解规律。结果 通过与对照品比对, 准确归属了 6 个绿原酸类化合物和 15 个孕甾烷类衍生物; 通过相关文献数据结合质谱裂解规律推导, 初步鉴定了 100 个孕甾烷类衍生物、4 个黄酮类化合物和 2 个绿原酸类化合物。结论 利用 HPLC-IT-TOF-MS 技术能快速、准确地对通关藤的化学轮廓进行全面解析, 为通关藤及其制剂消癌平的质量标准及体内药效物质研究提供有效信息。

关键词: 通关藤; 孕甾烷类衍生物; 化学轮廓; 质谱裂解规律; HPLC-IT-TOF-MS; 黄酮; 绿原酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)21-5051-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.016

Chemical profile characterization of *Marsdenia tenacissima* using HPLC-IT-TOF-MS

YAN Yu^{1,2}, LI Jun², SONG Yue-lin², TU Peng-fei², LIU Tong-xiang¹

1. Key Laboratory of Ethnomedicine, Minzu University of China, Ministry of Education, Beijing 100081, China

2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To in depth analyze the chemical profile of *Marsdenia tenacissima* using HPLC-IT-TOF-MS. **Methods** The pulverized materials were extracted with methanol in an ultrasonication manner and then separated on a Waters Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm, Milford, MA, USA) that was eluted in gradient with 0.1% formic acid-acetonitrile. The data was collected using automatically triggered tandem mass spectrometric mode in positive/negative ionization polarities. The mass fragmentation patterns of polyoxypregnane derivatives were proposed using some authentic compounds. **Results** Six chlorogenic acid derivatives and 15 polyoxypregnane derivatives were definitely assigned by referring to reference components, whereas the other signals, including 100 polyoxypregnane derivatives, four flavonoids, and two chlorogenic acid derivatives were tentatively annotated via matching the acquired information with those achieved information and the proposed mass fragmentation rules. **Conclusion** The research efficiently and accurately analyzed the chemical profile of *M. tenacissima* using HPLC-IT-TOF-MS, which will provide meaningful information for the quality evaluation and the therapeutic mechanism investigation of *M. tenacissima* as well as its preparation Xiao-Ai-Ping.

Key words: *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn; polyoxypregnane derivatives; chemical profile; mass fragmentation patterns; HPLC-IT-TOF-MS; flavonoids; chlorogenic acid

通关藤, 又名乌骨藤, 为萝藦科植物通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn 的干燥藤茎。该中药出自《贵州民间药物》, 分布于云南、

贵州、广西等地, 为傣族、苗族、壮族常用药物^[1], 具有止咳平喘、祛痰、通乳、清热解毒的功效, 可治疗肺炎、慢性支气管炎、哮喘等疾病。通关藤为

收稿日期: 2018-03-09

基金项目: 中央民族大学硕士研究生自主科研项目(10301-0170040601-103)

作者简介: 颜 昱(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为民族新药研究与开发。E-mail: Yyanyuu@163.com

*通信作者 刘同祥 Tel: (010)68933254 E-mail: tongxliu123@hotmail.com

著名中药制剂消癌平的原药材,已开发有片剂、糖浆剂和注射剂,主要用于治疗肺癌、食道癌、贲门癌、胃癌、肝癌、肠癌、宫颈癌和恶性淋巴瘤、白血病等多种恶性肿瘤^[2]。通关藤中主要含有孕甾烷(C_{21} 甾体)衍生物、绿原酸衍生物、黄酮类、多糖类等化学成分。其中孕甾烷衍生物被认为是通关藤抗癌的主要活性成分^[3]。该类化合物被广泛关注,其苷元的 11α 和 12β 位常具有乙酰基、2-甲基丁酰基、2-甲基丙酰基、巴豆酰基、苯甲酰基和 4-羟基苯乙酰基等, 3β 位常被由葡萄糖、岩藻糖、黄花夹竹桃糖、洋地黄毒糖、夹竹桃糖、磁麻糖、6-脱氧-3-*O*-甲基-阿洛糖等以 1 $\rightarrow$ 4 糖苷键相连组成的单糖链苷取代^[2]。全面表征中药的化学轮廓是中药质量分析和阐明中药药效物质基础的重要条件。现有的化学成分分离和定性分析往往只关注通关藤的少数几个孕甾烷类衍生物^[4-5],而对于其他化学成分的全面定性研究罕见报道,较大地影响了通关藤药效成分的全面阐明。并且,由于质谱碎片的不足,特别是高分辨碎片数据的缺失,使得基于 LC-MS 技术的多数化合物的解析结果存疑。作为新一代的串联质谱,IT-TOF-MS 很好地融合了三维离子阱质谱(3D IT-MS)和飞行时间质谱(TOF-MS)的优势,能够产生丰富的高精度离子碎片,从而显著地提高定性分析的准确度^[6-8]。本实验通过广泛收集对照品,推导裂解规律,并利用 HPLC-IT-TOF-MS 技术采集各化合物准确质谱信息,进而对各检识到的化学成分进行结构注释,全面地表征通关藤的化学轮廓,以期对通关藤的全面质量分析和体内药效物质的深度阐明提供丰富数据。

1 材料

1.1 仪器

岛津 Shimadzu HPLC-IT-TOF-MS 液质联用仪(配备 2 台 LC-20AD_{XR} 泵、SIL-20AC 自动进样器、CTO-20A 柱温箱、SPD-M20A 紫外检测器、DGU-20A 脱气机、CBM-20A 控制器、ESI 离子源,日本岛津公司),Milli-Q 超纯水净化系统(美国 Millipore 公司);Mettler ME204 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.2 试剂

色谱级和质谱级甲醇、乙腈以及质谱级甲酸均购自美国 Thermo Fisher 公司,水为实验室自制 Milli-Q 超纯水,其余试剂均为分析纯。对照品通关藤苷 H(批号 111913-201202)、绿原酸(批号

110753-200413)均购于中国食品药品检定研究院,对照品通关藤苷 I(批号 PM0529SB13)、通关藤苷 G(批号 PM0529SA13)均购于上海源叶生物科技有限公司;对照品新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 均购于成都普瑞科技有限公司;对照品 marsdenoside A、marsdenoside B、marsdenoside C、 11α -苯甲酰基- 12β -乙酰基通关藤苷元 B、 11α -巴豆酰基- 12β -乙酰基通关藤苷元 B、 11α -巴豆酰基- 12β -苯甲酰基通关藤苷元 B、 11α -苯甲酰基- 12β -巴豆酰基通关藤苷元 B、 11α -2-甲基丁酰基- 12β -巴豆酰基通关藤苷元 B、 11α , 12β -巴豆酰基通关藤苷元 B、 11α , 12β -二巴豆酰基异通关藤苷元 B、 11α -2-甲基丁酰基- 12β -苯甲酰基通关藤苷元 B、 12β -巴豆酰基通关藤苷元 A 均由实验室制备。所有对照品均经 HPLC-DAD 检测,质量分数均大于 98%。

1.3 药材

通关藤于 2016 年 5 月购自云南昆明,经中央民族大学药学院刘同祥教授鉴定为萝藦科牛奶菜属植物通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn 的干燥藤茎。样本(TGT-201605)存放于中央民族大学药学院。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 45 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 2 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液,待用。

2.1.2 对照品溶液的制备 取“1.2”项下所述各对照品适量,精密称定,分别溶于 DMSO 中,配成 4.0 mg/mL 的对照品储备液。精准吸取适量各对照品储备液,甲醇稀释成质量浓度为 20 μ g/mL 的系列混合对照品溶液,待用。

2.2 液相条件

Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m, Milford, MA, 美国),柱温 40 $^{\circ}$ C,体积流量 0.2 mL/min,检测波长 328 nm,进样量 5 μ L。以 0.1%甲酸水为流动相 A,乙腈为流动相 B,梯度洗脱:0 $\sim$ 5 min, 5% $\sim$ 20% B; 5 $\sim$ 25 min, 20% $\sim$ 35% B; 25 $\sim$ 35 min, 35% $\sim$ 65% B; 35 $\sim$ 38 min, 65% $\sim$ 95% B; 38 $\sim$ 40 min, 95% B; 40.1 $\sim$ 45

min, 5% B; 图谱采集时间为 45 min。

2.3 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI), 扫描模式为正、负离子同时扫描并自动触发多级质谱, $MS^1 \sim MS^2$ 质量扫描范围均为 m/z 200~1 500。喷雾室电压为 4.5 kV 和 -3.5 kV; 雾化气 (N_2) 流量为 1.5 L/min; 干燥气体压力为 110 MPa; 检测电压为 1.6 kV; 曲型脱溶剂管 (CDL) 和加热模块温度均为 200 °C。碰撞室压力为 2.0×10^{-4} Pa; 离子阱压力为 3.0×10^{-2} Pa; 正负一级的重复次数为 1, 离子累积时间为 30 ms; 正负二级的重复次数为 2, 离子累积时间为 20 ms; 碰撞诱导解离 (CID) 能量为 70%。

2.4 样品测定

将对照品溶液和供试品溶液分别注入 HPLC-IT-TOF-MS 系统, 采集各样品的高分辨质谱数据。

3 结果与讨论

3.1 孕甾烷衍生物的质谱裂解规律

由于绿原酸衍生物^[9-10]和黄酮类成分^[11]的质谱裂解规律已被广泛报道, 笔者在此只对孕甾烷衍生物的质谱裂解规律进行深入推导。通过对多个孕甾

烷衍生物对照品进行 HPLC-IT-TOF-MS 分析, 总结了该类化合物的质谱裂解规律。以 marsdenoside C 为例, 其 MS^1 谱图中主要包括 m/z 879 $[M+Na]^+$ 、855 $[M-H]^-$ 、901 $[M+HCOO]^-$ 等信号。在 m/z 879 的 MS^2 图谱中 (图 1), 主要观察到 m/z 777、757、655、451、433、415、431、329、311、297 等信号。利用高分辨数据计算各质谱信号的分子组成, 推导该化合物的质谱裂解规律如图 2 所示。该化合物主要呈现以下 5 种裂解方式^[12]: (1) 通过 C-3 位的糖苷键 (O-C-1') 断裂, 失去糖链 ($C_{14}H_{24}O$, 304); (2) 通过 C-12 的酰氧基解离, 失去 1 分子甲基丁酸 (C_4H_9COOH , 102); (3) 通过 C-13 的酰氧基解离, 失去 1 分子苯甲酸 (C_6H_5COOH , 122); (4) C-3 位失去糖链后进一步失去 1 分子水 (H_2O , 18); (5) C-9 和 C-14 位的三元氧环消除, 失去 1 分子水 (H_2O , 18)。

由于孕甾烷衍生物均表现出与 marsdenoside C 类似的化学结构, 因此, 推断其他的该类型糖苷化合物具备与 marsdenoside C 完全一致的质谱裂解途径, 而苷元类化合物具备除第一种裂解方式之外的所有裂解途径。

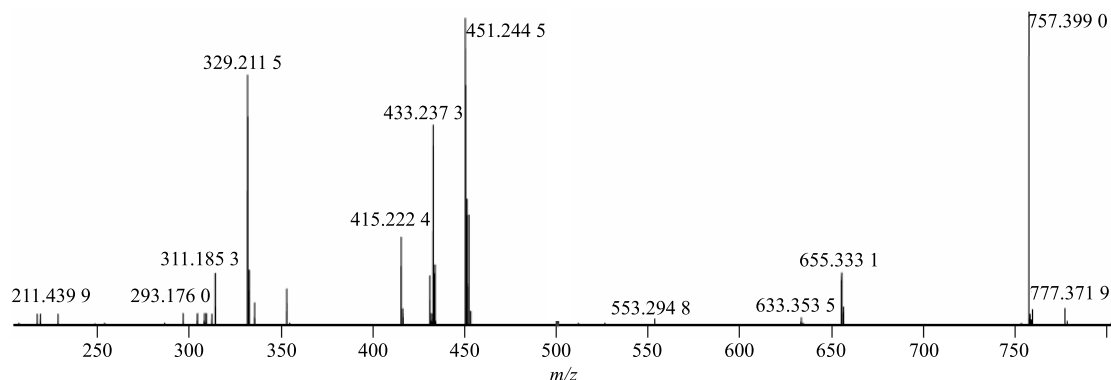


图 1 Marsdenoside C 的 MS^2 图谱

Fig. 1 MS^2 spectrum of marsdenoside C

3.2 通关藤的化学轮廓解析

3.2.1 液相条件的确定 对 Phenomenex Kinetex- C_{18} shell 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.6 μ m, Torrance, CA, 美国)、ACE UltraCore 2.5 Super C_{18} 色谱柱 (150 mm $\times$ 3.0 mm, 2.5 μ m, Advance Chromatography Technologies Ltd., Aberdeen, 苏格兰)、Shiseido Capcell Core C_{18} 色谱柱 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 2.7 μ m, 日本) 和 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m, Milford, MA, 美国) 色谱柱进行了筛选。结果表明使用 T3

色谱柱的各色谱信号能够获得较好的分离 (图 3)。其原因可能是 T3 色谱柱具有独特的颗粒键合和封端技术^[13], 显示出极性范围宽、柱效高等优点, 使得各色谱峰均获得较好的保留和分离, 并具有较好的峰形。

选定色谱柱后, 进一步对梯度洗脱程序进行优化。比较水-甲醇系统与水-乙腈系统, 发现后者的分离效果好于前者, 并且往水相中加入甲酸能够显著改善峰形。进而对洗脱程序进行精细优化, 发现利用“2.2”项下的梯度洗脱程序, 能够获得满意的

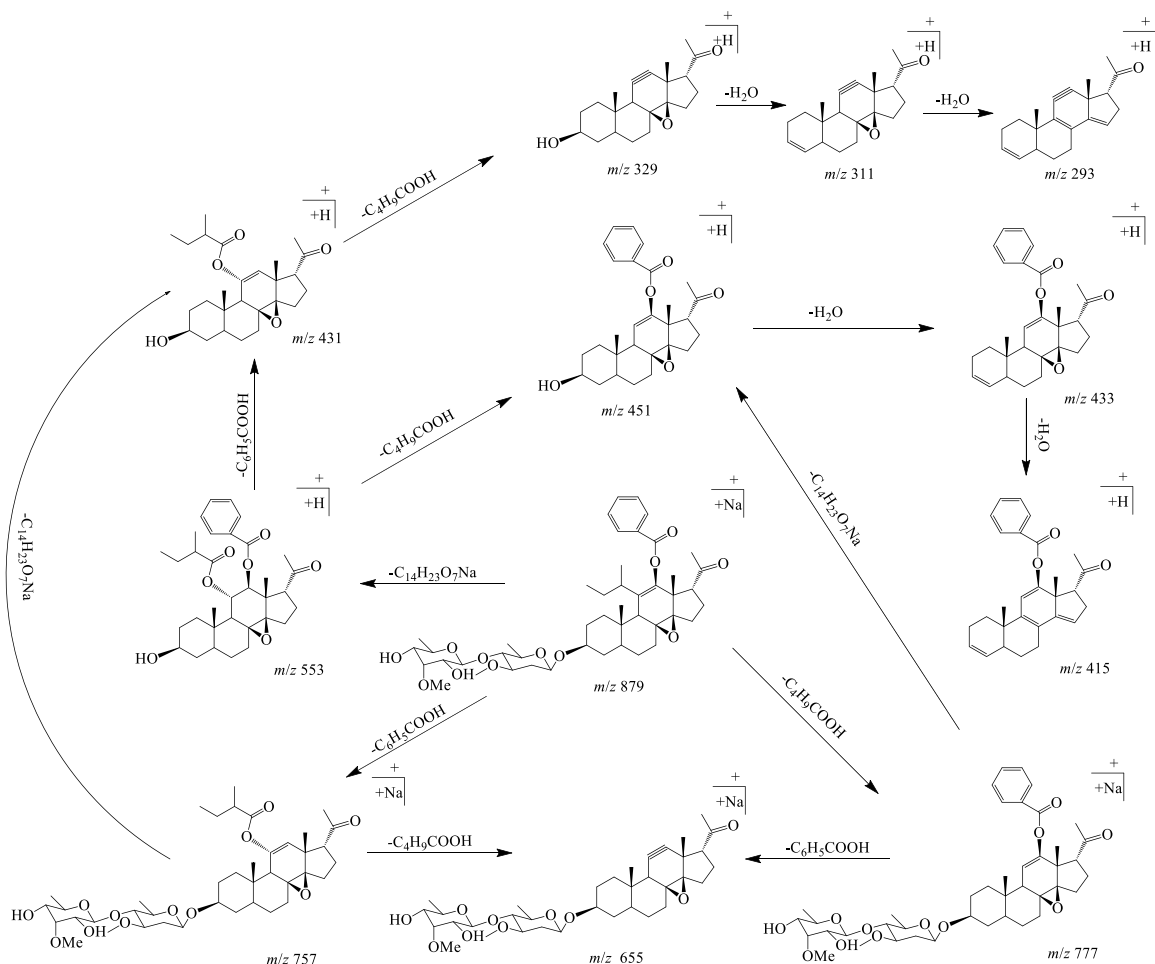
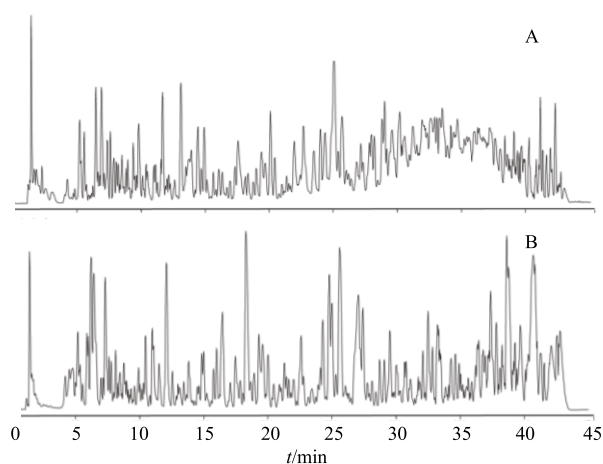


图 2 Marsdenoside C 的可能质谱裂解规律

Fig. 2 Proposed mass fragmentation pathways of marsdenoside C



A-正离子模式 B-负离子模式

A-positive ion mode B-negative ion mode

图 3 通关藤甲醇提取物的基峰图谱

Fig. 3 Representative base peak current chromatogram for methanol extract of *M. tenacissima*

分离效果。

3.2.2 化学成分定性分析 通过高分辨质谱信息的深入分析, 共获得 127 个质谱信息较为丰富的信号(表 1)。通过与对照品、相关文献数据比对, 并结合质谱裂解规律推导, 对所有信号进行了结构注释, 共鉴定了 115 个孕甾烷衍生物、8 个绿原酸衍生物和 4 个黄酮类化合物。

由于与对照品保留时间、 MS^1 图谱和 MS^2 图谱均一致, 化合物 1、2、3、8、9、12、83、86、97、107、109、113、116、117、121、122、123、124、125、126、127 依次被鉴定为新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、12 β -巴豆酰基通关藤苷元 A、11 α -巴豆酰基-12 β -乙酰基通关藤苷元 B、11 α -苯甲酰基-12 β -乙酰基通关藤苷元 B、通关藤苷 G、11 α ,12 β -二巴豆酰基通关藤苷元 B、11 α -巴豆酰基-12 β -苯甲酰基通关藤苷元 B、通关藤苷 I、通关藤苷 H、11 α ,12 β -二巴豆酰基异通

表 1 通关藤主要化学成分色谱、质谱信息以及结构推断

Table 1 Chromatography, mass spectral information, and structural assignment for primary chemical constituents in *M. tenacissima*

峰号	t_R/min	$MS^1 (m/z)$	分子式	误差 ($\times 10^{-6}$)	$MS^2 (m/z)$	化合物	参考文献
1	5.188	353.087 9 [M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	0.28	191, 179, 135	新绿原酸*	9-10
2	6.588	353.086 9 [M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-2.55	191, 173, 161, 135	隐绿原酸*	9-10
3	7.218	353.088 0 [M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	0.57	273, 191, 179	绿原酸*	9-10
4	7.253	593.154 0 [M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	4.72	575, 473, 383, 353, 311	皂草苷	11
5	8.268	367.103 5 [M-H] ⁻	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	-4.36	351, 191	3-O-阿魏酰奎宁酸	9-10
6	9.038	609.147 8 [M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	2.79	343, 301, 271, 255, 240	芦丁	11
7	9.622	463.091 7 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	7.56	301, 179, 164	金丝桃苷	11
8	10.403	515.121 2 [M-H] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	3.11	353, 335, 299, 255, 227	异绿原酸 B*	9-10
9	10.988	515.120 7 [M-H] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	2.33	353, 299	异绿原酸 A*	9-10
10	11.208	847.432 4 [M-H] ⁻	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₈	-1.06	829, 811, 793, 685, 667	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = Neo [#]	9-10
11	11.628	515.118 6 [M-H] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	-1.75	353, 335, 299, 255	异绿原酸 A 异构体	
12	11.943	515.118 1 [M-H] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	-2.72	353, 299	异绿原酸 C*	
13	12.643	1 009.483 9 [M-H] ⁻	C ₄₇ H ₇₈ O ₂₃	-2.18	847, 829, 811, 685, 667	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = S ₄ [#]	14
14	13.098	847.432 5 [M-H] ⁻	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₈	-0.94	829, 793, 685, 667, 649	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = Neo [#]	
15	13.378	363.217 5 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₃₂ O ₅	-0.54	345, 327, 315, 276, 259	通关藤苷元甲	
16	13.763	363.217 1 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₃₂ O ₅	-1.65	327, 311, 276, 181	通关藤苷元乙	15
17	14.778	731.383 5 [M+HCOO] ⁻	C ₃₅ H ₅₈ O ₁₃	-3.28	685, 161	3-O-6-deoxy-3-O-methyl-β-D-allopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandro pyranosyltenacigenin C 或异构体	16
18	14.778	383.241 6 [M+H] ⁺	C ₂₁ H ₃₄ O ₆	-3.13	365, 347, 329, 311, 203	通关藤苷元丙	15
19	15.523	1 051.494 0 [M-H] ⁻	C ₄₉ H ₈₀ O ₂₄	-2.57	1 009, 991, 871, 845, 685	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = S ₄ [#]	16
20	15.933	731.382 4 [M+HCOO] ⁻	C ₃₅ H ₅₈ O ₁₃	-4.79	685, 667	3-O-6-deoxy-3-O-methyl-β-D-allopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandro pyranosyltenacigenin C 或异构体	
21	16.248	889.442 6 [M-H] ⁻	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₉	-1.46	829, 811, 793, 667	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = Neo [#]	
22	17.687	301.035 4 [M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	0	265, 239, 206, 179, 151	槲皮素	11
23	18.002	727.388 9 [M-H] ⁻	C ₃₇ H ₆₀ O ₁₄	-2.89	685, 667, 649, 415, 329	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = Pac [#]	17
24	18.492	991.471 5 [M-H] ⁻	C ₄₇ H ₇₆ O ₂₂	-4.03	829, 811, 667, 649, 631	tenacigenoside H 或异构体	
25	19.017	1 007.472 1 [M-H] ⁻	C ₄₇ H ₇₆ O ₂₃	1.59	989, 975, 957, 931, 845, 813	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = S ₄ [#]	
26	19.227	829.421 7 [M-H] ⁻	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₇	-1.21	811, 801, 783, 667, 649, 631	tenacissimoside H 或异构体	18
27	20.098	845.417 4 [M-H] ⁻	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₈	-0.24	813, 769, 607, 447, 363, 327	Ag = 6, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = Neo [#]	18
28	21.530	715.387 7 [M+HCOO] ⁻	C ₃₅ H ₅₈ O ₁₂	-4.61	669, 613, 305	Ag = 5, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = Pac [#]	
29	21.573	1 033.482 5 [M-H] ⁻	C ₄₉ H ₇₈ O ₂₃	-3.48	991, 973, 945, 621	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = S ₄ [#]	
30	21.888	973.461 9 [M-H] ⁻	C ₄₆ H ₇₂ O ₁₉	-3.18	927, 827, 811	Ag = 6, R ₁ /R ₂ = Tig/H, R ₃ = Neo [#]	19
31	22.298	1 093.507 6 [M-H] ⁻	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₅	0.37	1 033, 973, 955, 829, 811	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = Ac, R ₃ = S ₄ [#]	
32	22.308	1 091.525 1 [M-H] ⁻	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₄	-2.75	991, 973, 829, 685	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Tig/H, R ₃ = S ₄ [#]	
33	22.378	887.424 4 [M-H] ⁻	C ₄₃ H ₆₈ O ₁₉	-4.28	827, 809, 429	Ag = 6, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = S ₄ [#]	20
34	22.693	951.456 2 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₉	-3.47	829	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Bz/H, R ₃ = Neo [#]	
35	22.938	1 033.484 7 [M-H] ⁻	C ₄₉ H ₇₈ O ₂₃	-1.55	991, 973, 871, 811, 784	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = S ₄ [#]	
36	23.498	931.452 3 [M-H] ⁻	C ₄₅ H ₇₂ O ₂₀	-2.25	913, 871, 853, 811, 651	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = Ac, R ₃ = Neo [#]	19
37	24.093	871.434 2 [M-H] ⁻	C ₄₃ H ₆₈ O ₁₈	1.03	829, 811, 667	Ag = 2, R ₁ /R ₂ = Ac/H, R ₃ = Neo [#]	
38	24.168	729.366 8 [M+HCOO] ⁻	C ₃₅ H ₅₆ O ₁₃	-5.07	683, 651, 491, 473, 363	Ag = 6, R ₁ = R ₂ = H, R ₃ = Pac [#]	
39	24.548	1 113.508 5 [M-H] ⁻	C ₅₄ H ₈₂ O ₂₄	-3.41	991, 847, 771	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Bz/H, R ₃ = S ₄ [#]	20
40	24.618	713.375 5 [M-H] ⁻	C ₃₅ H ₅₆ O ₁₂	0.14	667, 508, 442, 363, 225	marsdenoside I	
41	24.793	1 093.543 1 [M-H] ⁻	C ₅₂ H ₈₆ O ₂₄	-0.46	991, 955, 829, 793, 685	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = mBu/H, R ₃ = S ₄ [#]	
42	25.065	971.483 1 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	-2.68	911, 871, 811, 258	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/Tig, R ₃ = Neo [#]	19
43	25.273	951.457 9 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₉	-1.68	935, 829, 775	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Bz/H, R ₃ = Neo [#]	

续表1

峰号	t_R/min	$MS^1 (m/z)$	分子式	误差 ($\times 10^{-6}$)	$MS^2 (m/z)$	化合物	参考文献
44	25.500	713.372 8 [M+HCOO] ⁻	C ₃₅ H ₅₆ O ₁₂	-3.64	667, 507, 363, 259, 119	通关藤苷 F	14
45	25.897	931.486 6 [M-H] ⁻	C ₄₆ H ₇₆ O ₁₉	-4.51	829, 811, 793, 613	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = mBu/H, R ₃ = Neo [#]	
46	26.247	971.484 7 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	-1.03	911, 811, 793, 775, 613	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/Tig, R ₃ = Neo [#]	
47	26.527	1 061.513 3 [M-H] ⁻	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₃	-3.86	973, 945, 829, 669	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = iBu/H, R ₃ = S ₄ [#]	
48	26.877	963.460 1 [M-H] ⁻	C ₄₉ H ₇₂ O ₁₉	0.62	829, 811, 667, 639	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = HPA/H, R ₃ = Neo [#]	
49	27.017	813.424 2 [M+HCOO] ⁻	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₄	-4.43	767, 667, 614, 489, 427	tenacigenoside C	12
50	27.682	1 073.514 9 [M-H] ⁻	C ₅₂ H ₈₂ O ₂₃	-2.33	973, 945, 829, 811, 667	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Tig/H, R ₃ = S ₄ [#]	
51	28.102	1 075.495 2 [M-H] ⁻	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₄	-1.39	1 033, 1 015, 991, 973, 955	Ag = 1 或 2, R ₁ = R ₂ = Ac, R ₃ = S ₄ [#]	
52	28.380	945.468 4 [M+HCOO] ⁻	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	-1.80	811, 447	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = iBu/H, R ₃ = Neo [#]	
53	28.695	957.471 4 [M+HCOO] ⁻	C ₄₆ H ₇₂ O ₁₈	1.36	911, 871, 811	tenacigenoside I 异构体	
54	28.835	929.434 6 [M-H] ⁻	C ₄₅ H ₇₀ O ₂₀	-4.52	869, 827, 733, 459, 209	Ag = 6, R ₁ = R ₂ = Ac, R ₃ = Neo [#]	
55	29.010	733.376 5 [M-H] ⁻	C ₃₇ H ₅₈ O ₁₃	-0.68	673, 653, 476, 329	tenacissimoside J	18
56	29.217	1 133.535 5 [M-H] ⁻	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₅	-2.65	1 033, 973, 811, 667, 649	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/Tig, R ₃ = S ₄ [#]	
57	29.287	957.465 7 [M+HCOO] ⁻	C ₄₆ H ₇₂ O ₁₈	-4.60	911, 857, 797	tenacigenoside I	16
58	29.357	975.476 8 [M+HCOO] ⁻	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₉	-3.90	827, 795, 767, 765, 751	Ag = 6, R ₁ /R ₂ = mBu/H, R ₃ = Neo [#]	
59	29.528	913.442 0 [M-H] ⁻	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₉	-2.08	871, 853, 835, 793	tenacigenoside K	16
60	29.595	1 095.499 7 [M-H] ⁻	C ₅₄ H ₈₀ O ₂₃	-1.92	973, 945, 927, 811, 667	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Bz/H, R ₃ = S ₄ [#]	
61	29.750	1 239.598 2 [M-H] ⁻	C ₅₈ H ₉₆ O ₂₈	-2.66	1 179, 1 119	Ag = 4, R ₁ = R ₂ = Ac, R ₃ = S ₆ [#]	
62	30.083	933.449 6 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₀ O ₁₈	0.75	811, 783	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Bz/H, R ₃ = Neo [#]	
63	30.175	769.438 2 [M-H] ⁻	C ₄₀ H ₆₆ O ₁₄	0.39	667, 447	tenacigenoside D	12
64	30.373	1 167.517 9 [M-H] ⁻	C ₅₇ H ₈₄ O ₂₅	-4.28	1 033, 1 015, 973, 811, 667	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = HPA/Ac, R ₃ = S ₄ [#]	
65	30.487	1 135.548 8 [M-H] ⁻	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₅	-4.76	1 033, 973, 829, 811, 667	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/mBu, R ₃ = S ₄ [#]	
66	30.643	913.476 7 [M-H] ⁻	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₈	-3.83	811, 407	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = mBu/H, R ₃ = Neo [#]	
67	31.098	993.469 7 [M-H] ⁻	C ₅₀ H ₇₄ O ₂₀	-0.40	933, 871, 811, 775, 631	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Bz/Ac, R ₃ = Neo [#]	
68	31.110	1 115.523 0 [M-H] ⁻	C ₅₄ H ₈₄ O ₂₄	-4.48	1 055, 1 015, 955, 811, 649	通关藤苷 N	12
69	31.133	973.499 7 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₈ O ₂₀	-1.75	871, 811, 775, 757, 613	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/mBu, R ₃ = Neo [#]	
70	31.412	1 103.524 3 [M-H] ⁻	C ₅₃ H ₈₄ O ₂₄	-3.35	1 043, 955 811, 775, 667, 631	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = iBu/Ac, R ₃ = S ₄ [#]	
71	31.552	1 009.494 9 [M-H] ⁻	C ₅₁ H ₇₈ O ₂₀	-3.37	991, 927, 909, 891, 827, 809	Ag = 6, R ₁ = R ₂ = Tig, R ₃ = Neo [#]	
72	31.587	1 011.514 9 [M-H] ⁻	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₀	-2.08	911, 811, 793, 757, 613	marstenacisside A4	21
73	31.592	969.468 8 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₀	-1.34	869, 837, 793, 777, 735	marstenacisside A3	21
74	32.003	987.479 6 [M+HCOO] ⁻	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₉	-1.01	941, 882, 853, 237	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Ac/iBu, R ₃ = Neo [#]	
75	32.143	1 033.496 8 [M-H] ⁻	C ₅₃ H ₇₈ O ₂₀	-4.45	911, 811, 775, 613	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Bz/Tig, R ₃ = Neo [#]	
76	32.243	1 259.602 6 [M-H] ⁻	C ₆₁ H ₉₆ O ₂₇	-2.38	1 137	通关藤苷 J	22
77	32.248	1 075.528 9 [M-H] ⁻	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₃	-3.91	973, 955, 811, 667	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = mBu/H, R ₃ = S ₄ [#]	
78	32.423	953.479 3 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₉	4.30	911, 893, 853, 812, 795	tenacissoside A 或 marstenacisside A2	19,21
79	32.557	1 117.539 8 [M-H] ⁻	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₄	-3.40	1 057, 1 015, 955, 853, 811	tenacigenoside G	17
80	32.692	1 137.508 7 [M-H] ⁻	C ₅₆ H ₈₂ O ₂₄	-3.16	1 077, 1 015, 955, 853, 811	tenacissimoside D	18
81	32.980	1 097.553 5 [M-H] ⁻	C ₅₅ H ₈₆ O ₂₂	-0.27	975, 869, 595, 421, 349, 116	通关藤苷 K	22
82	33.180	955.491 4 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	0.63	853, 793, 691, 633	marsdenoside H	23
83	33.247	447.274 2 [M+H] ⁺	C ₂₆ H ₃₈ O ₆	0.22	347, 329, 311, 293	12β-巴豆酰基通关藤苷元 A [*]	23
84	33.347	1 021.461 9 [M+HCOO] ⁻	C ₅₀ H ₇₂ O ₁₉	-3.03	975, 915, 853, 793	marsdenoside K 或异构体	20
85	33.490	1 173.569 0 [M-H] ⁻	C ₅₇ H ₉₀ O ₂₅	-0.68	1073, 973, 955, 937, 811	Ag = 3, R ₁ = R ₂ = Tig, R ₃ = S ₄ [#]	
86	33.583	489.285 7 [M+H] ⁺	C ₂₈ H ₄₀ O ₇	2.04	429, 411, 389, 311, 293	11α-巴豆酰基-12β-乙酰基通关藤苷元 B [*]	24
87	33.632	1 195.552 0 [M-H] ⁻	C ₅₉ H ₈₈ O ₂₅	-1.84	1 095, 973, 955, 937, 781	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Tig/Bz, R ₃ = S ₄ [#]	
88	33.830	1 227.612 7 [M-H] ⁻	C ₆₁ H ₉₆ O ₂₅	-3.34	1 105, 799	marstenacisside E	25
89	33.933	953.475 2 [M-H] ⁻	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₉	0	893, 853, 811, 793, 775	通关藤苷 A 或 marstenacisside A2	19,21

续表 1

峰号	t_R/min	$MS^1 (m/z)$	分子式	误差 ($\times 10^{-6}$)	$MS^2 (m/z)$	化合物	参考文献
90	34.003	819.411 1 [M+Na] ⁺	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₅	-3.17	759, 671, 481, 361	12β- <i>O</i> -acetyl-3- <i>O</i> -(6-deoxy-3- <i>O</i> -methyl-β- <i>D</i> -allopyranosyl- (1→4)- <i>D</i> -oleandronyl)-11α- <i>O</i> -isobutyryltenacigenin B	26
91	34.038	843.416 8 [M-H] ⁻	C ₄₅ H ₆₄ O ₁₅	-0.47	801, 709, 691, 667, 649	marsdenoside J	20
92	34.453	1 199.529 4 [M-H] ⁻	C ₆₁ H ₈₄ O ₂₄	1.08	1 077, 955, 915, 775	Ag = 1 或 2, R ₁ = R ₂ = Bz, R ₃ = S ₄ [#]	
93	34.490	835.446 9 [M+Na] ⁺	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₅	2.27	775, 733, 673, 338, 302	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Ac/mBu, R ₃ = Pac [#]	
94	34.525	1 039.507 8 [M+HCOO] ⁻	C ₅₁ H ₇₈ O ₁₉	-3.94	893, 793	通关藤苷 B	19
95	34.697	775.427 3 [M+Na] ⁺	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₃	4.38	673	marsdenoside D	23
96	34.837	1 021.461 2 [M+HCOO] ⁻	C ₅₀ H ₇₂ O ₁₉	-3.72	975, 916	marsdenoside K 或异构体	20
97	34.942	511.270 3 [M+H] ⁺	C ₃₀ H ₃₈ O ₇	2.54	451, 433, 415, 329, 311	11α-苯甲酰基-12β-乙酰基通关藤苷元 B [*]	24
98	35.047	831.409 5 [M+Na] ⁺	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₅	-5.05	771, 731, 671, 493, 361	12β- <i>O</i> -acetyl-3- <i>O</i> -(6-deoxy-3- <i>O</i> -methyl-β- <i>D</i> -allopyranosyl- (1→4)- <i>D</i> -oleandronyl)-11α- <i>O</i> -tigloyltenacigenin B	26
99	35.117	1 013.530 7 [M-H] ⁻	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₀	-1.97	911, 811, 775, 613	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = mBu/Tig, R ₃ = Neo [#]	
100	35.133	1 035.518 3 [M-H] ⁻	C ₅₃ H ₈₀ O ₂₀	1.26	913, 811, 775, 613	Ag = 3, R ₁ /R ₂ = Bz/mBu, R ₃ = Neo [#]	
101	35.247	1 143.554 2 [M-H] ⁻	C ₅₆ H ₈₈ O ₂₄	-4.46	1 055, 1 043, 955, 893, 811	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Tig/iBu, R ₃ = S ₄ [#]	
102	35.432	1 155.556 7 [M-H] ⁻	C ₅₇ H ₈₈ O ₂₄	-2.25	1 055, 955, 893, 811, 667	tenacigenoside E	24
103	35.747	1 165.541 4 [M-H] ⁻	C ₅₈ H ₈₆ O ₂₄	-1.89	1 077, 1 043, 955, 915, 795	Ag = 1 或 2, R ₁ /R ₂ = Bz/iBu, R ₃ = S ₄ [#]	
104	35.852	1 177.540 5 [M-H] ⁻	C ₅₉ H ₈₆ O ₂₄	-2.63	1 077, 1 055, 955, 893, 811, 667	marstenacisside B7	21
105	35.852	833.430 1 [M+Na] ⁺	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₅	0.84	773, 671, 495, 361, 311	Ag = 6, R ₁ /R ₂ = mBu/Ac, R ₃ = Pac [#]	
106	36.132	1 027.509 5 [M+HCOO] ⁻	C ₅₀ H ₇₈ O ₁₉	-2.34	981, 894	Ag = 2, R ₁ /R ₂ = iBu/Tig, R ₃ = Neo [#]	12
107	36.167	815.416 7 [M+Na] ⁺	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₄	-2.58	755, 655	通关藤苷 G [*]	12
108	36.237	1 157.573 1 [M-H] ⁻	C ₅₇ H ₉₀ O ₂₄	-1.55	1 055, 955, 893, 811, 649	marstenacisside B5 异构体	21
109	36.303	529.316 8 [M+H] ⁺	C ₃₁ H ₄₄ O ₇	1.51	429, 411, 329, 311	11α,12β-二巴豆酰基通关藤苷元 B [*]	24, 27
110	36.437	1 039.508 8 [M+HCOO] ⁻	C ₅₁ H ₇₈ O ₁₉	-2.98	893, 793	tenacigenoside I	16
111	36.573	1 179.554 0 [M-H] ⁻	C ₅₉ H ₈₈ O ₂₄	-4.49	1 077, 955, 915, 795, 667, 363	tenacigenoside F	17
112	36.608	1 049.495 3 [M+HCOO] ⁻	C ₅₂ H ₇₆ O ₁₉	-0.95	1 003, 915	Ag = 2, R ₁ /R ₂ = iBu/Bz, R ₃ = Neo [#]	12
113	36.713	551.298 5 [M+H] ⁺	C ₃₃ H ₄₂ O ₇	-3.27	451, 433, 415, 329, 311	11α-巴豆酰基-12β-苯甲酰基通关藤苷元 B [*]	24
114	36.713	1 061.494 8 [M+HCOO] ⁻	C ₅₃ H ₇₆ O ₁₉	-1.41	1 015, 915, 893, 855, 753	通关藤苷 C	19
115	37.053	1 083.476 4 [M+HCOO] ⁻	C ₅₅ H ₇₄ O ₁₉	-3.88	1 037, 915, 236	Ag = 2, R ₁ = R ₂ = Bz, R ₃ = Neo [#]	12
116	37.087	837.446 4 [M+Na] ⁺	C ₄₄ H ₆₂ O ₁₄	3.82	777, 715, 655, 359	通关藤苷 I [*]	12
117	37.155	817.435 9 [M+Na] ⁺	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	1.71	757	通关藤苷 H [*]	12
118	37.288	1 041.524 2 [M+HCOO] ⁻	C ₅₁ H ₈₀ O ₁₉	-3.26	895, 893, 795, 793	通关藤苷 D	28
119	37.425	1 063.511 1 [M+HCOO] ⁻	C ₅₃ H ₇₈ O ₁₉	-0.75	1 017, 915, 793, 754, 619	通关藤苷 E	28
120	38.118	1 031.483 1 [M-H] ⁻	C ₅₃ H ₇₆ O ₂₀	-2.52	949, 931, 841, 787, 769	marstenacisside A3	21
121	38.258	529.320 1 [M+H] ⁺	C ₃₁ H ₄₄ O ₇	7.07	511, 429, 411, 393, 329	11α,12β-二巴豆酰基异通关藤苷元 B [*]	
122	38.328	551.300 3 [M+H] ⁺	C ₃₃ H ₄₂ O ₇	0	523, 329, 311	11α-苯甲酰基-12β-巴豆酰基通关藤苷元 B [*]	
123	38.433	855.446 0 [M+Na] ⁺	C ₄₅ H ₆₈ O ₁₄	-4.79	755, 655, 552	marsdenoside B [*]	23
124	39.168	531.332 9 [M+H] ⁺	C ₃₁ H ₄₆ O ₇	2.45	429, 411, 393, 329, 311	11α-2-甲基丁酰基-12β-巴豆酰基通关藤苷元 B [*]	24
125	39.378	553.317 7 [M+H] ⁺	C ₃₃ H ₄₄ O ₇	3.07	451, 433, 329, 267	11α-2-甲基丁酰基-12β-苯甲酰基通关藤苷元 B [*]	24
126	40.113	857.459 7 [M+Na] ⁺	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₄	-7.11	757, 655, 333	marsdenoside A [*]	23
127	42.925	879.446 7 [M+Na] ⁺	C ₄₇ H ₆₈ O ₁₄	-3.87	757, 655, 339	marsdenoside C [*]	23

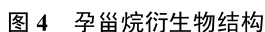
*用对照品指认; #Ag 为糖苷配基, 其他缩写与图 4 一致

*confirmed by reference substance; #Ag means aglycone, other abbreviations are consistent with fig. 4

关藤苷元 B、11α-苯甲酰基-12β-巴豆酰基通关藤苷元 B、marsdenoside B、11α-2-甲基丁酰基-12β-巴豆酰基通关藤苷元 B、11α-2-甲基丁酰基-12β-苯甲酰基通关藤苷元 B、marsdenoside A、marsdenoside C。

通过与文献中的多级质谱数据对照, 并结合 Yang 等^[11]报道的黄酮类质谱裂解规律, 鉴定化合物 4、6、7、22 分别为皂草苷、芦丁、金丝桃苷和槲皮素。

为确定孕甾烷类衍生物的结构, 首先利用



Scifinder、Pubmed、CrossFire Beilstein 数据库、CNKI、Google scholar、Baidu scholar 等搜索平台和数据库系统地查阅了牛奶菜属化学成分的研究报道,构建了包含所有 115 个该类型化合物的数据库。其结构特点包括^[12,14-28]: ①均具有环戊烷骈多氢菲的甾体母核,共计 8 种母核(1~8,图 4); ②C-3 及 C-14 位均有 β 羟基; ③各化合物之间的不同主要在于 C-5、C-6 位之间有无双键, C-8、C-17 及 C-11、C-12 位有无羟基或羟基,且是否与有机酸成酯, C-17 位上的侧链是 α 位或 β 位, C-20 位是羰基还是羟基或羟基是否成酯; ④苷元 C-11 α 、C-12 β 和 C-20 位常见的酰基为乙酰基 (Ac)、2-甲基丁酰基 (mBu)、2-甲基丙酰基 (iBu)、巴豆酰基 (Tig)、苯甲酰基 (Bz) 和 4-羟基苯乙酰基 (HPA) 等 (图 4); ⑤C-3 β 位常见 Pac、Neo、S₃-S₇ 等 7 种单糖链苷取代,糖链主要由 β -D-吡喃葡萄糖、 α -D-吡喃葡萄糖、 α -L-吡喃岩藻糖、 β -D-吡喃黄花夹竹桃糖、

4 结论

中药多成分、多途径、多靶点的特点已成共识。对中药进行全面的化学轮廓表征不仅是对其进行深入质量分析的基础,也是全面阐明其体内药效物质的依据。通关藤为著名中药制剂消癌平的唯一原药材。因此,笔者利用 LC-MS 技术对其进行广泛的化学成分定性分析,以期全面表征化学组成,为通关藤和其单方制剂消癌平的深入质量分析及体内药效物质的阐明提供可靠来源的数据。为了充分地保留和分离各个色谱信号,本实验广泛地筛选了色谱

柱,特别是超高效液相色谱柱,最后发现 Waters HSS UPLC T3 色谱柱较之其他超高效液相色谱柱以及核-壳(core-shell)色谱柱,不仅能够实现所有化合物的有效保留,并且显示出较好的色谱峰形和分离度,呈现了更高的峰容量(peak capacity)。因此,该色谱柱被用于分离通光藤中广泛存在的孕甾烷衍生物的同分异构体,并取得较为满意的色谱轮廓。IT-TOF-MS 由于兼具三维离子阱和飞行时间质谱的优点,能够产生丰富的高精度结构碎片,因而被用于液相洗脱液中各类型化合物的检测以及孕甾烷类衍生物质谱裂解规律的推导。通过与对照品比对,准确地归属了 21 个色谱信号;通过与文献报道的数据及裂解规律进行对照,初步鉴定了 4 个黄酮类化合物和 2 个绿原酸类化合物;通过构建牛奶菜属孕甾烷类化合物的自制数据库(in-lab database),并结合质谱裂解规律,进一步鉴定了 100 个孕甾烷类衍生物。通过 HPLC-IT-TOF-MS 技术快速、准确地对通光藤中复杂化学成分进行系统分析,丰富了通光藤的化学成分信息,为通光藤的全面质量分析和体内药效物质研究提供了依据。

参考文献

- [1] 魏文静, 刘同祥. 民族药乌骨藤抗肿瘤药理活性及机制研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1717-1719.
- [2] 王艳艳, 王 威, 李红岩, 等. 牛奶菜属植物化学成分研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(24): 163-170.
- [3] 陈 静, 马明芳, 格桑顿珠, 等. 牛奶菜属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 西藏大学学报, 2012, 27(1): 40-50.
- [4] Wang P L, Sun Z, Lv X J, *et al.* A homologues prediction strategy for comprehensive screening and characterization of C₂₁ steroids from Xiao-ai-ping injection by using ultra high performance liquid chromatography coupled with high resolution hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 148: 80-88.
- [5] Chen J, Li X, Sun C, *et al.* Identification of polyoxypregnane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima* by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2008, 77(1): 152-159.
- [6] Su X Q, Song Y L, Zhang J, *et al.* Dihydrochalcones and homoisoflavones from the red resin of *Dracaena cochinchinensis* (Chinese dragon's blood) [J]. *Fitoterapia*, 2014, 99: 64-71.
- [7] Sun J, Song Y L, Zhang J, *et al.* Characterization and quantitative analysis of phenylpropanoid amides in eggplant (*Solanum melongena* L.) by high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(13): 3426-3436.
- [8] Sun J, Song Y, Sun H, *et al.* Characterization and quantitative analysis of phenolic derivatives in Longxuetongluo Capsule by HPLC-DAD-IT-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 145: 462-472.
- [9] Zhang J Y, Wang Z J, Li Y, *et al.* A strategy for comprehensive identification of sequential constituents using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap-orbitrap mass spectrometer, application study on chlorogenic acids in *Flos Lonicerae Japonicae* [J]. *Talanta*, 2016, 147(62): 16-27.
- [10] Zhang J Y, Zhang Q, Li N, *et al.* Diagnostic fragment-ion-based and extension strategy coupled to DFIs intensity analysis for identification of chlorogenic acids isomers in *Flos Lonicerae Japonicae* by HPLC-ESI-MS(n) [J]. *Talanta*, 2013, 104(2): 1-9.
- [11] Yang W Z, Ye M, Qiao X, *et al.* Collision-induced dissociation of 40 flavonoid aglycones and differentiation of the common flavonoid subtypes using electrospray ionization ion-trap tandem mass spectrometry and quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Eur J Mass Spectrom (Chichester)*, 2012, 18(6): 493-503.
- [12] McGarvey B D, Liao H, Ding K, *et al.* Dereplication of known pregnane glycosides and structural characterization of novel pregnanes in *Marsdenia tenacissima* by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization-tandem mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2012, 47(6): 687-693.
- [13] Yan Y, Song Q, Chen X, *et al.* Simultaneous determination of components with wide polarity and content ranges in *Cistanche tubulosa* using serially coupled reverse phase-hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1501: 39-50.
- [14] 陈纪军, 张壮鑫, 周 俊. 通光藤甙 F, G, H 和 I 结构 [J]. 云南植物研究, 1999, 21(3): 369-377.
- [15] 杨仁洲, 杨崇仁, 周 俊. 通光藤昔元甲、乙和丙的结构 [J]. 云南植物研究, 1981, 3(3): 271-278.
- [16] 廖 辉, 单晓庆, 王 林, 等. 通光藤中甙体化合物的电喷雾质谱裂解规律研究 [J]. 质谱学报, 2010, 31(2): 103-109.
- [17] Wang X L, Peng S L, Li-Sheng, *et al.* Further polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(8): 654-661.

- [18] Yao S, To K K, Wang Y Z, *et al.* Polyoxypregnane steroids from the stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(9): 2044-2053.
- [19] Chen J J, Li X Y, Sun C R, *et al.* Identification of polyoxypregnane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima* by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2008, 77(1): 152-159.
- [20] Deng J, Liao Z X, Chen D F. Three new polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Helv Chim Acta*, 2010, 92(10): 2111-2117.
- [21] Pang X, Kang L P, Yu H S, *et al.* New polyoxypregnane glycosides from the roots of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Steroids*, 2015, 93: 68-76.
- [22] 邢旺兴, 陈 斌, 宓鹤鸣, 等. 通光藤中两个新 C21 甾体苷类成分 [J]. *药学学报*, 2004, 39(4): 272-275.
- [23] Deng J, Liao Z X, Chen D F. Marsdenosides A-H, polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(9): 1040-1051.
- [24] Luo S Q, Lin L Z, Cordell G A, *et al.* Polyoxypregnanes from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(6): 1615-1620.
- [25] Xia Z H, Mao S L, Lao A N, *et al.* Five new pregnane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(6): 477-485.
- [26] Yao S, To K K, Ma L, *et al.* Polyoxypregnane steroids with an open-chain sugar moiety from *Marsdenia tenacissima* and their chemoresistance reversal activity [J]. *Phytochemistry*, 2016, 126: 47-58.
- [27] Li Q F, Wang X L, Ding L S, *et al.* Polyoxypregnanes from the stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Chin Chem Lett*, 2007, 18(7): 831-834.
- [28] Miyakawa S, Yamaura K, Hayashi K, *et al.* Five glycosides from the Chinese drug 'TONG-GUANG-SAN': The stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(12): 2861-2865.