UPLC-QTOF-MS 法分析复方灯台叶片的化学成分及其祛痰、止咳、平喘作用

周　锦[1]，聂岚岚[2]，崔明筠[3]，付开聪[3]，胡　晓[1]，黄春跃[1*]，侯爱君[2*]

（1. 中国医药工业研究总院，上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203；
2. 上海交通大学药学院，上海 200240；3. 普洱市民族传统医药研究所，云南普洱 665000）

摘要：采用超高效液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱（UPLC-QTOF-MS）联用技术分析复方灯台叶片的化学成分。根据化合物的质谱数据，并结合对照品及文献报道，共鉴定或指认出 52 个成分，包括 12 个生物碱类化合物、13 个萜类化合物、14 个黄酮类化合物、3 个酚酸类成分，以及 10 个其他化学成分（如二苯乙烯类、有机酸类）。通过建立小鼠气管酚红分泌模型、氨水引咳模型、豚鼠磷酸组胺联合氯化乙酰胆碱引喘模型，评价了复方灯台叶片的祛痰、止咳、平喘药效。结果显示，与模型组相比，复方灯台叶片的中、高剂量（2、4 g/kg）治疗组小鼠气管酚红分泌量显著增加，咳嗽潜伏期显著延长，2 min 内咳嗽次数显著下降（P<0.05，P<0.01）；豚鼠引喘潜伏期延长。该研究阐明了复方灯台叶片的化学成分组成，评价了祛痰、止咳、平喘作用，为其质量控制和临床应用提供了试验依据。

关键词：复方灯台叶片；UPLC-QTOF-MS；化学成分；鉴定；药效学；祛痰作用；止咳作用；平喘作用

中图分类号：R917；R284.1；R974　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)05-0643-10

引用：周　锦，聂岚岚，崔明筠，等．UPLC-QTOF-MS 法分析复方灯台叶片的化学成分及其祛痰、止咳、平喘作用［J］．中国医药工业杂志，2025, 56(5): 643-652．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.05.011

Analysis of Chemical Constituents by UPLC-QTOF-MS and Expectorant, Antitussive and Antiasthmatic Effects of *Fufang Dengtaiye* Tablets

ZHOU Jin[1], NIE Lanlan[2], CUI Mingjun[3], FU Kaicong[3], HU Xiao[1], HUANG Chunyue[1*], HOU Aijun[2*]

(*1. National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240; 3. Puer National Institute of Ethnic Traditional Medicine, Puer 665000*)

ABSTRACT: A UPLC-QTOF-MS method was established to analyze the chemical constituents of *Fufang Dengtaiye* tablets. Based on the mass spectrometry data, reference substances, and literature reports, a total of 52 constituents were identified or speculated. The chemical material basis was composed of 12 alkaloids, 13 terpenoids, 14 flavonoids, 3 phenolic acids, and 10 other chemical constituents (e.g., stilbenes and organic acids). The phenol red-induced tracheal excretion mouse models, ammonia-induced mouse cough models, and histamine phosphate combined with acetylcholine chloride-induced guinea pigs asthma models were established to evaluate the expectorant, antitussive and anti-asthmatic effects of *Fufang Dengtaiye* tablets. The results showed that compared with the model group, the medium- and high-dosage (2 and 4 g/kg) group of *Fufang Dengtaiye* tablets could significantly increase the secretion of phenol red, prolong the cough incubation period, reduce the number of cough in two minutes of mice (P<0.05, P<0.01), and increase asthma incubation period of guinea pigs. This study elucidated the chemical constituents of *Fufang Dengtaiye* tablets and its expectorant, antitussive and antiasthmatic activities, which provided a experimental basis for its quality control and clinical application.

Key Words: *Fufang Dengtaiye* tablet; UPLC-QTOF-MS; chemical constituent; identification; pharmacodynamics; expectorant effect; antitussive effect; antiasthmatic effect

慢性支气管炎是由多种因素导致的气管、支气管黏膜及周围组织的慢性非特异性炎症，临床主要表现为咳嗽增多、呼吸不畅、咳痰等症状，严重者可能会发展成为慢性阻塞性肺疾病甚至肺源性心脏病，严重影响患者身体健康和生活质量[1]。成人的慢性支气管炎患病率在3.4%～22%，且呈现逐年上升趋势[2]。目前，临床治疗慢性支气管炎的西药主要是消炎、平喘、祛痰、止咳及激素类药物，治疗效果有限，且不良反应较严重[3]。因此，寻找安全、有效的慢性支气管炎治疗药物具有重要意义。

近年来，中医药在慢性支气管炎的治疗方面正显现出独特优势，并且临床疗效显著。复方灯台叶片是普洱市民族医院／普洱市中医医院的医疗机构制剂［批准文号滇药制字（Z）20112426J］，由灯台叶［系夹竹桃科鸡骨常山属糖胶树［*Alstonia scholaris*（L.）R.Br.］的叶］、流苏石斛［系兰科植物流苏石斛（*Dendrobium fimbriatum* Hook.）的栽培品及其同属植物近似种的新鲜或干燥茎］、桑白皮［系桑科植物桑（*Morus alba* L.）的干燥根皮］、茯苓［系多孔菌科真菌茯苓［*Poria cocos*（Schw.）Wolf］的干燥菌核］组成，具有止咳、化痰、滋阴、清热、利湿的功效，可用于慢性支气管炎的临床治疗。

现代药理学研究[4—7]表明，复方灯台叶片组方中诸药都具有显著的止咳、平喘、抗炎、免疫调节等作用，但其治疗慢性支气管炎的物质基础和药理机制研究尚未见报道。因此，本研究利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱（UPLC-QTOF-MS）联用技术，通过Waters UNIFI软件获得准分子离子峰、碎片离子等信息，通过对照品比对，并结合文献数据对复方灯台叶片的物质基础进行定性分析，阐明其主要化学成分，并进一步开展祛痰、止咳、平喘的药效学考察，以期为该复方的质量控制及临床应用提供试验依据。

1　仪器与试药

Waters Xevo G2-XS Q-TOF型高分辨质谱仪（包括二元溶剂输送系统、自动进样器、光电二极管阵列检测器，以及MassLynx V4.1质谱工作站）；UX4200H型电子托盘天平（株式会社岛津制作所）；MS105（DU）型电子天平（瑞士梅特勒-托利多集团）；Hei-VAP型旋转蒸发仪（德国海道夫公司）；YLS-8A型多功能诱咳引喘仪（济南益延科技发展有限公司）。

灯台叶（批号20210212）、流苏石斛（批号20190906）、桑白皮（批号20210211）、茯苓（批号20210317）药材均购自昆明蓝海中药材饮片有限公司，经检验均符合相关法定标准；复方灯台叶片（实验室自制，批号240401）；喷托维林氯化铵糖浆（上海延安药业有限公司，批号210104）；蛇胆川贝枇杷膏（广州白云山潘高药业股份有限公司，批号1912039C）；灯台叶颗粒（云南植物药业有限公司，批号20210407058，规格10 g）。

新绿原酸（**1**，含量≥99%，批号DST180130-105）、桑皮苷A（**3**，含量≥98%，批号DSTDS006801）、隐绿原酸（**4**，含量≥98%，批号DST180210-035）、茯苓新酸B（**7**，含量≥97%，批号DSTDF004701）均购自成都德思特生物技术有限公司；绿原酸（**2**，含量≥98%，批号CFS202401）、茯苓酸（**8**，含量≥98%，批号CFS202302）均购自武汉天植生物技术有限公司；鸭脚树叶碱（**5**，含量98.8%，批号111697-200802）、熊果酸（**9**，含量94.70%，批号110742-201622）均购自中国食品药品检定研究院；石斛酚（**6**，成都格利普生物科技有限公司，含量99.49%，批号23112803）；乙腈、甲醇、甲酸均为质谱纯，其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

SPF级ICR小鼠，雄性，体质量约18 g；豚鼠，雄性，体质量约300 g；以上动物均购自上海杰思捷试验动物有限公司，许可证号：SYXK（沪）2014-0018。本研究的动物试验伦理审查号：2021f078。

2　方法与结果

2.1　色谱和质谱条件

色谱条件：色谱柱Waters Acquity UPLC HSS T3柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相A为0.1%

收稿日期：2024-11-02

基金项目：上海市“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项项目（22S21901800）——治疗慢性支气管炎医疗机构制剂复方灯台叶片的新药临床前研究

作者简介：周　锦（2001—），女，硕士研究生，专业方向：中药新药研究与开发。

通信作者：黄春跃（1977—），女，副研究员，从事中草药的活性成分及质量控制研究。

E-mail：hcyspring@163.com

侯爱君（1972—），女，博士，教授，从事活性天然产物的发现与新药研究。

E-mail：ajhou@sjtu.edu.cn

甲酸水溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—30 min，A 100 %—75 %；30—35 min，A 75 %—50 %；35—45 min，A 50 %—30 %；45—50 min，A 30 %—0；50—55 min，A 0；55—60 min，A 0—100 %）；流速 0.36 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 0.5 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾电离（electrospray ionization，ESI）源，正 / 负离子扫描模式，质量扫描范围 *m/z* 50 ～ 1 500；脱溶剂气 N_2，脱溶剂气流速 500 L/h，温度 400 ℃；锥孔气 N_2，锥孔气流速 100 L/h，电压 40 eV；电离源温度 120 ℃；毛细管电压 3 500 eV；碰撞气 氩气，采用 MS^E 方法进行 MS/MS 分析，低碰撞能 6 eV，高碰撞能 30 ～ 60 eV。以甲酸钠和亮氨酸 - 脑啡肽溶液作为实时校正标准溶液，流速 5 μL/min，生成的参比校正离子：正离子模式下为 *m/z* 556.277 1$[M+H]^+$，负离子模式下为 *m/z* 554.261 5$[M-H]^-$。

2.2 溶液的配制

复方灯台叶片原料：参照复方灯台叶片的制备工艺，取灯台叶 400 g、流苏石斛 200 g、桑白皮 120 g，加 11 倍体积水，浸泡 30 min，加热至回流提取 3 次，每次 1 h，过滤，滤液合并后浓缩至干，得到中间体（得率为 25.67%）。取茯苓 80 g，粉碎成细粉，过 65 目筛（孔径 212 μm）。将上述中间体与茯苓粉（按生药量折算，质量比为 47 ∶ 20）混匀，得到复方灯台叶片原料。

供试品溶液：取上述复方灯台叶片原料粉末约 1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 75% 甲醇 30 mL，密塞后精密称定，超声（功率 250 W，频率 40 kHz）45 min，放冷后再用 75% 甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，即得供试品溶液。根据复方灯台叶片的处方组成，分别精密称取相应量的灯台叶、流苏石斛、桑白皮和茯苓粉末，同法制得各单方供试品溶液。

混合对照品溶液：分别取对照品 **1** ～ **9** 适量，精密称定，各加入 75% 甲醇溶解并配制成对照品贮备溶液，再分别精密量取 1 mL，置同一 20 mL 量瓶中，加 75% 甲醇定容，即得。

2.3 化学成分分析

取“**2.2**”项下的供试品溶液和混合对照品溶液，按“**2.1**”项下的色谱质谱条件进行测定，得到正、负离子模式下的基峰色谱图（图 1）。通过 MassLynx V4.1 软件采集质谱数据，结合对照品比对结果及文献[8—22]数据，鉴定复方灯台叶片中的化学成分。

2.3.1 复方灯台叶片的化学成分分析

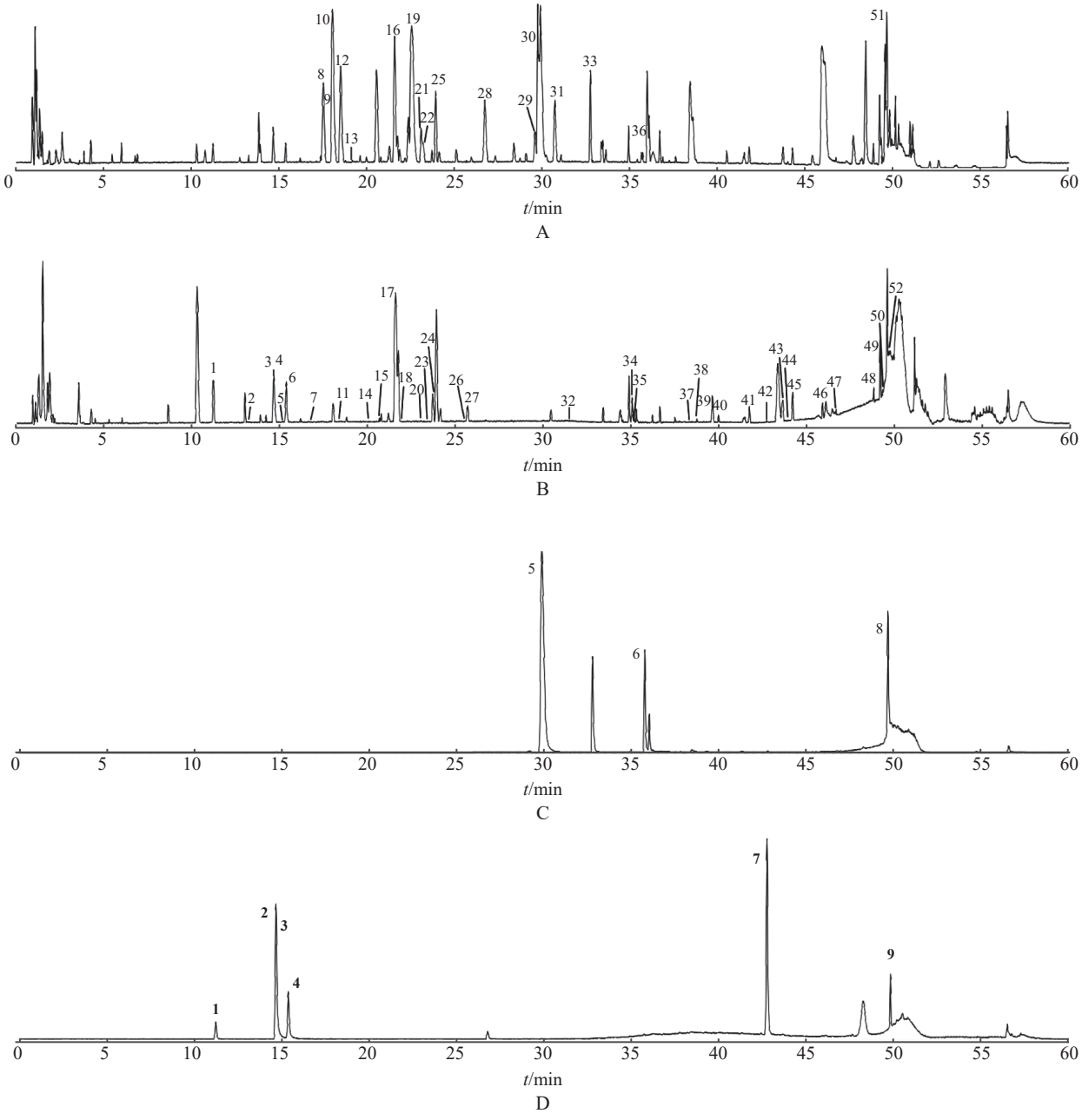
综合色谱 - 质谱检测信息，包括各信号峰的色谱保留时间、准分子离子峰信号、二级质谱信息，并经过文献及对照品的验证，对复方灯台叶片中的主要成分进行表征，共得到 52 个化学成分，其中来源于灯台叶的 21 个，来源于流苏石斛的 11 个，来源于桑白皮的 16 个，来源于茯苓的 10 个，共有成分 6 个，具体如表 1 所示。

2.3.2 生物碱类化合物的鉴定

所有生物碱类化合物均来源于灯台叶（峰号 8、10、12、13、19、21、22、28 ～ 31、33 的化合物），主要类型为单萜吲哚类生物碱。单萜吲哚类生物碱通常具有 6/5/6/6/5 五环结构，在正离子模式下，易生成$[M+H]^+$，母离子单萜部分易裂解；另外，在质谱碰撞电压下，该化合物易丢失一些小分子碎片如 NH 或 C_2H_4，从而形成更稳定的结构。以峰号 10 化合物为例，在正离子模式下，其准分子离子峰为 *m/z* 357.180 8$[M+H]^+$，酯键断裂得到 *m/z* 325（$[M-CH_4O+H]^+$）的二级碎片离子，在此基础上连续丢失 $C_3H_4O_2$、C_2H_4、NH 和 C_2H_2，产生 *m/z* 253、225、210 和 184 的碎片离子。结合裂解规律和文献[11]比对，推断化合物 10 为灯台树次碱，可能的裂解方式如图 2 所示。

2.3.3 黄酮类化合物的鉴定

黄酮类化合物主要来源于流苏石斛和桑白皮（峰号 9、11、14 ～ 18、20、23 ～ 25、27、37、38 化合物）。黄酮类化合物在负离子模式下，易生成 $[M-H]^-$；黄酮苷类化合物可发生糖链的断裂或糖环的开环，同时还存在脱去中性碎片产生的碎片离子。以峰号 15 化合物为例，在负离子模式下，其准分子离子峰为 *m/z* 563.139 2$[M-H]^-$，二级碎片离子有 503$[M-H-C_2H_4O_2]^-$、473$[M-H-C_3H_6O_3]^-$、443$[M-H-C_6H_{18}O_4]^-$、353$[M-H-C_9H_{24}O_7]^-$、325$[M-H-C_{10}H_{24}O_8]^-$ 和 297$[M-H-C_{11}H_{24}O_9]^-$，结合裂解规律和文献[12]数据推断该



A、B—供试品溶液；C、D—混合对照品溶液。

1—**1**；2—**2**；3—**3**；4—**4**；5—**5**；6—**6**；7—**7**；8—**8**；9—**9**。

图 1　正离子（A 和 C）、负离子（B 和 D）模式下的基峰色谱图

Fig.1　Base Peak Chromatograms in Positive (A and C) and Negative (B and D) Modes

化合物为夏佛塔苷，可能的裂解方式如图 3 所示。

2.3.4　萜类化合物的鉴定

萜类化合物基本来源于茯苓（峰号 39 ～ 43 和 45 ～ 52 化合物），主要为羊毛甾烷型三萜。其裂解主要是 C-3、C-16、C-17 位上的取代基断裂引起的，分子离子峰在正负模式下均有较强的响应。以峰号 51 化合物为例，在正离子模式下，其准分子离子峰为 *m/z* 529.399 5$[M+H]^+$，二级碎片离子有 *m/z* 469$[M+H-C_2H_4O_2]^+$、511$[M+H-H_2O]^+$、373$[M+H-C_9H_{16}O_2]^+$、295$[M+H-C_9H_{22}O_3]^+$，对照

表 1 复方灯台叶片中化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定结果

Tab.1 Identification Results of Chemical Constituents of *Fufang Dengtaiye* Tablets by UPLC-Q-TOF-MS

峰号 [1)]	保留时间 /min	加合离子	分子式	实测值	误差 /×10^{-6}	主要碎片离子	化合物名称	来源 [2)]	参考文献
1*	11.24	[M－H]$^-$	$C_{16}H_{18}O_9$	353.086 4	－2.5	707.182 1、353.086 4、191.055 2	新绿原酸（**1**）	D，S	[8]
2	13.18	[M+COOH]$^-$	$C_{19}H_{28}O_{12}$	493.155 2	－3.6	493.155 2、447.148 7、265.949 4	3,4- 二甲氧基苯基 -6-*O*-D-apio-*β*-D- 呋喃糖基 -*β*-D- 吡喃葡萄糖苷	S	[9]
3*	14.69	[M－H]$^-$	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 3	－4.5	707.182 6、353.085 7、231.942 4、191.054 6	绿原酸（**2**）	D，S	[8]
4*	14.70	[M+COOH]$^-$	$C_{26}H_{32}O_{14}$	613.178 4	2.6	613.178 4、567.172 9、405.125 2、243.065 9	桑皮苷 A（**3**）	S	[10]
5	15.33	[M+COOH]$^-$	$C_{20}H_{30}O_{13}$	523.166 4	1.3	523.166 4、477.160 9	3,4,5- 三甲氧基苯基 -6-*O*-D- 芹糖 -*β*-D- 呋喃糖基 -*β*-D- 葡萄糖苷	S	[10]
6*	15.40	[M－H]$^-$	$C_{16}H_{18}O_9$	355.104 4	－2.8	707.182 4、353.086 3、191.055 3	隐绿原酸（**4**）	D，S	[8]
7	16.79	[M+COOH]$^-$	$C_{20}H_{30}O_{12}$	507.171 3	－1.3	507.171 3、461.165 3、	（3,4- 二甲氧基苯基）甲基 -6-*O*-*β*-D- 木吡喃糖基 -*β*-D- 吡喃葡萄糖苷	S	[9]
8	17.54	[M+H]$^+$	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	371.195 6	－1.6	371.196 5、339.170 3、325.147 4	糖胶树碱	D	[11]
9	17.59	[M+Na]$^+$	$C_{27}H_{30}O_{15}$	617.148 4	0.3	617.148 4、595.166 5、577.155 6、269.207 3	维采宁 2	L	[12]
10	18.05	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{24}N_2O_4$	357.180 8	－1.7	357.180 8、325.155 3、253.096 7、225.101 2、210.092 8、183.066 3	灯台树次碱	D	[11]
11	18.39	[M+COOH]$^-$	$C_{21}H_{36}O_{11}$	509.223 5	0.2	509.223 5、463.218 0	1-（5- 乙烯基四氢 -5- 甲基 -2- 呋喃基）-1- 甲基乙基 -6-*O*-*β*-D- 木吡喃糖基 -*β*-D- 吡喃葡萄糖苷	S	[13]
12	18.52	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{24}N_2O_4$	357.180 8	－1.7	357.180 8、325.155 0、253.098 3、225.023 0、210.093 6、183.072 3	19- 表灯台树次碱	D	[11]
13	19.18	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{24}N_2O_4$	357.180 7	－2.0	357.180 7、325.154 8、253.098 3、225.102 3、183.091 6	瓦来萨明碱 Nb- 氧化物	D	[11]
14	20.13	[M－H]$^-$	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.139 8	－0.5	563.139 8、401.923 9	维采宁 1	L	[12]
15	20.69	[M－H]$^-$	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.139 2	－1.6	563.139 2、503.122 5、473.109 9、443.101 6、353.064 1、325.074 3、297.077 9	夏佛塔苷	L	[12]
16	21.60	[M+H]$^+$	$C_{26}H_{28}O_{16}$	597.146 4	1.3	597.146 4、465.103 2、303.050 4	槲皮素 -3-*O*-*β*-D- 木吡喃糖基 -（1→2）-*O*-*β*-D- 吡喃半乳糖苷	D	[14]
17	21.62	[M－H]$^-$	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.149 7	－1.5	593.149 7、431.191 3	2″-*O*- 葡萄糖基牡荆素	L	[12]
18	22.04	[M－H]$^-$	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.140 8	1.2	563.140 8、401.924 3	异夏佛塔苷	L	[12]
19	22.57	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{24}N_2O_3$	341.186 0	－1.5	341.186 0、282.149 1、222.127 3、167.013 6	鸡骨常山碱	D	[11]
20	23.01	[M－H]$^-$	$C_{25}H_{26}O_{13}$	533.129 8	0.6	533.129 8、401.924 3、268.935 7	6-*C*-*α*-L- 阿拉伯吡喃糖基 -8-*C*-*β*-*D*- 木吡喃糖基芹菜素	L	[12]
21	23.09	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{24}N_2O_3$	341.185 7	－2.3	341.185 7、309.163 3、282.148 1	瓦来萨明碱	D	[11]
22	23.23	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{24}N_2O_3$	341.186 2	－0.2	341.186 2、309.159 9、209.109 9、167.071 9	6,7-seco-angustilobine B	D	[15]
23	23.40	[M－H]$^-$	$C_{25}H_{26}O_{13}$	533.128 7	－1.5	533.128 7、401.924 5、367.917 1	芹菜素 -6,8- 二 -*C*-*α*-L- 阿拉伯吡喃糖苷	L	[12]
24	23.84	[M－H]$^-$	$C_{25}H_{26}O_{13}$	533.129 7	0.4	533.129 7、401.924 2、367.917 2	8-*α*-L- 阿拉伯吡喃糖基 -5,7- 二羟基 -2-（4- 羟基苯基）-6-*β*-D- 二吡喃基 -4*H*-1- 苯并吡喃 -4- 酮	L	[16]
25	23.92	[M+H]$^+$	$C_{15}H_{10}O_6$	287.054 7	－3.1	287.054 7、193.158 7	山柰酚	D	[14]
26	25.63	[M－H]$^-$	$C_{14}H_{12}O_4$	243.065 1	－2.5	243.065 1、225.055 7、109.033 1	氧化白藜芦醇	S	[10]
27	25.72	[M－H]$^-$	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.092 7	0	447.092 7、285.046 5	山柰酚 -3-*O*- 半乳糖苷	D	[14]
28	26.74	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{22}N_2O_2$	323.175 0	－3.1	323.175 7、293.202 3、167.013 7	阿枯米辛碱	D	[11]
29	29.62	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{22}N_2O_2$	323.175 7	－0.5	323.175 0、307.145 0、263.152 5	strictamine	D	[17]
30*	29.90	[M+H]$^+$	$C_{20}H_{22}N_2O_3$	339.169 9	－2.1	321.157 5、293.161 5、279.147 8、261.136 8	鸭脚树叶碱（**5**）	D	[17]

（续表 1）

峰号[1)]	保留时间 /min	加合离子	分子式	实测值	误差 /×10^{-6}	主要碎片离子	化合物名称	来源[2)]	参考文献
31	30.73	$[M+H]^+$	$C_{21}H_{22}N_2O_4$	367.164 8	－2.7	367.164 8、307.143 6、279.148 5	鸭脚树叶醛碱	D	[17]
32	31.53	$[M+COOH]^-$	$C_{24}H_{26}O_9$	503.150 1	0.4	503.154 2、457.150 1、325.107 4、253.050 0	桑皮苷 C	S	[10]
33	32.75	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{22}N_2O_3$	339.170 3	－1.8	339.170 3、279.148 9	alpneumine E	D	[17]
34	35.09	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{34}O_5$	329.232 1	－2.1	329.232 1、231.943 0、99.942 7	9,10,13- 三羟基 -(*E*)-11- 十八碳烯酸	D，L，S	[9,12]
35	35.20	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{34}O_5$	329.232 2	－1.8	329.232 2、231.943 0、99.942 8	9,12,13- 三羟基 -10- 十八碳烯酸	L，S	[12]
36*	35.75	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{18}O_4$	275.128 1	－0.7	275.128 1、149.022 1	石斛酚（**6**）	L	[18]
37	38.44	$[M-H]^-$	$C_{40}H_{36}O_{12}$	707.213 6	1.0	707.213 6、501.126 6、369.101 7	桑根酮 C	S	[10]
38	38.72	$[M-H]^-$	$C_{40}H_{36}O_{12}$	707.212 9	0	707.212 9、501.126 6、369.097 7	桑根酮 O	S	[10]
39	39.22	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{46}O_5$	497.326 8	0.2	497.326 8、469.913 0、401.929 2	6*α*- 羟基猪苓酸 C	F	[19]
40	41.01	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{46}O_5$	497.326 0	－1.4	497.326 0、451.014 8、293.175 5	茯苓新酸 BM	F	[19]
41	41.78	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{48}O_4$	483.347 9	1.0	483.347 9、469.912 1、401.925 0	去氢土莫酸	F	[19]
42*	42.77	$[M-H]^-$	$C_{30}H_{44}O_5$	483.311 4	0.8	483.311 4、401.924 7、233.154 5	茯苓新酸 B（**7**）	F	[19]
43	43.68	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{46}O_5$	497.327 3	1.2	497.327 3、467.317 0、401.924 9	茯苓新酸 A	F	[19]
44	43.86	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{32}O_3$	295.226 5	－2.7	295.226 5、277.216 9、221.154 3、171.104 1	(9*S*,10*E*,12*E*)-9- 羟基 -10,12- 十八碳二烯酸	S	[20]
45	44.25	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{50}O_4$	485.363 3	0.4	485.363 3、401.925 1、333.937 3	土莫酸	F	[19]
46	45.94	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{46}O_4$	481.331 5	－0.6	481.331 5、437.344 6、401.923 7、311.203 9	茯苓新酸 C	F	[19]
47	46.72	$[M-H]^-$	$C_{31}H_{48}O_4$	483.347 5	0.2	483.347 5、469.911 6、401.924 2、353.199 8	3- 表去氢土莫酸	F	[21]
48	48.86	$[M-H]^-$	$C_{32}H_{50}O_5$	513.357 1	－1.8	513.357 1、469.911 3、453.340 9、401.924 4	3-*O*- 乙酰基 -16*α*- 羟基松苓新酸	F	[19]
49	49.22	$[M-H]^-$	$C_{33}H_{50}O_5$	525.358 1	0.2	525.358 1、481.371 9、465.338 9、401.925 3	去氢茯苓酸	F	[19]
50	49.39	$[M-H]^-$	$C_{30}H_{48}O_3$	455.352 8	0.7	455.352 8、197.962 8、183.014 6	齐墩果酸	D，S	[7,22]
51*	49.64	$[M+H]^+$	$C_{33}H_{52}O_5$	529.399 5	－0.2	529.399 5、511.382 9、469.367 2、373.201 8、295.240 5	茯苓酸（**8**）	F	[19]
52*	49.80	$[M-H]^-$	$C_{30}H_{48}O_3$	455.352 9	0.9	455.352 9、197.962 8、183.014 6	熊果酸（**9**）	D，F	[19,22]

注：[1)]“*”表示与对照品比对后确认；[2)]D—灯台叶，F—茯苓，L—流苏石斛，S—桑白皮。

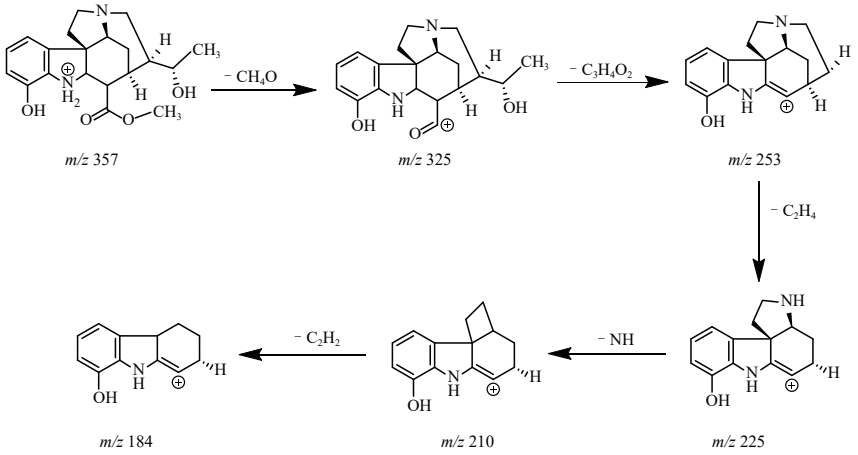


图 2 灯台树次碱的裂解途径

Fig.2 Fragmentation Pathway of Scholaricine

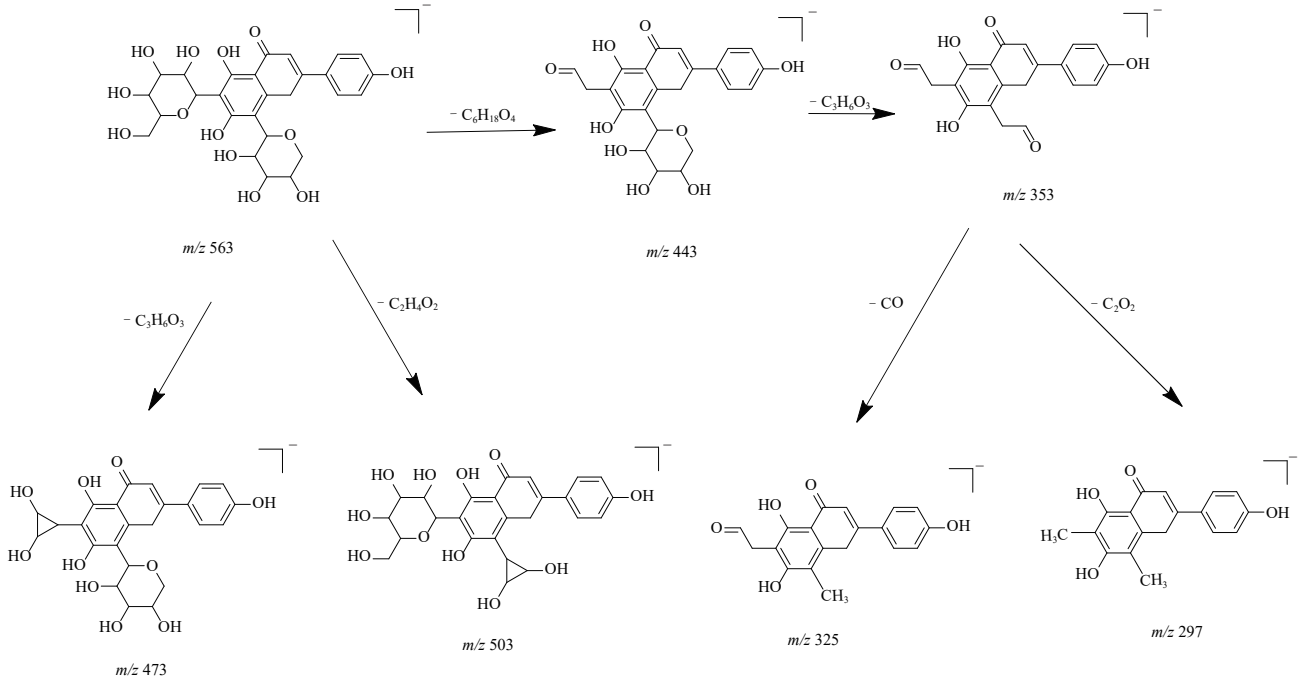


图 3 夏佛塔苷的裂解途径

Fig.3 Fragmentation Pathways of Schaftoside

文献[19]数据及与对照品比对，推断该化合物为茯苓酸，可能的裂解方式如图 4 所示。

2.4 体内药效学评价

2.4.1 祛痰作用考察

将小鼠适应性饲养 3 d 后，随机分为模型组、喷托维林氯化铵阳性药治疗组 (0.2 g/kg)、蛇胆川贝枇杷膏阳性药治疗组 (11 g/kg)、灯台叶颗粒参比药物治疗组 (5 g/kg)、复方灯台叶片低剂量治疗组 (1 g/kg)、复方灯台叶片中剂量治疗组 (2 g/kg) 及复方灯台叶片高剂量治疗组 (4 g/kg)，每组 10 只。2 种阳性药和参比药物的给药剂量分别按照人用剂量折算。各组小鼠分别按给药剂量口服给药，模型

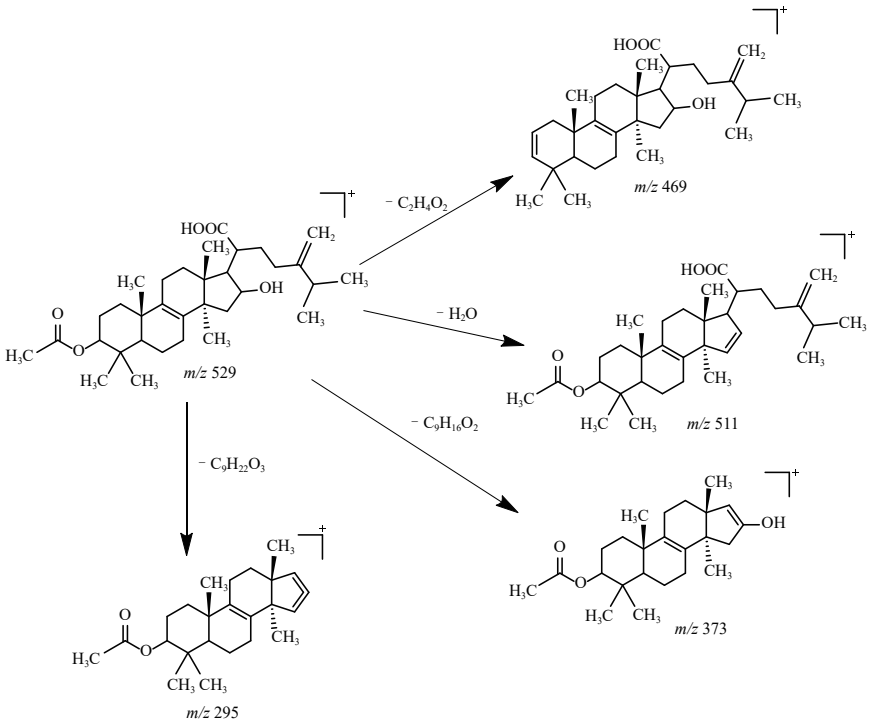


图 4　茯苓酸的裂解途径

Fig.4　Fragmentation Pathways of Pachymic Acid

组给予等体积空白溶媒，连续 3 d 给药。末次给药 30 min 后，各组小鼠分别腹腔注射酚红溶液 0.01 mL/g。30 min 后处死，解剖分离气管，剪下自甲状软骨至下端分叉处的一段气管，放入盛有生理盐水 2 mL 的试管中，振荡 10 min，去除气管，离心除去液体中的悬浮物，剩余物中加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 0.1 mL。吸取上清液 150 μL，置 96 孔板中，用酶标仪检测 546 nm 处的 OD 值，用 5%碳酸氢钠溶液调零 [23]。试验结果如表 2 所示。

与模型组相比，经复方灯台叶片治疗的各组小鼠气管酚红分泌量均显著增加（P<0.05），高剂量治疗组和中剂量治疗组表现出极显著差异（P<0.01），各组间表现出良好的剂量依赖性；喷托维林氯化铵、蛇胆川贝枇杷膏治疗组小鼠气管酚红分泌量（OD 值）也极显著升高（P<0.01）；灯台叶颗粒治疗组小鼠气管酚红分泌 OD 值显著升高（P<0.05）。由此可见，复方灯台叶片高剂量治疗组的作用效果与 2 种阳性药相当，且优于参比药物灯台叶颗粒。

2.4.2　止咳作用考察

将小鼠适应性饲养 3 d 后，随机分为模型组、喷托维林氯化铵阳性药治疗组（0.2 g/kg）、蛇胆川贝枇杷膏阳性药治疗组（11 g/kg）、灯台叶颗粒参比药物治疗组（5 g/kg）、复方灯台叶片低剂量治疗组（1 g/kg）、复方灯台叶片中剂量治疗组（2 g/kg）及复方灯台叶片高剂量治疗组（4 g/kg），每组 10 只。2 种阳性药和参比药物的给药剂量分别按照人用剂量折算。各组小鼠分别按给药剂量口服给药，模型组给予等体积空白溶媒，连续 3 d 给药。末次给药 30 min 后，将小鼠置多功能诱咳引喘仪中，设置雾化程序，加入 12%氨水，开始计时，雾化 20 s，记录小鼠第 1 次咳嗽的时间和 2 min 内的咳嗽次数 [24]。结果如表 2 所示。与模型组相比，复方灯台叶片的中、高剂量治疗组小鼠咳嗽潜伏期显著延长，2 min 内咳嗽次数显著减少（P<0.05 或 P<0.01），低剂量治疗组也可延长小鼠咳嗽潜伏期并减少咳嗽次

数，但差异无统计学意义；喷托维林氯化铵和蛇胆川贝枇杷膏均能显著延长咳嗽潜伏期并减少2 min内咳嗽次数（P<0.01）；灯台叶颗粒治疗组小鼠的咳嗽潜伏期显著延长，2 min内咳嗽次数显著减少（P<0.05）。可见，复方灯台叶片高剂量治疗组的作用效果与阳性药相当，且优于参比药物灯台叶颗粒。

2.4.3 平喘作用考察

将豚鼠性饲养3 d后，随机分为模型组、喷托维林氯化铵阳性药治疗组（0.1 g/kg）、蛇胆川贝枇杷膏阳性药治疗组（5.5 g/kg）、灯台叶颗粒参比药物治疗组（2.5 g/kg）、复方灯台叶片低剂量治疗组（0.5 g/kg）、复方灯台叶片中剂量治疗组（1 g/kg）及复方灯台叶片高剂量治疗组（2 g/kg），每组10只。2种阳性药和参比药物的给药剂量分别按照人用剂量折算。各组豚鼠分别按给药剂量口服给药，模型组给予等体积空白溶媒，连续3 d给药。末次给药30 min后，将豚鼠置多功能诱咳引喘仪中，设置雾化程序，加入0.1%磷酸组胺和2%氯化乙酰胆碱，开始计时，雾化15 s，记录豚鼠3 min内出现抽搐及跌倒的时间[23]。结果如表2所示。与模型组相比，各组豚鼠给药后的引喘潜伏期均延长，但均未表现出统计学差异；复方灯台叶片的疗效表现出一定的剂量依赖关系，延长豚鼠引喘潜伏期的效果较参比药物灯台叶颗粒强。

3 讨论

中药复方制剂中的化学成分复杂，但完整、准确地表征出来是研究其药效及作用机制的基础。本研究采用UPLC-Q-TOF-MS技术，对复方灯台叶片的化学成分进行表征，共得到化合物52个，涵盖生物碱、黄酮、三萜等多种结构类型，包括灯台叶、流苏石斛、桑白皮、茯苓的多个特征成分，基本明确了复方灯台叶片的物质基础。在此基础上对主要成分的质谱裂解规律进行总结，为相关成分的鉴定提供了参考。

在物质基础研究的基础上，进一步考察了复方灯台叶片的药效。结果显示，低、中、高剂量的复方灯台叶片均能显著增加小鼠气管酚红分泌量，表明复方灯台叶片具有良好的祛痰作用，中、高剂量时效果尤为显著。中、高剂量的复方灯台叶片均能显著延长小鼠咳嗽潜伏期，显著减少小鼠2 min内的咳嗽次数，表明具有良好的止咳作用。低、中、高剂量的复方灯台叶片均可延长豚鼠引喘潜伏期，但无统计学差异，提示具有潜在的平喘作用。方中君药灯台叶为我国传统傣药，能清热、化痰、止咳；臣药石斛有清热、生津的功效；使药茯苓，可利湿、健脾、化痰；佐药桑白皮，能泻肺、平喘。相比于单味药制剂灯台叶颗粒，复方灯台叶片在祛痰、止咳、平喘方面均表现出更好的疗效，体现了中药复方制剂多靶点、多层次的作用优势。

综上所述，本研究通过UPLC-QTOF-MS联用技术初步明确了复方灯台叶片中的化学成分，并初步开展了药效学评价，为阐述本方的药效物质基础及后续的应用开发提供了依据。但本研究并未对复方灯台叶片中的主要活性成分及其作用机制进行深入研究，相关内容有待进一步探索。

表2 复方灯台叶片对酚红分泌量、咳嗽潜伏期、2 min内咳嗽次数和引喘潜伏期的影响（$\bar{x}\pm s$，n=10）

Tab.2 Effects of *Fufang Dengtaiye* Tablets on Secretion of Phenol Red, Cough Incubation Period, Number of Cough in 2 mins and Asthma Incubation Period（$\bar{x}\pm s$, n=10）

组别	酚红分泌量（OD值）	咳嗽潜伏期/s	2 min内咳嗽次数/次	引喘潜伏期/s
模型组	0.11±0.02	29.50±8.38	22.20±3.49	57.44±6.11
喷托维林氯化铵	0.19±0.06**	43.33±4.53**	18.10±5.15**	60.78±5.87
蛇胆川贝枇杷膏	0.19±0.07**	40.44±6.31**	16.22±4.18**	57.80±8.48
灯台叶颗粒	0.16±0.06*	40.70±11.21*	19.60±4.30*	58.44±5.15
复方灯台叶片，高剂量	0.18±0.07**	43.22±7.74**	16.56±4.03**	60.38±4.82
复方灯台叶片，中剂量	0.17±0.05**	39.00±7.52*	19.70±4.30*	58.80±8.09
复方灯台叶片，低剂量	0.16±0.05*	35.60±9.06	24.00±11.28	58.90±7.78

注：与模型组比：*P<0.05，**P<0.01。

参考文献：

[1] HARTMAN J E, GARNER J L, SHAH P L, *et al*. New bronchoscopic treatment modalities for patients with chronic bronchitis [J]. *Eur Respir Rev*, 2021, **30**(159): 200281.

[2] VALIPOUR A, FERNANDEZ-BUSSY S, ING A J, *et al*. Bronchial rheoplasty for treatment of chronic bronchitis. Twelve-month results from a multicenter clinical trial [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, **202**(5): 681-689.

[3] PELKONEN M K, NOTKOLA I K, LAATIKAINEN T K, *et al*. Chronic bronchitis in relation to hospitalization and mortality over three decades [J]. *Respir Med*, 2017, **123**: 87-93.

[4] KHYADE M S, KASOTE D M, VAIKOS N P. *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. and *Alstonia macrophylla* Wall. ex G. Don: a comparative review on traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, **153**(1): 1-18.

[5] WANG Y J, WAN D L, LI Q M, *et al*. Structural characteristics and immunostimulatory activities of a new polysaccharide from *Dendrobium fimbriatum* Hook [J]. *Food Funct*, 2021, **12**(7): 3057-3068.

[6] TU Y, LUO X, LIU D, *et al*. Extracts of *Poria cocos* improve functional dyspepsia via regulating brain-gut peptides, immunity and repairing of gastrointestinal mucosa [J]. *Phytomedicine*, 2022, **95**: 153875.

[7] 丁倩云, 马双成, 许风国, 等. 桑白皮的化学成分、药理及质量控制研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2021, **41**(7): 1114-1124.

[8] TAN Y, XU S, ZHANG H, *et al*. A comprehensive quality evaluation strategy of *Mailuoning* oral liquid based on fingerprint, qualitative and quantitative analyses [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, **234**: 115497.

[9] WANG Q, WANG Q, HUANG Q, *et al*. Five-layer-funnel filtering mode discovers effective components of Chinese medicine formulas: *Zhishi-Xiebai-Guizhi* decoction as a case study [J]. *Phytomedicine*, 2024, **129**: 155678.

[10] 郭楠楠, 苏翔宇, 杜海娜, 等. 桑白皮总黄酮对小鼠肺癌模型的影响及相关机制 [J]. 北华大学学报(自然科学版), 2024, **25**(4): 454-459.

[11] SHANG J H, CAI X H, FENG T, *et al*. Pharmacological evaluation of *Alstonia scholaris*: anti-inflammatory and analgesic effects [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, **129**(2): 174-181.

[12] SHI M Z, YU Y L, ZHU S C, *et al*. Nontargeted metabonomics-assisted two-dimensional ion mobility mass spectrometry point imaging to identify plant teas [J]. *LWT*, 2022, **167**: 113852.

[13] GARCÍA-VILLEGAS A, FERNÁNDEZ-OCHOA Á, ALAÑÓN M E, *et al*. Bioactive compounds and potential health benefits through cosmetic applications of cherry stem extract [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(7): 3723.

[14] 惠婷婷, 孙　赟, 朱丽萍, 等. 云南傣族药物灯台叶中黄酮类成分 [J]. 中国中药杂志, 2009, **34**(9): 1111-1113.

[15] CAO J, SHEN H M, WANG Q, *et al*. Characterization of chemical constituents and rats metabolites of an alkaloidal extract of *Alstonia scholaris* leaves by liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, **1026**: 43-55.

[16] WANG P, TIAN B, GE Z, *et al*. Ultrasound and deep eutectic solvent as green extraction technology for recovery of phenolic compounds from *Dendrobium officinale* leaves [J]. *Process Biochem*, 2023, **128**: 1-11.

[17] XU Y, LIU J, WANG H, *et al*. Chemical constituents of *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. and their chemotaxonomic significance [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2023, **109**: 104670.

[18] LIU G Y, TAN L, CHENG L, *et al*. Dendrobine-type alkaloids and bibenzyl derivatives from *Dendrobium findlayanum* [J]. *Fitoterapia*, 2020, **142**: 104497.

[19] 路　平, 史汶龙, 杨思雨, 等. 茯苓化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2024, **46**(4): 1246-1254.

[20] PEL P, CHAE H-S, NHOEK P, *et al*. Chemical constituents with proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 mRNA expression inhibitory activity from dried immature *Morus alba* fruits [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, **65**(26): 5316-5321.

[21] LI S, GAO Y, WANG X, *et al*. Qualitative and quantitative studies on chemical constituents of *Ling-gui-zhu-gan* decoction: *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Sep Sci,* 2023, **46**(19): e2300465.

[22] RAGASA C Y, BATARRA T C, TAN M C S, *et al*. Chemical constituents of *Alstonia scholaris* (L.) R. Br [J]. *Der Pharma Chemica*, 2016, **8**(20): 193-196.

[23] 张婷婷, 李　晨, 张军霞, 等. 保肺颗粒祛痰、平喘、止咳、抗炎作用的药效学研究 [J]. 世界中医药, 2020, **15**(12): 1729-1738.

[24] 高　洁, 尹　玲, 武夏明, 等. 肺咳停颗粒止咳、祛痰、平喘、抗炎作用研究 [J]. 药物评价研究, 2018, **41**(8): 1436-1440.