

# 三拗汤对哮喘小鼠变应性气道炎症的影响及其成分分析

马春华<sup>1</sup>, 汪姗姗<sup>2</sup>, 马世平<sup>1\*</sup>, 范欣生<sup>2\*</sup>

(1. 中国药科大学中药药理教研室, 南京 210009;

2. 南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046)

**[摘要]** **目的:**评价三拗汤对哮喘小鼠变应性气道炎症的影响,并对全方成分进行分析。**方法:**BALB/c 小鼠 60 只,随机分为正常组、模型组、三拗汤高、中、低剂量(7.2, 3.6, 1.8 g·kg<sup>-1</sup>)组、地塞米松组(0.75 mg·kg<sup>-1</sup>)。各组小鼠(除空白组)于第 1, 8 天腹腔、皮下分别给予 0.1 mL 的致敏液(0.2 mL 致敏液含卵蛋白 OVA 0.1 mg, Al(OH)<sub>3</sub> 0.02 mg), 第 15~28 天各组(除空白组)给予 5% 的 OVA 雾化,每次雾化 20 min,每次雾化前 30 min 各组小鼠按体重给予相应的药物;空白组以等体积生理盐水代替致敏液,且生理盐水雾化相同的时间。相应的药物治疗 2 周后,取血做嗜酸细胞计数(EOS),取肺泡灌洗液(BALF)做细胞分类计数。采用超高效液相-四级杆串联飞行时间质谱(UPLC-QTOFMS)鉴定其化学成分。**结果:**三拗汤中剂量组使哮喘小鼠血中 EOS 的含量明显的降低( $P < 0.01$ ),三拗汤高、低剂量组使哮喘小鼠血中的 EOS 含量有所降低( $P < 0.05$ ),三拗汤高、中、低剂量使 BALF 中的 EOS 明显下降( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),从三拗汤全方中初步鉴定了 22 个化合物。**结论:**三拗汤对哮喘小鼠变应性气道炎症有明显的抑制作用,其全方主要化学成分为生物碱、黄酮、皂苷成分,这些化学组分与其发挥抗哮喘小鼠变应性气道炎症有密切的关系。

**[关键词]** 三拗汤; 变应性气道炎症; 成分分析

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0149-05

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120727.1036.002.html>

**[网络出版时间]** 2012-07-27 10:36

## Effects of Sanao Decoction on Allergic Airway Inflammation in Asthma Mouse and its Component Analysis

MA Chun-hua<sup>1</sup>, WANG Shan-shan<sup>2</sup>, MA Shi-ping<sup>1\*</sup>, FAN Xin-sheng<sup>2\*</sup>

(1. Department of Pharmacology of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University,

Nanjing 210009, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine

Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of Sanao decoction on allergic airway inflammation in asthma mouse and its component analysis. **Method:** Sixty BALB/c mice were divide into six groups: normal group, model group, Sanao decoction high, middle, low dose (7.2, 3.6, 1.8 g·kg<sup>-1</sup>), positive group (0.75 mg·kg<sup>-1</sup>), mice in each group (except those in the normal group) were sensitized with 0.2 mL sensitized solution [0.2 mL sensitized solution contains 0.1mg OVA and 0.02 mg Al(OH)<sub>3</sub>] during the period from 15 to 28 day, and given corresponding drugs 30 min later, mice were atomized with 5% OVA; mice in normal group were sensitized with physiological saline and were atomized with physiological saline. Samples of blood were collected for

**[收稿日期]** 20120519(006)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072748);“十一五”国家科技支撑计划(2006BAI06A02);江苏高校优势学科建设工程项目(PAPD)

**[第一作者]** 马春华, 硕士研究生, 从事中药及复方药理学研究, Tel: 18762407521, E-mail: 705018816@qq.com

**[通讯作者]** \* 马世平, 教授, 博士生导师, 从事中药精神神经药理学研究, Tel: 13951975195, E-mail: spma@cpu.edu.cn

\* 范欣生, 研究员, 博士生导师, 从事方剂配伍规律研究, Tel: 13851526269, E-mail: fanxsh126@126.com

counting numbers of eosinophilic granulocyte (EOS), and broncho alveolar lavage fluid (BALF) was collected for counting inflammatory cells. UPLC-TOFMS was used to analyze its chemical compositions. **Result:** Sanao decoction could obviously reduce numbers of EOS ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), in blood and BALF ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and 22 compounds in Sanao decoction could be identified. **Conclusion:** Sanao decoction can obviously inhibit allergic airway inflammation in asthma mouse, 22 compounds which are related to effect of Sanao decoction are belong to alkaloids, flavonoids, saponins.

[**Key words**] Sanao decoction; allergic airway inflammation; component analysis

支气管哮喘是一种常见的呼吸道疾病,是由嗜酸性粒细胞、肥大细胞和 T 淋巴细胞等多种炎性细胞参与的气道慢性炎症。气道嗜酸细胞浸润及气道病理改变是哮喘疾病临床改变重要的标志<sup>[1]</sup>,三拗汤出自《太平惠民和剂局方·卷二》,由麻黄、杏仁和甘草组成,具有宣肺止咳平喘之功。方中以麻黄为君,宣肺平喘,发散风寒;杏仁为臣,味苦泻降,性温发散;麻杏配伍,宣降肺气,甘草和药。其药理作用及物质基础一直是中医药理论、临床实践中值得探讨的课题<sup>[2-4]</sup>。本实验在前期研究基础<sup>[5]</sup>上,重在研究三拗汤对变应性气道炎症影响,并利用 UPLC-TOFMS 从三拗汤中鉴定了 22 个化学组分,这些化学组分与三拗汤发挥抗哮喘小鼠变应性气道炎症药理活性密切相关。

## 1 材料

**1.1 仪器与试剂** UPLC Acquity™ 系统 (Waters 公司), Synapt™ Q-TOF 质谱仪 (Waters 公司), 配有 Lock-spray 接口, 电喷雾离子源 (ESI); S-888F 型超声波雾化器 (中外合资南京道芬电子有限公司), FAH04N 电子天平 (上海精密科学仪器有限公司), LDZS-2 自动平衡离心机 (北京医用离心机厂)。

麻黄、甘草、杏仁 (购自南京益丰大药房, 批号 20111128) 均经南京中医药大学吴德康教授鉴定为正品。三拗汤水煎液高、中、低剂量: 0.72, 0.36, 0.18 g·L<sup>-1</sup>; 地塞米松 (天津天药药业股份有限公司, 批号 100605); OVA (上海伯奥生物科技有限公司, 批号 110209); 氢氧化铝凝胶 (扬州市星斗药业有限公司, 批号 090803); 嗜酸性粒细胞计数液 (南京建成生物工程研究所, 批号 20111014); 快速瑞姬氏染液 (南京建成科技有限公司, 批号 20120106); 氯化钠注射液 (0.9%) (山东华鲁制药有限公司, 批号 B08110807); 盐酸麻黄碱 (171241-200506)、甲基麻黄碱 (171247-200301)、苦杏仁苷 (A0093) 均购自中国药品生物制品检定所; 甘草酸、甘草素、异甘草素、芒柄花素、甘草皂苷 G<sub>2</sub>、甘草皂苷 A<sub>3</sub> (自制, 经

HPLC 面积归一化法测定, 纯度 >98%)。

**1.2 动物** SPF 级 BALB/c 小鼠 60 只, 6~8 周龄, 体重 18~22 g, 雌雄各半。购自苏州工业园区爱而麦特科技有限公司, 动物合格证号 2013839。

## 2 方法

**2.1 UPLC 检测条件** Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸-水 (A) 乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~8 min, 95%~80% A, 8~12 min, 80%~70% A, 12~15 min, 70%~65% A, 15~18 min, 65% A, 18~21 min, 65% A~20% A, 21~23 min, 20%~5% A, 23~24 min, 5% A, 25 min, 95% A); 柱温 30 °C; 流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 5 μL。

**2.2 TOF-MS 检测条件** ESI 源, 扫描方式 ESI± 模式, 毛细管电压 3 kV, 锥孔电压 40 V, 离子源温度 120 °C, 脱溶剂气温度 350 °C, 锥孔气流量 50 L·h<sup>-1</sup>, 脱溶剂气流量: 600 L·h<sup>-1</sup>, 碰撞能量 (6~40 V), 离子能量 1 V; 采用全离子扫描方式, 质量扫描范围  $m/z$  100~1 000。

**2.3 供试品制备** 精密称取麻黄 6 g, 杏仁 9 g, 甘草 3 g, 加 8 倍量蒸馏水, 浸泡 1 h, 回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并滤液, 过八层滤布, 减压浓缩至 100 mL, 得三拗汤, 取三拗汤 1.5 mL, 13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清过 0.22 μm 滤膜, 即得三拗汤供试品。

**2.4 对照品溶液的制备** 分别精密称取麻黄碱、甲基麻黄碱、甘草酸、甘草素、异甘草素、芒柄花素、苦杏仁苷、甘草皂苷 G<sub>2</sub>、甘草皂苷 K<sub>2</sub> 对照品适量以 70% 甲醇配制成质量浓度为 28 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.5 小鼠过敏性哮喘模型的建立及给药** 将小鼠随机分为 6 组: 模型组、三拗汤高、中、低剂量组 (7.2, 2.7, 1.35 g·kg<sup>-1</sup>)、空白组、阳性药地塞米松 (0.75 mg·kg<sup>-1</sup>) 组。每组 10 只, 雌雄各半。除空白组外, 各组动物于第 1, 8 天, 每只皮下、腹腔注射 0.1 mL 致敏液 (0.2 mL 致敏液含 OVA 0.1 mg, Al(OH)<sub>3</sub> 0.02 mg), 第 15~28 天 5% OVA 溶液雾

化,每次雾化 20 min。空白组以等体积生理盐水代替致敏液,并用生理盐水雾化。15~28 d 雾化,每次雾化前 30 min ig 给药<sup>[2]</sup>。

**2.6 血液细胞学检查** 末次激发 24 h 后,小鼠眼眶取血 1 mL 左右,取 20  $\mu$ L 血混匀于 0.38 mL EOS 计数液中,在光学显微镜进行嗜酸粒细胞计数。另取血液适量涂片固定,瑞姬染液染色,显微镜下读取 200 个白细胞,统计各类白细胞个数,计算各类白细胞所占百分比。

**2.7 BALF(肺泡灌洗液)细胞学检查** 取已处死动物,打开胸腔,结扎左支气管肺门部;分离气管,于气管环状软骨下方剪一 V 型切口,插入气管插管,结扎固定,以 1.5 mL 生理盐水分 3 次灌洗,每次 0.5 mL。取一滴灌洗液至血细胞计数池中,静置后显微镜下读白细胞总数。1 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  室温下离心 10 min,吸出上清液,取沉淀涂片固定,瑞姬氏染液染色,显微镜下读取 200 个白细胞,统计各类白细胞个数,计算各类白细胞所占百分比。

**2.8 统计方法** 实验数据利用 SPASS 11.5 进行统计,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 对哮喘小鼠血液嗜酸粒细胞数的影响** 与正常组相比,模型组血中 EOS 有显著差异( $P < 0.01$ )。与模型组比较,阳性对照组、三拗汤高、中剂量组 EOS 含量降低( $P < 0.01$ ),低剂量组有所降低( $P < 0.01$ )。见表 1。

**3.2 对血液中各类细胞百分比的影响** 血液中淋巴细胞百分比,模型组与空白对照组比较显著降低( $P < 0.01$ );阳性药组与模型组比较有所升高( $P < 0.05$ )。中性粒细胞百分比各给药组与模型组比较均无差异。嗜酸粒细胞百分比,模型组较空白组显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,阳性对照组、三

表 1 三拗汤对血液中嗜酸粒细胞数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	嗜酸粒细胞数/ $\times 10^9/\text{L}$
空白	-	0.00 $\pm$ 0.00
模型	-	11.63 $\pm$ 4.17 <sup>2)</sup>
地塞米松	$7.5 \times 10^{-4}$	2.38 $\pm$ 1.77 <sup>4)</sup>
三拗汤	7.2	5.22 $\pm$ 3.90 <sup>4)</sup>
	3.6	2.63 $\pm$ 1.19 <sup>4)</sup>
	1.8	6.75 $\pm$ 0.31 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

拗汤中剂量组显著降低( $P < 0.01$ ),三拗汤高、低剂量组有所降低( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 不同剂量三拗汤对血液中炎细胞比例的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	淋巴细胞	中性粒细胞	嗜酸粒细胞
空白	-	62.50 $\pm$ 8.22	37.19 $\pm$ 8.38	0.31 $\pm$ 0.46
模型	-	50.75 $\pm$ 8.24 <sup>1)</sup>	28.00 $\pm$ 8.74 <sup>1)</sup>	21.25 $\pm$ 5.30 <sup>2)</sup>
地塞米松	$7.5 \times 10^{-4}$	58.80 $\pm$ 8.25 <sup>3)</sup>	35.81 $\pm$ 7.11	4.06 $\pm$ 2.78 <sup>4)</sup>
三拗汤	7.2	56.61 $\pm$ 8.01	29.77 $\pm$ 9.19	13.61 $\pm$ 5.97 <sup>3)</sup>
	3.6	58.29 $\pm$ 5.67	35.75 $\pm$ 5.43	5.90 $\pm$ 2.59 <sup>4)</sup>
	1.8	56.06 $\pm$ 5.79	30.63 $\pm$ 7.21	13.31 $\pm$ 4.56 <sup>3)</sup>

**3.3 三拗汤对哮喘小鼠 BALF 炎细胞计数的影响**

与空白组比较,模型组白细胞总数、淋巴细胞数及嗜酸粒细胞数有显著性差异( $P < 0.01$ ),中性粒细胞有统计学差异( $P < 0.05$ );而与模型组比较,白细胞总数、淋巴细胞数地塞米松组、三拗汤高、中、低剂量组给药后显著降低( $P < 0.01, P < 0.05$ );中性粒细胞和单核细胞数,地塞米松组较模型组显著降低( $P < 0.01$ ),其他各给药组给药后较模型组无明显差异;嗜酸粒细胞地塞米松,三拗汤高、中、低剂量组给药后显著降低( $P < 0.01, P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 三拗汤对 BALF 中白细胞总数以及各炎症细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	白细胞总数	淋巴细胞数	中性粒细胞数	单核细胞	嗜酸粒细胞数
空白	-	19.63 $\pm$ 5.58	2.47 $\pm$ 1.60	2.59 $\pm$ 1.51	14.53 $\pm$ 4.18	0.04 $\pm$ 0.07
模型	-	29.88 $\pm$ 3.68 <sup>2)</sup>	7.8 $\pm$ 4.49 <sup>2)</sup>	4.81 $\pm$ 1.63 <sup>1)</sup>	13.88 $\pm$ 3.87	3.98 $\pm$ 1.97 <sup>2)</sup>
地塞米松	$7.5 \times 10^{-4}$	10.50 $\pm$ 5.90 <sup>4)</sup>	2.29 $\pm$ 2.08 <sup>4)</sup>	2.09 $\pm$ 1.59 <sup>4)</sup>	5.49 $\pm$ 2.21 <sup>4)</sup>	0.63 $\pm$ 0.62 <sup>4)</sup>
三拗汤	7.2	19.00 $\pm$ 12.01 <sup>4)</sup>	4.13 $\pm$ 2.35 <sup>3)</sup>	3.61 $\pm$ 2.93	9.93 $\pm$ 6.66	1.33 $\pm$ 1.52 <sup>4)</sup>
	3.6	19.50 $\pm$ 8.62 <sup>4)</sup>	4.09 $\pm$ 2.14 <sup>3)</sup>	3.28 $\pm$ 2.51	10.95 $\pm$ 6.46	0.60 $\pm$ 0.60 <sup>4)</sup>
	1.8	24.13 $\pm$ 5.38 <sup>3)</sup>	4.53 $\pm$ 2.53	4.14 $\pm$ 2.53	13.77 $\pm$ 3.35	1.69 $\pm$ 1.05 <sup>3)</sup>

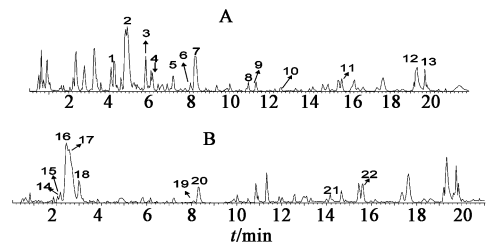
**3.4 三拗汤全方化学成分分析**

**3.4.1 三拗汤全方化学成分鉴定** 采用 UPLC-

QTO-MS 方法进行成分鉴定, 通过色谱保留时间 ( $t_R$ )、质谱碎片离子 ( $m/z$ )、紫外吸收特征 ( $\lambda_{max}$ ), 并结合相关参考文献<sup>[6-10]</sup> 确定了其中 22 个色谱峰信号的化学成分。实验结果见表 4。总离子流图见图 1。

**3.4.2 三拗汤全方化学成分鉴定方法** 全方化学成分鉴定分为两种方法: 第一种方法是与对照品比较鉴定; 第二种方法与文献比较鉴定。

**3.4.2.1 与对照品比较鉴定, 以鉴定峰 2 为例。** 在相同的 UPLC-TOFMS 条件下样品中的峰 2 ( $t_R = 4.90, m/z = 456.1496$ ) 与对照品苦杏仁苷 ( $t_R = 4.90, m/z = 456.1496$ ) 比较, 峰 2 与苦杏仁苷对照品具有相同的保留时间 ( $t_R = 4.90$ ), 从而鉴定峰 2



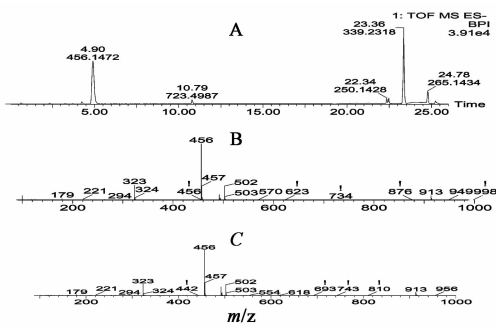
A. 负离子模式采集总离子流图; B. 正离子模式采集总离子流图

图 1 三拗汤全方总离子流

为苦杏仁苷, 并以峰 2 的一级质谱碎片离子 323 与苦杏仁苷对照品的一级质谱碎片离子 323 相同来进一步证明峰 2 即为苦杏仁苷。苦杏仁苷的色谱图及一级质谱及峰 2 的一级质谱图见图 2。

表 4 三拗汤全方成分分析

峰号	$t_R$ /min	成分	分子式	紫外吸 收/nm	[M-H] <sup>-</sup> m/z				[M+H] <sup>+</sup> m/z			
					检测的 分子量 /Da	理论 分子量 /Da	分子量 精确度 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	MS <sup>n</sup> [二级 碎片]	检测的 分子量 /Da	理论 分子量 /Da	分子量 精确度 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	MS <sup>n</sup> [二级 碎片]
1	4.62	catechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	210	289.070 4	289.07 12	-1.7	245,205				
22												
2	4.90	amygdalin <sup>1)</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>11</sub>	220	456.149 6	456.150 6	-1.9	323				
3	5.97	epicatechin <sup>1)</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	210	289.071 7	289.071 2	1.4	245,205				
4	6.16	vicenin	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	287	593.147 8	593.150 6	-4.7	593,234	595.166 4	595.166 3	0.0	595,315
5	7.18	schaftoside/Isoschaftoside	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	215	563.137 1	563.140 1	-6.0	563,391	565.156 1	565.156 7	0.7	565,257
6	8.05	liquiritin apioside	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	276	549.160 0	549.160 8	1.1	[417,255]				
7	8.28	isoliquritn apioside	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	363	549.155 4	549.156 8	-2.7	549,255				
8	10.94	licuraside	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	361	549.157 3	549.160 8	-5.8	549,255				
9	11.33	formononetin <sup>1)</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	248	267.064 3	267.065 3	-5.2	266				
10	13.29	licorice saponin <sup>1)</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>63</sub> O <sub>16</sub>	250	823.140 2	823.141 6	-1.7	823				
11	15.60	licorice saponin G2 <sup>1)</sup>	C <sub>48</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	252	837.390 6	837.390 7	-1.6	[775,625]				
12	19.35	licorice saponin H2 <sup>1)</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	252	821.396 1	821.396 0	0.1	821 [351]				
13	19.67	glycyrrhizin acid/Licorice saponin K2	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	252	821.396 0	821.396 5	0.6	821 [351]				
14	2.05	[norpseudoephedrine-CH <sub>3</sub> ]- edrine	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N	210					134.095 2	134.096 0	-3.4	117
15	2.17	[norephedrine - CH <sub>3</sub> ]-	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N	210					134.096 6	134.097 0	-3.0	117
16												
14	2.44	norpseudoephedrine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	210					148.111 8	148.112 6	-4.4	133,117
17	2.59	norephedrine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	210					148.112 0	148.112 6	-4.1	133,117
18	2.98	methylephedrine <sup>1)</sup> /methylepseudoephedrine	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> NO	210					180.138 3	180.138 8	2.2	162,147
19	8.09	isoliquritigenin <sup>1)</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	228					257.080 3	257.081 4	-4.3	257
20	8.29	liquiritigenin <sup>1)</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	215					257.082 5	257.001 4	-5.4	257
21	11.34	ononin	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	238					431.131 5	431.134 2	-6.3	431.269
22	14.63	licorice saponin A3 <sup>1)</sup>	C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>21</sub>	248					985.480 1	985.447 0	-2.9	985,647



A. 苦杏仁苷对照品的色谱图;B. 苦杏仁苷对照品的一级质谱图(负离子模式);C. 峰2的一级质谱图(负离子模式)

图2 苦杏仁苷的色谱图及一级质谱及峰2的一级质谱图

3.4.2.2 没有对照品与文献比较鉴定,以鉴定峰21为例。峰21( $t_R = 13.29, m/z = 823.1402$ ),通过查找相关文献<sup>[11]</sup>,初步鉴定为芒柄花苷,通过峰21的一级质谱图中的特征碎片离子与文献报道的为芒柄花苷特征性碎片离子比较,发现二者具有相同的特征性碎片离子  $m/z = 269$ ,所以鉴定峰21即为芒柄花苷,峰21的一级质谱图见图3。

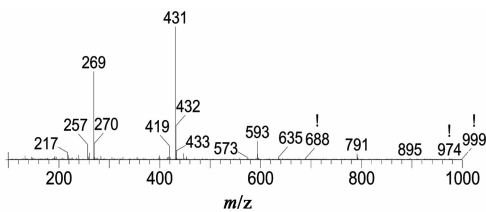


图3 峰21的一级质谱图(负离子模式)

#### 4 讨论

本文通过探讨三拗汤对哮喘小鼠变应性气道炎症的影响,发现三拗汤能显著的改善哮喘小鼠变应性气道炎症。利用UPLC-TOFMS从三拗汤中鉴定了22化学成分,这些化学成分包括生物碱、黄酮、皂苷等,如麻黄碱、甘草酸、甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、芒柄花素、苯甲酸和苦杏仁苷等,这些化学成分与三拗汤抗哮喘小鼠变应性气道炎症有着一定的关系,对于三拗汤抗哮喘小鼠变应性气道炎症的物质基础及其配伍后量的变化有待进一步深入的研究。

#### [参考文献]

[1] 中华医学会呼吸病学会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗及教育和管理方案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26(3):132.

[2] 许惠琴,顾鹏程,范欣生,等. 三拗汤及其类方对RSV诱导的哮喘小鼠气道反应性的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2010, 11(15):702.

[3] 冯里,徐立,范欣生,等. 三拗汤及类方挥发油对卵蛋白致敏哮喘豚鼠模型的效应评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(5):35.

[4] 汪珊珊,冯理,徐立,等. 三拗汤及加味对致大鼠哮喘模型气道炎症的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(6):542.

[5] 周玲,范欣生,吴德康,等. 三拗汤及其组方药材挥发性成分比较分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2):1.

[6] 孟翔宇,宋凤瑞,刘志强,等. 麻黄中主要化合物的串联质谱研究[J]. 质谱学报, 2002, 27:55.

[7] Christine A Hugheya, Bruce Wilcox, Carina S, et al. Capillary liquid chromatography-mass spectrometry for the rapid identification and quantification of almond flavonoids[J]. J Chromatography A, 2008, 1192, 259.

[8] Yan-Jing Li, Jun Chen, Ying Li, et al. Screening and characterization of natural antioxidants in four Glycyrrhiza species by liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of flight tandem mass spectrometry [J]. J Chromatography A, 2011:1218, 8181.

[9] Mohamed A Farag, Andrea Porzel, Ludger A Wessjohann. Comparativemetabolite profiling and fingerprinting of medicinal licorice roots using a multiplex approach of GC-MS, LC-MS and 1D NMR techniques[J]. Phytochemistry, 2012, 76:60.

[10] Brian T Schaneberg, Sara Crockett, Erdal Bedir, et al. The role of chemical fingerprinting application to Ephedra[J]. Phytochemistry, 2003, 62:911.

[11] 段天璇,马长华,王文全,等. HPLC-MS法鉴定甘草的指纹图谱[J]. 中国药师, 2009, 12(4):414.

[责任编辑 聂淑琴]