

# 防感香佩包成分分析及其防治儿童上呼吸道感染作用机理研究

钱丹<sup>1</sup>, 韦力<sup>1</sup>, 郑梓培<sup>2</sup>, 黄向红<sup>1</sup>

1. 广州市越秀区儿童医院, 广东 广州 510110; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

**[摘要]** 目的: 提取分离防感香佩包中挥发油成分, 明确最佳提取条件, 分析挥发性成分组成, 探索防感香佩包临床疗效可能的作用机理。方法: 采用水蒸气蒸馏法将 37 包防感香佩包进行提取分离, 收集挥发油, 分别对浸泡时间 (1、2、3、4 h)、提取时间 (1、2、3、4、5 h)、料液比 (5、10、20、30 倍) 及提取次数 (1、2、3 次) 进行多因素多水平考察。确定高出油率的提取分离条件, 通过 GC-MS 对挥发油化学成分进行定性和半定量分析。结果: 收集防感香佩包挥发油成分的最佳提取条件为: 5 倍体积水浸泡 1 h, 提取 3 次, 3 h/次。挥发油中主要成分为细辛醚类 (43%) 和倍半萜类 (50%)。结论: 防感香佩包挥发油成分获得性良好, 主要成分明确, 其防治儿童上呼吸道感染反复发作用机理可能与细辛醚类及倍半萜有关。

**[关键词]** 儿童上呼吸道感染; 防感香佩包; 细辛醚; 倍半萜; 成分分析; 作用机理

**[中图分类号]** R725.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 07-0012-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.07.004

## Composition Analysis of Anti-influenza Sachets and Study on its Functional Mechanism of Preventing and Treating Upper Respiratory Tract Infection in Children

QIAN Dan, WEI Li, ZHENG Zipei, HUANG Xianghong

**Abstract:** Objective: To extract and separate the volatile oil from anti-influenza sachets, clarify the optimal extraction conditions, analyze the compositions of its volatile oil, and discover the probable functional mechanism of the clinical effect of anti-influenza sachets. **Methods:** Extracted, separated and collected the volatile oil from 37 anti-influenza sachets by steam distillation. Multi factor and multi level study of the soaking time(1, 2, 3, 4 h), extraction time(1, 2, 3, 4, 5 h), solid-liquid ratio(5, 10, 20, 30 times) and extraction times(1, 2, 3 times) respectively. Ascertained the high-oil-yield conditions of extraction and separation. Qualitative and semi-quantitative analysis of chemical constituents of volatile oil was carried out by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS). **Results:** The optimal extraction conditions of collecting the volatile oil from anti-influenza sachets was soaking with water of 5-time volume for 1 h and extraction for 3 times, once every 3 hours. The main compositions of volatile oil were asarone(43%) and sesquiterpene(50%). **Conclusion:** The volatile oil of anti-influenza sachets has good availability together with clear composition, and its functional mechanism of preventing and treating recurrent upper respiratory tract infections in children may be related to asarone and sesquiterpene.

**Keywords:** Upper respiratory tract infection in children; Anti-influenza sachets; Asarone; Sesquiterpene; Composition analysis; Functional mechanism

上呼吸道感染(以下简称上感)虽然是一种自限性疾病,但由于儿童的体质特点,容易引起上感反复发作,严重影响儿童的生长发育甚至生活,因此防治工作尤为重要。笔者前期进行了小样本的临床试验,观察防感香佩包对儿童上感反复发作的预防作用,取得良好疗效<sup>[1]</sup>。后通过扩大样本量,设立多层次立体观察指标,分析防治儿童上感反复发作情况,防感香佩包能够明显降低儿童上感发作次数,缩短发作病程<sup>[2]</sup>。防感香佩

包为佩戴使用,药效的发挥很可能与其所含挥发性成分通过呼吸吸入产生作用,为解释其临床疗效的可能作用机理,对防感香佩包中挥发油成分进行提取分离,深入探索其化学成分与临床疗效的相关性。

### 1 材料与方法

1.1 药物与器材 防感香佩包(广东源生泰药业有限公司制备); 7890B 气相色谱仪; 5977A 型质谱联用仪(美国 Agilent 公

**[收稿日期]** 2018-03-07

**[基金项目]** 广东省中医药局科研项目 (20161197)

**[作者简介]** 钱丹 (1978-), 女, 副主任中药师, 研究方向: 临床中药学。

司); Agilent MassHunter Qualitative Analysis B07.00 数据处理系统; NIST 标准质谱图库; HP-5ms Ulira Inert 毛细管柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm)。

1.2 挥发油提取分离 准确称取 37 包防感香佩包, 置于烧瓶中, 加入 10 倍量水与适量沸石, 参照药典附录 XD 挥发油测定法连接挥发油提取器和冷凝管, 定量加水至提取器。以提取挥发油出油率高低为评价指标, 分别对浸泡时间(1、2、3、4 h)、提取时间(1、2、3、4、5 h)、料液比(5、10、20、30 倍)及提取次数(1、2、3 次)进行考察, 确定高出油率的提取分离条件。

1.3 挥发油成分分析 GC-MS 条件: 色谱条件: 进样口温度 250℃; 载气流速 1 mL/min; 程序升温: 起始柱温 60℃, 以 5℃/min 升温至 120℃, 再以 1℃/min 升温至 160℃, 保持 1 min, 最后以 15℃/min 升温至 200℃; 分流比为 60:1; 进样量为 1 μL; 载气为高纯氦气(99.99%)。

质谱条件: EI 电离; 离子源温度为 230℃; 四级杆温度: 150℃; 电子轰击能量 70 eV; 接口温度 280℃; 扫描模式 *m/z*, 扫描范围 50~550; 溶剂延迟 3 min。

1.4 统计学方法 所有数据均采用统计学软件 SPSS13.0 进行统计分析, 计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用 *t* 检验; 计数资料采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

2.1 浸泡时间确定 见表 1。准确称取 37 包样品, 置于烧瓶中, 加入 10 倍量水与适量沸石, 参照药典附录 XD 连接挥发油提取器和冷凝管, 定量加水至提取器, 保持微沸 3 h, 记录挥发油体积, 计算出油率, 出油率=(出油量/样品重量)×100%, 浸泡 1 h 出油率较高。

表 1 浸泡时间对出油率的影响

浸泡时间(h)	样品重量(g)	出油量(mL)	出油率(%)
0	280.62	0.47	0.17
1	280.36	0.65	0.23
2	280.50	0.62	0.22
3	281.08	0.53	0.19
4	280.65	0.53	0.19

2.2 提取时间确定 见表 2。准确称取 37 包样品, 置于烧瓶中, 加入 10 倍量水与适量沸石, 参照药典附录 XD 连接挥发油提取器和冷凝管, 定量加水至提取器, 保持微沸, 记录挥发油体积, 计算出油率, 出油率=(出油量/样品重量)×100%, 综合考虑能量损耗, 确定提取时间为 3 h。

2.3 料液比的确定 见表 3。准确称取 37 包样品, 置于烧瓶中, 加入 5、10、20、30 倍量水与适量沸石, 参照药典附录 XD 连接挥发油提取器和冷凝管, 定量加水至提取器, 定量加入环己烷, 浸泡 1 h, 保持微沸 3 h, 记录挥发油体积, 计算出油率, 出油率=(出油量/样品重量)×100%, 液比为 1:5 时, 出油率最高。

表 2 提取时间对出油率的影响

提取时间(h)	样品重量(g)	出油量(mL)	出油率(%)
1	279.13	0.16	0.06
2	279.13	0.35	0.13
3	279.13	0.47	0.17
4	280.62	0.47	0.17
6	280.62	0.53	0.19

表 3 料液比对出油率的影响

料液比	样品重量(g)	出油量(mL)	出油率(%)
1:5	282.89	0.83	0.29
1:10	280.36	0.65	0.23
1:20	280.86	0.47	0.17
1:30	282.42	0.41	0.15

2.4 提取次数的确定 见表 4。准确称取 37 包样品, 置于烧瓶中, 加入 5 倍量水与适量沸石, 参照药典附录 XD 连接挥发油提取器和冷凝管, 定量加水至提取器, 定量加入环己烷, 浸泡 1 h, 保持微沸 3 h, 分别提取 1、2、3 次, 记录挥发油体积, 计算出油率, 出油率=(出油量/样品重量)×100%, 提取 3 次样品中挥发油基本提取完全。

表 4 提取次数对出油率的影响

提取次数	样品重量(g)	出油量(mL)	出油率(%)
1	281.70	0.78	0.28
2	281.70	0.94	0.33
3	281.70	1.10	0.36

2.5 防感香佩包挥发油化学成分分析 见图 1。根据出峰(保留时间)RT 和丰度及峰面积等, 经 GC-MS 对挥发油进行成分分析, 匹配挥发油成分质谱谱库, 发现挥发油中主要成分为倍半萜类(50%)和细辛醚类(43%)。

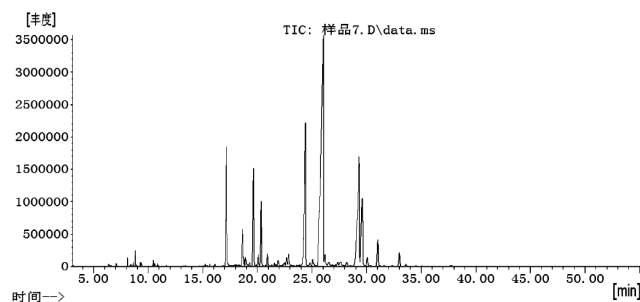


图 1 防感香佩包挥发油成分 GC-MS 图谱

## 3 讨论

前期小样本临床试验研究发现, 防感香佩包对儿童上感反复发作用具有一定预防作用<sup>[4]</sup>, 根据防感香佩包所含中药初步推测其作用机制为通过杀灭细菌或病毒, 提高人体免疫力为主。因防感香佩包为佩戴使用, 经呼吸进行给药, 非口服给药, 其

疗效的发挥很可能与所含挥发油成分具有很大相关性。因此本研究通过提取分离收集挥发油,分析挥发油中主要有效成分,探索防感香佩包可能的作用机制。

通过考察防感香佩包中挥发油提取分离条件,出油率并非随着浸泡时间的延长而有所增加,说明经过长时间的浸泡,水溶性成分可以得到很好的溶出,但同时伴随着挥发性成分的损耗,提示在收集挥发油成分时,浸泡时间并非如收集水溶性成分那样呈现线性关系,而表现出类似于正态分布的情况。出油率虽随着提取时间的延长而增加<sup>[9]</sup>,但在提取3~4h时,进入小的平台期,综合能量损耗考虑,最终确定3h的提取时间。关于料液比的选择,随着浸泡水量的增加,出油率呈现下降趋势,提示在收集挥发性成分时,料液比要控制在较低比例,一方面可以避免挥发油损耗,另一方面可以降低能耗,提高提取效率。关于提取次数,随着提取次数的增加,出油率呈线性上升趋势,提示充分的煎煮冷凝回流能够提高出油率。以上关于防感香佩包挥发油部位的提取分离条件可为其他复方中挥发油的提取提供借鉴参考。

前期临床试验发现,佩戴防感香佩包的易感儿童,在发作次数、发作时间及时间间隔上都明显优于对照组,明显降低发作次数,并能够减少发病的持续时间,说明防感香佩包对儿童上感反复发作的防治疗效确切<sup>[7]</sup>。有研究对儿童上感反复发作的多种致病因素进行分析,均指向免疫力低下<sup>[4]</sup>。也有研究发现儿童上感的反复发作和儿童的体质有很大相关性<sup>[9]</sup>。说明免疫力低下的儿童,上感的易感性越强,反复发作次数愈多。佩戴防感香佩包能够减少发作次数,提示在提高儿童免疫力、增强体质方面有一定作用,方中主要含有的石菖蒲具有芳香辟秽、醒脾开窍的功效。石菖蒲挥发油中主要化学成分为细辛醚类,药理学研究表明,细辛醚能够提高气管平滑肌的抗过敏能力,对细胞损伤具有一定程度的保护作用<sup>[6]</sup>,对呼吸系统具有保护作用<sup>[7]</sup>,提高易感儿童对上感反复发作的抗病能力。本研究收集获得的细辛醚类占比高达43%,表明细辛醚在降低儿童上感反复发作次数方面具有明显药理作用。即使易感儿童上感发作,防感香佩包能够缩短病程,本研究获得挥发性成分中,倍半萜类占比约50%,具有较强的抑制病毒和抗菌的作用<sup>[6]</sup>,其为薄荷油主要挥发性成分之一,同时白芷中的挥发性成分也具有抗过敏、抗炎平喘作用<sup>[9]</sup>,细辛醚也发挥着抑制气管平滑肌收缩和平喘的作用<sup>[10]</sup>,在共同作用下加快患儿发病期间的康复。

本研究通过提取分离收集挥发油中主要成分为倍半萜类(50%)和细辛醚类(43%),对儿童上感反复发作的防治起到了关键作用。鼻腔为呼吸抵抗细菌和病毒的第一道防线,通过佩戴防感香佩包,细辛醚类通过呼吸经鼻腔吸收,通过鼻黏膜血管吸收和嗅黏膜途径可以直达脑组织<sup>[11]</sup>,具有一定脑靶向性,快速发挥其药效。中医认为石菖蒲具有开窍醒神的功效,提到的

“窍”即为脑,这与中医传统的实践认知相一致。另外细菌和病毒易吸附在气道黏膜上,损伤黏膜上皮,降低呼吸道黏膜的防御能力<sup>[4]</sup>,引起儿童上感反复发作。通过在体和体外实验研究表明,细辛醚能够松弛气管平滑肌,延长哮喘发作,并能够促进气管纤毛的运动<sup>[12]</sup>。倍半萜具有一定的杀菌作用,对抗原基因有明显抑制作用,同时不影响人体正常细胞<sup>[13]</sup>,与中医理论“驱邪不伤正”的认知不谋而合。因此,防感香佩包用于防治儿童上感反复发作,其作用机理可能与所含挥发性成分细辛醚类和倍半萜类对上呼吸道的黏膜保护与抗病作用有关。

## [参考文献]

- [1] 钱丹,黄向红,李伟明.防感香佩包预防小儿反复上呼吸道感染临床观察及药理分析[J].新中医,2014,46(7):120-122.
- [2] 钱丹,李德华,徐凤霞.儿童反复上呼吸道感染发病因素分析与防治措施[J].中国医学创新,2018,15(2):94-98.
- [3] 李景恩,聂少平,邵灯寅,等.江香需挥发油提取率与提取时间的动力学关系[J].食品与生物技术学报,2014,33(3):308-314.
- [4] 石正英,管建宏,施益农.儿童反复呼吸道感染72例致病因素分析[J].临床肺科杂志,2017,22(9):1711-1713.
- [5] 刁俊,朱慧华.儿童体质与中医药防治小儿反复呼吸道感染的研究进展[J].中医儿科杂志,2017,13(5):88-90.
- [6] 韩亚亮,刘萍,何新荣,等.石菖蒲挥发油的基本成分及其药理作用研究进展[J].中国药物应用与监测,2011,8(2):120-124.
- [7] Qiu D, Hou L, Chen Y, et al.  $\beta$ -Asarone inhibits synaptic inputs to airway preganglionic parasympathetic motoneurons[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2011, 177(3): 313-319.
- [8] 沈梅芳,李小萌,单琪媛.薄荷化学成分与药理作用研究新进展[J].中华中医药学刊,2012,30(7):1484-1487.
- [9] 任星宇,罗敏,邓才富,等.白芷挥发油提取方法及药理作用的研究进展[J].中国药房,2017,28(29):4167-4170.
- [10] 李翎,邹衍衍,石琛,等. $\beta$ 、 $\alpha$ 细辛醚及石菖蒲挥发油对支气管哮喘的药效对比观察[J].时珍国医国药,2006,17(11):2137-2138.
- [11] 张龙开,许日鑫,蒋梅,等. $\beta$ -细辛醚微乳鼻腔给药脑内靶向性评价[J].中草药,2014,45(1):86-89.
- [12] 兰烨荣,刘素香,张铁军,等.细辛醚的研究进展[J].现代药物与临床,2013,28(2):252-257.
- [13] 徐静,高玲,谢永慧,等.倍半萜内酯化合物药理作用[J].中国热带医学,2007,7(4):623-624.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)