

枇杷花的研究进展及其药效评价思路的探讨

孙苏逊, 孟宪丽, 李春雨, 王 张*

成都中医药大学, 四川 成都 611137

摘要: 枇杷花具有重要的药用价值和开发潜力。近年来国内外相关研究主要集中在枇杷花的化学成分、提取和精制工艺、药理效应和应用开发等方面, 但存在有效性评价方法不系统和有效剂量不明确等问题。在综述枇杷花化学成分、提取和精制工艺、药理作用的基础上, 提出如下研究思路: 基于传统用药经验, 应用经典、快速的动物模型确定有效剂量范围, 整合多致病因素、多模型动物和多药理效应的药效学评价体系, 引入模式识别分析等统计学方法, 综合评价枇杷花的镇咳有效性并研究其作用机制, 以期为枇杷花的开发提供科学依据。

关键词: 枇杷花; 化学成分; 药理作用; 止咳; 有效性评价

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2011)03-0199-04

Advances in studies on flower of *Eriobotrya japonica* and exploration on ideas for its efficacy evaluation

SUN Su-ti, MENG Xian-li, LI Chun-yu, WANG Zhang

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Loquat flower (the flower of *Eriobotrya japonica*) possesses important medicinal application value and great potential for development. In recent years, the related studies about loquat flower have been focused on chemical composition, techniques of extraction and purification, pharmacological effects, and application development. Nevertheless, research problems are still existed. For example, the methods of the efficacy evaluation are not systemic and the effective dose is not definite. This paper puts forward some research ideas as following. Based on the experience of traditional medicine, the effective dose could be defined through some classical and rapid animal models. Meanwhile, by using the pharmacological evaluation system which integrates the multi causative factors, multi animal models, multi pharmacological effects, and the pattern recognition technology, the antitussive effect of loquat flower could be synthetically estimated, its mechanism of action studied, and scientific proofs to exploit loquat flower provided as the new part-used for medicine materials.

Key words: the flower of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl; chemical compounds; pharmacological effect; antitussive; efficacy evaluation

枇杷花, 异名“土冬花”, 为蔷薇科枇杷属植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥花蕾及花序, 用于伤风感冒、咳嗽、痰血的治疗^[1-2]。《本草纲目》中记载: 枇杷花“……正渴下气, 利肺气, 止吐逆, 主上焦热, 润五脏”^[3]。《土家族医药学》中有枇杷(异名枇杷卡蒙)“花蕾治各种咳嗽, 百日咳”的记载^[4]。民间常将枇杷花用于治疗小儿肺热咳嗽及老年人久咳不愈患者。因此枇杷花作为药用部位是具有传统用药经验基础的。药理研究表明, 枇杷叶具有镇咳、祛痰、抑菌等作用。枇杷花药用不仅扩大了枇杷的药用部位和充分利用了资源, 同时亦解决了农废产品问题, 具有良好的社会和经济

效益。本文综述了近年来对枇杷花化学成分、有效成分的提取、药理作用等研究进展, 并提出新的研究思路, 为合理开发和利用枇杷花提供参考。

1 化学成分

1.1 三萜类

成丽等^[5]用乙醇从枇杷花中提取分离出 4 个三萜皂苷类成分, 分别为齐墩果酸、熊果酸、2 α ,3 α ,19 α -三羟基熊果-5,12-二烯-28-酸、2 β ,3 β ,23 α -三羟基齐墩果-12-烯-28-酸 12-en-28-acid。

1.2 黄酮类

李琪等^[6]采用溶剂系统提取法对枇杷花进行提取, 并测定提取物总黄酮的量。结果发现, 总黄酮

收稿日期: 2010-11-06

作者简介: 孙苏逊, 在读硕士研究生, 研究方向为中药药理和毒理学研究。Tel: (028)61800158 E-mail: sst.159@sohu.com

*通讯作者 王 张, 博士后, 研究方向为民族药药理和毒理学。Tel: (028)61800160 E-mail: wzcqcd@163.com

主要集中在 50%乙醇提取物中,且大部分黄酮类化合物极性较大。通过黄酮显色反应,确定枇杷花主要含有黄酮类、黄酮醇类及二氢黄酮类化合物。

1.3 多酚类和有机酸类

枇杷花含有多种多酚类化合物,母核为黄酮、黄烷-3-醇。其含有的多酚类化合物主要包括绿原酸、原花青素 B-2、cinchonain I a、原花青素寡聚体、4-*O-p*-coumaroylquinic acid、lingueresinol、cinchonain II b 等^[7]。有机酸类化合物主要是酒石酸、柠檬酸和苹果酸等。

1.4 挥发性成分

采用顶空固相微萃取技术以及气相色谱、质谱结合保留指数法对枇杷花中化学成分进行分析、鉴定,用面积归一化法确定化合物的相对质量分数。结果分别从枇杷花花蕾和花中鉴定出 10、13 种化合物,各占总峰面积的 98.63%、97.18%,枇杷花花蕾和花的主要成分相同,均为苯甲醛,该成分亦是枇杷花的赋香成分^[8]。

1.5 其他

周春华^[9]建立并优化了胡萝卜素类、齐墩果酸、熊果酸和苦杏仁苷的 HPLC 检测体系,对不同品种、不同发育阶段的枇杷花、果实的生物活性组分进行分析、测定。结果表明枇杷花、果富含胡萝卜素类、三萜酸、苦杏仁苷、黄酮类和酚类等。枇杷花的抗氧化活性研究表明,其黄酮类和总酚的量与抗氧化活性呈显著正相关。

2 有效成分的提取、精制工艺

2.1 总黄酮和总三萜的提取

刘刚等^[10]以 40%乙醇对枇杷花进行回流提取。在回流温度为 60 °C、固液比为 1:10 的条件下提取得到总黄酮的质量分数为 17.83%;以 95%乙醇在回流温度为 40 °C、固液比为 1:12 的条件下提取得到总三萜的质量分数为 10.13%。

2.2 熊果酸和齐墩果酸的提取

胡娟^[11]对枇杷花有效成分提取、精制工艺进行研究。结果显示,枇杷花中熊果酸、齐墩果酸回流提取最佳工艺参数为:95%乙醇、回流温度为 80 °C、固液比为 1:10,在此条件下提取 2 h 得到的 2 个化合物的总量为 3.54%;超声提取最佳工艺参数为:95%乙醇、回流温度为 80 °C,超声功率为 800 W、超声间歇时间为 10 s/3 s、固液比为 1:10,在此条件下提取 15 min,共提取 2 次,得到 2 个化合物的总量为 2.85%。

2.3 总黄酮的精制

林启训^[12]通过静态与动态吸附法研究,筛选出具有良好吸附及解吸性能的 AB-8 大孔树脂,系统考察了使用树脂时总黄酮吸附和解吸的影响因子,确定最佳纯化条件为:吸附原液 pH 值为 5.5、上样质量浓度为 1 mg/mL、吸附体积流量为 1.0 mL/min、洗脱体积流量为 0.5 mL/min、洗脱剂为 30%乙醇、用量为 20 BV。精制后样品总黄酮的量达 86.7%,比未精制前的量高 5~6 倍。

3 药理作用

3.1 抑菌

何莲等^[13]研究了枇杷花石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇、丙酮、95%乙醇和水等不同溶剂提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的抑菌效果,并对不同提取物进行了薄层色谱分析。结果表明,枇杷花提取物对细菌、真菌均有抑制作用,且强于对照品苯甲酸钠。枇杷花正丁醇、丙酮提取物对金黄色葡萄球菌抑制能力强于其他溶剂提取物;石油醚提取物对大肠杆菌的抑制能力强于其他溶剂提取物;石油醚、醋酸乙酯提取物对白色念珠菌抑制能力优于其他溶剂提取物。该结果一定程度上为枇杷花提取物可缓解细菌性肺炎引起的咳嗽提供了实验依据。

3.2 镇咳、祛痰和抗炎

邓晶晶等^[14]采用小鼠氨水致咳法、小鼠气管酚红排量法及二甲苯致小鼠耳肿胀法,研究了枇杷花的镇咳、祛痰和抗炎作用。结果表明,枇杷花水提液高剂量的镇咳作用较好,醇提液高剂量时有明显的祛痰效果且对小鼠耳肿胀的抑制作用最强。王静波^[15]将枇杷花抗炎药效学实验与其主要生物活性组分的测定结合起来进行了系统分析。结果表明,枇杷花 95%乙醇提取物止咳、抗炎效果较好,其三萜酸的量最高,说明三萜酸有明显的止咳、抗炎作用;50%乙醇提取物中的三萜酸的量虽然降低,但也具有一定的止咳、抗炎疗效,且其中总黄酮的量最高,说明黄酮类化合物也具有止咳、抗炎的效果;而 75%乙醇提取物中三萜酸和总黄酮的量均不高,故无明显抗炎效果。

4 传统用药经验

民间常将枇杷花用于治疗小儿肺热咳嗽及久咳不愈的老年患者。枇杷花具体的用法有:煎汤或研末内服,可治疗寒咳和咯痰;加冰糖沸水冲泡,可起到润喉、清肺的保健作用;与蜂蜜同蒸内服,可

用于治疗伤风感冒,还具有润喉、止咳、化痰及通便的功效;与辛夷等份研末酒服,可用于治疗头风,鼻流清涕;与鲜地棕根、珍珠、石竹根和淫羊藿炖肉服,可治疗枯癆咳嗽、痰中带黑血。文献记载和民间应用都充分说明枇杷花作为药用部位是具有传统用药经验基础的。

5 研发现状

近年来,与枇杷花相关的发明专利日益增多,涉及枇杷花新药和保健食品等,表明枇杷花的药用及保健价值日益凸显。相关专利有:赵大洲等^[16]的枇杷花总皂苷及其制备方法和应用;张宏等^[17]的枇杷花提取物(主要含黄酮类成分)的制备方法,并采用指纹图谱对其质量进行控制,还发现了其对慢性咽炎^[18]的新治疗用途。但更多的专利则集中在枇杷花的保健食品和新产品开发方面:周湘池等^[19-20]开发的枇杷花酒和枇杷花醋;林岳^[21]开发的枇杷花蜜酒;郑少泉等^[22]开发的枇杷花茶;林永金^[23]开发的塘栖枇杷花露,功效均主要集中在治疗咳嗽、多痰、头风、鼻流清涕等传统应用方面,亦有消除脑疲劳和抗衰老的新作用。

6 研究中存在的问题

目前对枇杷花的研究主要集中在化学成分、有效成分的提取和精制工艺、药理效应等研究方面,而对枇杷花的作用机制和有效性评价的科学性研究还存在明显不足。其次,枇杷花提取物镇咳的有效剂量范围还未准确制定,亦未见平行比较枇杷叶和枇杷花在镇咳方面的药效差异的研究报告。药效学动物实验的全面性和科学性上有一定缺陷,所采用的动物模型及其种类过于单一。还需对镇咳作用与药效物质基础的相关性进行深入研究。

传统用药经验可直接间接地为临床应用传递安全性和有效性等方面的信息,一定程度上比临床前动物实验更客观,对于中药新药研发具有重要参考价值。但由于传统用药经验的不系统性、处方药味和药量的可变性、制备工艺的不稳定性等原因,上述信息会不同程度地被削弱。如何客观地看待民间用药经验中所包含的宝贵信息,避免这些信息的“贬值”并合理利用这些资源,还需要通过临床前系统的安全性和有效性评价来进一步确证和规范。

7 研发思路

针对目前枇杷花研究中存在的不足,笔者提出如下研究思路:基于传统用药经验,应用经典、简便的动物模型确定枇杷花镇咳作用的有效剂量范

围;其次整合多致病因素(化学、物理、电等刺激)、多模型动物(小鼠、豚鼠、猫等)和多药理效应(镇咳、平喘、祛痰、抗炎等)的药效学评价体系,引入模式识别分析等统计学方法,综合评价枇杷花作为药用部位的有效性;开展枇杷花镇咳的作用机制研究。

7.1 确定有效剂量范围

本课题组采用浓氨水致小鼠咳嗽模型,以3 min内咳嗽次数为主要评价指标,研究了枇杷叶浸膏15.00~47 434.16 mg/(kg·d) 15个生药剂量,枇杷花提取物25.00~25 000.00 mg/(kg·d) 13个生药剂量的有效性,剂量设置参考“化学药物的有效剂量筛选中量效关系的对数剂量设计法”。结果在枇杷花提取物的有效剂量为79.06~25 000.00 mg/(kg·d)、枇杷叶浸膏为266.74~47 434.16 mg/(kg·d)时,两者的镇咳作用无明显差异,且与剂量呈正相关。经过综合评价,最终确定枇杷花提取物镇咳有效剂量为500.00 mg/(kg·d)。该剂量在制剂学上的可行性强,仅相当于成人日用剂量为0.6 g提取物,可用于制备胶囊剂,服用量小,具有相当的优势。此外,枇杷花提取物的量效方程符合Gompertz微分方程(Gompertz differential equation),这亦说明中药及其有效部位的药效在一定剂量范围内是存在量效关系的^[24]。在完全缺乏前期临床应用背景的情况下,可借鉴化学药物的剂量设置方法,在相当宽泛的剂量范围内筛选枇杷花镇咳作用的合理而有效剂量范围。

7.2 基于多致病因素、多模型动物的有效性评价

采用任何动物模型对枇杷花镇咳作用进行验证仅仅具有举证作用,而均不具备独立的类似于临床试验的支撑作用,故十分有必要建立基于多致病因素、多模型动物和多药理效应的药效学评价体系。除了应用方差分析(SPSS软件)对单个的实验进行常规的平均值比较外,还有必要应用主成分分析(principal components analysis, PCA)和偏最小二乘法-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)等方法同时对所有实验获得的复杂数据用SIMCA-P软件(version 11.0, Sweden)进行模式识别分析,最终综合评价枇杷花的镇咳作用。

8 结语

枇杷花在民间用药的基础上可开发为新的药物,这具有一定的典型性。笔者就其有效性评价问题进行了如下思考:基于民间用药的经验,应用经

典、快速的动物模型确定有效剂量范围,整合多致病因素、多模型动物和多药理效应的药效学评价体系,引入模式识别分析等统计学方法,综合评价民间用药的有效性并研究其作用机制,可为其新药开发提供参考和科学依据。

参考文献

- [1] 江纪武, 靳朝东. 药用植物辞典 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2005: 301.
- [2] 王静波, 杨必坤, 张 宏, 等. 枇杷花提取物止咳作用研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1106-1109.
- [3] (明) 李时珍. 四库全书本草纲目(影印本) [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2008: 1377-1378.
- [4] 田华咏, 潘永华, 唐永佳, 等. 土家族医药学 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1994.
- [5] 成 丽, 刘 燕, 陈凌亚, 等. 枇杷花三萜皂甙成分的研究 [J]. 华西医科大学学报, 2001, 32(2): 283-285.
- [6] 李 琪. 枇杷花化学成分及生物活性的研究 [D]. 成都: 四川师范大学, 2009.
- [7] 邓晶晶. 枇杷花的生药学研究 [D]. 成都: 四川师范大学, 2007.
- [8] 宋艳丽, 于慧斌, 姬志强, 等. 枇杷花挥发性成分分析 [J]. 河南大学学报, 2009, 28(2): 104-106.
- [9] 周春华. 枇杷花、果主要生物活性组分与抗氧化活性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [10] 刘 刚, 陶宗娅, 钟 菡, 等. 枇杷花总黄酮提取工艺的研究 [J]. 中药材, 2008, 31(11): 1725-1729.
- [11] 胡 娟. 枇杷花有效成分提取纯化工艺研究 [D]. 成都: 四川师范大学, 2009.
- [12] 林启训. 枇杷叶黄酮类化合物的水浸提工艺研究 [J]. 农业工程学报, 2005, 12(7): 190-194.
- [13] 何 莲, 张 宏, 李 琪, 等. 枇杷花系统溶剂提取物抑菌作用研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(12): 109-112.
- [14] 邓晶晶, 卢先明, 蒋桂华, 等. 枇杷花镇咳祛痰和抗炎的药效学研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2469-2470.
- [15] 王静波. 枇杷花止咳抗炎药效学研究 [D]. 成都: 四川师范大学, 2009.
- [16] 赵大洲, 钱渊华, 钱渊木. 一种枇杷花总皂苷及其制备方法和应用 [P]. 中国: 101259175, 2008-9-10.
- [17] 张 宏, 张晓喻, 陶宗娅, 等. 一种枇杷花提取物、含有该提取物的组合物及用途 [P]. 中国: 1977907, 2007-6-13.
- [18] 张 宏, 张晓喻, 崔 盛, 等. 枇杷花及其提取物的新用途 [P]. 中国: 101366844, 2009-2-18.
- [19] 周湘池, 娄永江, 刘必谦, 等. 一种枇杷花酒及其制备方法 [P]. 中国: 101096627B, 2010-12-8.
- [20] 周湘池, 娄永江, 刘必谦, 等. 一种枇杷花醋及其制备方法 [P]. 中国: 101096629, 2008-1-2.
- [21] 林 岳. 枇杷花蜜酒及其制作方法 [P]. 中国: 101215503, 2008-7-9.
- [22] 郑少泉, 姜 帆. 枇杷花茶 [P]. 中国: 101554198, 2009-10-14.
- [23] 林永金. 一种塘栖枇杷花露的制作方法 [P]. 中国: 100452997, 2009-1-21.
- [24] 孙苏逖, 王 张, 孟宪丽, 等. 基于浓氨水致小鼠咳嗽模型的枇杷花提取物镇咳作用有效剂量的筛选研究 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(5): 94-96.