

不同采收期枇杷叶的质量评价及其药材稳定性研究

戚雁飞¹, 李 鲲²

1. 浙江省食品药品检验所, 浙江 杭州 310004
2. 澳大利亚昆士兰科技大学, 昆士兰州 布里斯班

摘要: 目的 对不同采收期的枇杷叶进行质量评价, 并考察其稳定性。方法 对不同采收季节、树叶和落叶、野生和栽培的枇杷叶进行质量评价, 考察高温、高湿和强光对其质量的影响, 采用长期试验和加速试验考察其稳定性。结果 不同采收季节、野生和栽培的枇杷叶中齐墩果酸和熊果酸的量接近, 落叶比树叶略高; 高温、高湿和强光对枇杷叶中齐墩果酸和熊果酸的量影响不大; 枇杷叶在长期 6 月和加速 6 月内基本稳定。结论 本研究为制定枇杷叶对照药材的有效期提供依据。

关键词: 枇杷叶; 稳定性; 长期试验; 加速试验; 质量评价

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)06-1217-04

Quality evaluation of *Eriobotryae Folium* collected during different harvest and study on its stability

QI Yan-fei¹, LI Kun²

1. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China
2. Queensland University of Technology, Queensland, Brisbane

Key words: *Eriobotryae Folium*; stability; long term; accelerated; quality evaluation

枇杷叶为蔷薇科植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥叶。具有清肺止咳, 降逆止呕的作用。用于治疗肺热咳嗽、气逆喘急、胃热呕逆, 烦热口渴等症^[1-2]。现较少有关枇杷叶药材稳定性研究的报道, 且所用的对照药材也无有效期, 这对日常的检验工作有较大影响。目前已经从枇杷叶中分离出三萜酸, 挥发油类、黄酮类、多酚、倍半萜及糖苷类成分^[3], 其药理作用主要集中在三萜酸的抗炎止咳、降血糖、抗病毒、抗氧化等方面^[4], 本实验建立其中熊果酸和齐墩果酸的薄层色谱鉴别和定量测定方法, 并对枇杷叶进行稳定性考察。

1 材料

HP1100 系列高效液相色谱仪, TU—1901 型紫外-可见分光光度计。对照品和对照药材均由中国药品生物制品检定所提供, 熊果酸(批号 110742-200516)、齐墩果酸(批号 110709-200505)、枇杷叶(批号 121261-200502)。枇杷叶样品见表 1, 均由浙江省食品药品检验所中药室郭增喜副主任鉴

表 1 枇杷叶样品

Table 1 *Eriobotryae Folium* samples

批号	产地
090415	浙江杭州栽培
090407	浙江德清野生
100326	浙江杭州3月树叶
100326	浙江杭州3月落叶
100721	浙江杭州7月树叶
100721	浙江杭州7月落叶
101025	浙江杭州10月树叶
101025	浙江杭州10月落叶
091119	浙江中医药大学中药饮片厂

定为枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥叶。硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂生产)。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别方法

2.1 熊果酸薄层鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取枇杷叶药材粉末 1.0

收稿日期: 2011-02-15

基金项目: “十一五” 国家技术支撑项目(2009ZX09308-001)

作者简介: 戚雁飞, 副主任药师, 主要从事中药材鉴定和中成药质量标准研究。Tel: (0571)86453171 E-mail: qyf817@163.com

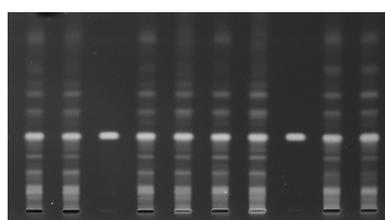
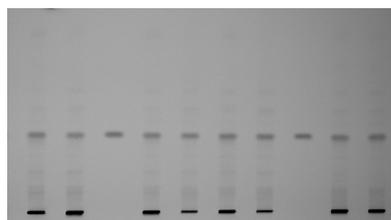
g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 5.0 mL 使溶解, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取熊果酸对照品, 加甲醇制成 1.0 mg/mL 的溶液。

2.1.3 薄层色谱鉴别 按照薄层色谱法^[1], 吸取上述两种溶液各 1 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,

以甲苯-丙酮(5:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置显相同颜色的斑点。色谱图见图 1。

2.2 对照药材薄层鉴别



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
日光下

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
UV 365 nm

1-3 月树叶 2-3 月落叶 3-熊果酸对照品 4-7 月树叶 5-7 月落叶 6-10 月树叶 7-10 月落叶 8-熊果酸对照品 9-栽培样品 10-野生样品
1-leaves for three months 2-fallen leaves for three months 3-oleanolic acid reference substance 4-leaves for seven months 5-fallen leaves for seven months
6-leaves for 10 months 7-fallen leaves for 10 months 8-urolic acid 9-cultivated sample 10-wild sample

图 1 不同采收季节、树叶和落叶、野生、栽培样品与熊果酸薄层色谱图

Fig. 1 TLC chromatograms of leaves, fallen leaves, wild sample, and cultivated sample during different harvest

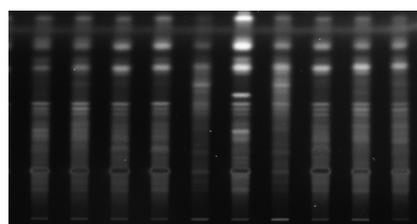
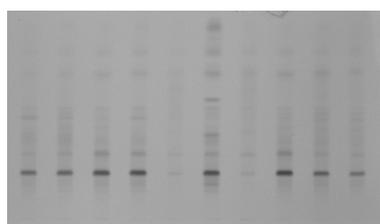
2.2.1 供试品溶液的制备 取枇杷叶药材粉末 1.0 g, 加水 60.0 mL, 煎煮 30 min, 滤液用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 15.0 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 60.0 mL, 蒸干正丁醇液, 残渣加无水乙醇 1.0 mL 使其溶解, 即得。

2.2.2 对照药材溶液的制备 取枇杷叶对照药材 1.0 g, 同法制成对照药材溶液。

2.2.3 薄层色谱鉴别 按照薄层色谱法^[1], 吸取上

述两种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10) 10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置, 显相同颜色的斑点。色谱图见图 2。

3 齐墩果酸和熊果酸的测定



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
日光下

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
UV 365 nm

1-3 月树叶 2-3 月落叶 3-对照药材 4-7 月树叶 5-7 月落叶 6-10 月树叶 7-10 月落叶 8-对照药材 9-栽培样品 10-野生样品
1-leaves for three months 2-fallen leaves for three months 3-*Eriobotryae Folium* reference substance 4-leaves for seven months 5-fallen leaves for seven months 6-leaves for 10 months 7-fallen leaves for 10 months 8-reference medicinal materials 9-cultivated sample 10-wild sample

图 2 不同采收季节、树叶和落叶、野生、栽培样品与对照药材的薄层色谱图

Fig. 2 TLC chromatograms of leaves, fallen leaves, wild sample, and cultivated sample during different harvest

3.1 色谱条件^[1]

Zorbax Extend-C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-甲醇-0.2% 乙酸铵(67:12:21), 体积流量 1 mL/min, 检测波长 210 nm, 柱温

25 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L。色谱图见图 3。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取齐墩果酸、熊果酸对照品, 乙醇溶解制成 50 μ g/mL 齐墩果酸、0.2 mg/mL 熊果酸的溶液。

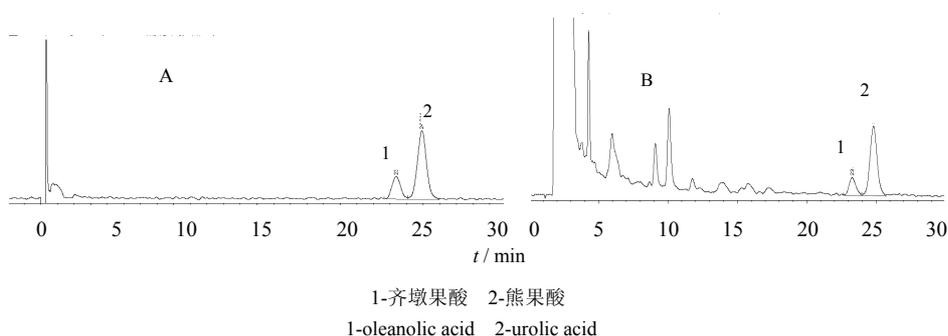


图 3 对照品 (A) 及样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

3.3 供试品溶液的制备

取枇杷叶药材粗粉 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50 mL 乙醇, 称其质量, 超声 30 min, 放冷, 用乙醇补足质量, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液, 即得。

3.4 样品测定

分别吸取对照品溶液 20 μL, 供试品溶液 20 μL, 进样, 按外标法测定齐墩果酸和熊果酸的量, 结果见表 2。

表 2 不同采收季节、树叶和落叶、野生和栽培枇杷叶中齐墩果酸和熊果酸的测定结果

Table 2 Determination of wild and cultivated samples during different harvest

样 品	齐墩果酸/%	熊果酸/%	总量/%
3 月树叶	0.192	0.664	0.856
3 月落叶	0.169	0.775	0.944
7 月树叶	0.148	0.680	0.828
7 月落叶	0.172	0.806	0.978
10 月树叶	0.147	0.670	0.817
10 月落叶	0.163	0.800	0.963
栽培	0.150	0.652	0.853
野生	0.172	0.681	0.856

4 影响因素的考察

为制订合理的稳定性试验条件, 先进行影响因素考察, 分别考察了药材不同的采收季节, 比较了树叶和落叶、野生和栽培的影响, 进行了高温、高湿和强光试验。

4.1 不同采收季节、树叶和落叶、野生和栽培的影响

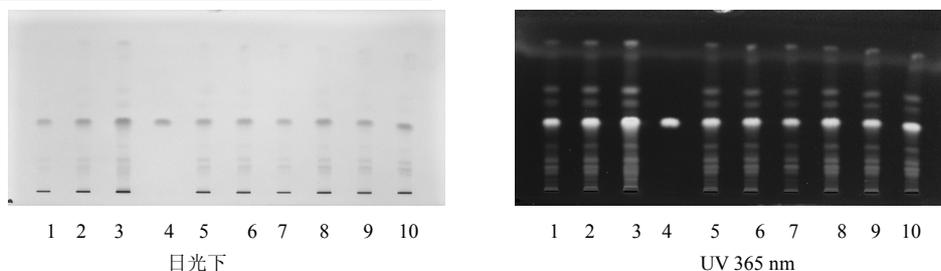
分别在同一地点 (浙江杭州三里亭), 于 3、7 和 10 月采收枇杷叶的树叶和落叶, 另收集野生和栽培样品各 1 批, 结果见表 2 和图 1、2。

根据上述结果可知不同的采收季节、野生和栽培样品间齐墩果酸和熊果酸的量差别不大, 但落叶比树叶的量略高。

4.2 高温、高湿和强光试验

取同一批枇杷叶样品 (批号 091119), 研细, 过三号筛, 取适量置透明玻璃器皿中, 分别于高温 (干燥箱, 60℃)、高湿 (恒温恒湿箱, 温度 25℃、湿度 91.7%) 和强光 (澄明度检测仪, 照度 4 500 lx) 条件下, 放置 5 d 和 10 d 后取出, 按上述检验方法试验, 与常态条件 (即实验室温度和湿度) 下的样品比较, 结果见图 4、5 和表 3。

5 稳定性考察



1-常态样品 (0.5 μL) 2-常态样品 (1 μL) 3-常态样品 (2 μL) 4-熊果酸对照品 (1 μL) 5-5 d 高温 (1 μL) 6-5 d 高湿 (1 μL) 7-5 d 强光 (1 μL) 8-10 d 高温 (1 μL) 9-10 d 高湿 (1 μL) 10-10 d 强光 (1 μL)
1-normal sample (0.5 μL) 2-normal sample (1 μL) 3-normal sample (2 μL) 4-oleanolic acid reference substance (1 μL) 5-5 d under high temperature (1 μL) 6-5 d under humidity (1 μL) 7-5 d under strong light (1 μL) 8-10 d under high temperature (1 μL) 9-10 d under humidity (1 μL) 10-10 d under strong light (1 μL)

图 4 高温、高湿、强光试验样品与熊果酸的薄层色谱图

Fig. 4 TLC chromatograms of test under high temperature, humidity, and strong light

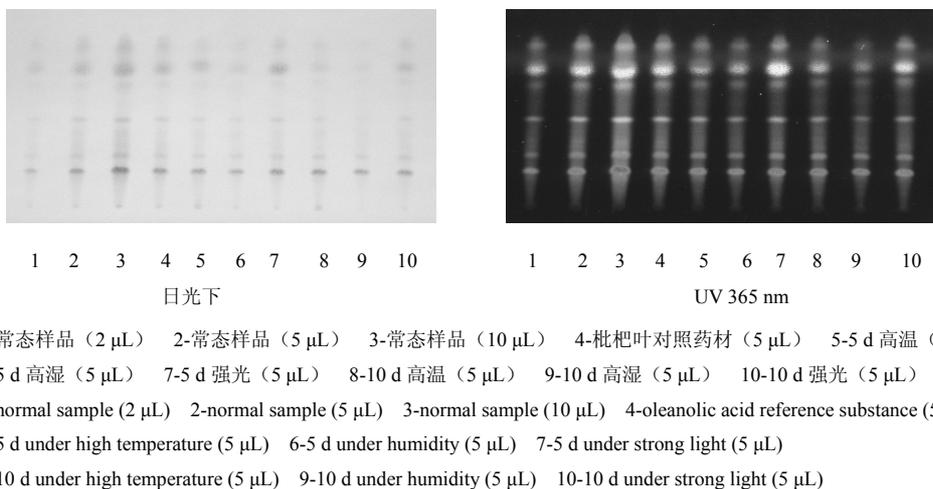


图 5 高温、高湿、强光试验样品与对照药材的薄层色谱图

Fig. 5 TLC chromatograms of test under high temperature, humidity, and strong light

表 3 高温、高湿、强光试验结果

Table 3 Test under high temperature, humidity, and strong light

样品	齐墩果酸/%	熊果酸/%	总量/%
常态	0.176	0.840	1.016
高温5 d	0.176	0.834	1.010
高湿5 d	0.178	0.897	1.075
强光5 d	0.172	0.824	0.996
高温10 d	0.178	0.896	1.074
高湿10 d	0.218	0.909	1.127
强光10 d	0.170	0.833	1.003

表 4 长期和加速试验结果

Table 4 Test under normal temperature and acceleration

样品	齐墩果酸/%	熊果酸/%	总量/%
0月	0.176	0.840	1.016
长期3月	0.174	0.779	0.953
长期6月	0.170	0.776	0.946
加速1月	0.179	0.817	0.996
加速2月	0.169	0.810	0.979
加速3月	0.170	0.763	0.933
加速6月	0.167	0.746	0.913

根据上述影响因素考察的结果，确定枇杷叶稳定性试验分为长期试验和加速试验，取同一批枇杷叶样品（批号 091119），研细，过三号筛，置密封（防止吸湿发霉）玻璃器皿中，长期试验：在实验室常态条件下分别放置 0、3、6 月；加速试验：在温度为 40 ℃、湿度为 75% 的恒温恒湿箱中分别放置 0、1、2、3、6 月。按上述检验方法试验，长期试验和加速试验两个薄层色谱鉴别均无明显差异，测定结果见表 4。

6 讨论

通过对不同采收季节、树叶和落叶、野生和栽培枇杷叶的比较，就熊果酸和齐墩果酸的量来讲，采收季节、野生和栽培影响不大；落叶较树叶高。

通过高温、高湿和强光等影响因素的研究，分别考察 5、10 d，与常态条件下比较，结果差异不大，认为高温、高湿和强光条件对枇杷叶影响不明显。

通过长期 6 月和加速 6 月的稳定性考察，显示枇杷叶在考察期内基本稳定，为制定枇杷叶对照药材的有效期提供依据。

参考文献

- [1] 中国药典. 一部 [S]. 2010.
- [2] 王立为, 刘新民, 余世春, 等. 枇杷叶抗炎和止咳作用研究 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 174-176.
- [3] 陈 剑, 李维林, 吴菊兰, 等. 枇杷叶的化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1632-1634.
- [4] 李 婷, 林文津, 徐榕青, 等. 枇杷叶的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(5): 1.