

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, 副主任中药师, 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

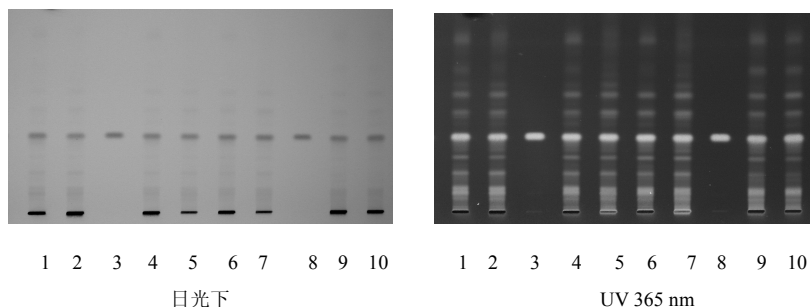
g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 5.0 mL 使溶解, 即得。

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



1-3 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

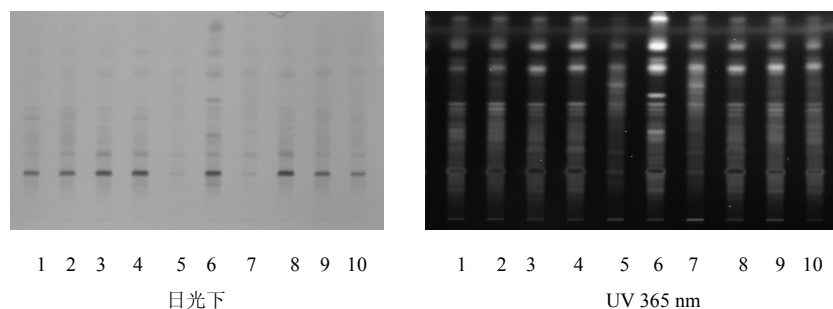
2.2.1 供试品溶液的制备 取枇杷叶药材粉末 1.0 g, 加水 60.0 mL, 煎煮 30 min, 滤液用水饱和正丁醇振摇提取 3 次, 每次 15.0 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 60.0 mL, 蒸干正丁醇液, 残渣加无水乙醇 1.0 mL 使其溶解, 即得。

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



1-3 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。

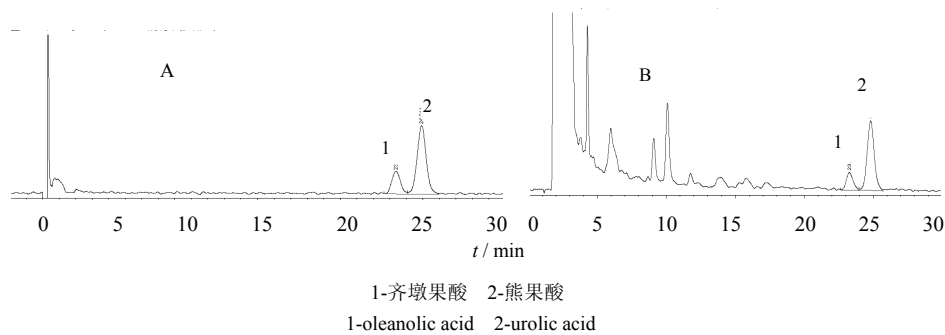


图 3 对照品 (A) 及样品 (B) 的 HPLC 图

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

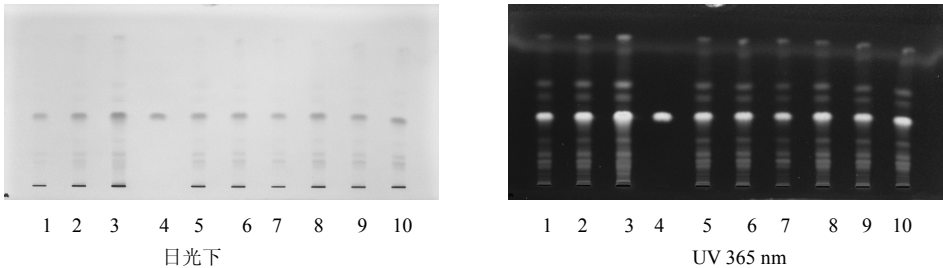
分别在同一地点 (浙江杭州三里亭), 于 3、7 和 10 月采收枇杷叶的树叶和落叶, 另收集野生和栽培样品各 1 批, 结果见表 2 和图 1、2。

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

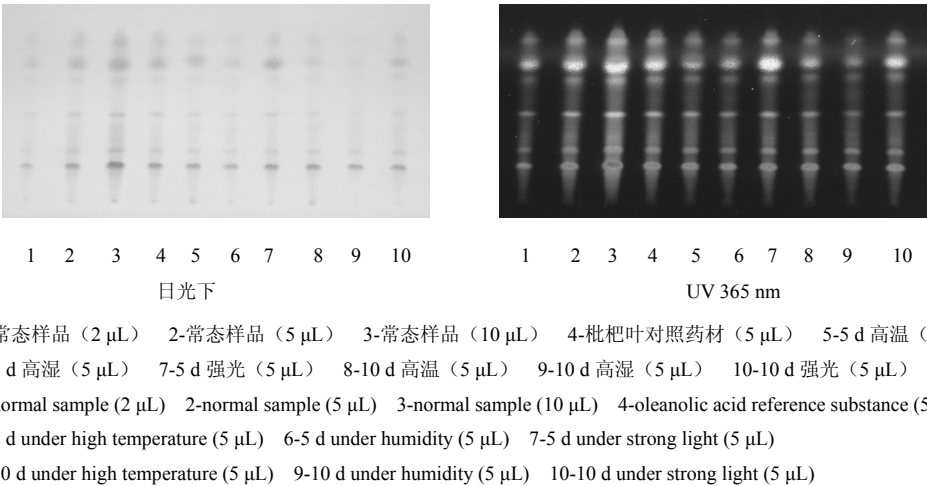


图 5 高温、高湿、强光试验样品与对照药材的薄层色谱图
Fig. 5 TLC chromatograms of test under high temperature, humidity, and strong light

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

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。

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

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.