

# 枇杷花叶含片的处方工艺优选及药效学试验考察

张娜<sup>1</sup>, 吴绍康<sup>1</sup>, 沈先荣<sup>2\*</sup>, 蒋定文<sup>2</sup>, 何颖<sup>2</sup>, 王庆蓉<sup>2</sup>, 刘玉明<sup>2</sup>, 葛卫红<sup>1\*</sup>

(1. 浙江中医药大学中药体外代谢实验室, 杭州 310053;

2. 海军医学研究所防护医学研究室, 上海 200433)

**[摘要]** 目的: 优选枇杷花叶含片(LFLBT)的处方工艺并通过药效学试验验证其祛痰、止咳及抗炎的药理活性。方法: 以口感和崩解时限为综合评价指标, 通过正交试验考察微晶纤维素、甘露醇、阿斯巴甜、柠檬酸用量对LFLBT处方工艺的影响; 采用酚红排泌法、浓氨水喷雾引咳法和二甲苯致小鼠耳肿胀法验证LFLBT的祛痰、止咳及抗炎活性。结果: 最佳处方工艺为每30g枇杷花叶提取物中加入微晶纤维素70g和甘露醇5g, 另加入0.5%阿斯巴甜和1%柠檬酸, 以95%乙醇为黏合剂制粒。与空白组相比, LFLBT高剂量组能明显增加小鼠的酚红排泌量; LFLBT中剂量组和高剂量组能延长浓氨水所致的小鼠咳嗽潜伏期并减少小鼠3min内的咳嗽次数; LFLBT高剂量组能明显抑制二甲苯引起的小鼠耳肿胀。结论: 优选的处方工艺简单可行, 制备的LFLBT具备一定的清咽利喉活性。

**[关键词]** 枇杷花; 枇杷叶; 清咽利喉; 祛痰作用; 止咳作用; 抗炎作用; 口含片

**[中图分类号]** R283.6; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0029-04

**[doi]** 10.11653/syjf2014020029

## Pharmacodynamics Investigation and Prescription Process Optimization of Loquat Flowers and Leaves Buccal Tablets

ZHANG Na<sup>1</sup>, WU Shao-kang<sup>1</sup>, SHEN Xian-rong<sup>2\*</sup>, JIANG Ding-wen<sup>2</sup>, HE Ying<sup>2</sup>,

**[收稿日期]** 20130627(002)

**[基金项目]** 全军医学科技“十二五”重大专项(AS11J003)

**[第一作者]** 张娜, 在读硕士, 从事中药药理与新产品开发研究, Tel: 18616942327, E-mail: shiming\_nana@126.com

**[通讯作者]** \* 葛卫红, 教授, 博士生导师, 从事中药药理与新产品开发研究, Tel: 13905622241, E-mail: geweihong@hotmail.com;

\* 沈先荣, 研究员, 博士生导师, 从事中药及海洋药物研究, Tel: 13701913595, E-mail: xianrong\_sh@163.com

### [参考文献]

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第26卷[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 46.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 第2卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 760.
- [3] LIN H Y. Studies on the chemical constituents and antihyperglycemic effect of *Boussingaultia gracilis* [D]. Taichung: China Medical College, 1986.
- [4] 仇洁, 周永标, 谭玉兰, 等. 落葵薯提取物清除氧自由基及抗脂质过氧化作用[J]. 中药材, 2004, 27(8): 608.
- [5] Tshikalange T E, Meyer J J M, Hussein A A. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 96(3): 515.
- [6] 刘佳, 陈晓辉, 钱忠直, 等. RP-HPLC法测定藤三七不同部位中腺苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(9): 724.
- [7] LIN H Y, KUO S C, LIN T D, et al. A new sapogenin from *Boussingaultia gracilis* [J]. J Nat Prod, 1988, 51(4): 797.
- [8] 顾琼, 马云保, 张雪梅, 等. 藤三七中一个新黄烷醇和抗HIV活性成分[J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(8): 1508.
- [9] 方达任, 张志. 正交试验法优选大孔树脂对黄芪皂苷动态吸附工艺的研究[J]. 中国药师, 2009, 12(12): 1747.
- [10] 杨军宣, 吴天骄, 尹蓉莉, 等. 正交设计法优选酸枣仁皂苷的大孔吸附树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 63.
- [11] 杨明, 张中文, 沈红, 等. D101大孔树脂分离连翘酯苷条件的优化及检测[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(22): 1685.

[责任编辑 仝燕]

WANG Qing-rong<sup>2</sup>, LIU Yu-ming<sup>2</sup>, GE Wei-hong<sup>1\*</sup>

(1. *In-vitro* Metabolism Laboratory of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

2. Department of Radiation Protection Medicine, Institute of Naval Medicine, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize prescription process of loquat flowers and leaves buccal tablet (LFLBT) and investigate its anti-inflammatory, eliminating phlegm and cough pharmacological activity by pharmacodynamic trials. **Method:** Taking taste and disintegration time as comprehensive evaluation index, orthogonal test was adopted to optimize prescription process of LFLBT with dosages of microcrystalline cellulose, aspartame, mannitol and citric acid as factors. Phenol red excretion method and concentrated ammonia spray induced cough method and xylene-induced ear swelling in mice method were applied to verify anti-inflammatory, eliminating phlegm and cough activity of LFLBT. **Result:** The best prescription process was as follows: added 70 g of MCC, 5 g of mannitol, 0.5% of aspartame and 1% of citric acid into 30 g of aqueous extract of loquat flowers and leaves, and granulated with 95% ethanol as binder. Compared with blank group, high dose group of LFLBT could significantly increase excretion of phenol red and significantly inhibit ear swelling caused by xylene; Middle dose group and high dose group of LFLBT could reduce frequency of cough in three minutes and prolong latent period of cough caused by ammonia water. **Conclusion:** Optimized prescription process was simple and feasible, prepared LFLBT had a certain activity of moisturizing throat.

**[Key words]** loquat flowers; *Eriobotrya Folium*; moisturizing throat; eliminating phlegm; relieve a cough; anti-inflammation; buccal tablets

慢性咽炎在中医上属于“喉痹”，是由脾胃气虚、郁热，气滞血瘀，虚火上炎等引起的咽喉不利，临床主要表现为咽涩疼痛、咳嗽咯痰、发热恶寒等症状。西医多采用抗生素或辅以西地塞米松等类固醇类激素治疗慢性咽炎，但疗效不佳，且有一定的副作用<sup>[1]</sup>。枇杷叶性微寒，味苦、辛，具有清肺止咳、降逆止呕的功效，临床常用于治疗急、慢性咽炎和支气管炎<sup>[2]</sup>。枇杷花别名土冬花，民间常将其制成枇杷花茶和花蜜，用于治疗伤风感冒、肺热咳嗽等症<sup>[3-4]</sup>。现代药理研究表明，枇杷叶和枇杷花中含有的三萜酸类、黄酮类和多糖等成分具有抗炎、祛痰、止咳和抑菌等生物活性<sup>[5]</sup>。我国广泛种植枇杷，果农每年为了提高枇杷的产量，均将多余的花、叶疏除<sup>[6]</sup>，大量的枇杷花和叶作为垃圾处理，造成了资源的极大浪费。本实验以枇杷花、叶的水提物为主药，通过正交试验优选枇杷花叶含片(LFLBT)的处方工艺，并通过祛痰、止咳及抗炎等药效试验进行验证，为枇杷花和叶的开发利用提供实验依据。

## 1 材料

TDP-5 型单冲压片机(上海天凡药机制造厂)，759 型紫外-可见分光光度计(上海奥谱勒仪器有限公司)，YC-Y800 型医用超声波雾化器(北京亚都科技股份有限公司)。

枇杷花和枇杷叶于 2012 年 12 月采于上海沪香果业合作社青浦区枇杷园，由海军医学研究所沈先荣研究员鉴定为蔷薇科植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 的干燥花和叶，清洗晒干后备用；微晶纤维素、甘露醇、阿斯巴甜、柠檬酸(食用级，均购自安徽山河辅料公司)，复方甘草浙贝氯化铵片(浙江康恩贝制药股份有限公司，批号 110907)，京都念慈庵蜜炼川贝枇杷膏(香港京都念慈庵总厂有限公司，批号 Y2211055)，阿司匹林(上海信谊百路达药业有限公司，批号 1254002)，其他试剂均为分析纯。

昆明种小鼠，雄性，SPF 级，体重(20 ± 2) g，由第二军医大学动物实验中心提供，动物合格证号 SCXK(沪)2012-0002。

## 2 方法和结果

**2.1 枇杷花、叶水提物的制备** 称取枇杷花和叶各 1 kg，除去枇杷花、叶上的尘土及绒毛，将枇杷叶剪碎成长约 1 cm，宽约 0.5 cm 的小片，枇杷花剪碎成小粒，加 15 倍量水于 100 °C 煎煮 2 次，每次 1.5 h，纱布过滤后合并滤液，4 °C 静置过夜，于 9 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 30 min，上清液 70 °C 减压浓缩至 100 mL，真空干燥后备用。

**2.2 LFLBT 口感和崩解时限的测定** 以含片的口

感和崩解时限为指标,确定评分标准<sup>[7]</sup>,见表1。含片崩解时限的测定方法参考《中国药典》2010年版附录XII A崩解时限检查法中的片剂检查法(吊篮法)<sup>[2]</sup>。取处方成品6片,浸入1 L双蒸水中,在(37±1)℃,100 r·min<sup>-1</sup>的条件下,记录含片全部崩解的时间。

表1 枇杷花叶含片口感和崩解时限的评分标准

| 口感          |      | 崩解时间                         |      |
|-------------|------|------------------------------|------|
| 标准          | 评分/分 | 标准/min                       | 评分/分 |
| 口感差,味道过苦或过甜 | 0    | $t \leq 5$                   | 2    |
| 适中,微苦或微甜    | 0~2  | $10 < t \leq 15$ ,或 $t > 20$ | 4    |
| 较好,甜度合适     | 2~5  | $15 < t \leq 20$             | 6    |

**2.3 LFLBT的处方优选** 根据枇杷花叶水提物易潮解和甜度差的特点,选择吸湿性差但可压性强且具有良好崩解性能的微晶纤维素、无吸湿性的甘露醇和作为酸甜矫味剂的阿斯巴甜、柠檬酸为辅料,在预试验基础上,确定各因素的用量水平,湿法制粒,压制直径1 cm,片重0.6 g的片剂。以含片的口感和崩解时限作为综合评价指标,因素水平见表2,采用SPSS 17.0软件作单因素方差分析和 $t$ 检验,试验安排及结果见表3。

表2 枇杷花叶含片处方工艺正交试验因素水平

| 水平 | A 微晶纤维素 | B 甘露醇 | C 阿斯巴甜 | D 柠檬酸 |
|----|---------|-------|--------|-------|
|    | /g      | /g    | /%     | /%    |
| 1  | 30      | 5     | 0.5    | 0.5   |
| 2  | 50      | 15    | 1.5    | 1.0   |
| 3  | 70      | 25    | 2.5    | 1.5   |

由直观分析可知,各因素对处方工艺的影响顺序为 $B > A > D > C$ ,确定辅料的最佳配比为 $A_3B_1C_1D_2$ ,即当主药用量为30 g时,微晶纤维素70 g,甘露醇5 g,阿斯巴甜0.5%,柠檬酸1%。综上所述,LFLBT的成型工艺为称取枇杷花叶水提物,粉碎后过100目筛,按优选的辅料用量比例称取微晶纤维素、甘露醇、柠檬酸和阿斯巴甜,通过等量递加法混合均匀,过100目筛,以95%乙醇作黏合剂,过24目筛制粒,45℃真空干燥1 h,用20目筛整粒,压制直径1 cm,平均片重0.6 g的片剂,即得。

## 2.4 LFLBT的药效试验

**2.4.1 祛痰作用<sup>[8]</sup>** 昆明种小鼠50只,按体重随机分为空白组、复方甘草浙贝氯化铵片组(0.8 g·

表3 枇杷花叶含片处方工艺正交试验安排

| No.   | A   | B   | C   | D   | 口感评分 | 崩解时限评分 | 总分  |
|-------|-----|-----|-----|-----|------|--------|-----|
| 1     | 30  | 5   | 0.5 | 0.5 | 1.0  | 6      | 7.0 |
| 2     | 30  | 15  | 1.5 | 1.0 | 1.5  | 4      | 5.5 |
| 3     | 30  | 25  | 2.5 | 1.5 | 1.5  | 2      | 3.5 |
| 4     | 50  | 5   | 1.5 | 1.5 | 1.5  | 6      | 7.5 |
| 5     | 50  | 15  | 2.5 | 0.5 | 2.4  | 4      | 6.4 |
| 6     | 50  | 25  | 0.5 | 1.0 | 1.6  | 4      | 5.6 |
| 7     | 70  | 5   | 2.5 | 1.0 | 3.2  | 6      | 9.2 |
| 8     | 70  | 15  | 0.5 | 1.5 | 1.0  | 6      | 7.0 |
| 9     | 70  | 25  | 1.5 | 0.5 | 2.2  | 4      | 6.2 |
| $K_1$ | 5.3 | 7.9 | 6.5 | 6.5 |      |        |     |
| $K_2$ | 6.5 | 6.3 | 6.4 | 6.8 |      |        |     |
| $K_3$ | 7.5 | 5.1 | 6.4 | 6.0 |      |        |     |
| R     | 2.2 | 2.8 | 0.1 | 0.8 |      |        |     |

kg<sup>-1</sup>)和LFLBT低(0.2 g·kg<sup>-1</sup>)、中(0.8 g·kg<sup>-1</sup>)、高(3.2 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组,每组10只,按0.01 mL·g<sup>-1</sup>灌胃给药,每天1次,连续7 d,空白组给予相同体积蒸馏水。末次给药30 min后,小鼠腹腔注射0.5%苯酚红溶液0.5 mL,30 min后脱颈椎处死,用5%碳酸氢钠溶液1.5 mL分3次重复冲洗气管,合并灌洗液,2 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,各组上清液于546 nm处测得吸光度( $A, n = 10$ )分别为(0.17±0.02), (0.24±0.03), (0.18±0.05), (0.22±0.04), (0.23±0.03)。结果表明与空白组相比,阳性药复方甘草浙贝氯化铵片能显著增加小鼠的酚红排泄量( $P < 0.05$ );LFLBT亦能增加小鼠酚红排泄量,且呈现一定的剂量依赖性,以高剂量的效果最为明显( $P < 0.05$ ),提示LFLBT能刺激呼吸道腺体的分泌,有一定的祛痰作用。

**2.4.2 镇咳作用<sup>[8-11]</sup>** 昆明种小鼠50只,按体重随机分为空白组、京都念慈庵蜜炼川贝枇杷膏组(0.2 mL/只)和LFLBT低、中、高剂量组,每组10只,按0.01 mL·g<sup>-1</sup>灌胃给药,每天1次,连续7 d,空白组给予相同体积蒸馏水。末次给药1 h后,将小鼠逐只放入体积2 L的自制玻璃容器中,用超声波雾化器将13%氨水以恒定压力喷入玻璃容器内,从开始喷雾起计时,15 s后立即取出小鼠,置于通风处,观察各组小鼠的咳嗽潜伏期分别为(41.71±7.95), (67.50±13.33), (35.67±5.65), (65.00±12.49), (66.80±5.03) s,3 min内的咳嗽次数依次为(67.00±24.35), (10.50±5.01), (41.43±

15.52), (30.33 ± 10.12), (17.85 ± 3.76)次。结果显示与空白组相比,阳性药念慈庵蜜炼川贝枇杷膏能明显延长小鼠的咳嗽潜伏期( $P < 0.05$ )并减少小鼠3 min内的咳嗽次数( $P < 0.05$ );LFLBT的中剂量( $P < 0.05$ )和高剂量( $P < 0.01$ )能明显延长小鼠咳嗽潜伏期,LFLBT中剂量和高剂量均能显著减少小鼠3 min内的咳嗽次数( $P < 0.05$ ),说明LFLBT具有一定的止咳作用。

**2.4.3 抗炎作用** 参考国家食品药品监督管理局2012年颁布的《清咽功能评价方法》进行试验,昆明种小鼠50只,按体重随机分为空白组、阿司匹林组(0.25 g·kg<sup>-1</sup>)和LFLBT低、中、高剂量组,每组10只,按0.01 mL·g<sup>-1</sup>灌胃给药,每天1次,连续7 d,空白组给予相同体积蒸馏水。小鼠于末次给药40 min后,将二甲苯20 μL均匀涂抹于小鼠右侧耳廓中央,自由扩散30 min后,将小鼠脱颈椎处死,剪下双耳,用9 mm打孔器在双耳相同部位打下耳片并称量,左右耳差值分别为(10.72 ± 3.87), (3.37 ± 0.75), (7.21 ± 3.60), (9.07 ± 2.76), (5.06 ± 1.55),以左右耳片质量之差作为耳廓肿胀值,计算小鼠的耳廓肿胀率分别为0%, 68.55%, 32.70%, 15.38%, 52.83%。结果显示与空白组相比,阳性药阿司匹林能明显抑制由二甲苯引起的小鼠耳肿胀( $P < 0.05$ );LFLBT高剂量对小鼠耳肿胀亦有明显的抑制作用( $P < 0.05$ ),提示LFLBT具有一定的抗炎作用。

### 3 讨论

传统医学认为咽炎多由邪热阻闭、损阴耗液所致<sup>[7]</sup>。由枇杷花、叶制备的水提物具有较强的吸湿性,含糖量较高。与枇杷花、叶传统的用药剂型水煎剂相比,将其制成含片,不仅携带、服用方便,且可以直接作用于口腔,直达患处,提高药物的生物利用度<sup>[12]</sup>。微晶纤维素吸湿性小、可压性强,常用于咀嚼片以提高崩解性能。甘露醇无吸湿性、化学性质相对稳定、易干燥,可用于吸湿性强的药物压片,且入口清凉、微有甜味,故选择甘露醇作为填充剂和矫味剂。阿斯巴甜又称蛋白糖,甜度是蔗糖的150~200倍,且无蔗糖的生理作用,适合于糖尿病患者服用,与柠檬酸进行配比,可制成受大众喜欢的酸甜口味。

通过小鼠酚红排泄法考察LFLBT的祛痰作用,利用酚红指示剂可部分从呼吸气道排出的特点,通过检测气管灌洗液中酚红浓度来考察药物的祛痰活性<sup>[8]</sup>,结果显示LFLBT高剂量能明显增加小鼠的酚红排泄量,提示LFLBT能增加呼吸道腺体的分泌,具有一定的祛痰作用。

采用浓氨水喷雾引咳法<sup>[9]</sup>考察LFLBT的止咳活性,结果显示,LFLBT的中剂量和高剂量均能明显延长小鼠的咳嗽潜伏期并减少小鼠3 min内的咳嗽次数,其中LFLBT高剂量在延长小鼠咳嗽潜伏期方面与阳性药念慈庵蜜炼川贝枇杷膏的效果相当。

LFLBT能明显抑制由二甲苯引起的小鼠耳肿胀,提示LFLBT具有一定的抗炎作用,可缓解由急、慢性咽炎引起的咽部炎症。

### [参考文献]

- [1] 宋燕萍. 地塞米松对迅速缓解急性咽炎症状的疗效观察[J]. 中国新医学论坛, 2007, 7(7): 71.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 190.
- [3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 宗教文化出版社, 2003: 332.
- [4] 马成战. 枇杷: 润肺止咳[J]. 医药与保健, 1997(12): 41.
- [5] 何英姿. 枇杷叶有效成分提取及药理作用研究进展[J]. 广西工学院学报, 2007, 18(2): 81.
- [6] 黄福山, 袁为明, 俞文生. 枇杷大棚栽培疏花疏果技术[J]. 江西园艺, 2003, 10(6): 215.
- [7] 秦明明, 陈奕, 胡子燕. 清咽含片的制备工艺[J]. 医药导报, 2010, 29(10): 1340.
- [8] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 425.
- [9] 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.
- [10] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1363.
- [11] 张超云, 张晓芬, 张雪鹏, 等. 二陈汤化痰止咳有效部位的筛选研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 218.
- [12] 彭潇波. 玉竹多糖提取及含片的制备工艺研究[D]. 长沙: 中南大学, 2011.

[责任编辑 全燕]