

枇杷属野生种及其种间杂种后代株系的三萜酸含量分析

林素英^{1a}, 龙婷^{2a}, 林授锴^{1a}, 马世伟¹, 林瑞棋³,
林志聪¹, 陈宇¹, 吴锦程^{1*}, 林顺权^{1,2*}

(¹莆田学院环境与生物工程学院, 福建莆田 351100; ²华南农业大学园艺学院, 广州 510642;

³乾圣太禾堂(莆田)医药科技有限公司, 福建莆田 351254)

摘要:【目的】测定枇杷属25个种或变种以及椭圆枇杷、台湾枇杷等代表性种与普通枇杷杂交后代株系叶片的4种主要三萜酸的含量, 为枇杷属植物资源的药物利用和枇杷遗传改良提供基础数据。【方法】以枇杷属25个种类/变型、7个野生-栽培枇杷杂交组合的21个后代株系为试料, 以3个栽培品种及种内杂种作为对照, 采用高效液相色谱法(HPLC)分析枇杷叶片的熊果酸(Ursolic acid, UA)、齐墩果酸(Oleanolic acid, OA)、山楂酸(Maslinic acid, MA)和科罗索酸(Corosolic acid, CA)等主要三萜酸物质含量。【结果】根据熊果酸和齐墩果酸总含量, 筛选出了高于中国药典标准2~3倍以上的高含量种类。其中大于高含量栽培品种解放钟30%以上的种类有8种, 包括台湾枇杷、大渡河枇杷、香花枇杷、解放钟×大红袍、解放钟×栎叶枇杷、解放钟×恒春变型、大红袍×武陵山变型、解放钟×台湾枇杷。特别是台湾枇杷为最高含量种类, 成熟叶片超过药典规定3倍以上, 老叶为4倍以上; 筛选出富含山楂酸和科罗索酸的种间杂交后代材料, 如山楂酸和科罗索酸分别可达解放钟3.22倍和2倍的解放钟×椭圆枇杷8号等。【结论】多种枇杷属野生种及其杂种后代株系叶片的三萜酸含量远高于普通枇杷, 作为纯天然无污染的药用枇杷叶片来源潜力巨大。

关键词: 枇杷属植物; 三萜酸; 熊果酸; 齐墩果酸; 山楂酸; 科罗索酸; HPLC

中图分类号: S667.3

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2022)12-2264-13

Analysis of triterpene acid contents in *Eriobotrya* plants and their inter-specific hybrids

LIN Suying^{1a}, LONG Ting^{2a}, LIN Shoukai^{1a}, MA Shiwei¹, LIN Ruiqi³, LIN Zhicong¹, CHEN Yu¹, WU Jincheng^{1*}, LIN Shunquan^{1,2*}

(¹College of Environmental and Biological Engineering, Putian University, Putian 351100, Fujian, China; ²College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China; ³Qiansheng Taihetang (Putian) Medical Technology Co., Ltd, Putian 351254, Fujian, China)

Abstract: 【Objective】China is native to loquat and has abundant germplasm resources of *Eriobotrya* plants. At present, studies on the medicinal substance triterpenoid acids in loquat leaves are limited in cultivated loquat. However, there are still 19 wild species of *Eriobotrya* plants are native to China, and almost no studies have been conducted on triterpenoid acids. The contents of four major triterpenoid acids in the leaves of 25 species and varieties of *Eriobotrya* plants (containing those introduced from Southeast Asia) and the hybrids of common loquat (*E. japonica*) and representative *Eriobotrya* wild species (*E. elliptica*, *E. deflexa* and so on) were investigated to provide basic data for drug utilization and genetic improvement of Loquat. 【Methods】HPLC method was used to analyze the contents of four major triterpenoid acids including Ursolic acid (UA), Oleanolic acid (OA), Maslinic acid (MA) and Corosolic acid (CA) in the leaves of 25 species/variants of *Eriobotrya* plants, 21 wild-cultivated hybrids and

收稿日期: 2022-10-12

接受日期: 2022-11-22

基金项目: 福建省高校产学研联合创新项目(2022N5006); 福建省高校产学研合作项目(2021N5014)

作者简介: 林素英, 女, 副教授, 主要从事枇杷药用活性物质研究。Tel: 13799004186, E-mail: linsuying@foxmail.com。a 共同第一作者

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: loquat@scau.edu.cn; E-mail: wjc2384@163.com

2 cultivars. HPLC conditions for the determination of UA and OA were optimized, and the separation effects of different chromatographic columns and mobile phase systems on UA and OA were investigated, including chromatographic columns of Waters Sunfire C₁₈, Kromasil C₁₈, hypersil ODS2, Inertsil ODS-SP, and Sunfire C₁₈. The optimal chromatographic conditions were: Sunfire C₁₈ chromatographic column, Gradient elution was performed with 0.1% phosphoric acid aqueous solution and methanol as mobile phase. The procedure was listed below: Within 0 to 5 min, the proportion of methanol increased from 97% to 99.5%; and within 5 to 25 min, the content of methanol remained at 99.5%. The flow rate was 0.300 mL · min⁻¹, the sample size was 8 μL, and the column temperature was 20 °C; The detection wavelength was 208 nm. The standard curve of UA content was drawn to calculate the total triterpene acid content in the leaves of above wild species/variants, interspecific hybrids, and cultivars of *Eriobotrya* plants. 【Results】 Chinese Pharmacopoeia (2020) took UA and OA contents as the quality control indexes of loquat leaves. We found that in addition to the young leaves of *E. elliptica* var. *petelottii*, with the old leaves of *E. poilanei* and the mature leaves of three interspecific hybrids *E. japonica* × *E. elliptica* No. 13, 14 and 160, the contents of UA and OA in all samples could meet the requirements of Chinese Pharmacopoeia (2020). These *Eriobotrya* plants could be used as qualified Chinese medicinal materials and had the potential for further medicinal development. According to the total contents of UA and OA, the high-content species were selected, whose UA and OA contents were over 2-3 times higher than the standard of Chinese Pharmacopoeia. Especially, the highest content species was *E. Deflexa*, which was 3 times more than the standard of Chinese Pharmacopoeia in mature leaves and 4 times more than that in old leaves. Among the leaf materials with different maturity, there were 17 kinds of young leaves, 16 kinds of mature leaves and 19 kinds of old leaves, whose total UA and OA contents were 2-3 times more than the Chinese Pharmacopoeia requirements. There were fourteen species, whose UA and OA contents were 2-3 times more than the Chinese Pharmacopoeia requirements in all three maturity; Eight species or hybrids were over 30% larger than the high-content variety Jiefangzhong, including *E. deflexa*, *E. prinoides* var. *dadunensis*, *E. fragrans*, *E. japonica* × *E. japonica*, *E. japonica* × *E. prinoides*, *E. japonica* × *E. deflexa* f. *koshunensis*, *E. japonica* × *E. deflexa* f. *buisanensis*, and *E. japonica* × *E. deflexa*; Six species or hybrids were over 20% larger than the high-content variety Jiefangzhong, including *E. cavaleriei*, *E. deflexa* f. *buisanensis*, *E. prinoides* var. *laotica*, *E. deflexa* f. *koshunensis*, *E. japonica* × *E. prinoides*, and *E. japonica* × *E. deflexa* f. *buisanensis*. Except UA and OA, MA and CA were also the main triterpenoid acids in loquat leaves. We found that these four triterpenoid acids accounted for more than 90% of the total triterpenoid acids in the leaves of loquat cultivar Jiefangzhong. Seven interspecific hybrids with UA and OA content reaching 2-3 times compared to the Chinese Pharmacopoeia requirements were screened out in the second batch of experiment, including *E. japonica* × *E. deflexa* No. 1, 5, 7 and 8, *E. japonica* × *E. deflexa* f. *koshunensis* No. 1 and 12, *E. japonica* × *E. elliptica* No. 15. This research also screened out five interspecific hybrids rich in MA and CA, including MA high-content hybrids *E. japonica* × *E. elliptica* No. 8 and 160, *E. japonica* × *E. deflexa* f. *koshunensis* No. 1, *E. japonica* × *E. deflexa* No. 1, and CA high-content hybrids *E. japonica* × *E. elliptica* No. 7 and 8. Especially, *E. japonica* × *E. elliptica* No. 8 had the highest contents of both MA and CA, which were 3.22 and 2 times higher than Jiefangzhong, respectively. 【Conclusion】 The contents of triterpenoid acid in the leaves of many *Eriobotrya* plants and their hybrid progeny were much higher than those of common loquat, which has great potential as a natural and pollution-free source of medicinal-used loquat leaves.

Key words: *Eriobotrya* plants; Triterpenoid acids; Ursolic Acid; Oleanolic acid; Maslinic acid; Corosolic acid; HPLC

我国是枇杷属植物的起源与分布中心,拥有丰富的枇杷属种质资源,我国有原产20个种类(包括16个种和4个变种或变型),东南亚原产的则至少有6个种^[1]。丰富的野生枇杷资源是植物提取物产业的一个宝库。迄今,我国已对普通枇杷叶片等器官的三萜酸类物质的提取和药效做了大量的研究,原远^[2]和龙婷^[3]已对这些进展做了较系统的综述。

枇杷叶的化学成分是体现其可利用价值的重要指标依据。枇杷叶中含有三萜类,多酚类绿原酸和槲皮素-3-桑布双糖苷、甲基绿原酸、山奈黄素-和斛皮素-鼠李糖苷^[4],倍半萜、挥发油类水杨酸甲酯、环己酮等^[5]等有效活性成分。枇杷叶中三萜类化合物包括熊果酸、齐墩果酸和委陵菜酸为母体的衍生物等,其中熊果酸是含量最高,也是报道研究最多的五环三萜酸。还包括2 α -羟基熊果酸、2 α -羟基齐墩果酸、蔷薇酸、2 α -羟基齐墩果酸甲酯等^[6]。枇杷叶的药理作用包括镇咳祛痰平喘作用^[7]、抗炎作用^[8]、抗癌作用^[9-10]、降血糖作用^[11]等。

目前,对于普通枇杷枇杷叶主要药用成分,已做了较多的研究,发表了数以百计的相关论文^[2-3]。对于三萜酸,已做了较为深入的研究,特别是基于对解放钟品种的基因组测序阐释了枇杷与苹果梨等在三萜酸代谢上的差异^[12]。但是,对枇杷属普通枇杷之外的20多个野生种的三萜酸的研究,除了华南农业大学等单位已测试了部分野生种及其少数种间杂种后代的三萜酸含量,但至今尚未有全面的报道。

笔者以华南农业大学国家重点实验室野生枇杷种质资源圃内种植的25种野生种质资源、6种种间杂交后代以及3种栽培品种及种内杂种共计34种,以及莆田学院枇杷种质资源圃内保存的枇杷属植物种间杂种15种,即能够采到的国内外所有枇杷种类为材料(栽培枇杷品种则只取少数几个作为对照或参照),采用HPLC方法分离三萜酸,测定枇杷叶片三萜酸类物质熊果酸(Ursolic acid, UA)、齐墩果酸(Oleanolic acid, OA)、山楂酸(Maslinic acid, MA)、科罗索酸(Corosolic acid, CA)含量,以期筛选出枇杷属野生植物三萜酸含量高于普通枇杷20%~30%及以上的种类,为野生枇杷叶片的开发利用奠定一定的基础。

1 材料和方法

1.1 材料

第一批试验所用枇杷属植物材料(表1)均取自华南农业大学枇杷属植物种植资源圃。包括中国枇杷(20个种类或变型)S1(代号对应的种质见表1)、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S10、S11、S12、S13、S16、S17、S18、S20、S21、S23、S24、S25、S27,东南亚枇杷(5种)S8、S9、S19、S22、S26,2个栽培枇杷品种(S14、S15)及7个种间杂交组合后代株系S28、S29、S30、S31、S32、S33、S34的叶片。第二批种间杂种材料(表2)取自莆田学院枇杷属植物种质资源圃。包括4个杂交组合后代JD1(代号对应的种质见表2)、JT7、JT8、JT13、JT14、JT15、JT160、JT162、JTA1、JTA5、JTA7、JTA8、JTH1、JTH4、JTH12的叶片。枇杷属植物种材料叶片特征见图1。

1.2 方法

1.2.1 样品采集及前处理 分别从每株树的东、南、西、北四个方向,分别采集嫩叶、成熟叶和老叶。其中嫩叶为刚抽梢的新叶,成熟叶为上一季度萌发的枝梢上的生长稳定的叶片,老叶为上一年或两年的叶片已转枯,即将脱落。叶片放置在烘箱40℃烘干,粉碎、60目孔径筛子过滤后保存待测。第1批试验所用枇杷属植物材料取嫩叶、成熟叶和老叶,第2批取成熟叶。

1.2.2 试验主要试剂 熊果酸(批号C15O11Q126879,纯度 $\geq 98\%$)、齐墩果酸(批号J24HB174960,纯度 $\geq 98\%$)、山楂酸(批号J20GB152065,纯度 $\geq 98\%$)、科罗索酸(批号BCBQ4293V,纯度 $\geq 98\%$)标准品;甲醇(色谱级);甲醇、冰乙酸、香草醛、高氯酸等均为分析级。

1.2.3 枇杷属植物总三萜类的提取 分别取供试枇杷叶粉末2.000 g于锥形瓶中,再加入100 mL的100%甲醇(分析级)、料液比为1:50(g:mL),提取温度为40℃,提取时间为40 min,处理好之后放置冰箱冷藏保存。

1.2.4 枇杷属植物总三萜类物质含量的测定 采用熊果酸作为总三萜类物质的测量标准,以标准物熊果酸含量绘制标准曲线,计算各样品的总三萜类物质含量。取冷藏的枇杷处理液20 μ L,放置在37℃真空干燥箱下蒸干溶剂,随后加入0.2 mL新配置的5%香草醛-冰醋酸溶液作为显色剂,再加入0.8 mL高氯酸作为稳定剂,在水浴锅中60℃加热15 min后取出,置于冰块上冷却,待完全冷却后加入5 mL冰乙酸并摇晃均匀,静置10 min后,用紫外分光光

表1 第一批试验所用枇杷属植物材料

Table 1 The first batch of *Eriobotrya* plants used in the experiment

编号 Serial number	中文名 Chinese name	学名 Scientific name	样品原产地 Origin of sample
S1	南亚枇杷	<i>E. bengalensis</i> f. Hook.	越南河内 Hanoi, Vietnam
S2	南亚枇杷窄叶变型	<i>E. bengalensis</i> f. <i>angustifolia</i> Vidal	云南昆明 Kunming, Yunnan
S3	大花枇杷	<i>E. cavaleriei</i> Rehd	广东连州 Lianzhou, Guangdong
S4	台湾枇杷	<i>E. deflexa</i> Nakai	台湾恒春 Hengchun, Taiwan
S5	台湾枇杷武夷山变型	<i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i> Nakai	广东乳源 Ruyuan, Guangdong
S6	台湾枇杷恒春变型	<i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i> Nakai	台湾恒春 Hengchun, Taiwan
S7	椭圆枇杷	<i>E. elliptica</i> Lindl.	云南大围山 Daweishan, Yunnan
S8	长叶柄枇杷	<i>E. petiolata</i> Hook.	缅甸甘基 Kan Gyi, Myanmar
S9	椭圆枇杷贝特罗变种	<i>E. elliptica</i> var. <i>petelottii</i> Vidal	越南老街 Lào Cai, Vietnam
S10	香花枇杷	<i>E. fragrans</i> Champ	广东乳源 Ruyuan, Guangdong
S11	薄叶枇杷	<i>E. fulvicoma</i> Chun & Liao	广东信宜 Xinyi, Guangdong
S12	窄叶枇杷	<i>E. henryi</i> Nakai	云南澄江 Dengjiang, Yunnan
S13	普通枇杷野生树	<i>E. japonica</i> Lindl.	广东乳源 Ruyuan, Guangdong
S14	早钟六号	<i>E. japonica</i> Lindl. 'Zaozhong No.6'	福建福州 Fuzhou, Fujian
S15	解放钟	<i>E. japonica</i> 'Jiefangzhong'	福建莆田 Putian, Fujian
S16	广西枇杷	<i>E. kwangsiensis</i> Chun	广西象州 Xiangzhou, Guangxi
S17	麻栗坡枇杷	<i>E. malipoensis</i> Kuan	云南麻栗坡 Malipo, Yunnan
S18	倒卵叶枇杷	<i>E. obovata</i> W.W. Smith	云南麻栗坡 Malipo, Yunnan
S19	波宜兰枇杷	<i>E. poilanei</i> Vidal	越南大叻 Dalat, Vietnam
S20	栎叶枇杷	<i>E. prinoides</i> Redh. & Wils	云南石屏 Shiping, Yunan
S21	大渡河枇杷	<i>E. prinoides</i> var. <i>dadunensis</i> H. Z. Zhang	四川汉源 Hanyuan, Sichuan
S22	栎叶枇杷老挝变种	<i>E. prinoides</i> var. <i>laotica</i> Vidal	老挝石缸平原 Thong Hai Hin, Laos
S23	怒江枇杷	<i>E. salwinensis</i> Hand-Mazz	云南贡山 Gongshan, Yunnan
S24	小叶枇杷	<i>E. seguinii</i> Card	广西凌云 Lingyun, Guangxi
S25	齿叶枇杷	<i>E. serrate</i> Vidal	云南景洪 Jinghong, Yunnan
S26	椭圆托叶枇杷	<i>E. stipularis</i> Craib	越南大叻 Dalat, Vietnam
S27	腾越枇杷	<i>E. tengyuehensis</i> W. W. Smith	西藏樟木 Zhangmu, Tibet
S28	解放钟 × 大红袍	<i>E. japonica</i> × <i>E. japonica</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong
S29	解放钟 × 栎叶枇杷	<i>E. japonica</i> × <i>E. prinoides</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong
S30	解放钟 × 恒春变型	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong
S31	早钟六号 × 栎叶枇杷	<i>E. japonica</i> × <i>E. prinoides</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong
S32	大红袍 × 武夷山变型	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i> f. <i>buisanensis</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong
S33	解放钟 × 台湾枇杷	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong
S34	栎叶枇杷 × 大红袍	<i>E. prinoides</i> × <i>E. japonica</i>	广东广州 Guangzhou, Guangdong

度计于 548 nm 波长处测定不同含量熊果酸的吸光值,以空白(不添加样品的显色剂)为对照,测定各样品总萜类含量,以干质量计。

1.2.5 枇杷属植物 4 种主要三萜酸含量的测定 由于熊果酸和齐墩果酸是性质相似的同分异构体,分离检测较为困难。参考前人经验,试验中考察了不同色谱柱和流动相体系对熊果酸和齐墩果酸的分离效果。测试方法 1: 色谱柱 Waters Sunfire C₁₈, 流动相 0.1% 磷酸水溶液-甲醇(14:86)(均以体积比计,下同),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 208 nm^[3];

方法 2: 色谱柱 Kromasil C₁₈, 流动相 0.1% 磷酸水溶液-乙腈,梯度洗脱,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,检测波长 208 nm^[13]; 方法 3: 色谱柱 Hypersil ODS2, 流动相乙腈-水-甲醇-乙酸铵(60:26:14:0.55),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,检测波长 215 nm^[14]; 方法 4: 色谱柱 Inertsil ODS-SP, 流动相乙腈-醋酸铵-甲醇(67:21:12),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温为室温,检测波长 210 nm^[10]。方法 5: 色谱柱 Sunfire C₁₈, 0.1% 磷酸水溶液-甲醇(2:98)为流动相流速 0.6 mL·min⁻¹,柱温为室温,检测波长 210 nm^[15]。

表 2 第二批试验所用枇杷属植物材料

Table 2 The second batch of *Eriobotrya* plants used in the experiment

编号 Serial number	中文名 Chinese name	学名 Scientific name	样品原产地 Origin of sample
JFZ	解放钟	<i>E. bengalensis</i> f. Hook.	福建莆田 Putian, Fujian
JD1	解放钟 × 大渡河枇杷 1	<i>E. japonica</i> × <i>E. prinoides</i> var. <i>dadunensis</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT7	解放钟 × 椭圆枇杷 7	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT8	解放钟 × 椭圆枇杷 8	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT13	解放钟 × 椭圆枇杷 13	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT14	解放钟 × 椭圆枇杷 4	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT15	解放钟 × 椭圆枇杷 15	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT160	解放钟 × 椭圆枇杷 160	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JT162	解放钟 × 椭圆枇杷 162	<i>E. japonica</i> × <i>E. elliptica</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTA1	解放钟 × 台湾枇杷 1	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTA5	解放钟 × 台湾枇杷 5	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTA7	解放钟 × 台湾枇杷 7	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTA8	解放钟 × 台湾枇杷 8	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTH1	解放钟 × 恒春变型 1	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTH4	解放钟 × 恒春变型 4	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	福建莆田 Putian, Fujian
JTH12	解放钟 × 恒春变型 12	<i>E. japonica</i> × <i>E. deflexa</i> f. <i>koshunensis</i>	福建莆田 Putian, Fujian



1. 椭圆枇杷; 2. 齿叶枇杷; 3. 麻栗坡枇杷; 4. 椭圆枇杷贝特罗变种; 5. 倒卵叶枇杷; 6. 广西枇杷; 7. 普通枇杷; 8. 长叶柄枇杷; 9. 薄叶枇杷; 10. 大渡河枇杷; 11. 栎叶枇杷; 12. 栎叶枇杷老挝变种; 13. 台湾枇杷; 14. 台湾枇杷恒春变型; 15. 台湾枇杷武威山变型; 16. 香花枇杷; 17. 大花枇杷; 18. 南亚枇杷; 19. 南亚枇杷窄叶变型; 20. 窄叶枇杷; 21. 小叶枇杷。

1. *E. elliptica* Lindl.; 2. *E. serrate* Vidal; 3. *E. malipoensis* Kuan; 4. *E. elliptica* var. *petelotii* J. E. Vidal; 5. *E. obovata* W. W. Smith; 6. *E. kwangsiensis* Chun; 7. *E. japonica* Lindl.; 8. *E. petiolata* Hook.; 9. *E. fulvicoma* W. Y. Chun ex W. B. Liao et al.; 10. *E. × daduheensis* H. Z. Zhang ex W. B. Liao et al.; 11. *E. prinoides* Rehd. & Wils.; 12. *E. prinoides* var. *laotica* Vidal; 13. *E. deflexa* Nakai; 14. *E. deflexa* f. *buisanensis* Nakai; 15. *E. deflexa* f. *buisanensis* Nakai; 16. *E. fragrans* Champ; 17. *E. cavaleriei* Rehd.; 18. *E. bengalensis* f. Hook.; 19. *E. bengalensis* f. *angustifolia* Vidal; 20. *E. henryi* Nakai; 21. *E. seguinii* Card.

图 1 部分枇杷属野生种材料

Fig. 1 Some wild species of *Eriobotrya* plants

通过方法 5 得到较优色谱图,对测定条件进行优化,最终确定为:色谱柱 Sunfire C₁₈,以 0.1%磷酸水溶液-甲醇为流动相进行梯度洗脱,程序为:在 0 到 5 min 内,甲醇占比由 97%升到 99.5%,在 5~25 min 时,甲醇的含量保持在 99.5%;流速 0.300 mL·min⁻¹,进样量 8 μL,柱温 20 °C;检测波长 208 nm。

绘制熊果酸、齐墩果酸、山楂酸、科罗索酸标准品溶液曲线。取冷藏的枇杷处理液,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后上机测试,进而获得枇杷属植物 4 种主要三萜酸含量。

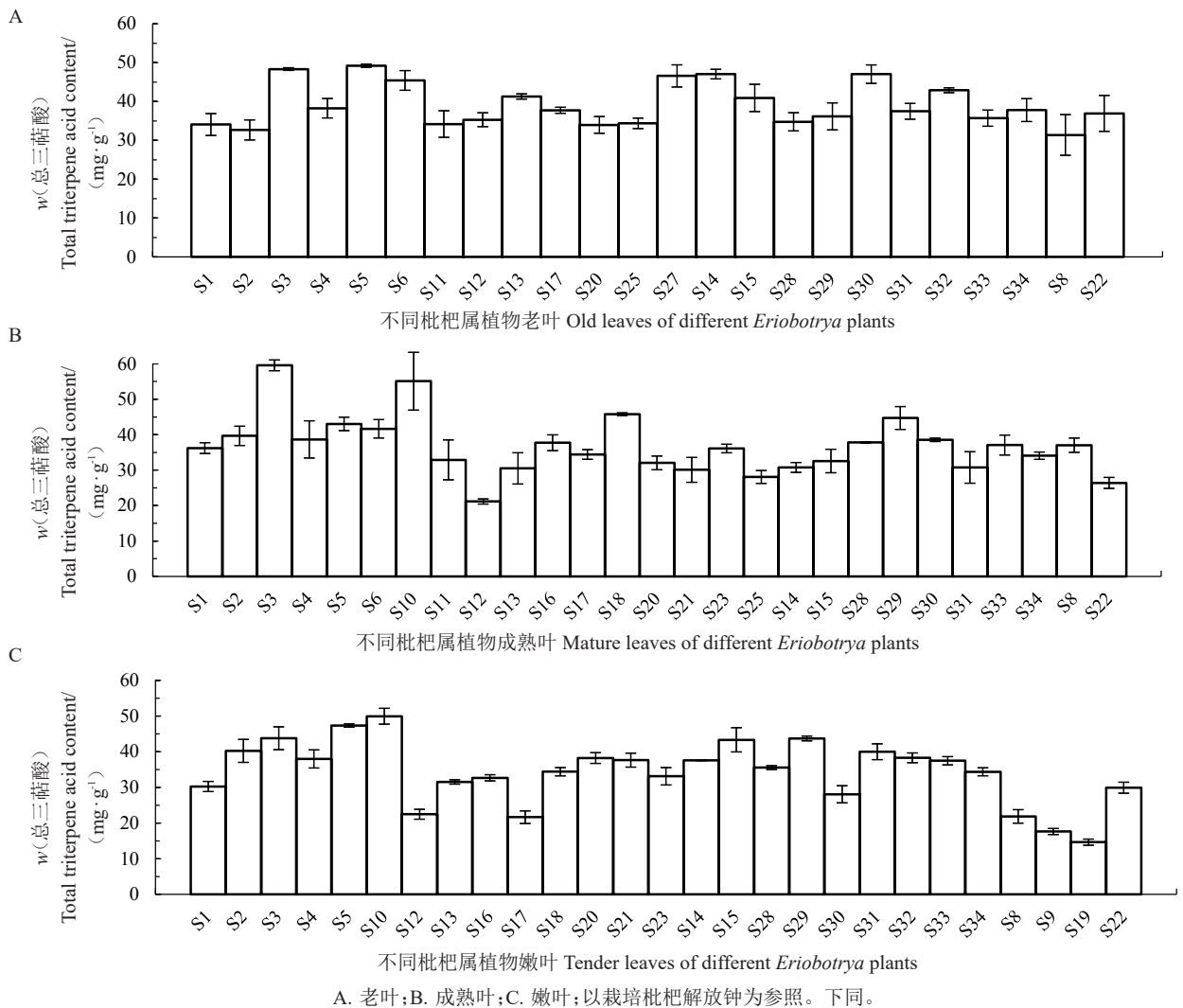
2 结果与分析

2.1 枇杷属植物不同成熟度叶片三萜酸含量分析

由图 2 可知,大部分种类各成熟度叶片之间总三萜酸含量(w,后同)无显著差异。老叶中,总三萜

酸集中分布在 30~40 mg·g⁻¹之间,以解放钟为参照,仅有 S3、S5 高于解放钟;成熟叶中,总三萜酸集中分布在 30~40 mg·g⁻¹之间,大多数枇杷种类含量高于解放钟;嫩叶中,总三萜酸集中分布在 30~40 mg·g⁻¹之间,野生枇杷与栽培枇杷及杂交后代均有 5 个种类含量高于解放钟。

从图 3 可知,老叶中山楂酸含量在 1~11 mg·g⁻¹之间,大多数种类集中在 2~4 mg·g⁻¹之间,以栽培枇杷解放钟为参照,S14、S18、S28、S30 含量高于解放钟;成熟叶中山楂酸含量在 1~6 mg·g⁻¹之间,大多数种类集中在 2~4 mg·g⁻¹之间,以栽培枇杷解放钟为参照,S1、S2、S30、S33 含量高于解放钟;嫩叶中山楂酸含量在 0.5~4 mg·g⁻¹之间,大多数种类集中在 0.5~2 mg·g⁻¹之间,以栽培枇杷解放钟为参照,S2、S4、S10、S14、S25 含量高于解放钟。



A. Old leaves; B. Mature leaves; C. Young leaves; The Jiefangzhong loquat cultivar was taken as reference. The same below.

图 2 不同成熟度叶片总三萜酸含量

Fig. 2 Total triterpene acid content in leaves with different maturity

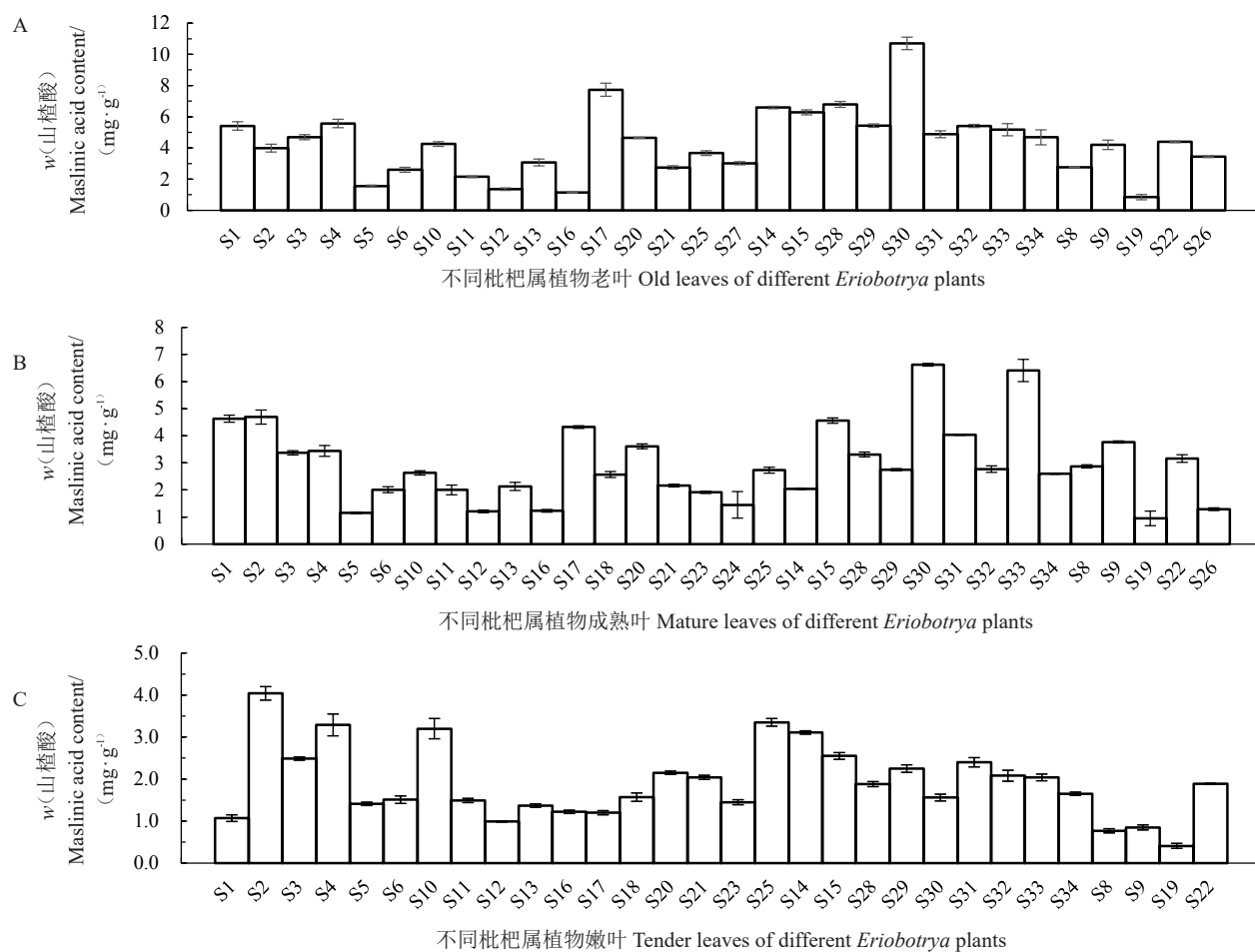


图 3 不同成熟度叶片山楂酸含量

Fig. 3 The MA content in leaves with different maturity

从图4可知,老叶中科罗素酸含量在 $2\sim 35\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $2\sim 10\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,S14、S18含量高于解放钟;成熟叶中科罗素酸含量在 $4\sim 20\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $4\sim 10\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,仅有S17含量高于解放钟;嫩叶中科罗素酸含量在 $1\sim 15\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $1\sim 5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,仅有S25含量高于解放钟。

从图5可知,老叶中齐墩果酸含量在 $1\sim 5.5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $1\sim 3\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,有一半材料含量高于解放钟;成熟叶中齐墩果酸含量在 $1\sim 3\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $1\sim 2.5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,7个种类含量高于解放钟;嫩叶中齐墩果酸含量在 $0.5\sim 3.5\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $1\sim 2\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,有23个种类含量高

于解放钟。

从图6可知,老叶中熊果酸含量在 $5\sim 28\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $5\sim 13\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,有一半材料含量高于解放钟;成熟叶中熊果酸含量在 $5\sim 20\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $5\sim 12\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,12个种类含量高于解放钟;嫩叶中熊果酸含量在 $4\sim 15\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,大多数种类集中在 $4\sim 12\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,以栽培枇杷解放钟为参照,大部分种类含量均高于解放钟。

根据中国药典^[6]规定,熊果酸与齐墩果酸含量不得低于0.7%。结合图7可知,除老叶批次的S19、S25,成熟叶批次的S23,老叶批次的S9外,其余批次样品均符合药典规定,是合格的中药材。其中台湾枇杷S4是高含量种类,老叶和成熟叶含量达到了药典规定3倍以上,嫩叶达2倍以上。含量达药典规定2倍以上的分别有19种(老叶批次)、16种(成熟

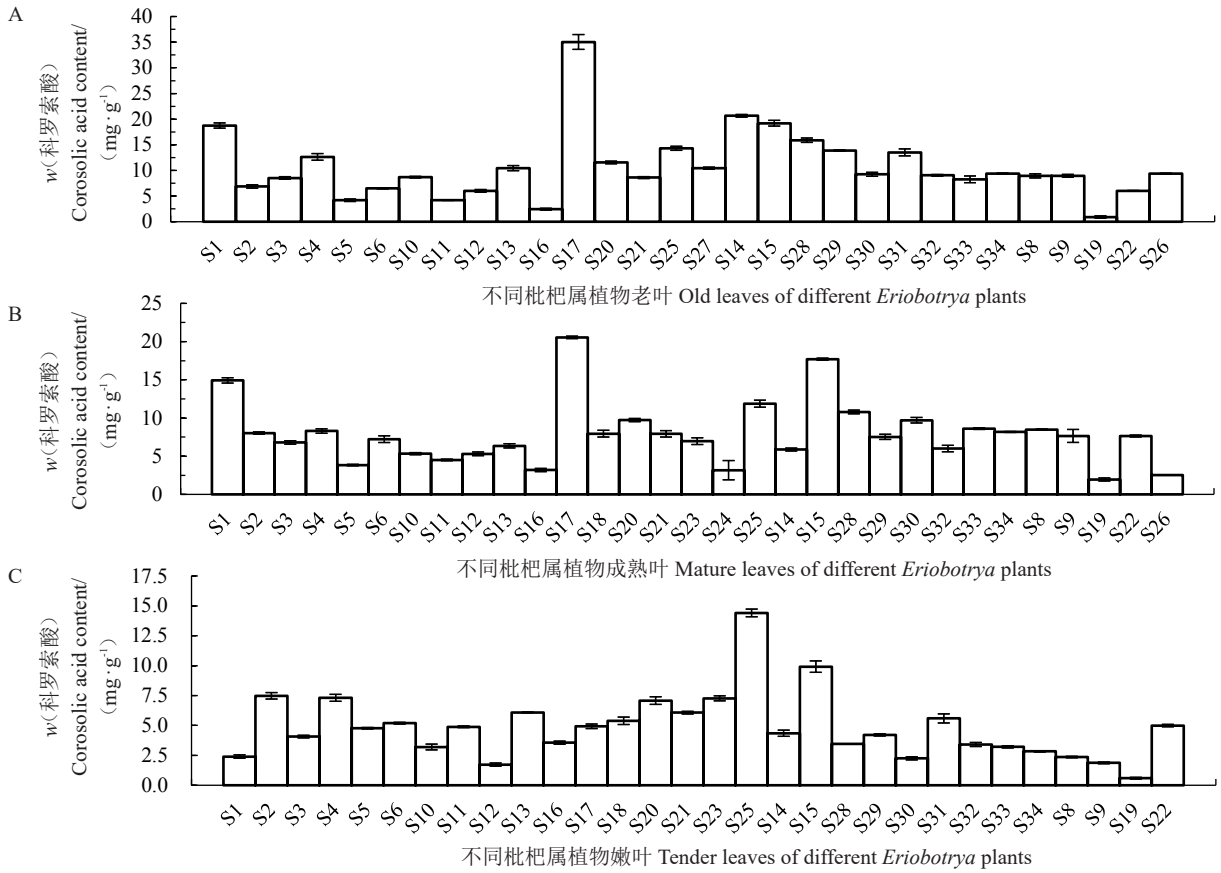


图 4 不同成熟度叶片科罗素酸含量

Fig. 4 The CA content in leaves with different maturity

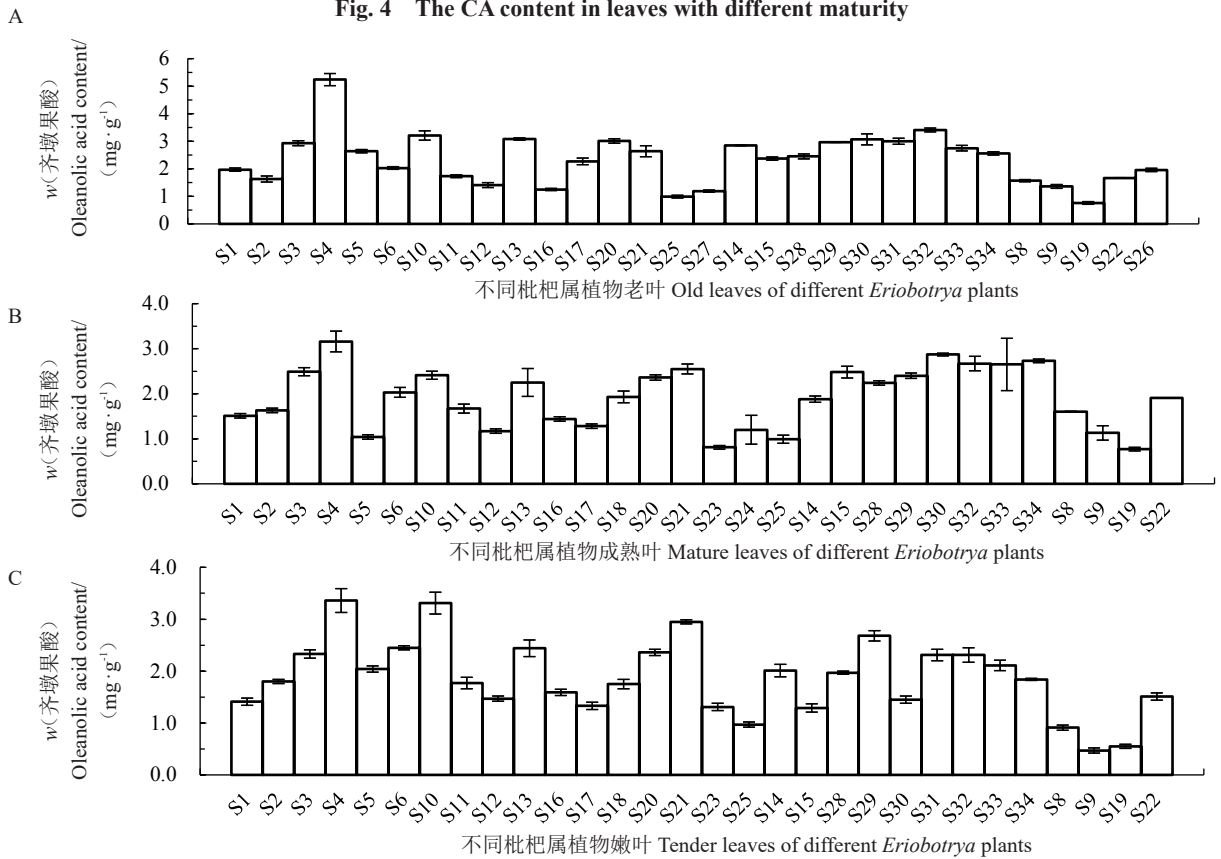


图 5 不同成熟度叶片齐墩果酸含量

Fig. 5 The MA content in leaves with different maturity

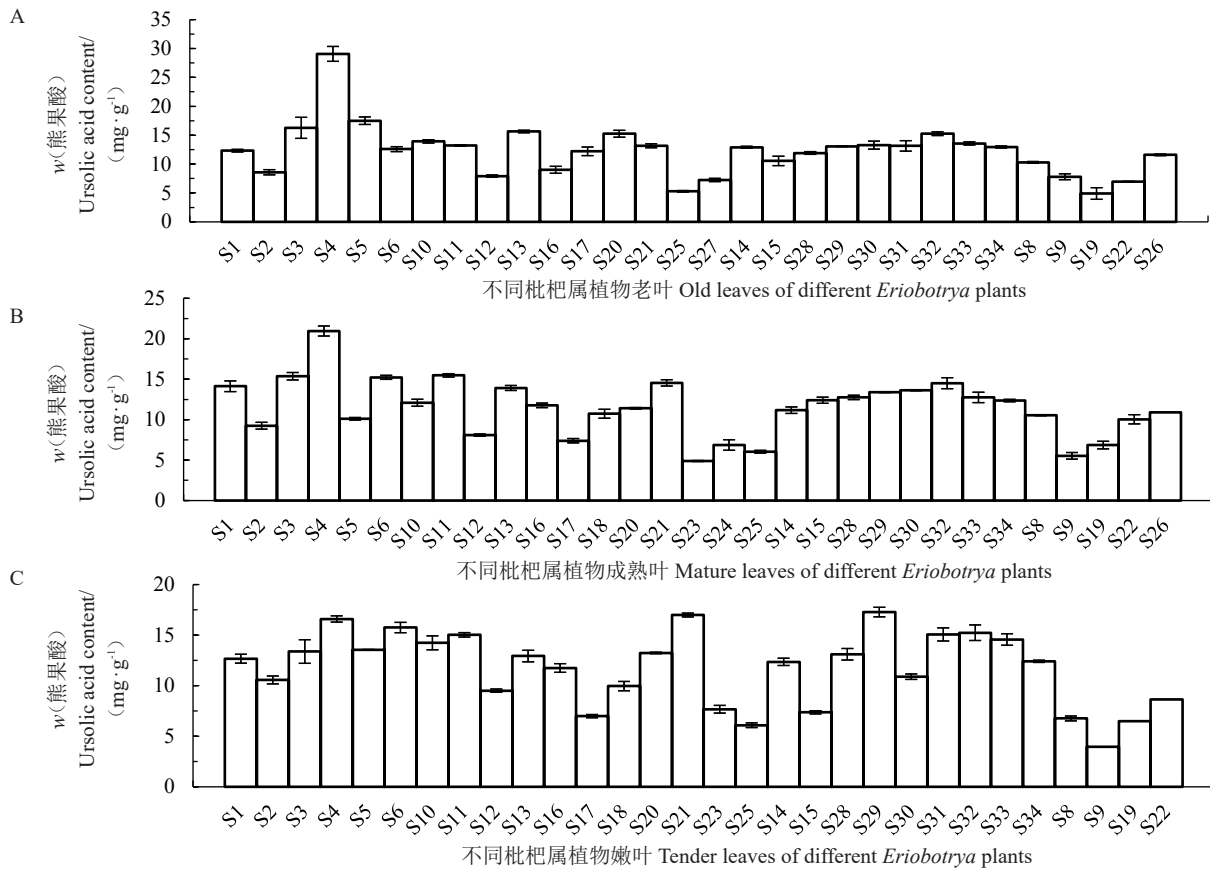


图 6 不同成熟度叶片熊果酸含量

Fig. 6 The UA content in leaves with different maturity

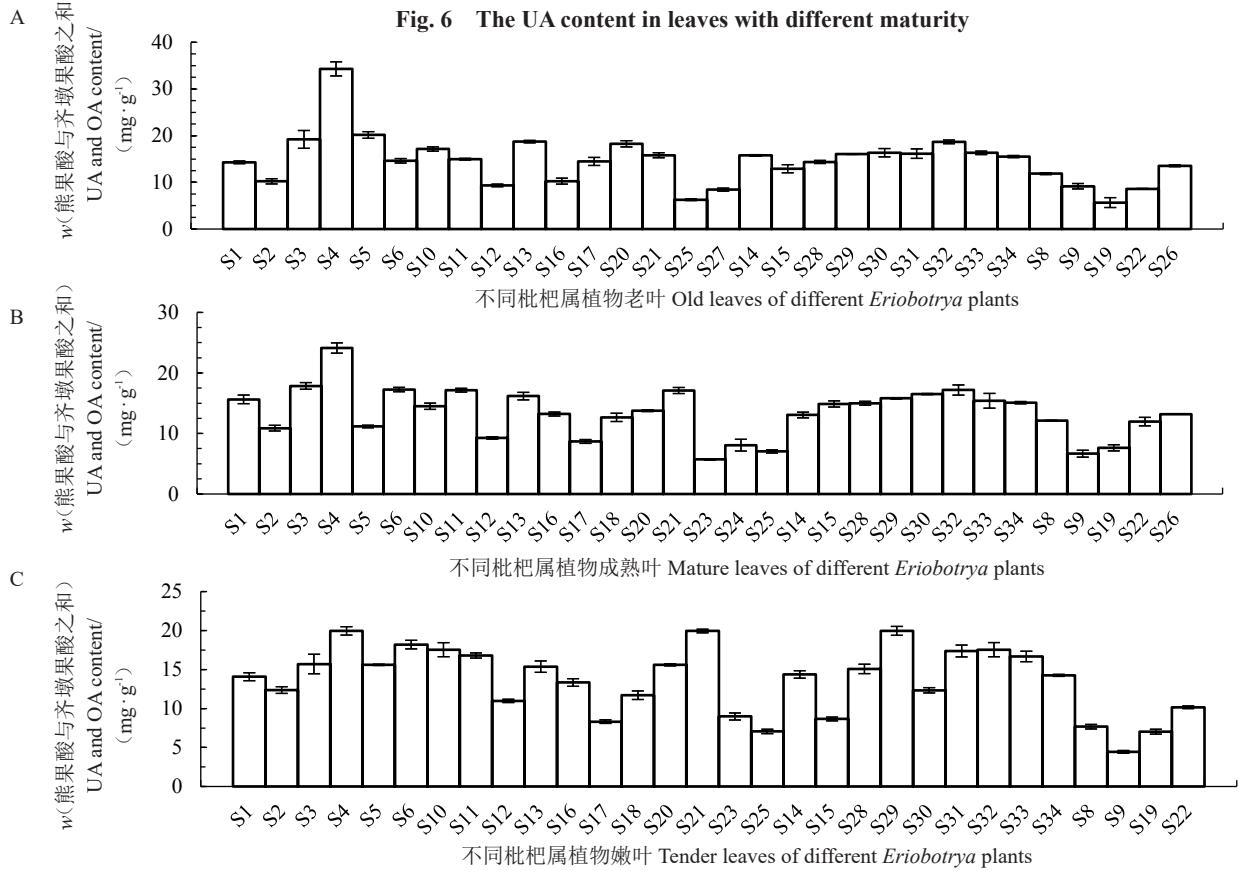


图 7 不同成熟度叶片熊果酸与齐墩果酸含量之和

Fig. 7 The UA and OA content in leaves with different maturity

叶批次)、17种(嫩叶批次)。

由图8可知,老叶中四三萜酸总含量在8~55 mg·g⁻¹之间,大多数种类集中在15~30 mg·g⁻¹之间,以栽培枇杷解放钟为参照,S4、S14、S18含量高于解放钟;成熟叶中四三萜酸总含量在10~38 mg·g⁻¹之间,大多数种类集中在10~25 mg·g⁻¹之间,以栽培枇杷解放钟为参照,仅有S31含量高于解放钟;嫩叶中四三萜酸总含量在8~30 mg·g⁻¹之间,大多数种类集中在15~25 mg·g⁻¹之间,以栽培枇杷解放钟为参照,有15个种类含量高于解放钟。

2.2 枇杷属种间杂种后代三萜酸含量分析

根据中国药典^[6]规定,枇杷叶齐墩果酸与熊果酸含量不得低于0.7%,即不低于7 mg·g⁻¹。本研究的结果显示(表3),齐墩果酸与熊果酸在不同枇杷属植物种间杂种叶片中的含量为4.74~19.65 mg·g⁻¹,其中12种种间杂种齐墩果酸与熊果酸含量高于药典标准,但低于母本解放钟的21.56 mg·g⁻¹。除JT13、

JT14和JT160外,其他种间杂种的齐墩果酸与熊果酸含量均超过药典规定的标准;其中,JTH4、JT8、JT162、JD1达到药典规定的1.5~2倍之间,JTH12、JTA1、JTH1、JTA5、JTA7、JT15和JTA8达到药典规定的2~3倍之间。

总三萜酸在不同枇杷属植物种间杂种叶片中的含量为36.79~73.20 mg·g⁻¹;其中,JT8总三萜酸的含量最高,JT162的含量最低;JT8、JT15、JTH1和JTA1的三萜酸含量超过母本解放钟的30%,分别达到1.77、1.61、1.45和1.35倍。山楂酸、科罗索酸、齐墩果酸、熊果酸四种三萜酸在不同枇杷属植物种间杂种叶片中的含量为21.39~58.80 mg·g⁻¹;其中,JT8四种三萜酸的含量最高,JT14的含量最低;仅JT8中四种三萜酸的含量超过母本解放钟的30%,达到1.45倍;有意思的是,在母本解放钟中这4种主要三萜酸含量占总三萜酸的含量达到97.75%,而枇杷属植物种间杂种叶片中4种三萜

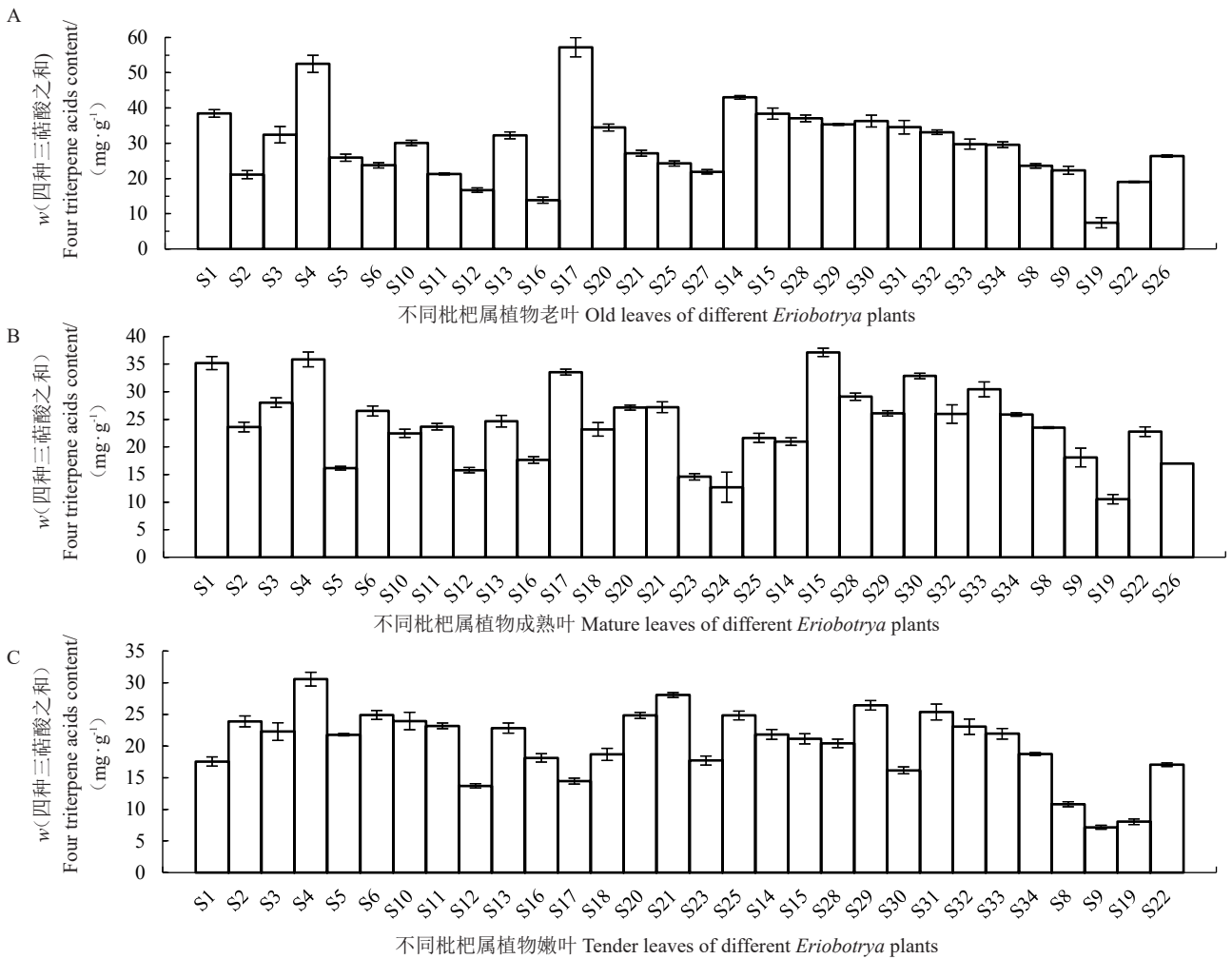


图8 不同成熟度叶片4种主要三萜酸总含量

Fig. 8 The four triterpene acid content in leaves with different maturity

酸的含量比例为42.71%~91.11%，均低于母本解放钟。

不同枇杷属植物种间杂种叶片山楂酸含量在2.30~20.76 mg·g⁻¹之间；其中JT8的山楂酸含量最高，JTA6的山楂酸含量最低；有7份种间杂种材料山楂酸含量超过母本解放钟的30%，包括JT7、JT8、JT160、JTA1、JTH1、JTH12和JD1；其中，JT8、JT160、JTH1、JTA1的山楂酸含量均超过解放钟的2倍，特别是JT8更是达到解放钟的3.22倍。种间杂种叶片科罗素酸含量在1.72~25.63 mg·g⁻¹之间；其中JT8的科罗素酸含量最高，JTA7的科罗素酸含量最低；有2份种间杂种材料科罗素酸含量超过母本解放钟的30%，包括JT7和JT8，分别达到解放钟的1.47倍和

2.06倍。种间杂种叶片齐墩果酸含量在0.19~6.84 mg·g⁻¹之间。仅JT7的齐墩果酸含量超过母本解放钟，达到1.52倍；JT14、JTA5的齐墩果酸含量不低于解放钟的70%；种间杂种叶片熊果酸含量在0.55~16.22 mg·g⁻¹之间，均低于母本解放钟；其中，JTH1、JTH12、JTA1和JTA5的熊果酸含量不低于解放钟的80%。

结果表明，多数供试种间杂种的熊果酸与齐墩果酸含量均能超过药典规定标准的1.5倍，可以作为药材枇杷叶的来源植物。JT8、JT15、JTH1和JTA1是高三萜酸含量材料，JT8是最佳的山楂酸和科罗素酸来源材料，JT7是优质的科罗素酸和最佳的齐墩果酸来源材料，JT160、JTH1、JTA1是优质的山楂

表3 母本解放钟与不同种间杂种材料三萜酸含量分析

Table 3 Analysis of triterpene acid content between female parent Jiefangzhong and different interspecific hybrids

编号 Serial number	w(山楂酸) MA content/ (mg·g ⁻¹)	w(科罗素酸) CA content/ (mg·g ⁻¹)	w(齐墩果酸) OA content/ (mg·g ⁻¹)	w(熊果酸) UA content/ (mg·g ⁻¹)	w(齐墩果酸 与熊果酸) OA and UA Content/ (mg·g ⁻¹)	w(4种主要三萜酸) Four main triterpene acid content/ (mg·g ⁻¹)	w(总三萜酸) Toal triterpene acid content/ (mg·g ⁻¹)	4种主要三萜酸占比 The percentage of four main triterpene acid content/%
JFZ	6.45	12.44	4.51	17.05	21.56	40.45	41.38	97.75
JD1	8.40	13.60	1.70	9.15	10.85	32.85	40.30	81.51
JT7	10.65	18.33	6.84	0.55	7.39	36.37	53.07	68.53
JT8	20.76	25.63	2.07	10.34	12.41	58.80	73.20	80.33
JT13	5.55	10.62	0.86	5.83	6.69	22.85	44.67	51.15
JT14	6.37	8.09	0.89	6.03	6.92	21.39	44.32	48.26
JT15	4.79	9.15	2.72	11.81	14.53	28.47	66.66	42.71
JT160	19.04	7.25	0.19	4.55	4.74	31.03	49.22	63.04
JT162	4.85	10.6	1.64	9.74	11.38	26.83	36.79	72.93
JTA1	19.25	13.59	3.06	14.93	17.99	50.84	55.80	91.11
JTA5	6.66	8.19	2.17	15.21	17.38	32.23	44.11	73.07
JTA7	7.28	1.72	2.35	12.44	14.79	23.80	40.99	58.06
JTA8	2.30	14.81	2.14	12.21	14.35	31.46	45.62	68.96
JTH1	14.32	10.00	3.44	14.21	17.65	41.98	60.00	69.97
JTH4	6.54	5.33	1.94	10.92	12.86	24.73	44.41	55.69
JTH12	11.11	10.24	3.43	16.22	19.65	41.00	53.46	76.69

酸来源材料，而最佳的熊果酸来源材料仍是母本解放钟。

3 讨 论

中药材的质量受到产地和品种、采收期、保存条件的影响。关于枇杷叶的质量控制标准，中国药典(2005年版)仅以水浸出物测定法检测，使用热浸法，测定浸出物质量，不得少于10.0%^[7]。而中国药典^[6]以齐墩果酸和熊果酸为测定指标，规定其干燥品中总含量不得低于0.7%。不少学者对枇杷叶的

质量控制方法及指标做了大量研究，初步提出了以熊果酸和齐墩果酸等主要药效活性成分含量和重金属、农药残留量标准作为质量控制指标的建议^[17]。

根据中国药典^[6]关于枇杷叶质量标准的规定，除了椭圆枇杷贝特罗变种嫩叶、波宜兰老叶以及三个椭圆枇杷与解放钟的种间杂交后代解放钟×椭圆枇杷13、14和160号外，所有批次样品的熊果酸和齐墩果酸含量均达到药典规定，可作为合格中药材，具有进一步进行药用开发的潜力。

笔者在本研究中筛选到台湾枇杷为最高熊果酸

和齐墩果酸含量种类,成熟叶达药典规定3倍以上,老叶为4倍以上。在不同成熟度的叶片材料中,嫩叶批次总含量达药典规定2~3倍之间的有17种,成熟叶批次中有16种,老叶中有20种。筛选到了14个三个成熟度含量都在药典2~3倍之间的种类,一类是大于解放钟含量30%以上的种类:台湾枇杷、大渡河枇杷、香花枇杷、解放钟×大红袍、解放钟×栎叶枇杷、解放钟×恒春变型、大红袍×武藏山变型、解放钟×台湾枇杷。第二类是大于解放钟含量20%以上的种类:大花枇杷、台湾枇杷武藏山变型、栎叶枇杷老挝变种、台湾枇杷恒春变型、早钟6号×栎叶枇杷、大红袍×武藏山变型。此外,第二批实验又筛选到7个熊果酸和齐墩果酸含量达药典规定2~3倍之间的种间杂种后代,包括解放钟×台湾枇杷1、5、7和8号、解放钟×台湾枇杷恒春变型1和12号、解放钟×椭圆枇杷15号。

除熊果酸和齐墩果酸外,山楂酸和科罗素酸也是枇杷叶的主要三萜类物质,本研究中这4种三萜酸可占到解放钟枇杷叶片总三萜酸含量的90%以上。从枇杷愈伤组织^[18]分离得到了包括山楂酸在内的三萜类物质,发现其具有抗肿瘤作用。此外,山楂酸等还具有促进动脉血管舒张^[19]等作用。科罗素酸可用于医治糖尿病和防治肥胖症^[20],可作用于胃癌细胞^[21],还可改善高血压、异常脂质代谢、氧化应激^[22],以及炎症状态^[23-24]等。笔者在本研究中还筛选到高山楂酸来源材料解放钟×椭圆枇杷8号和160号、解放钟×台湾枇杷恒春变型1号和解放钟×台湾枇杷1号,以及高科罗素酸来源材料解放钟×椭圆枇杷7号和8号。特别是解放钟×椭圆枇杷8号,山楂酸和科罗素酸含量均为种间杂种中最高,分别可达解放钟的3.22倍和2倍。

以解放钟为亲本,第一批供试的杂交组合后代的熊果酸含量均高于解放钟含量;但杂交后代的科罗素酸含量却都低于解放钟。第二批供试的杂交组合后代材料中,10种材料山楂酸含量、5种材料科罗素酸含量和1种材料的齐墩果酸含量高于解放钟,所有材料熊果酸含量均低于解放钟;此外,杂交组合后代材料中4种三萜酸的含量占总三萜酸含量的比例均低于母本解放钟。亲子代之间的三萜酸含量的传递关系值得深入研究。

本研究结果表明的多种枇杷属野生种及其杂种后代株系叶片的三萜酸含量高于普通枇杷,作为纯

天然无污染的药用枇杷叶来源潜力巨大。以野生枇杷叶片为中药的药源,避免从栽培枇杷园里取叶片导致枇杷减产;以种间杂种后代优系进行造林,更易繁殖推广开来,林药两用。这些大量的纯天然无污染枇杷叶,不但可以用以传统中药的药源,而且可以作为优质枇杷茶产品的原料来源。

4 结 论

笔者在研究中以枇杷属25个种类/变型、7个野生-栽培枇杷杂交组合的21个后代株系为试料,以3个栽培品种及种内杂种作为对照,采用HPLC分析枇杷叶片的熊果酸、齐墩果酸、山楂酸和科罗素酸等4种主要三萜酸物质含量,发现多种枇杷属野生种及其杂种后代株系叶片的三萜酸含量高于普通枇杷,作为纯天然无污染的药用枇杷叶来源潜力巨大。

参考文献 References:

- [1] 林顺权,刘月学. 枇杷属植物图谱[M]. 北京:科学出版社,2016. LIN Shunquan, LIU Yuexue. Collection of illustration for *Eriobotrya* plants[M]. Beijing: Science Press, 2016.
- [2] 原远. 枇杷叶活性提取物及其抗肺癌效能研究[D]. 广州:华南农业大学,2014. YUAN Yuan. Determination of *Eriobotrya* leaf extract and anti-cancer activity[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2014.
- [3] 龙婷. 枇杷属植物三萜酸类物质含量比较分析[D]. 广州:华南农业大学,2017. LONG Ting. Comparative analyses of triterpenoid acids content in *Eriobotrya*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017.
- [4] JUNG H A, PARK J C, CHUNG H Y, KIM J, CHOI J S. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*[J]. Archives of Pharmacal Research, 1999, 22(2):213.
- [5] 王义潮, 巩江, 高昂, 贾旭, 曹梦晔, 陈巧利, 赵婷, 侯晓艺, 倪士峰. 枇杷叶挥发油气相色谱-质谱研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(5):2637-2638. WANG Yichao, GONG Jiang, GAO Ang, JIA Xu, CAO Mengye, Chen Qiaoli, ZHAO Ting, Hou Xiaoyi NI Shifeng. Study on the volatile oil from leaves of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. by GC-MS[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(5):2637-2638.
- [6] 吕寒, 习超鹏, 陈剑, 李维林. 不同生长季节枇杷叶中三萜酸成分的含量变化[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(18):2353-2355. LÜ Han, XI Chaopeng, CHEN Jian, LI Weilin. Changes of triterpenoid acids in loquat leaves during different growing seasons[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2009, 34(18):

- 2353-2355.
- [7] 郭娜. 福建地产枇杷叶的化学品质评价[D]. 福州:福建中医药大学, 2014.
- GUO Na. Evaluation for quality of Chemical ingredients in Authentic loquat leaves from Fujian[D]. Fuzhou: Fujian university of traditional Chinese medicine, 2014.
- [8] 葛金芳, 李俊, 姚宏伟, 胡成穆, 彭磊, 金涌, 吕雄文, 张磊, 余世春. 枇杷叶三萜酸的抗炎作用[J]. 安徽医科大学学报, 2007(2):174-178.
- GE Jinfang, LI Jun, YAO Hongwei, HU Chengmu, PENG Lei, JIN Yong, LÜ Xiongwen, ZHANG Lei, YU Shichun. Anti-inflammatory effects of triterpenoid acid in loquat leaves[J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2007(2):174-178.
- [9] CHA D S, SHIN T Y, EUN J S, KIM D K, JEON H L. Anti-metastatic properties of the leaves of *Eriobotrya japonica*[J]. Archives of Pharmacal Research, 2011, 34(3):425-436.
- [10] UTO T, SAKAMOTO A, TUNG N H, FUJIKI T, KISHIHARA K, OISO S, KARIYAZONO H, MORINAGA O, SHOYAM Y. Anti-proliferative activities and apoptosis induction by triterpenes derived from *Eriobotrya japonica* in human leukemia cell lines[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(2):4106-4120.
- [11] DE TOMMASI N, DE SIMONE F, CIRINO G, CICALA C, PIZZA C. Hypoglycemic effects of sesquiterpene glycosides and polyhydroxylated triterpenoids of *Eriobotrya japonica*[J]. Planta Medica, 1991, 57(5):414-416.
- [12] SU W B, JING Y, LIN S K, YUE Z, ..., LIU Z H. Polyploidy underlies co-option and diversification of biosynthetic triterpene pathways in the apple tribe[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(20): e2101767118. DOI:10.1073/PNAS.2101767118.
- [13] 邢雅丽, 毕良武, 赵振东, 韩路路, 夏田娟. 中心复合设计法优化熊果酸和齐墩果酸的 HPLC 测试条件[J]. 林产化学与工业, 2014, 34(4):37-41.
- XING Yali, BI Liangwu, ZHAO Zhendong, HAN Lulu, XIA Tianjuan. Optimization of the HPLC condition of ursolic acid and oleanolic acid by Central Composite Design[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2014, 34(4):37-41.
- [14] 陈亚楠, 毛运芝, 冉慧, 刘世尧. 不同地方品种皱皮木瓜有机酸检测与差异分析[J]. 果树学报, 2019, 36(9):1171-11-84.
- CHEN Yanan, MAO Yunzhi, RAN Hui, LIU Shiyao. Detection and differential analysis of fruit organic acids among different local wrinkled papaya varieties (*Chaenomeles speciosa*) by GC-MS[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(9):1171-11-84.
- [15] 尚姝, 方方, 刘园. 高效液相色谱法测定枇杷润喉糖中 11 个成分的含量[J]. 药学与临床研究, 2022, 30(01):31-34.
- SHANG Shu, FANG Fang, LIU Yuan. Determination of 11 main components in Loquat Throat Candy by High Performance Liquid Chromatography[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2022, 30(01):31-34.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.
- National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, (Part I) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [17] 韩少奇. 枇杷叶质量评价的研究[D]. 广州:广东药学院, 2011.
- HAN Shaoqi. Studies on the quality assessment of *Eriobotryae Folium*[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2011.
- [18] TANIGUCHI S, IMAYOSHI Y, KOBAYASHI E, TAKAMATSU Y, ITO H, HATANO T, SAKAGAMI H, TOKUDA H, NISHINO H, SUGITA D, S SHIMURA, YOSHIDA T. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* Calli[J]. Phytochemistry, 2002, 59(3):315-323.
- [19] RODRIGUEZ-RODRIGUEZ R, PERONA J S, HERRERA M D, RUIZ-GUTIERREZ V. Triterpenic compounds from 'Orujo' olive oil elicit vasorelaxation in aorta from spontaneously hypertensive rats[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, 54(6):2096.
- [20] MIZUSHINA Y, IKUTA A, ENDOH K, OSHIGE M, KASAI N, KAMIYA K, SATAKE T, TAKAZAWA H, MORITA H, TOMIYASU H, YOSHIDA H, SUGAWARA F, SAKAGUCHI K. Inhibition of DNA polymerases and DNA topoisomerase II by triterpenes produced by plant callus[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2003, 305(2):365-373.
- [21] LEE M S, CHA E Y, THUONG P T, KIM J Y, AHN M S, SUL J Y. Down-regulation of human epidermal growth factor receptor 2/neu oncogene by corosolic acid induces cell cycle arrest and apoptosis in NCI-N87 human gastric cancer cells[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2010, 33(6):931-937.
- [22] YAMAGUCHI Y, YAMADA K, YOSHIKAWA N, NAKAMURA K, HAGINAKA J, KUNITOMO M. Corosolic acid prevents oxidative stress, inflammation and hypertension in SHR/NDmcrp rats, a model of metabolic syndrome[J]. Life Sciences, 2006, 79(26):2474.
- [23] RYU S Y, OAK M H, YOON S K, CHO D I, YOO G S, KIM T S, Kim K M. Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of *Prunella vulgaris*[J]. Planta Medica, 2000, 66(4):358-360.
- [24] SRIDHAR C, RAO K V, SUBBARAJU G V. Flavonoids, triterpenoids and a lignan from *Vitex altissima*[J]. Phytochemistry, 2005, 66(14):1707-1712.