

丁香普通粉和超微粉中丁香酚的含量
及对小鼠肠运动作用的研究

刘莉, 刘强*, 钟海岩
(南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

[摘要] 目的: 比较丁香普通粉和超微粉中丁香酚的含量; 研究其对小鼠肠运动作用的影响。方法: 采用高效液相法测定丁香中丁香酚的含量; 采用炭末法观察丁香普通粉、超微粉对小鼠肠运动的影响。结果: 丁香普通粉和超微粉中丁香酚的含量相同; 丁香能显著抑制小鼠的肠运动, 超微粉剂量为普通粉的 1/4 时, 仍具有与普通粉相同的作用; 丁香超微粉抑制小鼠胃肠运动具有一定量效关系。结论: 超微粉碎应用于丁香药材具有一定的意义, 在临床应用超微细粉时剂量可相应减少, 节约药材。

[关键词] 丁香; 超微粉; 炭末法; 肠运动
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-0128-03

Comparison of Eugenol Contents of Micropowder and Coarse Powder of
Flos Caryophylli and Their Effects on Intestinal Motility in Mice

LIU Li, LIU Qiang*, ZHONG Hai-yan
(College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To study the eugenol contents of micropowder and coarse powder of Flos Caryophylli and the effects on intestinal motility in mice. **Method:** HPLC was used to determine the contents of eugenol in ultramicro-powder and coarse powder of Flos caryophylli. Charcoal powder propelling test of intestine was used to observe the effects on intestinal mobility in mice for coarse powder and different doses of micropowder. **Result:** The contents of eugenol were the same in the two kinds of power, Flos caryophylli can obviously inhibit intestinal motility. The effects were the same when the dose of micropowder was 25 percent of that of coarse powder. There was a dose-effect relationship in inhibiting intestinal motility for micropowder. **Conclusion:** The application of super-crash in Flos caryophylli is significant. The dose of micropowder can be reduced correctly for saving medical material when it is used in clinic.

[Key words] Flos Caryophylli; micropowder; charcoal powder propelling test; intestinal mobility

丁香为桃金娘科植物丁香 *Eugenia caryophyllata* Thumb. 的干燥花蕾, 具有温中降逆、补肾助阳的功效, 主治脾胃虚寒、呃逆呕吐、食少吐泻、心腹冷痛、

肾虚阳痿^[1]。丁香富含挥发油, 但普通粉药材粉末须通过细胞壁浸润、溶胀和在浓缩梯度的作用下缓慢释放, 严重影响体内的吸收。采用超微粉碎技术, 细胞破壁, 可以大大提高有效成分的释放速度和吸收, 增强药效, 降低服用剂量^[2]。但超微粉碎后的中药粉末, 其粉体的物理化学性质均发生了一定程度的改变, 由于比表面积增大, 导致粉末易产生团聚, 吸潮, 而且由于细胞破壁, 成分完全暴露, 易使有效成分挥发或产生其他化学反应, 从而影响中药材的

[收稿日期] 2009-12-27
[基金项目] 广东省自然科学基金项目(8451051501000166)
[通讯作者] 刘强, 博士, 副教授, 研究方向中药药剂学。
Tel: (020) 61648264; E-mail: sysLL@fimmu.com
[第一作者] 刘莉, 博士, 讲师, 研究方向中药制剂和质量评价,
Tel: 13430359298, E-mail: shyshll@163.com

质量。本研究对丁香普通粉及超微粉中丁香酚的含量进行了比较,以了解超微粉碎对含挥发油类中药有效成分的影响,并进一步研究普通粉和超微粉的剂量关系及超微粉对小鼠肠运动作用的量效关系。

1 材料

1.1 药物与试剂 丁香药材购于广州广弘药材有限公司,经南方医科大学中医药学院药用植物与鉴定教研室陈兴兴讲师鉴定为丁香 *E. caryophyllata* Thumb. 的干燥花蕾。5% 的炭末混悬液(自制):取 15 g 炭末,加明胶 15 g(稳定剂),加蒸馏水配成 300 mL 混悬液;丁香酚对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110725-200209);高效液相色谱用甲醇为色谱纯;水为高纯水,其他试剂均为分析纯。

1.2 动物 昆明种小鼠,雌雄不拘,体重 18 ~22 g,60 只,南方医科大学实验动物中心提供,合格证号 200613008。

1.3 仪器 FW 型高速万能粉碎机(武汉理科光电技术有限公司);BMF-6 型倍力微粉机(济南倍力粉技术工程有限公司);Angilent HP 1100 高效液相色谱仪;G1314 A 紫外检测器;

2 方法

2.1 粉体制备 取丁香药材 2 kg,干燥,常规粉碎,过 50 目筛,得丁香普通粉;取丁香普通粉 1 kg,置超微粉碎机中粉碎(- 15 , 5 min),得丁香超微粉。

2.2 丁香普通粉和超微粉中丁香酚含量的比较

2.2.1 色谱条件 Angilent Hypersil ODS₂ 柱(4.6 mm ×250 mm,5 μm);流动相甲醇-水(60 40);柱温 30 ;流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 280 nm;进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取丁香酚对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,做为丁香酚对照品贮备液。

2.2.3 标准曲线的制备 分别精密吸取对照品贮备液 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。各精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪中,测定,测得峰面积,以对照品浓度(*X*)为横坐标,峰面积(*Y*)为纵坐标做标准曲线,得回归方程 $Y = 8.14 \times 10^3 X + 23.132$, $r = 0.999\ 9$,桂皮醛在 0.02 ~0.32 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.2.4 供试品溶液的制备 取普通粉约 0.02 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 30 mL,密塞,称定重量,超声处理 40 min,放冷,再称定质量,用甲

醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,制得丁香普通粉供试品溶液;超微粉同法处理得丁香超微粉供试品溶液。

2.2.5 精密度实验 取同一供试品液,在上述色谱条件下,测量 6 次,记录峰面积,RSD 为 0.90%,仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性实验 取供试品溶液,在制备后 2,4,6,8 h 按上述色谱条件测定,记录峰面积,RSD 为 1.03%,供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.7 加样回收率实验 取普通粉 6 份,每份约 0.01 g,精密称定,加入适量对照品溶液,按 2.2.4 项下的方法处理,按 2.2.1 项下色谱方法测定,得平均回收率为 100.46%,RSD = 1.15%,结果如表 1。

表 1 丁香酚回收率实验						
取样量 /g	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD/ %
0.0105	2.079	2	4.105	101.30		
0.0104	2.059	2	4.034	98.74		
0.0110	2.178	2	4.176	99.90	100.46	1.15
0.0109	2.158	2	4.174	100.79		
0.0111	2.198	2	4.229	101.56		
0.0103	2.039	2	3.996	97.83		

2.2.8 普通粉和超微粉的丁香酚含量 取丁香普通粉、超微粉各 3 份,每份约 0.02 g 精密称定,按 2.2.4 项下方法处理,按上述色谱条件测定,结果如表 2。

表 2 粉体中丁香酚含量测定(<i>n</i> = 3)	
组别	丁香酚含量/%
普通粉	19.8
超微粉	19.2

2.3 丁香普通粉和超微粉对小鼠肠运动的作用

2.3.1 分组 小鼠随机分成 6 组,分别为正常对照组,丁香普通粉组,丁香超微粉低、低、中、高剂量组,各组给药剂量见表 3。实验前小鼠禁食 18 h。

2.3.2 方法及结果 参照文献^[3],各组小鼠分别先 ig 给药 0.5 mL/只,20 min 后再分别 ig 相同量炭末混悬液。30 min 后脱颈椎处死小鼠,分离肠系膜,自贲门至直肠末端完整摘出,用直尺测量炭末前端距贲门的距离,计算其与胃肠道全长的百分比(炭末运动率)。

炭末运动率 = 炭末运动距离 (cm) / 小肠长度 (cm) × 100%

实验数据采用单向方差分析,结果见表 3。

表 3 丁香普通粉和超微粉对小鼠肠运动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肠运动率 / %
正常对照	0	89.31 $\pm$ 1.20
丁香普通粉	1.60	73.46 $\pm$ 1.57 ¹⁾
丁香超微粉	0.40	75.10 $\pm$ 1.50 ^{1, 2)}
	0.53	62.28 $\pm$ 0.86 ^{1, 3)}
	0.80	46.79 $\pm$ 2.47 ^{1, 4)}
	1.60	24.59 $\pm$ 1.96 ¹⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与普通粉低剂量组比较²⁾ $P < 0.01$;与中剂量组比较³⁾ $P < 0.01$;与高剂量组比较⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

3.1 超微粉碎对丁香中丁香酚含量的影响 由表 2 可以看出,超微粉碎前后丁香酚的含量并未发生变化,超微粉碎对其主要成分丁香酚的含量没有影响。该结果提示,超微粉虽然使有效成分直接暴露于表面,但在粉碎过程中,采用低温操作,可以有效成分的损失。笔者曾对丁香普通粉与超微粉中丁香酚的体外溶出实验进行了研究^[4],结果显示丁香超微粉在模拟人体胃肠道溶出介质中的最高累积溶出百分率(72.17%)较丁香普通粉(52.42%)提高了 20%,表明超微粉碎前后有效成分含量虽然没有发生变化,但超微粉碎可以大大提高丁香中丁香酚的体外溶出度,从而对其药效产生影响,这可能与丁香超微粉碎后形成的固体乳化结构有关。其体内吸收机理将在以后实验中进一步探讨。

3.2 丁香普通粉和超微粉对小鼠肠运动的作用

由表 3 可以看出,丁香有明显抑制小鼠肠运动的作用,各剂量组与正常对照组比较均有显著性差异($P < 0.01$),超微粉大剂量组与中剂量组比较有显著性差异($P < 0.01$),中剂量组与小剂量组比较有显著性差异($P < 0.01$),小剂量组与低剂量组比较有显著性差异($P < 0.01$),提示丁香超微粉抑制小鼠肠运动具有一定量效关系。丁香普通粉与超微粉低剂量组作用相似,证明丁香超微粉用量为普通粉剂量的 1/4 时,仍具有与普通粉相同的作用。笔者之前曾对丁香超微粉对离体大鼠的肠运动作用进行研究,发现丁香对大鼠离体肠呈现收缩抑制作用,并具有量效关系,与本文研究结果一致,提示丁香通过超微细粉化处理,有利于提高药效。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[J]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 3.

[2] 邵林, 邵新. 超微粒粉碎技术对部分中药疗效的作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (7): 4.

[3] 邢建峰, 封卫毅, 侯家玉. 小鼠胃排空及小肠运动实验方法的探讨[J]. 北京中医药大学学报. 2003, 26 (4): 50.

[4] 刘莉, 刘强, 吴伟健. 丁香普通粉与超微粉中丁香酚体外溶出度的比较[J]. 时珍国医国药, 2010, 21 (5).

[责任编辑 何伟]