

丁香酚、桂皮醛不同存在状态下的稳定性影响因素研究

强 皎¹, 叶炳皇², 林 丽¹, 童国勇¹, 朱 莉³, 张 军¹ (1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广东 广州 510006; 2. 中山市黄圃人民医院, 广东 中山 528306; 3. 广东药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 考察丁香酚、桂皮醛在药材细粉、挥发油、脂溶性膏剂及 β -环糊精包合物、混合物中的稳定性。方法 分别对各样品进行稳定性影响因素试验, 采用 HPLC 法测定丁香酚、桂皮醛含量, 计算保留率。结果 强光(6000 lx)照射 10 d 条件下, 丁香酚、桂皮醛在上述不同存在状态下的保留率分别为: 77.79 %、95.19 %、63.12 %、69.27 %、0.00 %、91.67 %、89.26 %、63.38 %、66.36 %、0.00 %; 高温(60 ℃)受热 10 d 条件下, 丁香酚、桂皮醛在上述不同存在状态下的保留率分别为: 83.16 %、93.98 %、77.14 %、80.30 %、23.01 %、4.36 %、90.49 %、64.00 %、84.17 %、24.92 %。结论 丁香酚、桂皮醛在不同存在状态下的光、热不稳定性不同, 本研究可为其制剂开发和贮运研究提供参考。

关键词: 丁香酚; 桂皮醛; 稳定性; HPLC 法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)01-0089-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.024

Study of Stability Influence Factors of Eugenol and Cinnamaldehyde with Different Existence State

QIANG Jiao¹, YE Binghuang², LIN Li¹, TONG Guoyong¹, ZHU Li³, ZHANG Jun¹ (1. Research and Development Center for New Chinese Drug, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Huangpu People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528306 Guangdong, China; 3. Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the stability of eugenol and cinnamaldehyde in powder, volatile oil, fat-soluble ointment, beta-CD inclusion compound and mixture. **Methods** Stability factors test was conducted for each sample, the content of eugenol and cinnamaldehyde was determined by high performance liquid chromatography(HPLC), and the retention rate was calculated. **Results** After light irradiation at 6000 lx for 10 days, eugenol had the retention rate of 77.79 %, 95.19 %, 63.12 %, 69.27 %, 0.00 %, and cinnamaldehyde had the retention rate of 91.67 %, 89.26 %, 63.38 %, 66.36 %, 0.00 % at different presence states. After heated at temperature of 60 ℃ for 10 days, eugenol had the retention rate of 83.16 %, 93.98 %, 77.14 %, 80.30 %, 23.01 %, and cinnamaldehyde had the retention rate of 4.36 %, 90.49 %, 64.00 %, 84.17 %, 24.92 % in different presence states. **Conclusion** The instability of eugenol and cinnamaldehyde varies in different presence states, and the study will provide reference for the development of their preparation and storage.

Keywords: Eugenol; Cinnamaldehyde; Stability; High performance liquid chromatography

中药丁香具有温中降逆、暖肾助阳的功效, 肉桂具有补火助阳、引火归元、散寒止痛、温经通脉的功效, 二者是临床治疗小儿腹泻的有效药对^[1-5]。丁香、

肉桂的主要有效部位为挥发油, 其中含量最高的成分分别是丁香酚和桂皮醛。现代药理研究表明, 丁香酚与桂皮醛均具有抑菌止泻、解热镇痛、抗炎等药理活

收稿日期: 2013-10-17

作者简介: 强皎, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药新药药理学研究。Email: ajiao31916@163.com。通讯作者: 张军, 教授, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 中药新药药理学研究。Email: zhjxsh@aliyun.com。

基金项目: 穿心莲等中药材规范化种植产业化推广及综合开发利用研究(2011BAI01B01)。

性^[6-7]，对临床小儿常见的感染性腹泻(细菌性痢疾)及非感染性腹泻(饮食不节、脾虚胃寒)均具有一定的疗效。《中华人民共和国药典》^[8]收录的含有丁香、肉桂的制剂品种众多，入药方式多样，如小儿腹泻外敷散中丁香、肉桂直接以细粉入药；暖脐膏中丁香、肉桂碎成细粉并与基质制成膏剂；固本统血颗粒中肉桂以其挥发油的 β -环糊精(β -CD)包合物入药；丹桂香颗粒中肉桂挥发油直接喷入药粉入药等。在丁香、肉桂上述入药方式中，其主要成分丁香酚、桂皮醛稳定性是否有差异，未见类似文献报道。本研究将丁香、肉桂药材分别碎成细粉，收集挥发油，挥发油制成脂溶性膏剂、挥发油经 β -CD包合、挥发油与 β -CD混合后，考察丁香酚、桂皮醛分别在上述存在状态下的光、热稳定性差异，为含丁香、肉桂制剂的提取工艺和成型工艺研究提供借鉴。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-20A 高效液相色谱仪(UV 检测器、LC-20AT 泵、SIL-20A 自动进样器、Labsolution 色谱工作站)，日本岛津公司；CP225D 型电子分析天平(十万分之一)，美国 Mettler Toledo；AB204-N 型电子分析天平(万分之一)，美国 Mettler Toledo；LHH-150GP 型强光稳定性试验箱，上海一恒科学仪器有限公司；LHH-250GSD 型药品稳定性试验箱，上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 试药 丁香、肉桂药材，由广东和翔制药有限公司提供(批号：110801，111201，120601)，经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定，分别为 *Caryophylli flos*、*Cinnamomi cortex*；丁香酚、桂皮醛对照品，中国食品药品检定研究院，批号：110725-201112、110710-201016；挥发油、脂溶性基质含油膏剂、挥发油 β -CD包合物、挥发油 β -CD混合物，实验室自制，批号均为120801，120802，120803； β -CD，郁南县永光环状糊精有限公司，批号：20120406；甲醇，色谱纯，德国 Merck 公司；液相用水为超纯水；其余试剂均为分析纯；所用基质辅料均为药用级。

2 方法与结果

2.1 药材细粉制备 分别称取丁香、肉桂药材适量，置中药高速粉碎机中，碎成细粉，过6号筛(100目)，即得。

2.2 挥发油的提取 取肉桂、丁香药材粉末(20目)适量，加10倍量水，浸泡2h，加热回流4h，挥发油

提取器收集挥发油，无水硫酸钠脱水，即得。

2.3 脂溶性基质含油膏剂的制备 称取羊毛脂100g(熔点45~60℃)，置60℃水浴锅，水浴至熔融状态，取出放至适宜温度，制备得脂溶性空白基质。称取脂溶性配置基质96g，加入上述挥发油约4g，混合均匀，放冷，即得含油膏剂。

2.4 β -CD 包合物的制备 按优化的制备工艺条件，取 β -CD适量，加入2倍量的水，制备 β -CD水饱和溶液，逐滴加入挥发油(挥发油用无水乙醇2倍体积使溶解)，于40℃条件下搅拌30min，冷却至室温，4℃静置24h，抽滤，沉淀水洗后用乙酸乙酯快速淋洗，40℃真空干燥，即得。

2.5 β -CD 混合物的制备 称取 β -CD60g，喷加挥发油10g，搅拌均匀，密闭放置，即得。

2.6 含量测定方法的建立

2.6.1 对照品溶液制备 精密称取丁香酚21.36mg、桂皮醛11.02mg，分别置10mL棕色量瓶中，加甲醇稀释至刻度，作为对照品贮备液。分别精密量取上述丁香酚和桂皮醛贮备液各2.5mL，置50mL棕色量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液。

2.6.2 供试品溶液的制备 称取挥发油约25mg，药材细粉、含油膏剂、 β -CD包合物、混合物及空白基质适量，精密称定，置具塞锥形瓶中，分别精密加入甲醇50mL，称定质量，超声45min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.6.3 色谱条件及系统适应性、线性关系考察、精密度考察及稳定性试验 参考本课题前期研究结果的文献报道^[9]。

2.6.4 重复性试验 精密称取同一批脂溶性基质含油膏剂(批号：120801)，按2.6.2项下方法平行制备6份供试品溶液，按上述色谱条件进行试验，结果丁香酚平均含量为17.24mg·g⁻¹，RSD为1.53%；桂皮醛平均含量为10.62mg·g⁻¹，RSD为1.78%，表明本方法重复性良好。

2.6.5 加样回收试验 精密称取已知含量的同一批脂溶性基质含油膏剂(批号：120801)9份，分别精密加入丁香酚浓度为4.30mg·mL⁻¹、桂皮醛浓度为2.60mg·mL⁻¹的混合对照品溶液0.5，1.0，1.5mL，按照2.6.2项下方法制备供试品溶液，按照上述色谱条件测定峰面积，计算回收率。丁香酚平均回收率为100.05%，RSD为0.54%；桂皮醛平均回收率为

表 1 加样回收率试验结果

Table 1 Recovery test result of eugenol and cinnamaldehyde in the samples

序号	称样量 /mg	样品中含量 /mg		对照品加入量 /mg		测得量 /mg		回收率 /%		平均回收率 /%		RSD/%	
		丁香酚	桂皮醛	丁香酚	桂皮醛	丁香酚	桂皮醛	丁香酚	桂皮醛	丁香酚	桂皮醛	丁香酚	桂皮醛
1	250.20	4.31	2.66	2.15	1.30	6.46	3.96	99.98	99.99	100.05	99.89	0.54	0.43
2	249.50	4.30	2.65	2.15	1.30	6.45	3.95	100.12	99.87				
3	251.30	4.33	2.67	2.15	1.30	6.47	3.96	99.33	98.94				
4	251.90	4.34	2.68	4.30	2.60	8.64	5.28	99.98	100.30				
5	250.50	4.32	2.66	4.30	2.60	8.63	5.26	100.15	99.91				
6	249.80	4.31	2.65	4.30	2.60	8.62	5.26	100.20	100.35				
7	251.70	4.34	2.67	6.45	3.90	10.75	6.56	99.39	99.54				
8	250.50	4.32	2.66	6.45	3.90	10.78	6.57	100.15	100.12				
9	249.60	4.30	2.65	6.45	3.90	10.83	6.55	101.19	100.03				

99.89 %，RSD 为 0.43 %，见表 1。结果表明，本方法回收率良好，符合定量分析要求。

2.7 强光试验 分别将上述各样品用透明塑料袋密封后置于 LHH-150GP 型药品强光稳定性试验箱中，

25 ℃ 下于照度为 6000 lx 条件下放置 10 d，在 0，3，5，10 d 取样，按照 2.6.2 项下方法制备供试品溶液，按照 2.6.3 项下色谱条件测定峰面积，计算各指标成分保留率，结果见表 2。

表2 丁香酚、桂皮醛不同存在状态下的强光试验结果

Table 2 Light test result of eugenol and cinnamaldehyde in different presence state

时间 /d	丁香酚保留率 /%					桂皮醛保留率 /%				
	药材	挥发油	膏剂	包合物	混合物	药材	挥发油	膏剂	包合物	混合物
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	78.70	95.81	84.45	76.47	8.75	98.62	96.87	75.31	72.35	3.18
5	78.00	95.49	78.85	71.40	3.51	92.10	93.03	74.11	68.76	0.59
10	77.79	95.19	63.12	69.27	0.00	91.67	89.26	63.38	66.36	0.00

表 2 显示，强光照射条件下，不同存在状态的丁香酚、桂皮醛稳定性有较大差异。药材细粉中丁香酚减损较显著，桂皮醛减损不大；挥发油中两成分未见明显损失；脂溶性膏剂与 β -CD 包合物中两成分减损明显；挥发油与 β -CD 混合物中两成分减损剧烈。

2.8 高温试验 将上述各样品用纯铝袋真空密封后置于 LHH-250GSD 型药品稳定性试验箱中，分别在 40 ℃、60 ℃ 条件下放置 10 d，于 0，3，5，10 d 取样，按照 2.6.2 项下方法制备供试品溶液，按照 2.6.3 项下色谱条件测定峰面积，计算各指标成分保留率，结果见表 3、表 4。

表 3、表 4 显示，40 ℃、60 ℃ 受热条件下，不同存在状态的丁香酚、桂皮醛稳定性亦有较大差异。药材细粉中丁香酚略有减损，而桂皮醛减损剧烈；挥发油中两成分均能较好保留；脂溶性膏剂中两成分有较多降解；挥发油 β -CD 包合工艺显示了对两成分的受热保护效果；挥发油与 β -CD 混合物在受热贮存过程中两成分减损显著。

3 讨论

实验结果表明丁香酚、桂皮醛的光、热稳定性在不同存在状态下有较大差异。挥发油单独贮存条件

表 3 丁香酚、桂皮醛不同存在状态下的高温试验结果(40 ℃)

Table 3 Temperature test result of eugenol and cinnamaldehyde in different presence state(40 ℃)

受热时间 /d	丁香酚保留率 /%					桂皮醛保留率 /%				
	细粉	挥发油	膏剂	包合物	混合物	细粉	挥发油	膏剂	包合物	混合物
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
3	89.45	97.22	92.94	94.14	75.60	85.29	100.05	85.86	96.90	79.33
5	88.74	96.37	76.54	92.01	67.87	75.70	94.08	75.12	94.55	66.76
10	88.97	94.20	73.36	92.54	58.58	60.52	92.23	74.38	91.43	60.40

表 4 丁香酚、桂皮醛不同存在状态下的高温试验结果(60 ℃)

Table 4 Temperature test result of eugenol and cinnamaldehyde in different presence state(60 ℃)

受热时间 /d	丁香酚保留率 /%					桂皮醛保留率 /%				
	药材	挥发油	膏剂	包合物	混合物	药材	挥发油	膏剂	包合物	混合物
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
3	88.07	95.78	88.19	81.78	28.29	23.80	98.39	82.06	89.00	31.92
5	85.90	95.02	79.10	80.30	27.21	11.57	93.17	71.89	85.81	29.08
10	83.16	93.98	77.14	80.30	23.01	4.36	90.49	64.00	84.17	24.92

下，光、热稳定性较佳；在固体制剂常用的挥发油固化工艺中，β-CD 包合工艺与混合工艺相比，显示了更好的稳定性；在半固体制剂中如软膏，丁香酚、桂皮醛的光、热稳定性欠佳，需要考虑稳定化措施。两成分的光、热不稳定性可能由于丁香酚中含有活泼的酚羟基(C-OH)，桂皮醛中含有活跃的醛基(H-C=O)，二者在光、热条件下易氧化或降解所致。如有研究报道^[10]肉桂油 β-CD 包合物中的桂皮醛有逐渐变成桂皮酸的趋势，在后续研究中，我们将结合药理药效学实验对两成分在不同存在状态下的稳定性差异的具体原因做进一步的分析论证。研究结果提示含丁香、肉桂的制剂需关注其稳定性及对药效的影响，本研究可为丁香、肉桂临床用药、制剂开发和贮运条件提供借鉴。

参考文献：

[1] 吴清和. 中药药理学[M]. 北京：高等教育出版社，2007：128.

[2] 黄兆胜. 中药学[M]. 北京：人民卫生出版社，2002：228-231.
[3] 陈天丽，张红，周春英. 丁香外用的临床及实验研究概述[J]. 山东中医杂志，2009，28(2)：139-141.
[4] 罗璟. 小儿腹泻的中医药治疗现状[J]. 天津药学，2010，22(3)：58-61.
[5] 刘彬媛，赵琼，陈玲. 小儿腹泻的中医药治疗研究进展[J]. 中医药导报，2011，17(7)：96-97.
[6] 邱电，张魁华，方炳虎. 丁香酚的药理作用[J]. 动物医学进展，2007，28(8)：101-103.
[7] 张荣发. 桂皮醛的药理作用研究进展 [J]. 中国药业，2008，17(10)：75-76.
[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2010：501，1187，817，581.
[9] 张军，叶炳皇，陈威，等. HPLC 法测定复方挥发油包合物中桂皮醛、丁香酚、苍术素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志，2013，19(3)：86.
[10] 郭涛，宋洪涛，颜秀涛，等. 肉桂油 β-环糊精包合物的稳定性考察[J]. 中国中药杂志，2000，26(7)：411.

(编辑：修春)

(上接第 50 页)

呈现较佳的量效对应关系，提示 miR133a 相对表达量可能受其他因素的影响，也可能是由于心力衰竭的形成是一个慢性过程，而本研究检测 miR133a 的表达仅选取了一个时间点，故未能更好地揭示其变化规律，尚有待进一步深入探讨 miR133a 与心力衰竭的关系，为慢性心力衰竭的基因转录后水平的机理作出有益探索。

参考文献：

[1] 张双伟，冼绍祥. 毛冬青在慢性心力衰竭中抗炎作用的临床研究[J]. 广州中医药大学学报，2012，29(2)：120-123.
[2] 张学群，陈洁，孟磊，等. 毛冬青对腹主动脉缩窄大鼠内皮功能的影响[J]. 新中医，2012，44(12)：131-132.
[3] 孟磊，陈洁，孙敬和，等. 毛冬青对慢性心衰大鼠心室重构及心功能的影响[J]. 中药新药与临床药理，2012，23(4)：435-437.
[4] 陈洁，冼绍祥，杨忠奇. 毛冬青对慢性心衰大鼠基质金属蛋白酶-1 及其抑制剂影响的研究[J]. 中国中医药科技，2013，20(1)：40-

41.
[5] Chen X, Wang K, Chen J, et al. In vitro evidence suggests that miR-133a-mediated regulation of uncoupling protein 2(UCP2) is an indispensable step in myogenic differentiation[J]. J Biol Chem, 2009, 284(8)：5362-5369.
[6] Schipper ME, Van Kuik J, De Jonge N, et al. Changes in regulatory microRNA expres sion in myocardium of heart failure patients on left ventricular assist device support[J]. J Heart Lung Transplant, 2008, 27(12)：1282-1285.
[7] Danowski N, Manthey I, Jakob HG, et al. Decreased expression of miR-133a but not of miR-1 is associated with signs of heart failure in patients undergoing coronary bypass surgery[J]. Cardiology, 2013, 125(2)：125-130.
[8] 史振羽，靳利利. 慢性心力衰竭动物模型的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志，2012，20(9)：1427-1429.
[9] 马力，刘杰，初楠，等. B 型钠尿肽评价心力衰竭大鼠心功能的实验研究[J]. 中国急救医学，2007，27(5)：430-432.

(编辑：宋威)