

2-羟丙基- β -环糊精对大蒜油溶解度及稳定性的影响

宋洪涛¹, 郭涛², 张跃新², 韩薇³, 王志远³, 何进², 何仲贵³

(1. 南京军区福州总医院 药学科, 福建 福州 350025; 2. 沈阳军区总医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110016;

3. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 考察2-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)对大蒜油溶解度及稳定性的影响。方法 采用GC法测定大蒜油中大蒜素,以大蒜素为指标,测定其在不同质量浓度HP- β -CD水溶液中的溶解度,比较大蒜油HP- β -CD包合物水溶液与大蒜油聚山梨酯-80水溶液对热和光的稳定性。考察不同pH值、抗氧化剂、氮气及灭菌等对5% HP- β -CD水溶液中大蒜油中大蒜素的稳定性的影响。结果 HP- β -CD可显著增加大蒜油中大蒜素在水中的溶解度,并且随着HP- β -CD质量浓度的增加,大蒜素的溶解度呈线性增加;在pH值为5.0时,大蒜油HP- β -CD包合物水溶液具有较高的稳定性,充氮可增加其稳定性,抗氧化剂的加入以及热、光均会加速大蒜素的分解;大蒜油HP- β -CD包合物水溶液中大蒜素的稳定性显著高于大蒜油聚山梨酯-80水溶液的稳定性。结论 HP- β -CD对大蒜油中的大蒜素具有显著的增溶作用,可提高大蒜油的稳定性。

关键词:大蒜油;大蒜素;2-羟丙基- β -环糊精;溶解度;稳定性

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)02-0199-04

Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on solubility and stability of garlic oil

SONG Hong-tao¹, GUO Tao², ZHANG Yue-xin², HAN Wei³,

WANG Zhi-yuan³, HE Jin², HE Zhong-gui³

(1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China;

2. Department of Pharmacy, The General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016,

China; 3. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) on the solubility and stability of garlic oil. **Methods** The solubility of allicin of garlic oil in various concentration of HP- β -CD water solution was determined by GC. The content of allicin was used as an index to compare the stability of garlic oil HP- β -CD water solution with garlic oil Tween-80 water solution under the conditions of 40 °C, 60 °C, and light (4 500 lx). The effects of pH value, antioxidants, nitrogen gas, and sterilizing on the stability of allicin of garlic oil in 5% HP- β -CD water solution were investigated. **Results**

The solubility of allicin of garlic oil in water could be improved remarkably by HP- β -CD and increased linearly along with the increasing of HP- β -CD concentration. The allicin of garlic oil was more stable in HP- β -CD water solution than in Tween-80 water solution while in pH value 5.0 and with nitrogen gas. The stability of allicin of garlic oil was decreased under the conditions of heating, lighting, or adding antioxidants. **Conclusion** HP- β -CD could evidently increase the solubility of allicin of garlic oil in water and improve its stability.

Key words: garlic oil; allicin; 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD); solubility; stability

大蒜油为百合科葱属植物大蒜 *Allium sativum* L. 的地下鳞茎经粉碎后加水蒸馏而得到的挥发油,具有抗菌、抗病毒、降脂、抗癌等活性,临床用于治疗深部真菌感染等疗效显著^[1,2]。但大蒜油难溶于水,其主要成分烯丙基硫醚类化合物性质不稳定,易分解^[3]。曾有人采用聚山梨酯-80作为增溶剂制备成大蒜油注射液,但由于聚山梨酯-80具有溶血及心

血管抑制作用^[4,5],目前已不主张用于静脉注射。2-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)具有轻微溶血作用、明显增加药物的水溶性和稳定性等特点,被认为是极有潜力的注射用药物的增溶剂和稳定剂^[6]。本实验采用HP- β -CD增加大蒜油在水中的溶解度,并考察其稳定性及其影响因素,以期为进一步制备大蒜油HP- β -CD包合物注射剂奠定基础。

收稿日期:2005-04-24

基金项目:辽宁省科学技术基金资助项目(20022059)

作者简介:宋洪涛(1968—),男,山东肥城人,博士,主任药师,主要从事药剂学方面的研究。

Tel: (0591) 83707254 E-mail: sohoto@sohu.com

1 仪器与材料

GC-8A 型气相色谱仪, FID 检测器(日本岛津株式会社); pHs-10C 型数字酸度/离子计(浙江省萧山市科学仪器厂); LXJ I 型离心沉淀机(上海医疗器械三厂); YKH-I 型液体快速混合器(江西医疗器械厂); HZQ-C 型空气浴振荡器(哈尔滨市东联电子科技发展有限公司); DF-101S 型恒温加热磁力搅拌机(巩义市英峪予华仪器厂)。

大蒜油(山东济宁大蒜精油金贵食用油公司); 大蒜素(沈阳军区总医院药剂科精制, 质量分数 > 99.0%); 2-羟丙基- β -环糊精(陕西礼泉化工实业有限公司); 萘(江苏省镇江市遵义化工厂); 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 GC 法测定大蒜素

2.1.1 色谱条件: 固定液: 10% PEG-20M; 担体: Chromosorb w (Aw-DMCS) 80~100 目; 柱: 螺旋形石英玻璃柱 (3 m × 2.6 mm); 柱温: 150 °C; 气化室温度: 170 °C; 检测器: FID; 检测温度: 170 °C; 氮气压力: 98 kPa; 氢气压力: 35 kPa; 空气压力: 25 kPa。内标: 萘。在该色谱条件下, 大蒜素与大蒜油中的其他色谱峰及萘的色谱峰分离完全, 峰形良好, 表明本实验条件适合于大蒜素的测定。色谱图见图 1。

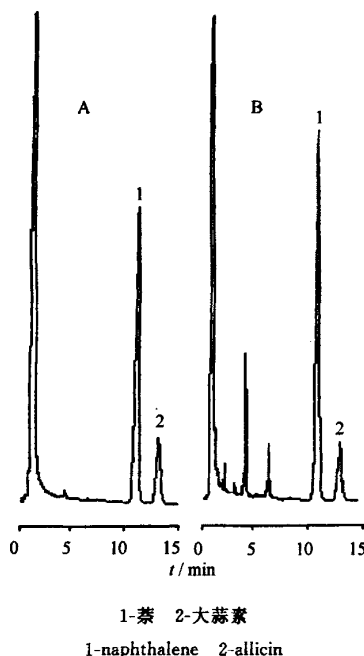


图1 大蒜素对照品(A)和大蒜油(B)的气相色谱图

Fig. 1 GC Chromatograms of alliin reference substance (A) and garlic oil (B)

2.1.2 对照品溶液制备: 精密称取大蒜素对照品

500 mg, 加正己烷溶解后, 移至 50 mL 量瓶中, 正己烷稀释至刻度, 混匀, 作为对照品溶液 (10 mg/mL)。

2.1.3 内标溶液的制备: 精密称取萘内标物 250 mg, 加正己烷溶解后, 移至 50 mL 量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 混匀, 作为内标储备溶液 (5 mg/mL)。精密吸取内标储备溶液 (5 mg/mL) 4 mL 置 100 mL 量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 混匀, 作为内标溶液 (0.2 mg/mL)。

2.1.4 线性关系考察: 精密取对照品溶液 4.0、2.0、1.5、1.0、0.5、0.2、0.1、0.05、0.02 mL 置 10 mL 量瓶中, 加入内标储备溶液 (5 mg/mL) 0.4 mL, 然后分别加入正己烷至刻度, 混匀, 备用。精密吸取 5% HP- β -CD 水溶液 2 mL, 置 15 mL 具塞刻度试管中, 然后精密加入 5 mL 上述液体, 涡旋混匀 5 min, 离心 (3 000 r/min) 10 min, 吸取上清液 1 μ L 进样进行 GC 测定。以被测组分与内标的峰面积比为纵坐标, 被测组分的质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 结果大蒜素在 0.02~4 mg/mL 线性关系良好, 回归方程: $Y=1.254 X-0.0213$, $r=0.9999$ 。

2.1.5 精密度试验: 测定高、中、低 3 种质量浓度的对照品溶液多份, 计算所测质量浓度的 RSD, 结果大蒜素的日内 RSD 为 0.6%, 日间 RSD 为 1.1%。

2.1.6 加样回收率试验: 分别将适量 HP- β -CD 水溶液、 β -CD 饱和水溶液和蒸馏水, 置于刻度离心试管中, 精密加入大蒜素对照品溶液适量后, 再精密加入内标溶液 (0.2 mg/mL) 5 mL 密封, 涡旋振荡 2 min, 离心 (3 000 r/min) 10 min, 吸取上清液, 进样 1 μ L, 在拟定色谱条件下进行测定, 计算加样回收率。结果大蒜素在 5%、10%、20% HP- β -CD 溶液以及饱和 β -CD 溶液、水中的加样回收率分别为 98.7%、98.2%、99.0%、98.1% 和 97.2%, RSD 分别为 1.6%、1.1%、1.4%、2.0% 和 2.6%。

2.2 HP- β -CD 对大蒜油的增溶试验: 精密称取 HP- β -CD 适量, 配制成不同质量浓度的水溶液, 另取饱和 β -CD 水溶液和蒸馏水, 分别加入过量大蒜油, 密封, 于室温 (25 °C) 空气浴恒温振荡 24 h, 取上清液用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 精密吸取续滤液适量, 置 15 mL 具塞刻度试管中, 精密加入内标溶液 (0.2 mg/mL) 适量, 密封, 涡旋振荡 2 min, 离心 (3 000 r/min) 10 min, 进样 1 μ L, 在拟定色谱条件下进行测定, 结果见表 1。

2.3 大蒜油 HP- β -CD 包合物水溶液中大蒜素稳定性的影响因素考察: 称取大蒜油 6 g, 置 250 mL 具塞锥形瓶中, 加入 5% HP- β -CD 水溶液 1000 mL,

表 1 大蒜油中大蒜素的溶解度
Table 1 Solubility of allicin of garlic oil

HP-β-CD/(g · mL ⁻¹)	溶解度/(mg · mL ⁻¹)	增溶倍数
0	0.008	—
0.01	0.102	12.8
0.025	0.300	37.5
0.050	0.656	82
0.075	0.975	122
0.10	1.192	149
0.15	2.008	251
0.20	2.635	329
0.30	3.718	465
0.40	4.976	622
0.50	6.444	806
饱和 β-CD	0.011	1.38

密封,磁力搅拌 20 min,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液冷藏备用。进行以下试验:

2.3.1 pH 值的影响:精密吸取大蒜油 HP-β-CD 水溶液适量,分别用 1% 盐酸或 1% 氢氧化钠溶液调节 pH 值分别为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、7.0、8.0、9.0,灌封于 5 mL 安瓿中,40 ℃ 放置。分别于一定时间精密吸取适量测定大蒜素,见图 2。结果表明,大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中的大蒜素在 pH 5.0 时稳定性较高。

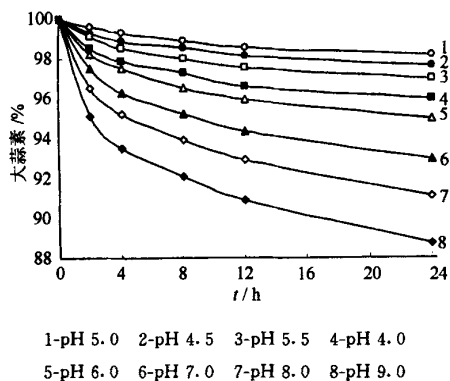


图 2 pH 值对大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜素稳定性的影响

Fig. 2 Effects of pH value on stability of allicin of garlic oil HP-β-CD water solution

2.3.2 抗氧化剂与充氮的影响:在大蒜油 HP-β-CD 水溶液中分别加入 0.2% 亚硫酸氢钠、0.2% 焦亚硫酸钠、0.05% 半胱氨酸,用 1% 盐酸溶液调节 pH 值为 5.0 后灌封于 5 mL 安瓿中。另取大蒜油 HP-β-CD 水溶液,调节 pH 值为 5.0,1 份不充氮、1 份在充氮的条件下灌封于 5 mL 安瓿中,于 40 ℃ 条件下进行试验,并分别于规定时间取样测定大蒜素,见图 3。结果表明,亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、半胱氨酸不仅没有增加大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜

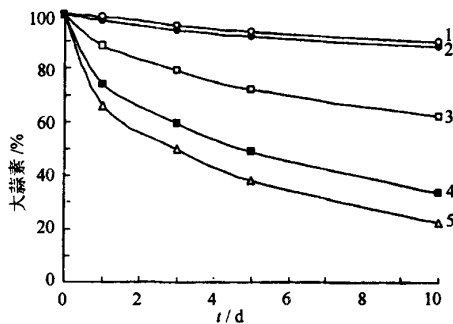


图 3 抗氧化剂与充氮对大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜素稳定性的影响
Fig. 3 Effects of antioxidants and nitrogen gas on stability of allicin of garlic oil HP-β-CD water solution

素的稳定性,反而促进了其分解。充氮可增加大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜素的稳定性,但影响不显著。

2.3.3 100 ℃ 灭菌的影响:取大蒜油 HP-β-CD 水溶液,调节 pH 值为 5.0,充氮,灌封于 5 mL 安瓿中。于 100 ℃ 沸水浴条件下进行试验,并分别于规定时间取样测定大蒜素,见图 4。结果表明,在 100 ℃ 灭菌条件下,大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜素于 30 min、45 min 后分别降低约 18%、22%。

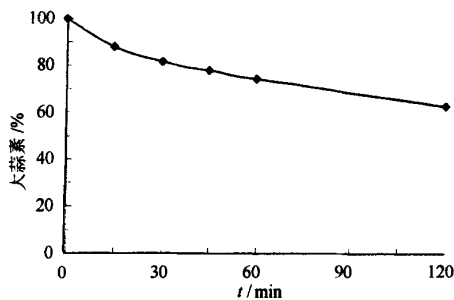


图 4 100 ℃ 灭菌对大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜素稳定性的影响

Fig. 4 Effects of 100 ℃ sterilizing on stability of allicin of garlic oil HP-β-CD water solution

2.3.4 不同增溶剂的影响:取大蒜油 HP-β-CD 水溶液,调节 pH 值为 5.0,充氮,灌封于 5 mL 安瓿中。另取大蒜油适量,加入聚山梨酯-80 增溶,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后,充氮,灌封于 5 mL 安瓿中。分别于 40 ℃、60 ℃ 和光照(4 500 lx)条件下进行试验,并分别于规定时间取样测定大蒜素见表 2。

表 2 不同增溶剂对大蒜油水溶液中大蒜素稳定性的影响
Table 2 Effects of various solubilizers on stability of allicin of garlic oil water solution

试验条件	增溶剂	大蒜素/%		
		0 d	5 d	10 d
40 ℃	HP-β-CD	100	93.9	90.2
	聚山梨酯-80	100	83.6	73.1
60 ℃	HP-β-CD	100	83.7	72.7
	聚山梨酯-80	100	73.9	57.8
光照	HP-β-CD	100	96.6	92.3
	聚山梨酯-80	100	90.1	81.9

结果表明,大蒜油聚山梨酯-80 水溶液中的大蒜素对热和光极不稳定,以 HP-β-CD 作为增溶剂虽具有较好的稳定作用,但仍无法满足制成注射剂的标准。

3 讨论

大蒜素为大蒜油的主要有效成分之一,且量较高,故本研究以大蒜素作为大蒜油的主要指标性成分。在本实验色谱条件下,大蒜素与大蒜油中的其他色谱峰及内标素的色谱峰分离完全,峰形良好,采用气相色谱法测定大蒜素,方法简便、快速、准确,可作为大蒜油及其水溶液中大蒜素的定量测定方法。

大蒜油中的大蒜素在水中的溶解度很低,β-CD 对其的增溶作用较低,而 HP-β-CD 对大蒜素具有显著的增溶作用,并且随着 HP-β-CD 质量浓度的增加,大蒜素的溶解度呈线性增加,1% HP-β-CD 可使大蒜素在水中的溶解度增大 12.8 倍,50% HP-β-CD 则可增加 806 倍,用 HP-β-CD 作为增溶剂的大蒜油水溶液澄明度良好。

大蒜油中的大蒜素在水中极不稳定,在偏酸特别是在偏碱条件下,其分解速度显著加快,经测定其最适 pH 值约为 5。水溶性抗氧剂的加入不仅不会提高大蒜素的稳定性反而加速其分解,充氮虽有增加大蒜素稳定性的作用,但影响不显著。在 100 ℃ 灭菌条件下,大蒜油 HP-β-CD 包合物水溶液中大蒜素于 30 min、45 min,分别降低约 18%、22%。大蒜素对酸、碱、热、光均不稳定,与以聚山梨酯-80 为增溶剂的大蒜油水溶液相比,HP-β-CD 虽可显著提高大蒜素的稳定性,但仍无法满足制成注射剂的标准。故应考虑制成粉针剂且避光冷藏为宜。

References:

[1] Luo D, Fang F. Research development of pharmacology action of garlic effective components [J]. *Her Med* (医药导报), 2004, 23 (1): 379-381.
[2] Yan M, Guo T, Zhang M X, et al. The inhibitory and bactericidal action of diflucan, allitridi and garlic oil injection against system fungi [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17 (3): 214-216.
[3] Wu D K, Yin X W. Studies on the stability of allicin [J]. *Food Sci* (食品科学), 1997, 18 (5): 34-36.
[4] Zou J, Zhang Q, Tang B, et al. Determination of the hemolytic degree of Tween 80 to human and rabbit erythrocytes by UV spectrometry [J]. *Med J Southwest Natl Def* (西南国防医药), 2004, 14 (3): 255-256.
[5] Wang N, Zhou Y D, Yang H, et al. Effect of Tween-80 on cardiovascular system in rats [J]. *China Pharm* (中国药房), 2004, 15 (5): 273-275.
[6] Li J M, Yang H P. Hydroxypropyl-β-cyclodextrin's application and research development [J]. *China New Med* (中国新医药), 2004, 3 (8): 63-65.

大豆总异黄酮 HPLC 指纹图谱研究

石 荣, 王少云*, 姜维林, 聂 磊, 侯 准

(山东大学药学院, 山东 济南 250012)

摘 要:目的 建立不同品种大豆植物药材异黄酮类成分的 HPLC 指纹图谱,为科学评价大豆品种内在质量提供参考。方法 采用 HPLC 法测定了 25 个不同品种大豆的异黄酮类提取物,并用聚类分析和相似度计算软件进行数据分析。色谱条件: C₁₈柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(冰醋酸调 pH 为 3.2)梯度洗脱,体积流量为 0.6 mL/min,检测波长为 261 nm,柱温为室温。测定了 25 个不同品种大豆,运用软件进行聚类分析及相似性分析。结果 该方法重现性好,不同品种大豆提取的异黄酮类成分的色谱指纹图谱有一定的差异。结论 色谱指纹图谱分析方法能够全面反映出不同品种大豆异黄酮化学成分间的差异,为大豆品种内在质量控制提供参考。

关键词:大豆;异黄酮;指纹图谱;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)02-0202-04

收稿日期:2005-04-11

作者简介:石 荣(1979—),女,山西省翼城人,硕士,2002 年毕业于山西医科大学药学专业,现工作于上海中医药大学科技实验中心,主要从事中药质量控制的研究。

* 通讯作者 王少云 Tel: (0531) 8382010 E-mail: shaoyunw@sdu.edu.cn