

大蒜油的包合工艺及其对实验性高脂血症大鼠血液流变学影响

★ 饶小勇 何颖辉 王珏 林色奇 张国松 罗小建 (中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

关键词:大蒜油;β-CD 包合

中图分类号:TQ 460.7⁺2 文献标识码:A

大蒜油为大蒜(*Allium sativum* L.)的有效成分之一,通过对大蒜油进行 β-环糊精(简称 β-CD)包合工艺的考察,确定大蒜油的最佳包合工艺;大蒜油包合物能明显降低大蒜油对胃肠道粘膜的刺激性,比纯大蒜油更具有应用价值,为了深入研究大蒜油及其包合物的药效作用及毒性,我们做了大蒜油 β-CD 包合物对实验性高血脂症大鼠血液流变学影响的试验研究。

1 材料

试剂:β-CD(上海中心化工厂),石油醚(浙江杭州炼油厂),胆固醇(北京化学试剂公司,批号:980708),甲基硫氧嘧啶(第二军医大学朝晖制药厂),胆酸(上海化学试剂公司,批号:971110)。

动物:SD 大鼠,雄性,体重 170~190 g,由江西省实验动物中心提供。

药品:大蒜油(江西吉水县同仁药用油厂);大蒜油 β-CD 包合物(自制);月见草油胶囊(阳性对照物),由广州星群制药厂生产,批号:900806。

仪器与设备:球磨机(方大集团鑫基设备厂),胶体磨(莱州市精细化工机械设备厂),79-1 磁力加热搅拌器(金坛市恒丰仪器厂),MJ-600 型单槽超声清洗机(无锡市美极超声清洗设备有限公司),挥发油测定器,纯 LBY-N5A 型旋转式血流变仪(北京普利生仪器有限公司),SYSMEX CHEMIX-180 全自动血液生化分析仪(日本 FURUNO ELECTRIC CO.,LTD.INT CENTER),TDL-5 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 包合工艺的研究

2.1 包合物制备方法筛选

挥发油:β-环糊精=1 mL:8 g,用下述方法制备包合物:(1)饱和水溶液法:在 40℃ 下制成 β-环糊精

的饱和水溶液,按以上的比例,缓缓加入挥发油,置电动控温搅拌器上搅拌 5 小时,放冷,置冷库中冷藏过夜,过滤,置烘箱(45℃)干燥。(2)球磨法:称取一定量的 β-环糊精和适量的水,置球磨机中,研磨 20 分钟,按以上的比例加入挥发油,研磨 1.0 小时,置烘箱(45℃)干燥。(3)胶体磨法:将适量的水加入胶体磨料斗中,不断搅拌,慢慢加入一定量的 β-环糊精,研磨 20 分钟,缓慢滴加挥发油,研磨 2 小时,冷藏过夜,过滤,置烘箱(45℃)干燥。(4)超声法:称取一定量的 β-环糊精和适量的水摇匀,水浴加热溶解,放冷,按以上比例缓缓加入挥发油,置超声清洗机中超声处理 1 小时,冷藏过夜,过滤,置烘箱(45℃)干燥。

以包合物的收得率为评价指标来筛选包合工艺,包合物收得率按下式计算:

$$\text{包合物收得率} = \frac{\text{包合物实际量(g)}}{\beta\text{-CD 量(g)} + \text{挥发油投入量(mL)} \times \text{油相对密度}(0.98\text{g/mL})} \times 100\%$$

结果见表 1。

表 1 包合物收得率的测定结果

包合方法	环糊精/g	加水量/mL	挥发油用量/mL	包合物实际量/g	收得率(%)
饱和水溶液法	80	2000	10	50.2	57.0
球磨法	80	2000	10	49.6	56.4
球磨法	400	400	50	382.6	87.0
	400	400	50	374.5	85.1
胶体磨法	240	2400	30	260.2	78.8
	240	2400	30	256.7	77.8
超声法	160	1600	20	193.6	88.0
	160	1600	20	198.1	90.0

根据表 1 知,球磨法和超声法制得的包合物收得率明显高于另外两种方法制得的包合物。球磨法

与超声法相比,超声法的效果更好,但是球磨法操作简单,考虑工业化生产可行性,因此选用球磨法包合。

2.2 包合工艺条件筛选

挥发油测定法:按照《中华人民共和国药典》(2000版一部)附录XD的方法测定,根据预实验及文献资料,确定挥发油和 β -CD的比例为影响包合的主要因素,通过考察在挥发油和 β -CD的投入比分别为1:8、1:10时挥发油包合率,以挥发油的包合率为评价指标,确定包合工艺条件,挥发油的包合率按下式计算:

$$\text{挥发油的包合率} = \frac{\text{包合物中实际含油量(mL)}}{\text{挥发油投入量(mL)}} \times 100$$

结果见表2。

表2 挥发油包合率测定结果

包合方法	挥发油与 β -环糊精比例	挥发油用量/mL	环糊精/g	加水量/mL	每25g含挥发油的量/mL	包合率(%)
球磨法	1:10	50	400	400	2.1	72.0
	1:8	40	400	400	2.0	88.0

根据表2的数据结果可以看出,挥发油与 β -环糊精按1:10的比例投入得到的挥发油包合率比按1:8投入得到的包合率高。因此,将挥发油与 β -环糊精的加入比定为1:10。

3 包合物药效验证

3.1 动物分组 SD大鼠60只,随机分成6组,依次为空白对照组(空白组)、脂模型阴性对照组(模型组)、 β -CD包合物高剂量组、 β -CD包合物中剂量组、 β -CD包合物低剂量组、高脂模型阳性对照组(月见草组)。

3.2 实验性高脂血症大鼠模型的建立^[1] 大鼠按高脂血症模型造型法,随机分组,除空白组饲喂基础

饲料外,其余5组大鼠均喂高胆固醇和脂类饲料(高脂饲料配方:4%胆固醇,10%猪油,0.2%甲基硫氧嘧啶,0.5%胆酸,85.3%基础饲料),形成实验性高脂血症大鼠模型,以后改喂基础饲料。按上述方法饲喂15天后,采血测血脂各指标,除空白组外,各组血脂均显著升高。

3.3 给药方法和剂量 从第16天开始,将 β -CD包合物用蒸馏水配成一定浓度的混悬液,依次用200、100、50 mg/kg的剂量经口灌胃给予;月见草组经口灌胃给予月见草油胶囊(105 mg/kg);空白组及模型组给予等量的蒸馏水。各组每天给药1次,灌胃量均为1 mL/100g,连续20天。每周称体重1次,以调整给药量,20天后禁食过夜(12小时),次日全部大鼠股动脉采血。

3.4 高脂血症大鼠血液流变学的影响 用LBY-N5A型旋转式血流变仪测定肝素抗凝血全血比粘度切变率(125 S-1)、切变率(20.8 S-1)、切变率(1.0 S-1)、血浆粘度、高切还原粘度、低切还原粘度、红细胞压积等各项血液流变学指标。

3.5 高脂血症大鼠血脂指标测定 总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白(HDL-C),直接利用SYSMEX CHEMIX-180全自动血液生化分析仪测定,低密度脂蛋白(LDL-C)先经预处理,再进行测定,最后由公式计算而得:LDL-C = TC - (TG5 + HDL-C)。

3.6 实验数据处理 统计学处理所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,采用t检验进行统计学分析。

3.7 实验结果

3.7.1 β -CD包合物对高脂大鼠血液流变性的影响 见表3。

表3 大蒜油对高脂大鼠血液流变学的影响

组别	全血比粘度			血浆粘度	高切还原粘度	低切还原粘度	红细胞压积(%)
	切变率(125 S-1)	切变率(20.8 S-1)	切变率(1.0 S-1)				
空白组	5.89 $\pm$ 1.05*	9.85 $\pm$ 1.76*	18.98 $\pm$ 2.63	1.74 $\pm$ 0.064*	5.51 $\pm$ 0.76*	33.27 $\pm$ 4.18*	41.40 $\pm$ 3.2*
模型组	7.24 $\pm$ 1.10	13.21 $\pm$ 1.81	24.21 $\pm$ 2.38	1.96 $\pm$ 0.54	7.22 $\pm$ 0.63	39.60 $\pm$ 3.12	46.24 $\pm$ 3.41
包合物高组	5.96 $\pm$ 2.31*	9.75 $\pm$ 3.56*	18.73 $\pm$ 5.01*	1.73 $\pm$ 0.13*	7.24 $\pm$ 2.84	31.49 $\pm$ 14.81*	39.74 $\pm$ 3.81*
包合物中组	5.16 $\pm$ 1.02*	9.64 $\pm$ 2.98*	16.21 $\pm$ 3.15*	1.72 $\pm$ 0.22*	7.21 $\pm$ 1.28	32.65 $\pm$ 11.73*	41.37 $\pm$ 4.21*
包合物低组	6.51 $\pm$ 1.27	9.38 $\pm$ 2.54*	22.03 $\pm$ 3.89	1.75 $\pm$ 0.25*	7.41 $\pm$ 1.76	36.21 $\pm$ 13.56	42.22 $\pm$ 3.81
月见草组	5.97 $\pm$ 1.21*	9.84 $\pm$ 2.31*	18.73 $\pm$ 6.12*	1.81 $\pm$ 0.44*	5.87 $\pm$ 0.61*	31.21 $\pm$ 2.56*	43.53 $\pm$ 4.75

注:与模型组比较,* P <0.05,** P <0.01。下表同。

高脂模型组大鼠的全血比粘度、血浆粘度、全血还原粘度的低切和红细胞压积均显著高于空白组、大蒜油高中低组和月见草组(P <0.05);高脂模型组大鼠的高切还原粘度显著高于空白组和月见草组(P <0.05),但与大蒜油高中低组相比无显著性差

异。结果表明, β -CD包合物可明显降低“高血脂”大鼠的全血比粘度、血浆粘度、低切变率下的全血还原粘度和红细胞压积(P <0.05),但对高切还原粘度影响不大。

3.7.2 β -CD包合物对高脂大鼠血脂水平的影响

响 见表 4。

表 4 对高脂血症大鼠血脂水平的影响 mmol·L⁻¹

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
空白组	2.23±0.24 *	0.56±0.06 *	0.97±0.21 *	0.35±0.12 *
模型组	5.86±0.26	0.74±0.12	2.21±0.43	6.34±1.17
包合物高剂量组	3.42±0.21 *	0.43±0.08 *	1.96±0.12	2.12±1.08 *
包合物中剂量组	3.55±0.28 *	0.41±0.11 *	1.94±0.14	2.56±0.07 *
包合物低剂量组	3.48±0.23 *	0.53±0.04 *	1.98±0.09	4.21±0.14 *
月见草组	4.16±0.18 *	0.57±0.02 *	1.97±0.11	2.39±0.02 *

表 4 结果表明,本次实验高脂血症模型的造模是成功的,大蒜油 β-CD 包合物高、中、低剂量组与模型组相比 TC、TG 值有显著差异,LDL-C 值有极显著差异。

4 讨论

挥发油的 β-CD 包合目前多采用饱和水溶液搅拌的方法,本实验选用球磨法对大蒜油的包合进行了尝试,经实验筛选出了最佳的包合条件为球磨法,且其包合率明显高于水饱和溶液法和其它方法,球磨法操作简单,适合工业大生产。

目前大蒜的研究和开发利用已引起国内外许多专家学者的关注,关于大蒜化学成分及药理作用的研究已有许多报道。明·李时珍《本草纲目》记载大蒜能“通五脏,达诸窍……化积”,现代研究表明大蒜素能抑制血小板粘附、提高血纤溶活性、降低血脂、改善血流变,从而降低血液粘滞性、改善血液循环,对于因血液粘度增高而引发的一些疾病具有一定治疗意义^[2~4]。

高脂血症尤其是高 LDL-C 是动脉粥样硬化和冠心病的主要危险因素,积极寻找安全有效、副作用少的调血脂药物是防止动脉硬化和冠心病发生的重要措施之一。动脉粥样硬化和冠心病病人血液的粘滞性是明显升高的,与正常人血粘度比较有显著差异。而且,冠心病时血液流变改变先于微循环改变,所以降低血液的粘滞性在冠心病防治中具有重要意义^[5]。有报道表明大蒜油能防治高脂血症^[4],其作用机制一般认为是与减少内源性 Ch 合成有关,Qurehi^[6]等通过实验认为,大蒜提取物可抑制 Ch 合成的两个关键酶:7α-羟化酶和 HMG-CoA 还原酶。本次实验也显示了大蒜油具有明显预防高脂血症的作用。

本实验包合物药效结果表明,大蒜油 β-CD 包合物可明显降低“高血脂”大鼠的全血比粘度、血浆粘度、低切变率下的全血还原粘度和红细胞压积($P < 0.05$),但对高切还原粘度影响不大;大蒜油 β-CD 包合物能较全面地调整血脂明显降低“高血脂”大鼠的血清 TC、TG($P < 0.05$),尤其对 LDL-C 水平有十分显著的下调作用($P < 0.01$),其疗效优于月见草油胶囊。

低切变率下的血液粘度值的升高常常反映红细胞聚集程度较高,本实验提示大蒜油 β-CD 包合物对“高血脂”大鼠可降低血液粘稠度和浓度,从而改善机体血液流变性,降低血液“浓、粘、聚、凝”状态,具有一定的活血化瘀作用。它有利于疏通血管内的血液淤滞,增加心脑血管血流量,改善血液外周循环和细胞能量代谢,缓解缺血缺氧状况,促进心脑血管细胞功能的恢复;TG、TC、LDL-C 的升高会增加血栓形成的风险,大蒜油 β-CD 包合物能够降低 TG、TC、LDL-C 水平,减少血栓的形成,从而起到防治高脂血症,降低动脉粥样硬化和冠心病的发病率的作用。

本研究为大蒜油 β-CD 包合物治疗和预防高脂血症提供了实验依据,扩大了中药药源,为人们提供了无毒、安全、降血脂效能优异的理想天然降脂剂,对防止心脑血管疾病具有重要意义。

参考文献

- [1]李仪奎,王钦茂.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991.394
- [2]许荣家,陈同慧,王雪青,等.大蒜素对血小板功能及血脂影响的临床观察[J].中华神经精神科杂志,1990,23(1):524
- [3]赵法极,陈洪章,沈漪萍.合成大蒜素防治动脉粥样硬化症的研究[J].营养学报,1982,(5):109
- [4]Bordia A, Verma SK, Vyas AK, et al. Effect of essential oil of onion and garlic on experimental atherosclerosis in rabbits[J]. Atherosclerosis, 1977, 26(3):379~86
- [5]刘馨兰,孙兰军.冠心病心功能分级血液流变检测与甲皱微循环检查的相关性[J].实用中西医结合杂志,1994,7(9):522~524
- [7]Qureshi AA, Crenshaw TD, Peterson DM. Influence of minor plant constituents on porcine hepatic lipid metabolism[J]. Atherosclerosis, 1987, 64(2-3):109~115

(收稿日期:2005-08-08)

专题征稿

《江西中医药》为中医药核心期刊,新设重点栏目《专题谈荟》,以专病列专题,论述该病的病因病机、诊疗方案及临床经验,要求观点、方法新,经验独到。专题有:小儿麻痹后遗症、红斑狼疮、类风湿性关节炎、慢性肾炎、哮喘、糖尿病、老年痴呆、高血压、中风、盆腔炎、萎缩性胃炎、癌症疼痛。欢迎广大中西医临床工作者不吝赐稿。