

# 百合科薤白屬(*Allium* 屬)植物之有效成分定量研究

吳金濱 鄭奕帝 黃順爵 張光雄\* 謝明村\*

中國醫藥學院 藥學系  
中國藥學研究所\*

## 摘 要

本實驗首先完成百合科薤白屬(*Allium* 屬)植物之有效成分(Allicin, Ajoene)在高效液相層析(HPLC)法中的分析條件檢討,接着以合成的方法合成、純化 Allicin 及 Ajoene,將合成所得 Allicin 及 Ajoene 做為指標成分,利用高效液相層析法進行大蒜,蒜頭,洋葱,葱,薤白中所含成分之定量,結果顯示 Allicin 在大蒜,蒜頭,蒜白中所含此成分的經時變化,隨時間的增長而減少,相反的 Ajoene 則隨時間的增長而增加。新鮮洋葱及葱,薤白的檢品中僅含微量的 Allicin。

洋葱於新鮮配製檢品中含大量的 Ajoene(0.046%),為蒜白最高含量的兩倍,但於兩天以後即轉化為其他化合物而不易檢測,其他蒜鬚,葱,薤白只含微量,於經時變化中無法檢測出來。

以上實驗結果顯示,洋葱之鮮品含高量 Ajoene,至於,葱,薤白所含成分於本實驗 HPLC 移動相溶媒系統中滯留時間為 1.4 分時含有共同的吸收峰,此共同成分之定量,尚須進行大量抽取,純化,結構鑑定等步驟,有待進一步之檢討。

關鍵詞: 薤白屬, Ajoene, Allicin

## 前 言

中藥材中常有利用百合科(Liliaceae)薤白屬(*Allium* 屬)的各種植物當做藥材,例如:薤白,葱白,大蒜等係利用鱗莖,韭菜子,葱子係利用種子。本屬植物在本省出產有薤白(*Allium bakeri* Regel),葱(*Allium fistulosum* L.)大蒜(*Allium sativum* L. forma. *pekineso* Mak),韭(*Allium tuberosum* Rottl)等常用中藥及洋葱(*Allium cepa* L)等食用及民間藥物。本屬植物被研究已知含有數十種成分,其中有

效成分如:Alliin, Allicin, Ajoene 等都具有抗凝血,抗菌作用<sup>(1)</sup>,本實驗首先完成有效成分之合成,純化,利用合成的標準品以高效液相層析(HPLC)法進行上述各植物中所含成分之定量。

## 材料及方法

### 一、試藥與儀器

本實驗所用檢品(大蒜,蒜頭,洋葱,葱,薤白),均為購自市售之鮮品。抽取用溶媒為工業級重蒸餾後使用。高效液相層析儀使用之溶

媒均為 LC 級(臺偉, 皓峰)。測核磁共振(NMR)光譜所用之溶媒( $\text{CDCl}_3$ )為光譜級(E. Merck)。試藥除醋酸酐, 30%過氧化氫, Diallyl disulfide, Diethyl disulfide 等為試藥特級外。其餘為試藥一級, 薄層層析用 Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>(E. Merck Art. 5735), (E. Merck Art. 13792, 13794)管柱層析(column chromatography)擔體(support)包括 Kieselgel 60(E. Merck Art. 7734, 9385), Fuji-Davison ODS-18(chromatorex), 高效液相層析使用 Shimadzu 6A two pump system, 層析管柱用逆相管柱 Merk, RP-8, 5 $\mu\text{m}$ , Cat. No.50832, ID: 40 $\times$ 250 mm., 紅外線光譜儀用 Shimadzu IR-440 spectrometer, 氫核磁共振儀及碳十三核磁共振儀: JEOL FX-90 核磁共振儀, 氣相層析一質譜儀用 Hewlett-packard 5995 GC-MS system, 紫外線燈用 CAMAG Universal UV lamp, 波長 254 $\mu\text{m}$ 及 366 $\mu\text{m}$ . 及 RAYTECH Model 88, 波長 254 $\mu\text{m}$ 及 366 $\mu\text{m}$ 。

## 二、檢品前處理

檢品(蒜頭, 蒜鬚, 蒜白, 薤白, 洋葱, 葱)取乾燥的各種檢品約兩克, 精秤後, 磨碎置 25 毫升三角錐瓶, 在空氣中放置 30 分鐘, 加入 15 毫升甲醇液, 置超音波震盪器, 抽取 30 分鐘, 溶液經過濾, 置於 50 毫升之容量瓶內, 重覆抽取三次, 加入甲醇精確定量至 50 毫升, 充分混合均勻, 以 3000 r.p.m. 離心分離 20 分鐘, 分取上清液。以 0.45 $\mu\text{m}$ 濾膜過濾。濾液做為 HPLC 檢品。

## 三、標定物質的合成

合成大蒜主要有效成分 Allicin 及 Ajoene, 加以純化後當作標準品, 用於本實驗之定量分析。

### (一)過氧醋酸之製備<sup>(5)</sup>

醋酸酐 45 克加入茄形瓶加以攪拌, 慢慢加入 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  10 克。保持溶液在 35-40 $^\circ\text{C}$ 。滴完暫時保持溫度。放置壹夜後備用。

### (二)Allicin 及 Ajoene 之合成

取 Diallyl disulfide 5 克, 放入 200 毫升茄形瓶內, 再加入氯仿 20 毫升。加入後攪拌混合, 並且慢慢加入上述已製備之過氧醋酸 15 毫升。滴完後令反應 20 分鐘, 反應完全後, 加入碳酸氫鈉溶液加以中和, 轉入分液漏斗, 加正己烷至分液漏斗進行分

配, 振搖後取上層, 如上述分配三次, 合併上層溶液, 經減壓濃縮抽乾後以矽膠管柱層析法及中壓矽膠管柱層析法(移動相: n-hexane : Isopropanol = 98 : 2), ODS-18 逆相管柱層析法(移動相: n-hexane : THF = 9 : 1), 分離所得的油狀化合物, 經測紅外光譜及核磁共振圖譜, 推定所合成的化合物為 Allicin 和 Ajoene。<sup>(6,7)</sup>

### Allicin (allyl 2-Propenethiosulfinate)

本化合物為淡黃色油狀物質。

紅外光譜中, 在 1635 $\text{cm}^{-1}$ 可見不飽和( $\text{C}=\text{C}$ )鍵之吸收, 在 1425 $\text{cm}^{-1}$ , 1403 $\text{cm}^{-1}$ , 1230 $\text{cm}^{-1}$ 為飽和( $\text{C}-\text{C}$ )鍵之吸收, 而在 1080 $\text{cm}^{-1}$ 具有  $\text{S}=\text{O}$  之特性吸收。核磁共振質譜(Chart 1)中,  $\delta=3.29-3.54$ (m, 4H)為兩組 allyl group 上之 methylene proton, 而在  $\delta=5.07-5.26$ (m, 2H)為兩組 allyl group 上之 vinylene proton,  $\delta=5.51-6.25$ (m, 4H)則歸屬於兩組 allyl group 上之 vinyl proton, 綜合以上圖譜數據解析, 並與文獻之數據<sup>(6)</sup>及 HPLC<sup>(7)</sup>圖譜之比較結果推定本化合物即 Allicin。

IR( $\text{cm}^{-1}$  v max):

3075(m), 3025-2900(m), 1635(m),  
1425(m), 1403(m), 1230(m), 1080(s, SO-S), 990(m), 830(s).

<sup>1</sup>H-NMR

(lit.)( $\delta$ , in  $\text{CDCl}_3$ ): 6.30-5.04  
(m, 6H), 3.94-3.65(m, 4H)  
(exp.)( $\delta$ , in  $\text{CDCl}_3$ ): 3.29-3.54  
(m, 4H), 5.07-5.26(m, 2H), 5.51-6.25(m, 4H)

<sup>13</sup>C-NMR(lit.)( $\delta$ , in  $\text{CDCl}_3$ ): 133.02,

125.95, 124.07, 119.10, 59.98, 35.06

### Ajoene (4,5,9-Trithiadodeca-1,6,11-triene-9-oxide)

本化合物為淡黃色油狀物質。

紅外光譜中, 在 1625 $\text{cm}^{-1}$ 可見不飽和( $\text{C}=\text{C}$ )鍵之吸收, 在 1420 $\text{cm}^{-1}$ , 1400 $\text{cm}^{-1}$ , 1220 $\text{cm}^{-1}$ 為飽和( $\text{C}-\text{C}$ )鍵之吸收, 而在 1040 $\text{cm}^{-1}$ 具有  $\text{S}=\text{O}$  之特性吸收。核磁共振質譜(Chart 2),  $\delta=3.33$ (d, J=7.4, 2H)為  $\text{C}_3$  上 methylene proton 之訊號,  $\delta=3.54$ (m, 4H), 則為連接  $\text{S}=\text{O}$  兩旁  $\text{C}_8$ ,  $\text{C}_{10}$  之 methylene proton 之訊號, 而在  $\delta=5.08-6.47$  共有 8 個質子的積分, 其歸屬於四個 vinyl group 上的質子 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_{12}$ ), 及四個 vinylene group 上的質子 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_{11}$ ), 除  $\text{C}_9$  上之

vinylene proton 靠近親電性之硫原子，化學位移傾向於低磁場  $\delta = 5.1-5.99$  之間，兩組 vinyl proton ( $C_1, C_{12}$ )，由於  $C_{12}$  靠近親電性基團  $S=O$ ，因此兩者的化學位移歸屬應為  $C_1$  的兩個質子  $\delta = 5.13(m)$ ， $C_{12}$  的兩個質子  $\delta = 5.30(m)$ 。綜合以上圖譜數據解析，並與文獻之數據及 HPLC 圖譜之比較結果推定本化合物即為 ajoene<sup>(6,7)</sup>。

IR ( $cm^{-1}$  v max): 3000, 1625 (C=C), 1420, 1400, 1220, 1040 (C-S-O-C), 920

$^1H-NMR$  (lit.) ( $\delta$ , in  $CDCl_3$ ): 6.38 (1H, =CHSS), 5.82 (m, 3H =CHCH<sub>2</sub>), 5.50 (m, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>S-O), 5.16 (m, 2H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>S), 3.54 (m, 4H, CH<sub>2</sub>SOCH<sub>2</sub>), 3.33 (d, J=7.32, 2H, SSCH<sub>2</sub>)

(Exp.) ( $\delta$ , in  $CDCl_3$ ): 6.39 (1H, =CHSS), 5.1-5.99 (m, 3H, =CHCH<sub>2</sub>), 5.30 (m, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>S-O), 5.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>S), 3.54 (m, 4H, CH<sub>2</sub>SOCH<sub>2</sub>), 3.33 (d, J=7.32, 2H, SSCH<sub>2</sub>)

$^{13}C-NMR$  (lit.) ( $\delta$ , in  $CDCl_3$ ): 134.7, 132.6, 125.7, 123.7, 119.3, 116.9, 54.5, 53.1, 41.4

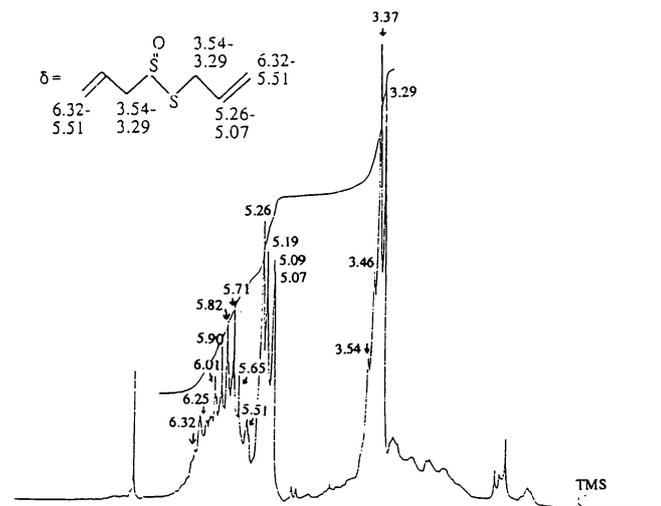


Chart 1 :  $^1H-NMR$  spectrum of Allicin

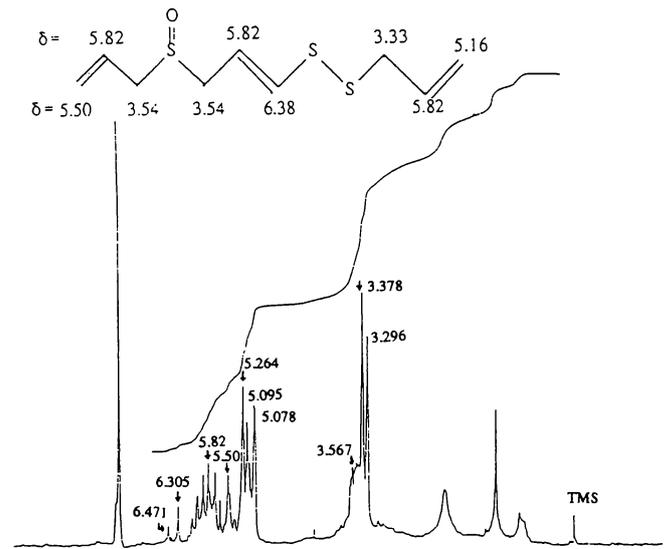


Chart 2 :  $^1H-NMR$  spectrum of Ajoene

#### 四、分析方法

以合成所得化合物 (Allicin, Ajoene) 為指標成分。利用高效液相層析 (High pressure liquid chromatography)，經各種配製的移動相比較對照結果。以  $AcCN : H_2O : MeOH = 50 : 41 : 9$  為最好<sup>(8)</sup>。其中 Ajoene 在滯留時間為 (Rt; Retention time) 4.7 分呈單一吸收峰 (Chart 3), Allicin 的滯留時間 3.7 分 (Chart 4)。再利用 Ajoene 為指標與大蒜檢品比對結果，新鮮配製大蒜檢液含少量 Ajoene，但在滯留時間 3.7 分處的 Allicin 吸收峰，於空氣中置放幾小時變化後 3.7 分 (Allicin) 的吸收峰減少。而 4.7 分 (Ajoene) 的吸收峰增大。內部標準品 (I.S. Internal Standard) 經檢討結果以 Diethyl Disulfide 在滯留時間 9 分鐘處有吸收峰，不影響檢品分析。

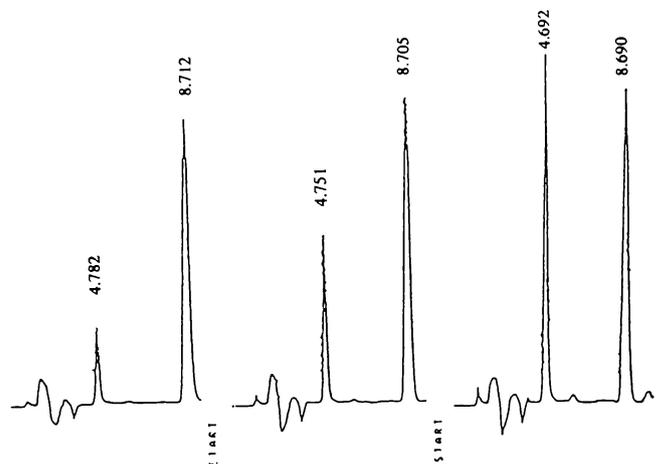


Chart 3 : HPLC chromatogram of Ajoene. (R.T.=4.7min.; Int.st.:R.T.=8.7min.)

(一) Internal standard 之配製

精稱 100 毫克 Diethyl Disulfide 標準品，置於 10 毫升定量瓶內，加甲醇精確定量 10 毫升，充分混合均勻備用。

(二) 標準品溶液的配製

取標準品(Ajoene or Allicin)約 8.2mg 精稱，置於 10 毫升定量瓶內，再從上述內標之定量瓶，吸取 1 毫升加入，然後用甲醇精確定量 10 毫升，充分混合均勻，以 0.45µm membrane filter 過濾，所得濾液為檢品。

(三) 標準曲線製作

上述標準品溶液充分混合後用吸管(pipet)精確吸出 1 毫升，2 毫升，4 毫升。分別注入三個 50 毫升定量瓶中，精取配製好的內部標準品 1 毫升置於各 50 毫升定量瓶內，加甲醇(LC 級)精確量至 50 毫升，充分混合均勻，以 0.45µm membrane filter 過濾，各取 20µl 注入 HPLC 中分析，以對照標準品之波峰面積與內部標準品之波峰面積比與濃度間之關係求出標準曲線之線性迴歸方程及相關係數，經檢量線校正時，Allicin 濃度於 1.55mg / ml 至 3.88mg / ml 的校正值  $\gamma=0.99981$ (chart 5)，Ajoene 的濃度於 1.64 µg / ml 至 65.6 µg / ml 的校正值  $\gamma=0.99951$ (chart 6)。



Chart 4 : HPLC chromatogram of Allicin.

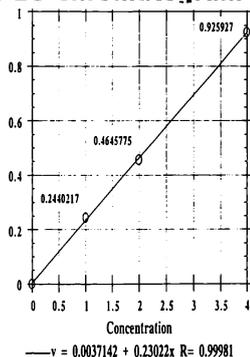


Chart 5 : Calibration curve of Allicin.

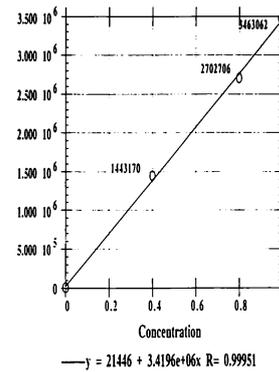


Chart 6 : Calibration curve of Ajoene

(四) 計算方法：

各檢品所含 Allicin 和 Ajoene 的計算方法如下：

$$\frac{\text{檢品測定面積值}/\text{內標測定面積值}}{\text{標準品測定面積值}/\text{內標測定面積值}} \times \text{標準品溶液濃度}(\text{mg/ml}) \times \frac{\text{標準品溶液注入量}(\mu\text{l})}{\text{檢品溶液注入量}(\mu\text{l})} \times \frac{1}{\text{檢品溶液濃度}(\text{mg/ml})}$$

結果與討論

Allicin 來自百合科植物大蒜 *Allicin sativum* L. 鮮莖，葱 *A. fistulosum* L. 鱗莖。具有抗鏈球菌，隱球菌和癬菌等抗菌作用，能加強家兔的多形白細胞的吞噬作用，臨床可治療痢疾，百日咳，肺結核，頭癬及陰道滴蟲等症。

Table 1 : Time program change of Allicin in *Allium* species

	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天
蒜頭	0.166 %	0.103 %	0.055 %	0.035 %	0.017 %
蒜白	0.164 %	0.090 %	0.044 %	0.025 %	
蒜薹	0.026 %	0.019 %			
洋葱	微量				
葱	微量				
薤白	微量				

Table 2 : Time program change of Ajoene in *Allium* species

	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天	第八天	第十天
蒜頭	微量	0.015 %	0.017 %	0.018 %	0.019 %	0.020 %	0.022 %	0.017 %
蒜白	微量	0.020 %	0.022 %	0.024 %	0.026 %	0.026 %	0.025 %	0.022 %
蒜薹		微量	微量	微量	微量	微量	微量	
洋葱	0.046 %	微量						
葱	微量	微量	微量					
薤白								

*Allium* 屬幾種植物所含 Allicin，Ajoene 之成分變化如下：

**Allicine** : Table 1 中大蒜中所含此成分的經時變化。第一天 0.166%，第二天 0.103% → 0.092%，第三天 0.055% → 0.049% →，第四天 0.035% → 0.034%，第五天 0.017%。蒜白自第一天 0.164%，第二天 0.09 → 0.07%，第三天 0.044% → 0.037%，第四天 0.025% → 0.024%。蒜鬚由第一天 0.026%，第二天 0.019% → 0.016%，新鮮洋蔥，葱，薤白的檢品中僅含微量的 Allicin。

**Ajoene** : Table 2 中，蒜頭的新鮮配製檢品中，第一天只含微量，第二天由 0.015% → 0.017%，第三天 0.017%，第四天 0.018% → 0.019%，第五天 0.019%，第六天 0.02%，第八天 0.02% → 0.022%，第九天 0.021%，第十天降至 0.017%，由數據顯示 Ajoene 的變化於第八天達最高量。

蒜白所含 Ajoene 較高。由第二天 0.020%，第三天 0.022%，第四天 0.024% → 0.025%，第五天 0.026%，第六天 0.026%，第八天 0.025% → 0.023%，第九天 0.023%，第十天 0.022% 由此可知蒜白的 Ajoene 含量比蒜頭為高，並且在第五天達最高含量。

洋蔥於新鮮配製檢品中含大量的 Ajoene (0.046%)，為蒜白最高含量的兩倍，但於兩天以後轉化為其他化合物而不易檢測，其他蒜鬚，葱，薤白只含微量，於經時變化中無法檢測出來。

由抗血小板凝集反應之數據顯示 Ajoene 之活性大於 Allicin<sup>(7)</sup> (Ajoene : ADP : ID<sub>50</sub> = 166 ± 38 μm, collagen ID<sub>50</sub> = 196 ± 64 μm, Allicin : ADP, collagen 皆大於 400 μm)。以上

實驗結果 Allicin 會變成 Ajoene 的化合物，Ajoene 在天然物之含量比為洋蔥鮮品 > 蒜白鮮品 > 蒜頭鮮品，因 Ajoene 及 Allicin 化合物受熱會產生變化。故吃新鮮洋蔥療效較強，且可避免因生吃蒜頭所引起的口臭。葱，薤白所合成成分於本實驗 HPLC 移動相溶媒系統中滯留時間為 1.4 分時含有共同吸收峰，此共同成分之定量尚需進行大量抽取，純化及結構鑑定等步驟，有待進一步之檢討。

## 謝 辭

本研究得以順利完成，承蒙行政院衛生署於八十年度補助研究經費，特此致謝。

## 參考文獻

1. Furugawa H., Farumashia 1987;23:823.
2. 黃文興、錢曉濤，中草藥 1987;18:37.
3. 甘偉松：藥用植物學，國立中國醫藥研究所 1981; 607-8.
4. 邱年永、張光雄：原色台灣藥用植物圖鑑，南天書局 1986;2:271-4.
5. 日本化學會編：新實驗化學講座 15：酸化與還原(I-2)，1976;741-3.
6. Eric B., Saleem A : J Am Chem Soc 106, 1984; 106:8296-8.
7. Eric B., Ahmad S., Catalfamo J : J Am Chem Soc.1986;108:7045.
8. Bernhard I., Georg W., Bernd M., Karl K : Planta Medica, 1990;56:202.

## QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACTIVE COMPOUNDS IN ALLIUM GENUS (LILIACEAE) BY HPLC

Jin-Bin Wu Yih-Dih Cheng Shung-Chieh Huang  
Kuang-Hsiung Chang\* Ming-Tsuen Hsieh\*

*School of Pharmacy and Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences\**  
*China Medical College*

This work included study of plants, synthesis of standard compounds, allicin and ajoene, and quantitative determination of these two components in *Allium* genus by HPLC. The daily change of allicin and ajoene in methanol extract of each species were determined.

Garlic bulb was found to have higher content of allicin whilst fresh *Allium cepa*, *Allium fistulosum* and *Allium bakeri* were found to have less allicin.

It was found that the quantity of ajoene reached maximum on the sixth day in the garlic root, and on the fifth day in the immature garlic bulb. The content of ajoene in immature garlic bulb was higher than mature garlic bulb. The ajoene content of *Allium cepa* (0.046%) was twice than garlic bulb. The amount of ajoene in other species were too little to be detected. Fresh *Allium cepa* was shown to have higher ajoene content.