

安络小皮伞醇提物中镇痛成分麦角甾醇和肉桂酸的含量测定

陈英红¹, 姜瑞芝¹, 高其品²

(¹吉林省中医中药研究院, 吉林长春 130021)

(²吉林省药品检验所, 吉林长春 130021)

安络小皮伞 *Marasmins androsaceus*(L. Fr.)Fr.系伞菌科皮伞属野生真菌。其固体培养的菌丝可治疗多种神经痛、风湿痛、神经炎和类风湿性关节炎等疾病, 均取得显著疗效。其化学成分有甘露醇、胆甾醇醋酸酯、氨基酸、对羟基肉桂酸、麦角甾醇。已有报道, 从安络小皮伞醇浸膏中得到中性脂溶性成分对羟基肉桂酸、麦角甾醇对小鼠有镇痛作用。采用反相高效液相色谱法, 对安络小皮伞醇提物中镇痛成分麦角甾醇、对羟基肉桂酸的含量进行测定取得了满意的结果。

1 仪器与试剂

LC-10AT_{vp} 高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-10A_{vp}。紫外可见分光光度计(日本岛津); N-2000 色谱工作站(浙江大学); Diamonsil™ (钻石)ODS 柱(250mm×4.6mm); 甲醇(色谱纯), 其它试剂均为分析纯; 麦角甾醇、肉桂酸对照品均购自 Sigma 公司; 安络小皮伞醇浸膏由通化兴华药业公司提供。

2 麦角甾醇的测定

2.1 色谱条件

流动相: 甲醇; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 282nm, 灵敏度: 0.04AUFS。

2.2 硅藻土-水柱的制备

取市售硅藻土加盐酸浸泡, 蒸馏水洗涤至无氯离子, 抽滤, 烘干。用甲醇、苯、氯仿依次洗涤至洗涤液蒸干无残渣, 迅速用甲醇洗涤, 过滤, 挥干溶剂, 烘干, 得精制硅藻土。取精

制硅藻土 1.5g, 加水 1mL 混匀, 装于下端垫有脱脂棉的层析柱(200mm×15mm)中, 备用。

2.3 硅胶 H 柱的制备

取硅胶 H 10g(薄层层析用, 青岛海洋化工厂产品)加水 40mL, 搅匀, 静置 20min, 弃去上层液, 再加水 40 mL, 搅匀, 静置 20 min, 弃去上层液, 120°C活化 8h。取 0.3g 装于下端有 G₂滤板的层析柱(300 mm×7mm)中, 备用。

2.4 标准曲线的制作

准确称取干燥至恒重的麦角甾醇对照品 15mg, 置 50mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度。分别取 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 2.4mL, 加入甲醇稀释至 5mL, 各进样 20μL。以进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标作标准曲线, 得回归方程: $Y=5.76 \times 10^5 X+3.12 \times 10^4$, $r=0.9995$, 在 0.24-2.88μg 围内线性关系良好。

2.5 回收率实验

准确称取已测得含量的安络小皮伞醇浸膏, 分别加入麦角甾醇对照品, 同样品测定项下处理并测定。结果见表 1。

Table 1 Result of Recovery Test of samples

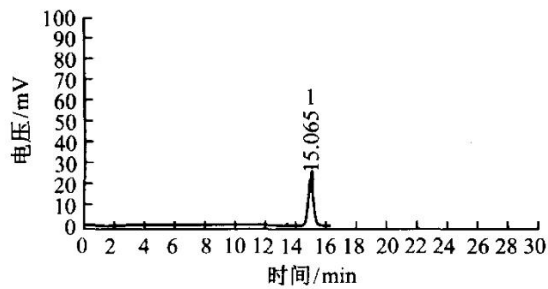
Sample content (mg)	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)	Average Recovery (%)	RSD (%)
0.2675	0.25	0.517	99.8		
0.2675	0.25	0.5108	97.32		
0.2675	0.25	0.5132	98.28	98.21	1.12
0.2675	0.25	0.5103	97.12		
0.2675	0.25	0.5138	98.53		

2.6 稳定性实验

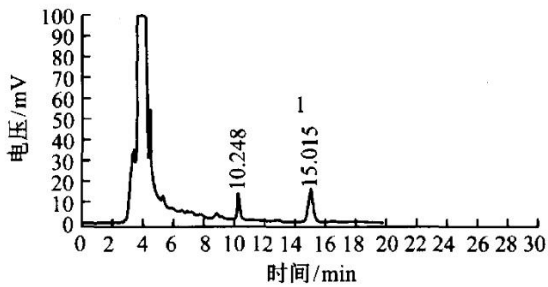
将同一样品液在不同时间 0, 2, 4, 8h 进行测定, 结果 RSD=2.12%, 说明样品液在 8h 内稳定。

2.7 样品测定

取样品 0.5g 加饱和氢氧化钾 0.5mL, 无水乙醇 5mL, 水浴回流皂化 1h, 加 10%氯化钠, 用环己烷提取 3 次, 每次 5mL 提取液先经硅藻土柱, 流出液再经硅胶 H 柱, 加 5mL 无水乙醇洗脱, 洗脱液蒸干, 残渣用无水乙醇溶解转移至 5mL 量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度。经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 进样 20 μ L, 按以上色谱条件测定, 分离图谱见图 1。含量测定结果见表 2。



A. Standard



B.sample

Fig1 HPLC Ergosterol

A.standard B.sample 1.ergosterol

3 肉桂酸的测定

3.1 色谱条件

流动相: 乙腈-0.1%磷酸(30: 70); 流速: 1.0mL·min⁻¹; 检测波长: 285nm; 灵敏度:

1.0 AUFS。

3.2 标准曲线的制备

准确称取干燥至恒重的肉桂酸 10mg, 置 50mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度。分别取 0.1, 0.2, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8mL, 加入甲醇稀释至 2mL, 各进样 20 μ L。以进样量(μ g)为横坐标, 峰面积为纵坐标作标准曲线, 得回归方程 $Y=2.92 \times 10^6 X+2.34 \times 10^5$, $r=0.9996$, 在 0.2~3.6 μ g 范围内线性关系良好。

3.3 回收率实验

准确称取已测得含量的安络小皮伞醇浸膏, 分别加入肉桂酸对照品, 同样品测定项下处理并测定。结果见表 3。

Table 2 Assay results of samples

constituent	Sample	n	Average content (%)	RSD (%)
Ergosterol	1	3	0.107	1.43
	2	3	0.125	1.78
	3	3	0.113	1.02
Cinnamic acid	1	3	0.258	1.72
	2	3	0.267	1.24
	3	3	0.261	1.57

Table 3 Result of Recovery Test of samples

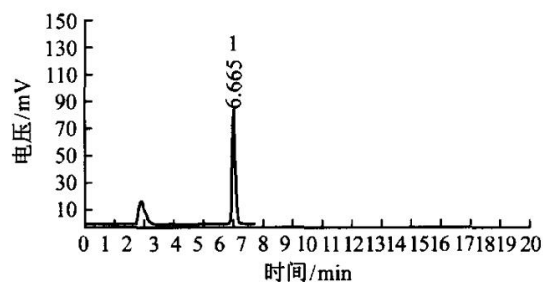
Sample content (mg)	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)	Average Recovery (%)	RSD (%)
0.2580	0.32	0.5712	97.88		
0.2580	0.32	0.5765	99.53		
0.2580	0.32	0.5724	98.25	99.54	1.63
0.2580	0.32	0.5783	100.09		
0.2580	0.32	0.5842	101.95		

3.4 稳定性实验

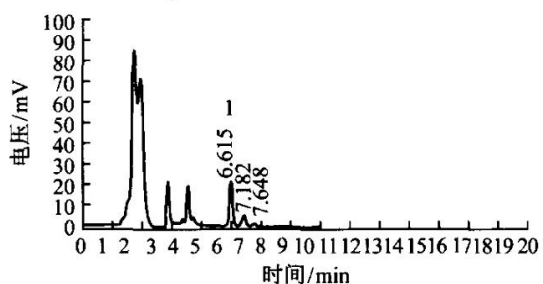
将同一样品液在不同时间 0, 2, 4, 8h 进行测定, 结果 RSD=1.03%, 说明样品液在 8h 内稳定。

3.5 样品测定

取样品 0.2g, 加 20mL 甲醇超声提取 30min, 取续滤液 10mL 蒸干, 残渣用甲醇溶解转移至 2mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 以 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 进样 20 μ L, 按以上色谱条件测定, 分离图谱见图 2。含量测定结果见表 2。



A. Standard



B.sample

Fig2 HPLC Cinnamic acid

A.standard B.sample 1.Cinnamic acid

4 讨论

4.1 植物中的麦角甾醇一般以游离和结合两种形式存在, 采用皂化提取, 使结合型的麦角甾醇游离, 并能破坏生药组织, 而较完全的提取。另外, 经过皂化使样品中油脂成分形成钾皂, 而与不溶于水的麦角甾醇分离。

4.2 提取溶剂用无洗脱能力的非极性溶剂如环己烷, 如用氯仿、乙醚等则硅胶 H 不能保留麦角甾醇, 提取液必须经过硅藻土柱除去乙醇和水溶性杂质, 否则提取液中少量乙醇将使硅胶 H 柱失活。

4.3 以上定量方法稳定, 可靠, 重现性好, 适用于对其制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 方圣鼎, 张振德, 陈嫌, 等. 安络小皮伞中的镇痛成分[J]. 中草药, 1989, 20(10):2-4.
- [2] 罗晋萍. 高效液相法测定桂龙咳喘宁胶囊中肉桂酸含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(3):200-201.

