

## HPLC-ELSD 同时测定猴头菌丝固体培养物及胃乐宁片中麦角甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的含量

王静娴<sup>1,2</sup>, 芮天奇<sup>1,2</sup>, 李文<sup>3</sup>, 李俊松<sup>1,2\*</sup>, 狄留庆<sup>1,2</sup>, 郭青<sup>4</sup>, 蔡宝昌<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 南京 210046;

3. 南京市中医院, 南京 210001; 4. 江苏省食品药品检验所, 南京 210008)

**摘要 目的:** 建立 HPLC-ELSD 同时测定猴头菌丝固体培养物及胃乐宁片中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇含量方法。**方法:** 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 以甲醇为流动相, 流速 1 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 35  $^{\circ}$ C, 检测器为 ELSD, 漂移管温度 70  $^{\circ}$ C, 载气压力 275.8 kPa。**结果:** 麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇峰面积的对数与浓度的对数呈良好的线性关系 ( $r > 0.999 2$ ), 猴头菌丝固体培养物中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇平均回收率分别为 92.6% 和 94.1%; 胃乐宁片中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇平均加样回收率分别为 103.0% 和 94.6%。10 批猴头菌丝固体培养物中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的含量分别为 0.081~0.178 和 0.101~0.128 mg · g<sup>-1</sup>; 10 批胃乐宁片中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的含量分别为 0~0.252 和 0~0.380 mg · g<sup>-1</sup>。**结论:** 该方法可用于猴头菌丝固体培养物及胃乐宁片质量控制。

**关键词:** 中成药; 胃乐宁片; 猴头菌丝培养物; 麦角甾醇;  $\beta$ -谷甾醇; 高效液相色谱-蒸发光散射检测

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)06-1006-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.06.12

## Determination of ergosterol and $\beta$ -sitosterol in *Hericium mycelium* with solid cultures and Weilening tablets by HPLC-ELSD

WANG Jing-xian<sup>1,2</sup>, RUI Tian-qi<sup>1,2</sup>, LI Wen<sup>3</sup>, LI Jun-song<sup>1,2\*</sup>,  
DI Liu-qing<sup>1,2</sup>, GUO Qing<sup>4</sup>, CAI Bao-chang<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Jiangsu Engineering Research

Center for Efficient Delivery System of TCM, Nanjing 210046, China, 3. Nanjing Hospital of Traditional Chinese

Medicine, Nanjing, 210001, China, 4. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210008, China)

**Abstract Objective:** To establish an HPLC-ELSD method for determining the ergosterol and  $\beta$ -sitosterol in solid cultures of *Hericium mycelium* and Weilening tablets. **Methods:** HPLC analysis was performed on a Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m) with methanol as the mobile phase. Flow rate was set at 1 mL · min<sup>-1</sup> and column temperature was 35  $^{\circ}$ C. The analysis was done by ELSD with drift tube temperature at 70  $^{\circ}$ C and gas pressure at 275.8 kPa. **Results:** The logarithm of peak area of ergosterol and  $\beta$ -sitosterol were linearly correlated

\* 通信作者 Tel: 15951867613; E-mail: lijunsong1964@163.com

第一作者 Tel: 18851823587; E-mail: wjx920816@126.com

to the logarithm of injected mass within an acceptable range ( $r > 0.9992$ ). The average recovery of ergosterol and  $\beta$ -sitosterol in solid cultures of *Herichium mycelium* were 92.6% and 94.1%, respectively. The average recovery of ergosterol and  $\beta$ -sitosterol in Weilening tablets were 103.0% and 94.6%, respectively. The contents of ergosterol and  $\beta$ -sitosterol in 10 samples in solid cultures of *Herichium mycelium* were 0.081–0.178  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and 0.101–0.128  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ; the contents of ergosterol and  $\beta$ -sitosterol in 10 samples of Weilening tablets were 0–0.252  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and 0–0.380  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . **Conclusion:** The established method can be applied to the quality control of solid cultures of *Herichium mycelium* and Weilening tablets.

**Keywords:** Chinese patent drug; Weilening tablets; *Herichium mycelium* cultures; ergosterol;  $\beta$ -sitosterol; HPLC-ELSD

胃乐宁片是由猴头菌丝及固体培养物提取并加辅料压制而成,收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十八册<sup>[1]</sup>,具有养阴和胃的功效。临床常用于胃脘疼痛、痞满、腹胀及胃、十二指肠溃疡、慢性萎缩性胃炎等症<sup>[2]</sup>。根据文献报道,猴头菌丝的主要活性成分包括甾醇<sup>[3]</sup>、多糖<sup>[4]</sup>、低聚糖<sup>[5]</sup>、芳香环类<sup>[6]</sup>、二萜类<sup>[7]</sup>等。近年来的研究表明,甾醇类物质对胃黏膜有保护作用<sup>[8]</sup>。皮质甾醇处理过的小鼠可以增强胃内抗细菌感染的能力<sup>[9]</sup>。麦角甾醇是真菌类的特征甾醇,具有调节真菌细胞膜流动性的功能,在确保膜结构的完整性、与膜结合酶的活性、细胞活力以及物质运输等方面起着重要作用<sup>[10]</sup>,同时也是一些中药及中药制剂的指标性成分<sup>[11-12]</sup>。据国内研究报告, $\beta$ -谷甾醇具有降低阿司匹林引发胃黏膜损伤的作用<sup>[13]</sup>,国外研究也表明, $\beta$ -谷甾醇具有抵抗多种胃溃疡模型的胃黏膜保护效果<sup>[14]</sup>。

现有文献显示,胃乐宁片及猴头菌丝(及固体培养物)的含量测定多局限于腺苷、麦角甾醇和多糖等<sup>[15-17]</sup>,未见对麦角甾醇和 $\beta$ -谷甾醇同时测定的报道。现行部颁标准胃乐宁(WS3-B-3457-98)项下仅有理化鉴别与检查项<sup>[18]</sup>。为更好地控制该药质量,本研究建立同时测定猴头菌丝固体培养物及胃乐宁片中麦角甾醇和 $\beta$ -谷甾醇HPLC-ELSD方法,为其质量控制提供实验依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱系统(包括在线脱气机,自动进样器 Prominence SIL-20A, 2424 蒸发光散射检测器和 CTO-20A 柱温箱; Waters 公司); Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶; Eka-Nobel 公司);

Anke TGL-16C 高速离心机(上海安亭科学仪器厂); Thermo Scientific Heraeus Multifuge X1R 通用台式离心机(Thermo 公司); FA1204B 电子分析天平(上海精密科学有限公司); Milli-Q Synthesis 108 超纯水仪(密理博公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

甲醇为色谱纯,乙醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷为分析纯,重蒸水由 Milli-Q Synthesis 108 超纯水仪制得。麦角甾醇对照品(批号 111845-201403)购自中国食品药物检定研究院, $\beta$ -谷甾醇(批号 BCTG-0013,含量  $\geq 98\%$ )购自中国固体制剂制造技术国家工程研究中心。猴头菌丝固体培养物(南京老山药业有限公司),批号分别为 20141108、140113、150603、141122-1、141210-2、150703、140316、141026-1、141104-2、141122-2; 胃乐宁片(南京老山药业有限公司),批号分别为 151009、151101、150507、150609、150804、151001、150902、141104、150808、150607,规格每片 0.13 g。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相为甲醇,流速 1  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,蒸发光散射检测器检测,增益 500,雾化气为 N<sub>2</sub>,气体压力 275.8 kPa,漂移管温度 70  $^{\circ}\text{C}$ ,喷雾器模式为加热,动力级别为 65%,柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ,进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

### 2.2 溶液制备

**2.2.1 混合对照品溶液** 精密称取麦角甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 分别含 283  $\mu\text{g}$  和 249  $\mu\text{g}$  的混合溶液,即得。

**2.2.2 供试品溶液** 取猴头菌 3 g,精密称定,置具塞

锥形瓶中,精密加入乙酸乙酯 50 mL,密塞,称量,超声处理(功率 250 W, 50 kHz) 90 min,放冷,再称量,用乙酸乙酯补足减失的量,摇匀,10 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,精密量取上清液 25 mL,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,14 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液,即得猴头菌丝固体培养物供试品溶液。取胃乐宁 40 片,精密称定,研细,取约 4 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇饱和的正己烷 50 mL,密塞,称量,超声处理(250 W, 50 kHz) 60 min,放冷,再称量,用甲醇饱和的正己烷补足减失的量,摇匀,10 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,精密量取上清液 25 mL,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,14 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液,即得胃乐宁片供试品溶液。

**2.2.3 阴性样品溶液** 取猴头菌丝固体培养物阴性样品,依“2.2.2”项下相应方法操作,即得猴头菌丝固体培养物阴性样品溶液。参照制剂的工艺过程,按处方比例配制不含猴头菌丝固体培养物的阴性样品,依“2.2.2”项下相应方法操作,即得胃乐宁片阴性样品溶液。

### 2.3 系统适用性及专属性试验

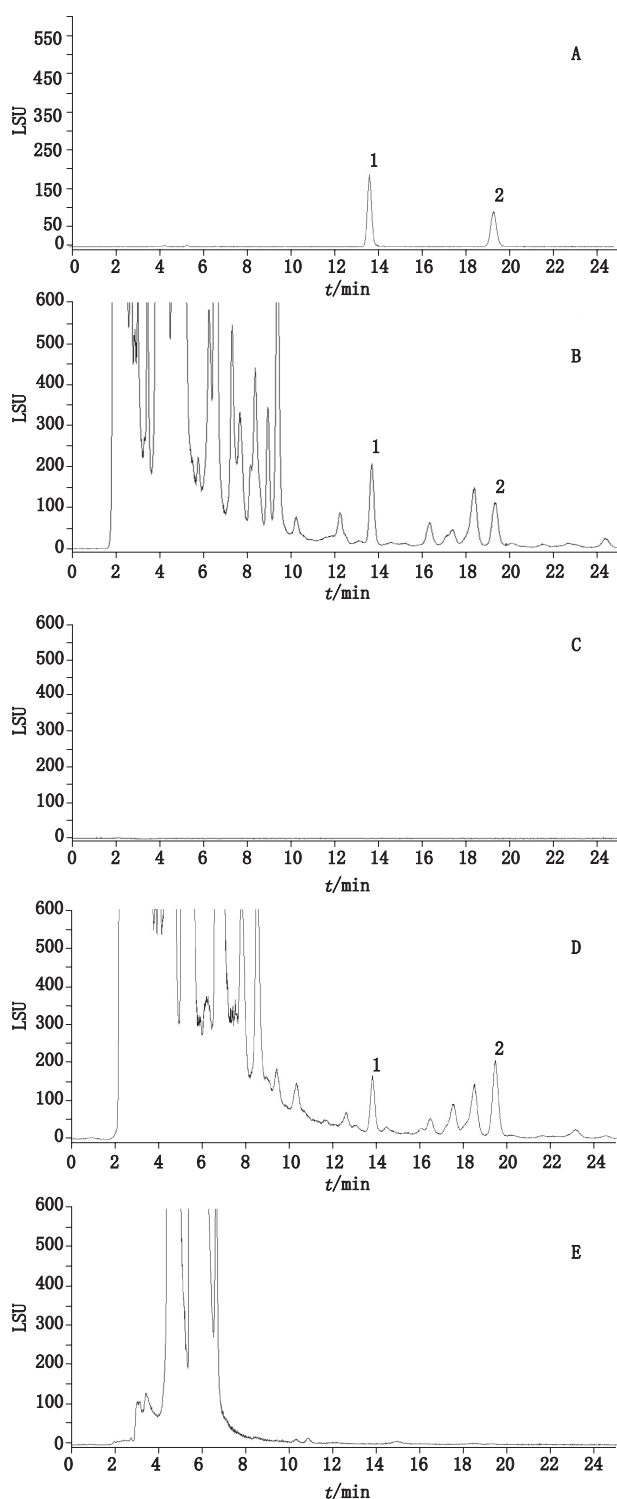
取混合对照品溶液、猴头菌丝固体培养物供试品溶液、胃乐宁片供试品溶液及阴性样品溶液分别按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,结果麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的理论塔板数( $n$ )均不低于 15 000,与相邻成分达到基线分离,且阴性对照无干扰。色谱图见图 1。

### 2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液(含 283.04  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  麦角甾醇和 249.36  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$   $\beta$ -谷甾醇)5 mL 于 10 mL 量瓶中,以甲醇稀释定容,依次用二倍稀释法配制系列混合对照品溶液(包括母液在内的含 283.04、141.52、70.76、35.38、17.69  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  麦角甾醇和 249.36、124.68、62.34、31.17、15.58  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$   $\beta$ -谷甾醇的 5 个浓度的溶液);精密吸取 20  $\mu\text{L}$  进样测定。以对照品浓度的常用对数  $X$  为横坐标,峰面积的常用对数  $Y$  为纵坐标,绘制标准曲线,计算得麦角甾醇、 $\beta$ -谷甾醇回归方程:

$$Y=1.4965X+3.9278 \quad r=0.9992$$

$$Y=1.551X+3.7943 \quad r=1.000$$



1. 麦角甾醇(ergosterol) 2.  $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -sitosterol)

图 1 混合对照品(A)、猴头菌丝固体培养物样品(B)、猴头菌丝固体培养物阴性样品(C)、胃乐宁片样品(D)、胃乐宁片阴性样品(E)色谱图  
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), sample of solid cultures of *Hericium mycelium* (B), negative sample of solid cultures of *Hericium mycelium* (C), sample of Weilening tablets (D) and negative sample of Weilening tablets (E)

结果表明麦角甾醇质量浓度在 17.69~283.04  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内,  $\beta$ -谷甾醇质量浓度在 15.58~249.36  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内,浓度的常用对数值与峰面积的常用对数值呈良好的线性关系。

### 2.5 检测限与定量限的考察

将麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇混合对照品溶液逐步稀释后进样,以信噪比( $S/N$ )为 3 测得麦角甾醇与  $\beta$ -谷甾醇检测限分别为 2.21 和 1.95  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,以信噪比( $S/N$ )为 10 测得麦角甾醇与  $\beta$ -谷甾醇定量限分别为 8.84 和 7.79  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

### 2.6 精密度试验

精密吸取上述混合对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,连续

进样 6 次,测定麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的峰面积。结果麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇色谱峰面积的 RSD 分别为 2.1% 和 1.9%,结果表明,仪器精密度良好。

### 2.7 重复性试验

分别取猴头菌丝固体培养物样品(批号 20141108)和胃乐宁片样品(批号 150607),分别按“2.2.2”项下相应的方法各制备 6 份供试品溶液。分别吸取“2.2.1”项下制备的混合对照品溶液与供试品溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,在“2.1”项条件下进样测定,按外标两点对数方程计算麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇含量。结果见表 1。

表 1 重复性试验结果( $n=6$ )

Tab. 1 Results of replicate test

	猴头菌丝固体培养物(Hericium mycelium)		胃乐宁片(Weilening tablets)	
	麦角甾醇含量(content of ergosterol)/(mg·g <sup>-1</sup> )	$\beta$ -谷甾醇含量(content of $\beta$ -sitosterol)/(mg·g <sup>-1</sup> )	麦角甾醇含量(content of ergosterol)/(mg·g <sup>-1</sup> )	$\beta$ -谷甾醇含量(content of $\beta$ -sitosterol)/(mg·g <sup>-1</sup> )
1	0.134	0.101	0.085	0.123
2	0.137	0.103	0.084	0.126
3	0.137	0.102	0.083	0.119
4	0.132	0.104	0.086	0.123
5	0.131	0.105	0.087	0.122
6	0.133	0.106	0.085	0.119
RSD/%	2.01	1.87	1.53	2.12

### 2.8 稳定性试验

取同一份猴头菌丝固体培养物(批号 20141108)的供试品溶液和胃乐宁片(批号 150607)的供试品溶液,在“2.1”项条件下分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样,测得猴头菌丝固体培养物中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的峰面积的 RSD 分别为 1.2% 和 2.1%,胃乐宁片中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的峰面积的 RSD 分别为 2.5% 和 2.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.9 加样回收率试验

取已知麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇含量的猴头菌丝固体培养物样品(批号 20141108)和胃乐宁片样品(批号 150607)各 6 份,每份约 1.5 g,精密称定,分别精密加入麦角甾醇对照品和  $\beta$ -谷甾醇对照品适量,分别按“2.2.2”项下相应的方法制备供试溶液;分别吸取“2.2.1”项下制备的混合对照品溶液与供试溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,在“2.1”项条件下进样测定,按外标两点对数方程计算麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的量,结果见表 2 和表 3。根据 2015 年版中国药典<sup>[16]</sup>规定,

该方法具有良好的准确性。

### 2.10 样品的含量测定

取各 10 个批次的猴头菌丝固体培养物和胃乐宁片的样品,分别按照“2.2.2”项下相应的方法制备供试品溶液;分别吸取“2.2.1”项下制备的混合对照品溶液与供试溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,在“2.1”项条件下进样测定,按外标两点对数方程计算麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的量,结果见表 4 和表 5。

## 3 讨论

### 3.1 提取方法的选择

本试验对提取溶剂、提取方法、超声时间、料液比等单因素进行考察,筛选以乙酸乙酯作为猴头菌丝固体培养物的提取溶剂,料液比为 3:50,50 kHz 频率下超声 90 min,提取率最高;但以乙酸乙酯作为胃乐宁片的提取溶剂,提取率并不高,可能原因是胃乐宁片中淀粉、糊精等糖类辅料的影响,故最终考察结果是以甲醇饱和的正己烷作为胃乐宁片的提取溶剂,料液比为 4:50,50 kHz 频率下超声 60 min,提取率最高。



表 2 猴头菌丝固体培养物的回收率试验结果

Tab. 2 Recoveries of *Hericium mycelium* with solid cultures

组分 (component)	称样量 (sample weight)/mg	样品含量 (sample content)/ $\mu\text{g}$	加入量 (added content)/ $\mu\text{g}$	测得量 (detected content)/ $\mu\text{g}$	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/% ( $n=6$ )	RSD/%
麦角甾醇 (ergosterol)	1.502 3	201.05	197.60	389.50	95.4	92.6	2.48
	1.500 6	200.83	197.60	383.38	92.4		
	1.500 4	200.80	197.60	383.59	92.5		
	1.499 3	200.66	197.60	377.89	89.7		
	1.499 6	200.70	197.60	379.40	90.4		
	1.501 9	201.00	197.60	388.58	94.9		
$\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol)	1.502 3	155.80	153.40	304.08	96.7	94.1	2.76
	1.500 6	155.63	153.40	299.44	93.8		
	1.500 4	155.60	153.40	293.34	89.8		
	1.499 3	155.49	153.40	298.46	93.2		
	1.499 6	155.52	153.40	300.24	94.3		
	1.501 9	155.76	153.40	304.36	96.9		

表 3 胃乐宁片的回收率试验结果

Tab. 3 Recoveries of Weilening tablets

组分 (component)	称样量 (sample weight)/mg	样品含量 (original content)/ $\mu\text{g}$	加入量 (added content)/ $\mu\text{g}$	测得量 (detected content)/ $\mu\text{g}$	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/% ( $n=6$ )	RSD/%
麦角甾醇 (ergosterol)	2.000 8	170.24	175.40	344.13	99.1	103.0	3.18
	2.009 5	170.98	175.40	348.48	101.2		
	2.004 1	170.52	175.40	345.62	99.8		
	2.006 6	170.73	175.40	353.65	104.3		
	2.007 7	170.83	175.40	360.37	108.1		
	2.008 2	170.86	175.40	355.42	105.2		
$\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol)	2.000 8	244.24	242.80	469.17	92.6	94.6	2.80
	2.009 5	245.30	242.80	472.41	93.5		
	2.004 1	244.64	242.80	470.37	93.0		
	2.006 6	244.95	242.80	470.66	93.0		
	2.007 7	245.09	242.80	485.87	99.2		
	2.008 2	245.14	242.80	479.61	96.6		

表 4 猴头菌丝固体培养物含量测定结果 ( $n=3$ )Tab. 4 Contents of solid cultures of *Hericium mycelium*

批号 (lot No.)	含量 (content)/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )		总含量 (total content)/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	相对平均偏差 (relative average deviation)/%
	麦角甾醇 (ergosterol)	$\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol)		
20141108	0.136	0.102	0.238	0.97
140113	0.141	0.128	0.269	1.09
150603	0.178	0.115	0.293	0.13
141122-1	0.094	0.127	0.222	2.53
141210-2	0.081	0.105	0.186	0.24
150703	0.142	0.108	0.250	0.14
141122-2	0.079	0.120	0.199	2.42
141026-1	0.105	0.126	0.231	1.17
141104-2	0.082	0.101	0.183	0.17
140316	0.084	0.110	0.194	3.76

表 5 胃乐宁片的含量测定结果 ( $n=3$ )

Tab. 5 Contents of Weilening tablets

批号 (lot No.)	含量 (content) / ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )		总含量 (total content) / ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	相对平均偏差 (relative average deviation) / %
	麦角甾醇 (ergosterol)	$\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol)		
150607	0.085	0.125	0.209	0.23
150902	0.083	0.115	0.198	2.20
150609	0.069	0.101	0.170	1.31
151009	-	-	-	-
150808	-	-	-	-
151101	0.043	0.060	0.103	2.41
150507	0.252	0.380	0.632	2.61
150804	0.017	0.028	0.045	1.12
151001	0.033	0.047	0.080	0.09
141104	0.019	0.020	0.040	3.51

### 3.2 耐用性实验

在耐用性试验中分别考察了以十八烷基硅烷键合硅胶为填料的 3 种不同品牌的  $C_{18}$  色谱柱 [Kromasil  $C_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ )、Agilent ZORBAX  $C_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ )、Thermo Scientific Synchronis  $C_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ )]、不同流速 ( $0.9$ 、 $1.0$  和  $1.1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 和不同的柱温 ( $33$ 、 $35$  和  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 等对提取的影响, 结果表明在既定的色谱条件下, Kromasil  $C_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ) 能达到较好的分离效果, 峰形较好, 故选用 Kromasil  $C_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ )。色谱条件的微小变化对测定结果影响不大 (RSD 均小于 1%)。

### 3.3 检测器的选择

$\beta$ -谷甾醇除在紫外末端有吸收外, 未见其他紫外吸收峰, 用紫外法测定时, 存在基线漂移不稳, 响应值小等缺点, 不易测定。ELSD 是一种通用型检测器, 能够适用所有物质的测定, 且无溶剂峰干扰, 基线平稳, 便于定性与定量, 因此本实验选择 ELSD 检测器。

### 3.4 小结

本实验采用 HPLC-ELSD 方法, 同时测定猴头菌丝固体培养物及胃乐宁片中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇含量, 通过对方法考察, 结果表明, 所建立的检测方法中, 各成分精密度、稳定性、重复性良好, 加样回收率实验结果符合定量分析的要求, 方法简便易行, 可为胃乐宁片的质量标准的建立和完善提供科学

依据。

有 2 批胃乐宁片未测出麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇 (表 5), 这可能的原因是猴头菌丝固体培养物制备为胃乐宁的过程中某些操作导致一些批次中麦角甾醇和  $\beta$ -谷甾醇损失较大, 针对这一问题实验室将进行后续试验探究原因。

### 参考文献

- [1] 卫生部药品标准. 中药成方制剂第 18 册 [S]. 1998: 235  
Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, PR China. The Preparation of Traditional Chinese Drug, Vol 18 [S]. 1998: 235
- [2] 顾慧芬, 庄意丽, 张梦玲. HPLC 法测定猴头菌片中腺苷 [J]. 中成药, 2012, 34(7): 1405  
GU HF, ZHUANG YL, ZHANG ML. Determination of adenosine in pieces of *Hericium mycelium* by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med, 2012, 34(7): 1405
- [3] KOBORI M, YOSHIDA M, OHNISHI-KAMEYAMA M, et al. Ergosterol peroxide from an edible mushroom suppresses inflammatory responses in RAW264.7 macrophages and growth of HT29 colon adenocarcinoma cells [J]. Brit J Pharmacol, 2007, 150(2): 209
- [4] WANG Z, LUO D, LIANG Z. Structure of polysaccharides from the fruiting body of *Hericium erinaceus* Pers [J]. Carbohydr Polym, 2004, 57(3): 241
- [5] 周帅, 薛俊杰, 刘艳芳, 等. 高效阴离子色谱-脉冲安培检测法分析食用菌中海藻糖、甘露醇和阿糖醇 [J]. 食用菌学报, 2011, 18(1): 49  
ZHOU S, XUE JJ, LIU YF, et al. Determination of arabinose, trehalose and mannitol in the fruit bodies of edible fungi using high performance anion chromatography-pulsed amperometric detection

- (HAPEC-PAD)[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2011, 18(1): 49
- [6] NOH HJ, YOON JY, KIM GS, *et al.* Benzyl alcohol derivatives from the mushroom *Hericium erinaceum* attenuate LPS-stimulated inflammatory response through the regulation of NF- $\kappa$ B and AP-1 activity[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2014, 36(5): 349
- [7] LEE KF, CHEN JH, TENG CC, *et al.* Protective effects of *Hericium erinaceus* mycelium and its isolated erinacine A against ischemia-injury-induced neuronal cell death via the inhibition of iNOS/p38 MAPK and nitrotyrosine[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 15073
- [8] 张鹏, 图力古尔, 包海鹰. 猴头菌属真菌化学成分及药理活性研究概述[J]. *菌物研究*, 2011, 9(1): 54
- ZHANG P, BAU T, BAO HY. Summarization of researches on chemical composition and pharmacological activity of *Hericium* species[J]. *J Fungal Res*, 2011, 9(1): 54
- [9] PRATS N, LÓPEZ S, DOMINGO M, *et al.* Prolonged persistence of *Listeria monocytogenes*, after intragastric infection in corticosteroid-treated mice[J]. *Vet Microbiol*, 1997, 58(1): 79
- [10] MAERTENS JA. History of the development of azole derivatives[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(1): 1210
- [11] 李思明, 冯怡, 曾星. HPLC-APCI-MS/MS 法同时测定猪苓颗粒中麦角甾酮与麦角甾醇的含量[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(4): 649
- LI SM, FENG Y, ZENG X. HPLC-APCI-MS/MS method for simultaneous determination of ergot sterone and ergosterol in *Polyporus umbellatus* particles[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(4): 649
- [12] 张萍, 肖新月, 黄玮, 等. RP-HPLC-UV 法测定 5 种发酵虫草制剂中麦角甾醇的含量[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(2): 258
- ZHANG P, XIAO XY, HUANG W, *et al.* RP- HPLC- UV determination of ergosterol in five preparations of fermental *Cordyceps*[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2011, 31(2): 258
- [13] 肖志彬, 刘小雷, 成日青, 等.  $\beta$ -谷甾醇对阿司匹林致胃黏膜损伤副作用及其药理作用的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(1): 148
- XIAO ZB, LIU XL, CHENG RQ, *et al.* Influence of  $\beta$ -sitosterol on gastric mucosal side effect induced by aspirin and its pharmacological functions[J]. *Chin J Exp Tradit Form*, 2016, 22(1): 148
- [14] NAVARRETE A, TREJO-MIRANDA JL, REYES-TREJO L. Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity[J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79(3): 383
- [15] 吴迎辉. 高效液相色谱法测定胃乐宁片中麦角甾醇的含量[J]. *中国民族民间医药*, 2012, 21(14): 62
- WU YH. HPLC determination of the content of the ergosterol in Weilening tablets[J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2012, 21(14): 62
- [16] 李坤艳, 何云庆. 猴头菌丝体多糖的化学研究[J]. *中国中药杂志*, 1999, 24(12): 742
- LI KY, HE YQ. Chemical analysis of polysaccharides from *Hericium erinaceus*[J]. *China J Chin Mater Med*, 1999, 24(12): 742
- [17] 沈于兰, 金卓, 丁晴. 胃乐宁片的质量控制研究[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(15): 1825
- SHEN YL, JIN Z, DING Q. Quality control research of Weilening tablets[J]. *Chin J New Drugs*, 2013, 22(15): 1825
- [18] 中国药典 2015 年版. 四部[S]. 2015: 375
- ChP 2015. Vol IV[S]. 2015: 375

(本文于 2016 年 7 月 4 日收到)