

Assay of Estradiol and Testosterone in Pilose Antler

Ling Yun, Luo Fangcheng, Li Qiuxia, *et al.* (Department of Pharmacy, Naval General Hospital, Beijing 100037).

Abstract The Chinese traditional drug, pilose antler was assayed to establish its quality standard. The contents of estradiol and testosterone in pilose antler were determined by radioimmunoassay. Their high estradiol levels in pilose antler of *Cervus australicum* (15.3 ± 1.82 ng/g and of *C. nippon* (11.40 ± 1.26) ng/g were both highly significant different ($P < 0.01$) as compared with ossified antler (1.90 ± 0.26) ng/g. The counterfeit pilose antler and antler glue contained low levels of estradiol, having no significant differences from ossified antler ($P < 0.05$). And there were no significant differences of testosterone levels in 5 crude drugs mentioned above. An assay of estradiol in pilose antler may correctly evaluate the quality of the crude drug.

Key words Pilose antler estradiol testosterone radioimmunoassay

HPLC 法测定石刁柏中的蜀葵氨酸含量

中国林业科学院森林环境与保护研究所(北京 100091) 刘惠文* 韩振泰

摘要 采用 Zorbaxrx-C₁₈ 色谱柱,以 0.05 mol/L 醋酸钠-甲醇(80:20)为流动相,邻苯二甲醛-2-巯基乙醇做柱后衍生剂,利用荧光检测器的高效液相色谱法对石刁柏中的蜀葵氨酸进行了直接分离分析,方法简便、快速、重现性好,回收率为 96.4%。

关键词 HPLC 蜀葵氨酸 石刁柏 柱后衍生

存在于棉花、萱草、百合等植物体内的蜀葵氨酸(altheine)在中草药中所发挥的药学作用早已被人们所重视,这种成分在医疗上具有很显著的止咳平喘功效。石刁柏 *Asparagus officinalis* 俗称“芦笋”、“龙须菜”,属多年生宿根草本的百合科植物,实验证明,该植物体内含有较为丰富的蜀葵氨酸成分。笔者采用 RP-HPLC 法,邻苯二甲醛-2-巯基乙醇柱后衍生,成功地进行了对石刁柏中蜀葵氨酸的分离与检测,得到回收率为

96.4%,标准偏差为 0.0042% 的良好结果。

1 仪器与试剂

仪器:美国 Waters 公司高效液相色谱仪;包括 M-510 高压泵,M-710B 自动进样器,M-470 荧光检测器,M-730 数据处理机,柱温控制系统。

试剂:甲醇、无水醋酸钠、硼酸、氢氧化钾为分析纯;邻苯二甲醛、2-巯基乙醇、蜀葵氨酸标准品为优级纯;水为重蒸水并经过 0.45 μm 滤膜过滤。

* Address: Liu Huiwen, Institute of Forest Environment and Protect, Chinese Academy of Forestry Sciences, Beijing
刘惠文 女,1980 年毕业于清华大学化学工程系,现任中国林业科学研究院分析中心主任,高级工程师。多年来一直从事仪器化学和分析化学研究与试验工作。1994 年以编委出版专著《现代实用仪器分析方法》,先后在《分析化学》、《色谱》、《中草药》、《氨基酸与生物资源》等杂志上发表论文 14 篇。

2 实验方法

2.1 样品制备:标准样品:准确称取蜀葵氨酸标准品 5.2 mg 于 25 mL 容量瓶中,用重蒸水溶解并定容,摇匀备用。样品制备:准确称取石刁柏植物样品 5 g,剪碎研细后放入 250 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 重蒸水在水浴上回流提取 2 h,过滤定容于 50 mL 容量瓶中,滤液经 0.45 μm 滤膜过滤后上机检测。

2.2 色谱条件:色谱柱:Zorbaxrx-C₁₈(0.46 × 25 cm),柱温:35℃,流动相:0.05 mol/L NaAc-CH₃OH=80 : 20,流速:0.8 mL/min,荧光检测器,λ_{ex}:338 nm,λ_{em}:425 nm。

3 实验结果

3.1 标准曲线绘制:准确吸取上述标准溶液 2、4、6、8、10 mL,分别放入 5 个 25 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容到刻度,摇匀。在上述色

谱条件下,对以上 5 种浓度的标准溶液进行衍生、分离,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,同时得标准图谱见图 1-A,蜀葵氨酸的线性回归方程为 $Y = 30\,165.03X + 12\,587.83, r = 0.9842$ 。

3.2 精密度试验:精确吸取石刁柏样品提取液 5 μL,平行进样 5 次(n=5),测得蜀葵氨酸的变异系数为 0.94%,标准偏差为 0.0042%。

3.3 回收率实验:精确称取 2.8 mg 蜀葵氨酸标准品于已精确称量好的石刁柏样品中,重复样品制备过程,得测试液,进样 10 μL 进行分析,计算蜀葵氨酸的回收率为 96.4%。

3.4 样品测定:精确吸取样品提取液 10 μL 进样分析,得样品分离图谱见图 1-B,以外标定量法计算石刁柏提取液中蜀葵氨酸的含量,见表 1。

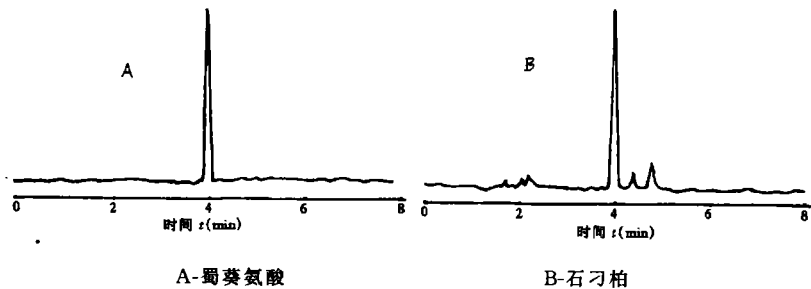


图 1 石刁柏样品中蜀葵氨酸分离图

表 1 样品中蜀葵氨酸含量

样品号	1	2	3
含量(g/100 g)	0.598	0.463	0.482

4 讨论

本文根据蜀葵氨酸的分子结构确定了其在 Zorbaxrx-C₁₈反向分离柱上会有很强的保留,在对不同比例的醋酸纳/甲醇流动相进行的多次试验中,发现 0.05 mol/L NaAc-CH₃OH=80 : 20,流速为 0.8 mL/min 时的分离效果最好。

由于氨基酸及其部分酰胺类物质的衍生物在荧光 λ_{ex}:338 nm、λ_{em}:425 nm 波长处具有很强的吸收,所以本实验采用了邻苯二甲

醛-2-巯基乙醇(OPA)柱后衍生,荧光检测器检测的方法进行了蜀葵氨酸的有效分离和检测,在此波长下,蜀葵氨酸的 OPA 衍生物具有很强的荧光吸收强度,不仅图谱清晰,峰形对称,同时还避免了许多其它物质的吸收干扰,使定量更加准确。

参考文献

1 中国林科院分析中心. 现代实用仪器分析方法. 北京: 中国林业出版社,1994
2 Dorrestei R C. J Chromatogr,1996,A724,159
3 中国人民解放军南京军区药物研究组. 中草药通讯, 1972,3(4):30

(1998-09-28 收稿)