[15] 侯冬枝，谢长生，平其能，等. 雷公藤内酯醇新型 SLN 包封率的测定及载体材料筛选[J]. 中国药学杂志，2007，42(12)：919-923.

[16] 刘 蕾，平其能，张 灿，等. 环孢素 A 壳聚糖衍生物胶束的制备及其大鼠口服生物利用度[J]. 中国药科大学学报，2007，38(3)：208-212.

猴头菌素 A 2 种包合物制备工艺的优化及其稳定性

刘若曦[1]， 王 平[1*]， 何晋浙[2]
(1. 浙江工业大学药学院，浙江 杭州 310014；2. 浙江工业大学海洋学院，浙江 杭州 310014)

摘要：目的 优化猴头菌素 A 2 种包合物制备工艺，并评价其稳定性。**方法** 以投料比、研磨时间、研磨速度为影响因素，包合率、收率为评价指标，正交试验优化制备工艺。红外分光光度法和 TLC 法对所得包合物进行表征，并考察其在高温（60 ℃）、强光（3 000 lx）、高湿度［(90 ± 5)% ］下的稳定性。**结果** 环糊精最佳包合条件为投料比5∶1，研磨时间 60 min，研磨速度 300 r/min，包合率 20.66%，收率 88.21%；羟丙基-β-环糊精最佳包合条件为投料比 25∶1，研磨时间 90 min，研磨速度 400 r/min，包合率 69.25%，收率 96.31%。猴头菌 80% 乙醇提取物的包合是物理过程，未发生成分变化。在高温、强光下，两种包合物外观无明显变化，猴头菌素 A 损失小，在高湿度条件下恰好相反。羟丙基-β-环糊精包合物的包合效果优于 β-环糊精包合物。**结论** 猴头菌素 A β-环糊精、羟丙基-β-环糊精包合物具有良好的热稳定性、光稳定性，但易发生潮解。

关键词：猴头菌素 A；包合物；β-环糊精；羟丙基-β-环糊精；制备；正交试验；稳定性
中图分类号：R944 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-1528(2018)01-0080-07
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.01.015

Preparation optimization for two inclusion compounds of erinacine A and their stabilities

LIU Ruo-xi[1], WANG Ping[1*], HE Jin-zhe[2]
(*1. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. Ocean College, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China*)

ABSTRACT: AIM To optimize the preparation of two inclusion compounds of erinacine A and to evaluate their stabilities. **METHODS** With feed ratio, milling time and milling speed as influencing factors, inclusion rate and yield as evaluation indices, the preparation was optimized by orthogonal test. The obtained inclusion compounds were characterized by infrared spectrophotometry and TLC, whose stabilities at high temperature (60 ℃), strong light (3 000 lx) and high humidity [(90 ± 5)%] were investigated. **RESULTS** The optimal β-cyclodextrin inclusion conditions were determined to be 5∶1 for feed ratio, 60 min for milling time, and 300 r/min for milling speed, the inclusion rate and yield were 20.66% and 88.21%, respectively. The optimal hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion conditions were determined to be 25∶1 for feed ratio, 90 min for milling time, and 400 r/min for milling speed, the inclusion rate and yield were 69.25% and 96.31%, respectively. The inclusion of *Hericium erinaceus* 80% ethanol extract was physical process without composition change. At high temperature and strong light, two inclusion compounds' appearance showed no obvious change with little loss of erinacine A, which was just the

收稿日期：2017-01-19
基金项目：国家高技术研究发展计划（863 计划）课题（2014AA022205）
作者简介：刘若曦（1990—），女，硕士生。Tel：(0571) 88320867，13750842047，E-mail：252619105@qq.com
*通信作者：王 平（1969—），女，博士，教授，研究方向为天然药物化学、中药及天然药物活性成分。Tel：(0571) 88320867，E-mail：wangping45@zjut.edu.cn

contrary at high humidity. The inclusion effect of hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion compound was better than that of β-cyclodextrin inclusion compound. **CONCLUSION** Both β-cyclodextrin and hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion compounds of erinacine A exhibit good heat stability and light stability, but deliquescence can easily happen to them.

KEY WORDS: erinacine A; inclusion compounds; β-cyclodextrin; hydroxypropyl-β-cyclodextrin; preparation; orthogonal test; stabilities

猴头菌 *Hericium erinaceus* 属于担子菌门猴头菌科猴头菌属，是著名的药食兼用真菌[1]，据《中国药用真菌》记载，其性平、味甘，能利五脏、助消化、滋补、抗癌、治疗神经衰弱[2]。猴头菌素是一类具有 Cyathane 骨架类型的二萜化合物[3]，主要存在于猴头菌菌丝体中，目前有 24 种被分离鉴定出[4-12]，能有效促进体外培养星形胶质细胞神经生长因子（NGF）的合成，是治疗神经功能障碍疾病（如阿尔茨海默症）的潜力药物[13]，但其水溶性与稳定性较差，在生物活性测定及相关制剂制备方面有一定困难。由于包埋技术能显著提高难溶性物质的水溶性与稳定性，故本实验采用固相共研磨法制备包合物，以 β-环糊精（β-CD）与羟丙基-β-环糊精（HP-β-CD）作为包合主体，猴头菌 80% 乙醇提取物作为包合客体，测定包合物中猴头菌素 A 的含有量，再通过正交试验进行工艺优选，以期为相关制剂的开发提供一定基础。

1 材料

1.1 试剂 猴头菌素 A 对照品为实验室自制，含有量 99% 以上；甲醇、乙醇、乙酸乙酯均为分析纯（上海凌峰化学试剂有限公司）；乙腈为色谱纯（韩国 SK Chemicals 公司）；水为超纯水。猴头菌菌丝体冻干粉（40 ~ 60 目）购自杭州雪域生物科技有限公司，经浙江工业大学海洋学院何晋浙副教授鉴定为猴头菌科猴头菌属真菌猴头菌 *Hericium erinaceus*（Bull. : Fr）Pers. 的菌丝体，包合物由项目合作方提供。GF_{254} 薄层硅胶板（青岛海洋化工有限公司）；β-环糊精、羟丙基-β-环糊精、无水硫酸钠（国药集团化学试剂有限公司）。

1.2 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪（美国 Agilent Technologies 公司）；NANOpure Diamond 超纯水系统（美国 Thermo Barnstead 公司）；TJS-3000 智能数控超声波发生器 v6.0（杭州成功超声设备有限公司）；BSA423S 分析天平（德国 Sartorius 公司）；MS-H-Pro + 加热磁力搅拌器（北京欣维尔玻璃仪器有限公司）；PM200 行星式球磨仪（德国 Retsch Technology 公司）；LHH-150GP 综合药品稳定性试验箱（上海一恒科学仪器有限公司）；AV-ATAR-370 红外光谱仪（美国 Nicolet Instrument Corporation）。

2 方法与结果

2.1 猴头菌素 A 含有量测定

2.1.1 色谱条件 Welch Ultimate XB-C_{18} 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；体积流量 1.5 mL/min；柱温 25 ℃；检测波长 340 nm。流动相见表 1。

表 1 流动相条件

Tab. 1 Mobile phase conditions

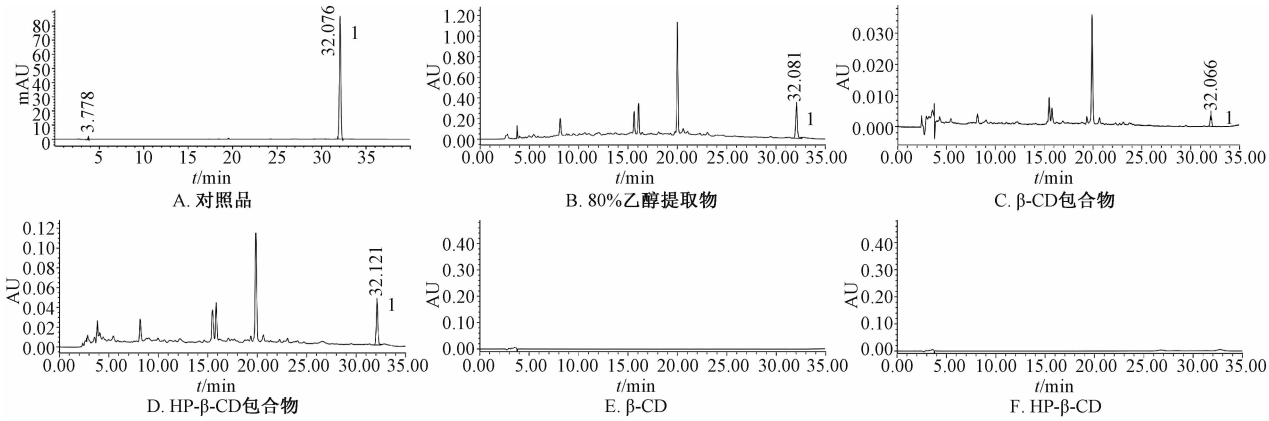
时间/min	乙腈/%	水/%
0	20	80
10	30	70
20	50	50
30	60	40

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取猴头菌素 A 对照品适量，加甲醇配制成 100 μg/mL 溶液，即得。

2.1.3 供试品溶液制备 精密称取 β-CD、HP-β-CD、80% 乙醇提取物、β-CD 包合物、HP-β-CD 包合物各 0.5 g，置于锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声处理 30 min 后，静置放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.1.4 专属性考察 精密吸取对照品、供试品溶液各 20 μL，在“2.1.1”项色谱条件下测定，结果见图 1。由图可知，猴头菌素 A 色谱峰保留时间合适，分离度大于 1.5，β-CD 与 HP-β-CD 不干扰分析。

2.1.5 线性关系考察 精密称取猴头菌素 A 对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，得 10 mg/mL 贮备液，精密移取 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 mL，置于 100 mL 量瓶中，甲醇稀释至刻度，摇匀，在“2.1.1”项色谱条件下进样 20 μL 测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为



1. 猴头菌素 A

1. erinacine A

图 1 猴头菌素 A HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of erinacine A

$Y = 1\ 024.1X - 9.165$（$r = 0.999\ 9$），在 20 ~ 400 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.6 精密度试验 精密量取 100 μg/mL 贮备液 20 μL，重复进样 6 次，在“2.1.1”项色谱条件下测定，测得猴头菌素 A 峰面积 RSD 为 0.66%，表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 精密量取 100 μg/mL 贮备液 20 μL，于 0、4、8、12、24、48 h 在“2.1.1”项色谱条件下测定，测得猴头菌素 A 峰面积 RSD 为 1.33%，表明溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 精密称取 6 份 β-CD、HP-β-CD 包合物粉末，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，精密吸取供试品、对照品溶液各 20 μL，在“2.1.1”项色谱条件下测定，测得猴头菌素 A 峰面积 RSD 分别为 0.533%、0.651%，表明该方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 精密称取 6 份 β-CD、HP-β-CD 包合物粉末各 0.25 g，置于具塞锥形瓶中，加入猴头菌素 A 对照品适量，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下测定，测得平均加样回收率为 101.2%，RSD 为 1.15%。

2.2 固相包合工艺

2.2.1 80% 乙醇提取物制备 取冻干粉原料适量，置于 80% 乙醇中，50 ℃下超声 45 min，超声功率 18 kHz，所得浸膏用 pH9 的蒸馏水分散，乙酸乙酯萃取 3 次，乙酸乙酯层用无水硫酸钠干燥 1 d，减压抽滤旋干，即得，得率约为 2.3%。

2.2.2 包合物制备

2.2.2.1 β-CD 精密称取 1.500 g β-CD 置于球磨罐中，加入少量蒸馏水研匀，使其含湿量在20% ~ 50% 之间，少量甲醇溶解 80% 乙醇提取物，吸取适量至球磨罐中，机械研磨一段时间后，将所得膏状物转移至抽滤漏斗上，少量水、乙酸乙酯依次快速洗涤，50 ℃下真空干燥 1 d，即得，其性状为白色粉末。

2.2.2.2 HP-β-CD 精密称取 1.500 g HP-β-CD 置于球磨罐中，加入少量蒸馏水研匀，使其含湿量在 20% ~50% 之间，少量甲醇溶解 80% 乙醇提取物，吸取适量至球磨罐中，机械研磨一段时间后，将所得胶状物用适量蒸馏水溶解并转移至圆底烧瓶中，旋转蒸发仪旋去水分，50 ℃下真空干燥 1 d，再转移至抽滤漏斗上，少量乙酸乙酯快速洗涤，室温下挥干，即得，其性状为橙色晶体。

2.2.2.3 包合物指标计算 以包合率和收率为评价指标，采用两者综合评分（包合率 ×0.8 + 收率 ×0.2，满分为 100 分）进行最优工艺筛选，计算公式如下。

$$\text{包合率} = \frac{\text{包合物中猴头菌素 A 含有量}}{\text{猴头菌素 A 加入量}} \times 100\%$$、

$$\text{收率} = \frac{\text{包合物质量}}{\text{包合主体加入量} + \text{包合客体加入量}} \times 100\%$$

2.3 正交实验 根据单因素试验结果，确定投料比（A）、研磨时间（B）、研磨速度（C）作为影响因素，包合率与收率的综合评分作为评价指标，进行 3 因素 3 水平正交试验设计，因素水平见表 2 ~ 3，试验设计及结果见表 4 ~ 5，方差分析见表 6 ~ 7。

表 2 β-CD 包合物因素水平

Tab. 2 Factors and levels for β-CD inclusion compound

水平	A 投料比	B 研磨时间/min	C 研磨速度/(r·min^{-1})
1	2∶1	30	300
2	5∶1	60	400
3	10∶1	90	500

表 3 HP-β-CD 包合物因素水平

Tab. 3 Factors and levels for HP-β-CD inclusion compound

水平	A 投料比	B 研磨时间/min	C 研磨速度/(r·min^{-1})
1	15∶1	60	300
2	20∶1	90	400
3	25∶1	120	500

表 4 β-CD 包合物试验设计与结果

Tab. 4 Design and results of tests for β-CD inclusion compound

试验号	A 投料比	B 研磨时间/min	C 研磨速度/(r·min^{-1})	D(空白)	包合率/%	收率/%	综合评分
1	1	1	1	1	2.233	60.33	13.85
2	1	2	2	2	3.146	63.17	15.15
3	1	3	3	3	1.542	62.59	13.75
4	2	1	2	3	12.60	87.60	27.60
5	2	2	3	1	18.93	88.16	32.78
6	2	3	1	2	18.56	85.89	32.03
7	3	1	3	2	1.812	70.91	15.63
8	3	2	1	3	8.860	82.51	23.59
9	3	3	2	1	2.260	67.68	15.34
k_1	14.25	19.03	23.16				
k_2	30.80	23.84	19.37				
k_3	18.19	20.37	20.72				
R	16.55	4.810	3.790				

表 5 HP-β-CD 包合物试验设计与结果

Tab. 5 Design and results of tests for HP-β-CD inclusion compound

试验号	A 投料比	B 研磨时间/min	C 研磨速度/(r·min^{-1})	D(空白)	包合率/%	收率/%	综合评分
1	1	1	1	1	30.22	89.78	42.13
2	1	2	2	2	30.40	90.63	42.45
3	1	3	3	3	28.93	90.25	41.19
4	2	1	2	3	67.28	95.19	72.86
5	2	2	3	1	68.32	96.80	74.02
6	2	3	1	2	43.95	94.68	54.10
7	3	1	3	2	55.67	93.39	63.21
8	3	2	1	3	67.93	95.20	73.38
9	3	3	2	1	57.92	94.88	65.31
k_1	41.92	59.40	56.54				
k_2	66.99	63.28	60.21				
k_3	67.30	53.53	59.48				
R	25.07	9.750	3.670				

表 6 β-CD 包合物方差分析

Tab. 6 Analysis of varlance for β-CD inclusion compound

变异来源	SS_T	f	方差	F 值	P 值
A	448.4	2	224.2	286.9	<0.01
B	36.96	2	18.48	23.65	<0.05
C	22.14	2	11.07	14.17	>0.05
误差	1.563	2	0.781 4	—	—

注：$F_{0.05}(2,2)=19$

表 7 HP-β-CD 包合物方差分析

Tab. 7 Analysis of varlance for HP-β-CD inclusion compound

变异来源	SS_T	f	方差	F 值	P 值
A	1 273	2	636.3	15.51	<0.05
B	144.5	2	72.26	1.761	>0.05
误差	164.1	4	41.02	—	—

注：$F_{0.05}(2,4)=6.94$

由此可知，影响 β-CD 包合物包合率的因素依次为 A > B > C，其中 A 因素 $k_2 > k_3 > k_1$，B 因素 $k_2 > k_3 > k_1$，C 因素 $k_1 > k_3 > k_2$，可知投料比（A）为主要影响因素，有极显著影响（$P < 0.01$）；研磨时间（B）有较显著影响（$P < 0.05$）；研磨速度（C）影响不显著（$P > 0.05$）。综上所述，β-CD 包合物的最优包合工艺为 $A_2B_2C_1$，即投料比 5∶1，研磨时间 60 min，研磨速度 300 r/min。

对 HP-β-CD 包合物而言，研磨速度（C）的方差小于误差项，故合并为误差后分析；投料比（A）对包合物的综合评分有较显著影响（$P < 0.05$），而研磨时间（B）影响不显著（$P > 0.05$）。极差（R）显示，各因素的影响程度依次

为 A > B > C，其中 A 因素 $k_3 > k_2 > k_1$，B 因素 $k_2 > k_1 > k_3$，C 因素 $k_2 > k_3 > k_1$。综上所述，HP-β-CD 包合物的最优包合工艺为 $A_3B_2C_2$，即投料比 25∶1，研磨时间 90 min，研磨速度 400 r/min。

2.4 验证试验 按照最优包合工艺分别制备 2 种包合物，平行 3 批，测定其包合率及收率，计算综合评分，结果见表 8，两者综合评分 RSD 分别为 3.87%、0.98%，表明工艺合理稳定。

表 8 验证试验结果（$n=3$）

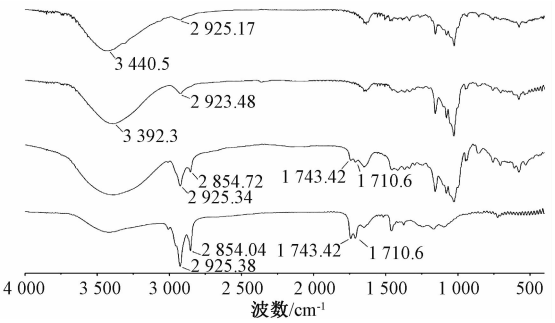
Tab. 8 Results of validation tests（$n=3$）

辅料	包合率/%	收率/%	综合评分
β-CD	20.66	88.21	34.17
HP-β-CD	69.25	96.31	74.66

2.5 包合物表征

2.5.1 红外光谱法 分别对 80% 乙醇提取物、β-CD、β-CD 包合物、HP-β-CD、HP-β-CD 包合物及其相应物理混合物进行红外光谱分析，采用 KBr 压片，扫描范围 4 000 ~ 400 cm^{-1}，并以透光率为纵坐标，波数为横坐标绘制红外光谱图，结果见图 2 ~ 3，可知物理混合物的吸收峰为 80% 乙醇提取物、包合主体吸收峰的叠加，其包合物的吸收峰与前两者有很明显的差异。以 β-CD 为例，在 80% 乙醇提取物与物理混合物中，2 925、2 854 cm^{-1}处有 2 个特征峰，为烷基的 υ（C-H）伸缩振动峰；在 1 743、1 710 cm^{-1}处也有 2 个特征峰，而其在包合物中均消失不见；β-CD 与其包合物的谱图大体相似，但 3 440 cm^{-1}处 υ（O-H）的伸缩振动峰在包合物中移到了 3 392 cm^{-1}，表明其空腔中的氢键在包合前后发生了变化，包合物形成后部分氢键会被破坏。HP-β-CD 亦然，80% 乙醇提取物与物理混合物中的特征峰在包合物中均消失不见，包合客体 2 403 cm^{-1}处的特征峰在包合物中发生红移，表明包合物已形成。

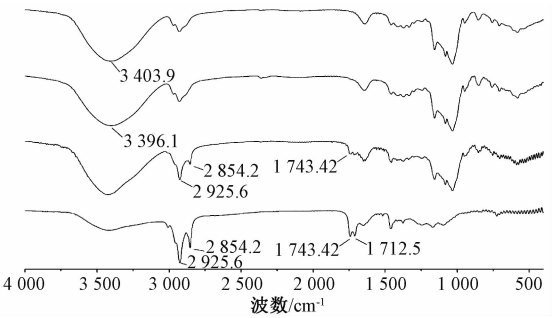
2.5.2 TLC 法 取 80% 乙醇提取物、β-CD、HP-β-CD 包合物各 0.1 g，溶于 10 mL 甲醇中；取 β-CD、HP-β-CD 包合物各 0.1 g，溶于 10 mL 蒸馏水中，将 2 种包合物甲醇溶液超声 30 min 以使其解包合。在薄层层析硅胶板（GF_{254}）上用毛细管点样，点样量 2.5 μL，展开体系分别为氯仿-乙醇（20∶1）、氯仿-丙酮（2∶1），结果见图 4 ~ 5。由图可知，80% 乙醇提取物与解包合后的 2 种包合物在不同显色方法下均具有相同 TLC 色谱图，表明包合前后成分无变化；2 种包合物 TLC 图谱无明显斑点，表明 80% 乙醇提取物已被主体包合。



注：由上至下依次为 β-CD、β-CD 包合物、物理混合物（80% 乙醇提取物 + β-CD）、80% 乙醇提取物

图 2 β-CD 红外光谱图

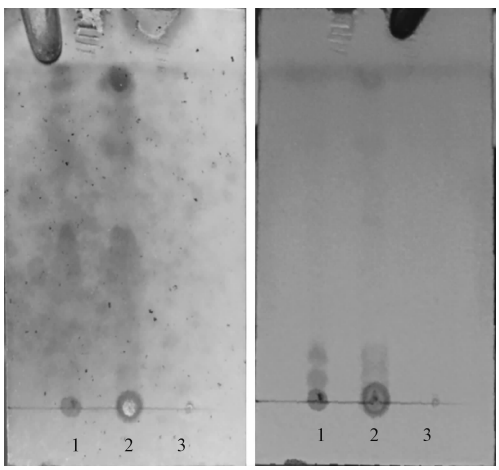
Fig. 2 IR spectrum of β-CD



注：由上至下依次为 HP-β-CD、HP-β-CD 包合物、物理混合物（80% 乙醇提取物 + HP-β-CD）、80% 乙醇提取物

图 3 HP-β-CD 红外光谱图

Fig. 3 IR spectrum of HP-β-CD



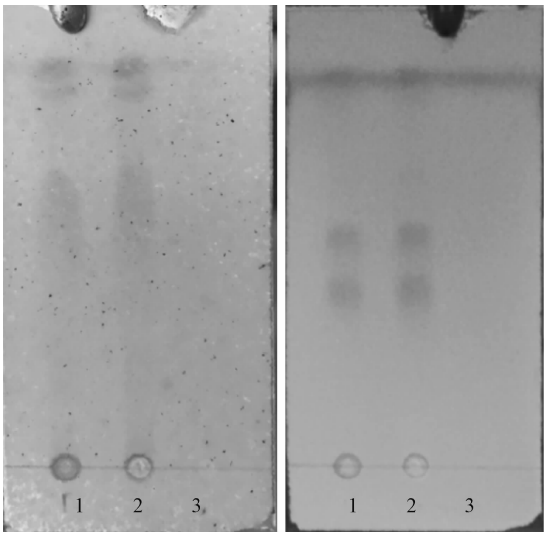
注：左图为紫外灯 254 nm，右图为香兰素 10% 硫酸乙醇溶液显色

1. 80% 乙醇提取物 2. β-CD 包合物甲醇溶液 3. β-CD 包合物

1. 80% ethanol extract 2. methanol solution of β-CD inclusion compound 3. β-CD inclusion compound

图 4 β-CD TLC 色谱图

Fig. 4 TLC chromatograms of β-CD



注：左图为紫外灯 254 nm，右图为香兰素 10% 硫酸乙醇溶液显色

1. 80% 乙醇提取物 2. HP-β-CD 包合物甲醇溶液 3. HP-β-CD 包合物

1. 80% ethanol extract 2. methanol solution of HP-β-CD inclusion compound 3. HP-β-CD inclusion compound

图 5 HP-β-CD TLC 色谱图

Fig. 5 TLC chromatograms of HP-β-CD

2.6 *包合物稳定性考察* 对包合物进行 10 d 的快速稳定性试验。以猴头菌素 A 含有量为考察指标，计算其在包合物中的损失率，计算公式为损失率 = $\frac{\text{试验前物质含有量} - \text{试验后物质含有量}}{\text{试验前物质含有量}} \times 100\%$ 。

2.6.1 高温 将 80% 乙醇提取物与 2 种包合物开口置于培养皿中，摊成厚度≤5 mm 的薄层，在 60 ℃综合药品稳定性试验箱内放置 10 d，于第 3、5、7、10 天取样，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下测定，计算损失率，结果见表 9。

表 9 高温试验结果

Tab. 9 Results of high temperature tests

时间/d	80% 乙醇提取物损失率/%	β-CD 包合物损失率/%	HP-β-CD 包合物损失率/%
3	17.53	1.045	0.570 2
5	26.36	1.718	0.949 8
7	43.02	2.735	1.439
10	57.24	3.482	1.907

2.6.2 强光 将 80% 乙醇提取物与 2 种包合物开口置于综合药品稳定性试验箱内，在 3 000 lx 下放置 10 d，于第 3、5、7、10 天取样，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下测定，计算损失率，结果见表 10。

表 10 强光试验结果

Tab. 10 Results of strong light tests

时间/d	80% 乙醇提取物损失率/%	β-CD 包合物损失率/%	HP-β-CD 包合物损失率/%
3	14.83	0.225 9	0.588 9
5	20.31	0.556 8	1.584
7	32.98	0.873 1	2.064
10	46.01	1.073	2.863

2.6.3 高湿度 将 80% 乙醇提取物与 2 种包合物开口置于综合药品稳定性试验箱内，于相对湿度 (90 ± 5)% 下放置 10 d，于第 3、5、7、10 天取样，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下测定，计算损失率，结果见表 11。

表 11 高湿试验结果

Tab. 11 Results of high humidity tests

时间/d	80% 乙醇提取物损失率/%	β-CD 包合物损失率/%	HP-β-CD 包合物损失率/%
3	6.914	5.785	7.185
5	12.64	8.276	11.57
7	13.78	13.82	17.47
10	20.49	17.84	23.53

3 讨论

实验结果显示，β-CD 在包合物的包合率与收率方面均不及 HP-β-CD，尤其是包合率远低于后者，其原因有多方面。首先，β-CD 的水溶性远不及 HP-β-CD，溶解度仅为 18.5 g/L（25 ℃），而后者在室温下溶解度高达 75%，其水溶液浓度低于 40% 时均能保证流动性良好，不黏稠，而且在研磨时 β-CD 为固相膏状物，而 HP-β-CD 为具有一定流动性的胶状物，后者能与有机相中的客体分子充分接触，包合反应速率更快。其次，包合反应为放热反应，反应物为固体膏状物时不利于热量扩散，容易造成局部过热，导致不稳定的客体分子被破坏。

另外，两者在收率上的差异是由于包合反应结束后的后处理不同所造成的。HP-β-CD 易溶于水，研磨结束后将其包合物溶于水时，可将其从球磨罐中完全转移出来，减少了回收率损失；β-CD 包合物为膏状，溶解度偏低，导致转移时有部分黏附在球磨罐中，收率较 HP-β-CD 低。因此，用固相共研磨法制备包合物时，HP-β-CD 的包合效果优于 β-CD。

然后，采用红外光谱法和 TLC 法对包合物进行表征。经红外光谱分析，包合物相对于主客体各自的吸收峰而言，有多个吸收峰发生了位移或消失，表明猴头菌 80% 乙醇提取物与 β-CD 和 HP-β-CD 均产生了包合作用，表明包合成功；TLC 法除了显示包合物与包合客体的差异之外，还证明了包合前后并未改变包合客体的化学成分，包合过程仅是物理作用。

最后，对包合物进行快速稳定性考察。结果发现，猴头菌 80% 乙醇提取物经高温、强光、高湿试验后，猴头菌素 A 含有量均有较大的损失；β-CD、HP-β-CD 包合物经高温、强光照射试验后，其外观并未发生明显改变，猴头菌素 A 损失率低，表明两者对高温和强光的稳定性较高，其中 β-CD 包合物的热稳定性小于 HP-β-CD 包合物，而其光稳定性则高于后者。然而，在高湿试验中包合物损失率与外观变化较大，其中 β-CD 包合物由乳白色粉末变为微黄结块状物质，而 HP-β-CD 包合物由橙色晶体变为橙色黏稠胶状物质，表明两者对高湿度较敏感，裸露于空气中易发生潮解，故贮藏时应注意保持干燥密封。

参考文献：

[1] 黄年来，林志彬，陈国良. 中国食药用菌学[M]. 上海：上海科学技术文献出版社，2010：206-216.

[2] 麻兵继，徐俊蕾，文春南，等. 猴头菌子实体化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发，2012，24(9)：1165-1168.

[3] Ayer W A, Carstens L L. Diterpenoid metabolites of *Cyathus helenae*. Cyathin B3 and Cyathin C3[J]. *Can J Chem*, 2011, 51(19): 3157-3160.

[4] Kawagishi H, Shimada A, Shirai R, *et al*. Erinacines A, B and C, strong stimulators of nerve growth factors synthesis from mycelia of *Hericium erinaceum*[J]. *Tetrahedron Lett*, 1994, 35(10): 1569-1572.

[5] Kawagishi H, Shimada A, Shizuki K, *et al*. Erinacine D, a stimulator of nerve growth factor (NGF) synthesis from the mycelia of *Hericium erinaceum*[J]. *Heterocycl Commum*, 1996, 2(1): 51-54.

[6] Kawagishi H, Shimada A, Hosokawa S, *et al*. Erinacines E, F and G, stimulators of nervegrowth factor synthesis from the mycelia of *Hericium erinaceum*[J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(41): 7399-7402.

[7] Lee E W, Shizuki K, Hosokawa S, *et al*. Two novel diterpenoides, erinacines H and I from the mycelia of *Hericium erinaceum*[J]. *Biosci Biotech Bioch*, 2000, 64(11): 2402-2405.

[8] Kawagishi H, Masui A, Tokuyama S, *et al*. Erinacines J and K from the mycelia of *Hericium erinaceum*[J]. *Tetrahedron*, 2006, 62(36): 8463-8466.

[9] Kenmoku H, Sassa T, Kato N, *et al*. Isolation of Erinacine P, a new parental metabolite of cyathane-xylosides from *Hericium erinaceum* and its biommetic conversion into Erinaeines A and B[J]. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41(22): 4389-4393.

[10] Kenmoku H, Shimai T, Toyomasu T, *et al*. Erinacine Q, a new erinacine from *Hericium erinaceum*, and its biosynthetic route to erinacine C in the basidiomycete[J]. *Biosci Biotech Bioch*, 2002, 66(3): 571-575.

[11] Kenmoku H, Tanaka K, Okada K, *et al*. Erinacol (cyatha-3, 12-dien-14β-ol) and 11-*O*-acetylcyathin A3, new cyathane metabolites from an erinacine Q-producing *Hericium erinaceum*[J]. *Biosci Biotech Bioch*, 2004, 68(8): 1786-1789.

[12] Ma B J, Zhou Y, Li L Z, *et al*. A new cyathane-xyloside from the mycelia of *Hericium erinaceum*[J]. *Z Naturforsch B*, 2008, 63(10): 1241-1242.

[13] Shimbo M, Kawagishi H, Yokogoshi H, *et al*. Erinacine A increases catecholamine and nerve growth factor content in the central nervous system of rats[J]. *Nutr Res*, 2005, 25(6): 617-623.