

HPLC 法对不同来源红曲中洛伐他汀的定量分析

沈阳军区总医院药剂科(110015) 宋洪涛* 宓鹤鸣** 郭 涛 吴 伟** 储文功**

摘 要 采用硅胶柱预处理-HPLC 对自制红曲 H-18 及市售红曲中的洛伐他汀进行了定量分析, 线性范围 $0.65 \sim 57.2 \mu\text{g/mL}$, $r=0.9999$, 加样回收率为 96.4% , $RSD=3.68\%$ 。结果表明, 各地产红曲商品药材中有 7 种洛伐他汀未测出或只有痕量, 5 种含量甚微 ($0.088 \sim 0.551 \mu\text{g/g}$ 生药), 而自制红曲 H-18 的洛伐他汀含量最高, 达 $5 \mu\text{g/g}$ 生药。

关键词 红曲 洛伐他汀 HPLC

红曲是一味传统中药, 具有活血化瘀、健脾消食之功效, 中医传统用于治疗食积饱胀、瘀滞腹痛等症^[1]。日本于 80 年代中期发现红曲霉属真菌中有些菌种可产生洛伐他汀类似物, 此类物质为 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶的特异性抑制剂, 被认为是当前最有前途的血脂调节药物^[2]。我国传统中药红曲中该类成分的含量如何, 至今还未见有报道, 为此我们以洛伐他汀为标准对照, 采用硅胶柱预处理-HPLC 法对不同产地的红曲商品药材及我们诱变育种得到的红曲霉菌种制备的新红曲 H-18 进行了定量分析。

1 仪器与试剂

Waters 6 高效液相色谱仪, 510 泵、486UV 检测器; 试剂均为分析纯及色谱纯; 硅胶 H(青岛海洋化工厂); 洛伐他汀对照品(美国默莎东大药厂)。13 种红曲样品来源和产地见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Nova-pak, C_{18} ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, 粒径 $6 \mu\text{m}$); 流动相: 甲醇- 0.1% 磷酸溶液-乙腈 ($60:30:10$); 流速: 1.2 mL/min ; 紫外检测波长: 237 nm ; 满量程吸收度: 0.01 AUFS 。

2.2 标准曲线的绘制: 精密称取洛伐他汀对照品 5.20 mg , 用流动相溶解并定容至 100

mL , 分别精密量取适量, 用流动相逐级稀释成 $0.65, 1.30, 2.60, 5.20, 15.6, 26.0, 36.4, 46.8, 57.2 \mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 分别吸取 $25 \mu\text{g}$, 注入色谱仪中测定。以洛伐他汀峰面积(Y)对浓度($X, \mu\text{g/mL}$)作图, 得一直线, 其回归方程为: $Y=2455+70361X$, $r=0.9999$ 。洛伐他汀在 $0.65 \sim 57.2 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关很良好。

表 1 13 种红曲样品来源和产地

编号	来 源	产 地
H-01	淄博市药材公司	山东周村
H-02	武汉市药材公司	不详
H-03	长沙市药材公司	不详
H-04	江阴市药材公司	江苏江阴
H-05	永康市药材公司	浙江永康
H-06	福州市药材公司	福建古田
H-07	广州市药材公司	广东蕉岭
H-08	上海市药材公司	广东五华
H-09	石家庄市药材公司	不详
H-10	南京市长江南北货商店	不详
H-11	镇江市药材公司	不详
H-12	古田县药材公司	福建古田
H-18	本实验室诱变育种所得菌株 经在梗米上发酵而成	本实验室

2.3 灵敏度实验: 当洛伐他汀浓度为 $0.2 \mu\text{g/mL}$ 、进样量为 $25 \mu\text{L}$ 时, 色谱图上信噪比大于 4, 故其最低检测量为 5 ng 。

2.4 精密度实验: 测定已知浓度的对照品溶液多份, 计算所测浓度的相对标准差, 结果见表 2。

* Address: Song Hongtao, Department of Pharmacy, Shenyang Military Region General Hospital, Shenyang

宋洪涛 男, 硕士, 主管药师。1989 年毕业于上海第二军医大学药理学系, 现于沈阳药科大学攻读药剂学博士学位, 主要从事于“中药复方的速释及缓释制剂研究”, 已发表论文 20 余篇, 参编著作 2 部, 获军队科技进步奖 2 项, 辽宁省科技进步奖 1 项。

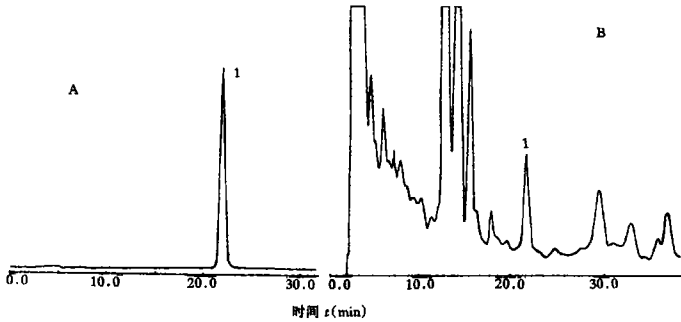
** 上海第二军医大学药学院

表 2 洛伐他汀的日内、日间重现性($n=3$)

对照品浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	RSD(%)	
	日内	日间
2.6	2.54	2.93
26.0	1.35	1.48
57.2	1.29	1.37

2.5 加样回收率实验:精密称取洛伐他汀对照品 0.52 mg 与红曲 H-18 10 g 混合均匀,按样品测定法测定,计算加样回收率,测得 5 次平均回收率为 96.4%,RSD 为 3.68%。

2.6 样品测定:样品于 60℃ 烘干 24 h,粉碎过 60 目筛,取 10 g,精密称定,置索氏提取器中用无水乙醇回流提取 6 h,提取液浓缩成浸膏样,用硅胶 H 2 g 拌样,60℃ 烘干 12 h,上硅胶 H 层析柱,以石油醚-乙酸乙酯(2:1)低压洗脱,收集含有洛伐他汀区段的洗脱液,浓缩近干,用适量无水乙醇溶解,过滤,滤



A-洛伐他汀 B-红曲

图 1 洛伐他汀和红曲供试品 HPLC 图

3 讨论

3.1 红曲置索氏提取器中依次用石油醚、氯仿、乙醇回流提取 6 h,结果发现:红曲的石油醚、乙醇提取液中均含有少量洛伐他汀,可见在石油醚中,红曲中其它物质对洛伐他汀有助溶作用^[3];红曲中可能由于含有大量多糖、蛋白质等物质,加之氯仿对药材组织的渗透润湿作用低,致使用氯仿不能提取完全;又取红曲适量置索氏提取器中用乙醇回流提取 6 h,残渣烘干 12 h,再用氯仿提取 6 h,未发现氯仿提取液中含有洛伐他汀,可见单用乙醇提取是比较完全的。

3.2 红曲的氯仿、乙醇提取液均含有大量杂质,又因其洛伐他汀含量甚微,提取液难以浓

液置于 1 mL 容量瓶内,加无水乙醇至刻度,摇匀即得供试品溶液。精密吸取供试品溶液 25 μL ,注入色谱仪中测试,记录峰面积,结果见表 3 和图 1。

表 3 样品中洛伐他汀含量测定结果($n=3$)

样品编号	平均含量($\mu\text{g/g}$)	RSD(%)
H-01	痕量	—
H-02	0.145	4.51
H-03	0.213	4.15
H-04	0.551	3.34
H-05	0	—
H-06	0	—
H-07	痕量	—
H-08	0.088	6.21
H-09	痕量	—
H-10	0.382	4.27
H-11	痕量	—
H-12	0	—
H-18	4.997	2.12

缩至适宜浓度,故我们采用乙醇提取物浓缩成浸膏样上硅胶 H 柱再洗脱的办法,以去除大量的极性极弱及强极杂质。加样回收率实验证明,此方法是可行的。

3.3 我们曾用薄层层离-紫外光谱法和薄层扫描法对红曲中洛伐他汀进行定量分析,误差大,而 HPLC 法灵敏、重现性较好,可适用于红曲中洛伐他汀的定量分析。

3.4 本研究采用 HPLC 法测定不同产地红曲中的洛伐他汀含量。结果表明,各地红曲虽然均为紫红曲霉菌接种于大米上发酵而成,但其洛伐他汀的含量差异颇大。这可能与菌株不同及发酵条件不同有关。我们通过诱变育种得到的紫红曲霉变异菌株 (*Monascus purpureus* MS18) 制备的新红曲 H-18 中洛伐他汀含量(4.997 $\mu\text{g/g}$ 生药)远高于各地产红曲商品药材。

参考文献

1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 第一版. 上海:上海人民出版社,1997:991
2 Shigenori N, et al. J Antibiotics, 1986,64(6):509
3 Endo A. J Antibiotics, 1979,32:852

(1998-05-04 收稿)

Determination of Lovastatin in Hongqu from Various Sources by HPLC

Song Hongtao, Mi Heming, Guo Tao, *et al.* (Pharmaceutical Department of Shenyang Military Region General Hospital, Shenyang 110015)

Abstract Hongqu, a well known TCM prepared by fermenting rice with *Monascus purpureus* Went (*Monascaceae*), used for the promotion of blood circulation and to resolve blood stasis, was speculated to contain some "statins". Pretreatment-HPLC is applied to determine lovastatin in Hongqu H-18 made in our own laboratory and some other commercially available Hongqu samples. The standard curve is linear in the concentration range of 0.65~57.2 $\mu\text{g/mL}$, the correlation coefficient is 0.9999. The average recovery rate is 96.4% and relative standard deviation 3.68% ($n=5$). The results showed that Hongqu from different commercial sources contain no or only a small amount of lovastatin (0.088~0.551 $\mu\text{g/g}$), but amounted to almost 5 $\mu\text{g/g}$ in Hongqu H-18

Key words Hongqu lovastatin HPLC

HPLC 法比较不同工艺制备的黄连解毒汤及 日本汉方黄连解毒汤中黄芩苷含量

沈阳药科大学中药系(110015) 沈 嘉* 吴秋媚**

摘 要 用 HPLC 方法测定 4 种不同工艺制备的黄连解毒汤提取物粉末及 2 种日本汉方制剂黄连解毒汤中的黄芩苷含量。结果表明方法简便、快速、精密度及回收率好,适合于制剂生产中多批量产品的质量控制在。采用此法比较了不同工艺制备的黄连解毒汤及日本汉方制剂东洋黄连解毒汤、津村黄连解毒汤的黄芩苷的含量。

关键词 黄芩苷 黄连解毒汤 汉方制剂 HPLC 测定

黄连解毒汤原载于唐·《外台秘要》,由黄连、黄芩、黄柏和栀子组成,为清热解毒的代表方。经现代实验药理学研究发现该方具有抗菌、解热、抗炎、降压和调节免疫功能等作用。近年报道,黄连解毒汤(以下简称 HLJDT)尚有改善脑血流作用,用于治疗脑卒中后遗症,改善脑血管性痴呆症状等,该方亦有明显的益智、抗衰老作用^[1,2]。

在日本 HLJDT 的药理研究及临床应用范围同样较广,并有不同汉方药公司生产的几种 HLJDT 颗粒剂,如东洋黄连解毒汤、津村黄连解毒汤,是临床上治疗高血压的两大

代表方(HLJDT 和钩藤散)中应用率较高的一个,还较多的应用于治疗脑血管病如:脑梗死、脑出血后陈旧性半身不遂,阿耳茨海默病,帕金森氏症;还用于湿疹、带状疱疹等症,可见其临床应用范围之广^[3,4]。

黄连味苦,传统水煎剂及日本汉方颗粒剂都不便口服,故以新工艺制备 HLJDT 提取物,减少服用剂量以利制成固体制剂。现将不同工艺制备的 HLJDT 提取物与日本汉方制剂的主要有效成分含量进行比较研究。本文报道黄芩苷测定结果。

1 仪器与色谱条件

* Address: Shen Jia, Department of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang

沈 嘉 女,1982 年毕业于沈阳药学院,学士,高级工程师。从事药用植物及复方中药有效成分富集提取及活性测定工作。1991 年~1993 年在瑞典 Uppsala 大学生物医学中心进行药用植物中血小板活化因子(PAF)拮抗剂、5-脂氧合酶、环氧合酶抑制剂的体外筛选工作,参加银杏标准提取物研究工作。1996 年 8 月~1997 年 3 月应日本岛根医科大学邀请,参加文部省课题,进行复方中药中抗炎及免疫调节成分研究等。在国内外刊物上发表论文 10 余篇。“无糖富集有效成分提取及其制品”获国家发明专利。

** 本校 61 期毕业实习生