

红曲药材中洛伐他汀含量及指纹图谱的质量评价

王明娟, 刘静, 康帅, 麻思宇, 程显隆, 魏锋, 戴忠*, 马双成* (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 初步调查红曲药材的质量现状。方法: 从市场上随机抽取5份红曲药材, 依据《中国药典》2015版一部收载方法考察其指纹图谱以及其主要功效成分洛伐他汀的含量。结果: 抽取到的5份红曲药材的指纹图谱与《中国药典》收载的对照图谱以及彼此之间均有显著性差异, 均未检出洛伐他汀(最低检出限约为1 ng), 显微鉴别难以发现红曲发酵菌紫色红曲霉的典型特征。结论: 目前流通市场上的红曲药材质量一致性较差, 亟需规范提高。

关键词: 红曲; 质量调查; 指纹图谱; 含量测定; 洛伐他汀

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2018)09-1226-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2018.09.012

Quality Evaluation of the Content of Lovastatin and Fingerprint Chromatogram of *Fermentum Rubrum*

Wang Mingjuan, Liu Jing, Kang Shuai, Ma Siyu, Cheng Xianlong, Wei Feng, Dai Zhong*, Ma Shuangcheng* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To investigate the quality status of *Fermentum Rubrum*. **Methods:** Five *Fermentum Rubrum* samples were randomly collected from the market. The fingerprint chromatograms and the contents of the main functional component, lovastatin, of the five *Fermentum Rubrum* samples were analyzed according to the method described in *Chinese Pharmacopeia* (2015 version). **Results:** There were significant differences between the fingerprint chromatograms of the five *Fermentum Rubrum* samples and the reference one adopted in *Chinese Pharmacopeia*. There were also significant differences among the fingerprint chromatograms of the five *Fermentum Rubrum* samples. No lovastatin was detected (the minimum detection limit was about 1 ng). Typical characteristics of *Monascus purpureus* were difficult to be found by microscopic identification in these samples. **Conclusion:** The current quality comparability of *Fermentum Rubrum* in the circulation market is relatively poor, which needs urgent improvement and standardization.

Keywords: *Fermentum Rubrum*; quality survey; fingerprint chromatogram; content determination; lovastatin

红曲 (*Fermentum Rubrum*) 是将曲霉科真菌紫色红曲霉 (*Monascus purpureus* Went) 菌株接种于

稻米 (去皮种仁) 上, 经人工培育制成的一种食药二效发酵制品, 具有良好的降脂活性, 是血脂康、

作者简介: 王明娟, 研究员; Tel: (010) 67095150; E-mail: wmjhhx@126.com

通信作者: 戴忠, 研究员; Tel: (010) 67095150, E-mail: daizhong@nifdc.org.cn

马双成, 博士生导师, 研究员; Tel: (010) 67095272; E-mail: mase@nifdc.org.cn

脂必妥等天然他汀类降脂药物的原料, 临床用于高脂血症、动脉粥样硬化等症的治疗^[1-2]。研究表明, 红曲降脂作用的主要功效成分为其次级代谢产物洛伐他汀, 作为胆固醇合成途径中 HMG-CoA 还原酶的竞争性抑制剂, 洛伐他汀可以有效减少或阻断内源性胆固醇的合成。洛伐他汀有酸型和内酯型两种

形式, 如图 1 所示, 两者在红曲中同时存在, 其中, 酸型洛伐他汀结构更接近 HMG-CoA 还原酶, 故其生物学活性更强^[3-4]。但酸型洛伐他汀的化学稳定性较差, 价格昂贵, 不易获得和保存, 故市售洛伐他汀对照品采用内酯型。

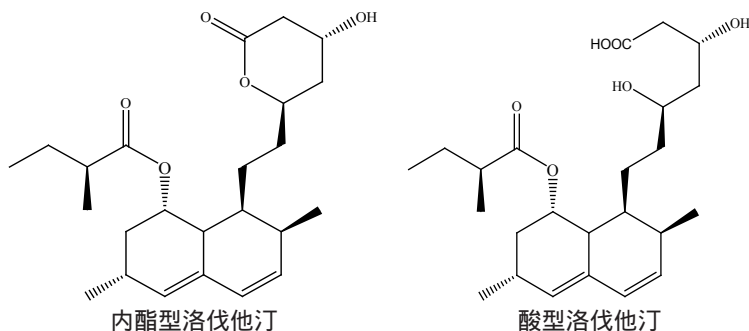


图 1 洛伐他汀结构示意图

红曲虽然应用广泛, 全国各地均有生产(以福建产的最为著名), 但是目前尚无统一的质量标准。《中国药典》(2015年版)无单独的红曲药材标准, 仅在血脂康胶囊项下给出了用于该成药的红曲原料质量标准。该标准规定: “红曲原料的指纹图谱应与药典收载的对照指纹图谱一致; 洛伐他汀的含量应不低于0.22%”。但是, 据文献^[4-8]报道, 目前市场上有不少红曲药材中洛伐他汀的含量低于0.22%。为了调研红曲药材的质量现状, 为该药材的质量控制提供依据, 本论文对流通市场上随机抽取的红曲药材质量进行了考察。

1 方法

依据《中国药典》(2015年版一部)血脂康胶囊项下的红曲质量标准^[9]。

2 色谱条件

Waters 色谱系统, 配备e2695型四元泵, 2998型PDA检测器(检测波长: 200 nm ~ 600 nm, 提取波长: 256 nm), 色谱柱: Cosmosil 5C18-MS-II, 规格: 250 mm × 4.6 mm, 5 μm; 柱温: 30℃; 流动相A为乙腈, 流动相B为0.05%磷酸水溶液, 梯度洗脱如表1所示; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 供试品溶液和对照品溶液的进样体积: 20 μL; 色谱记录时间: 65 min。

表 1 梯度洗脱表

时间 /min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~45	25 → 84	75 → 16
45~55	84 → 25	16 → 75
55~65	25	75

系统适用性: 理论板数按洛伐他汀计为 254190, 符合《中国药典》规定(≥ 40000)。

3 试药

乙腈为色谱纯(Sigma公司), 磷酸为分析纯, 水为Milli-Q超纯水。

红曲样品共5批, 从安国市场上5家药材供应商处随机购买。红曲对照药材(批号121658-201101)由我院提供。我院提供的洛伐他汀对照品

(批号100600-201504)为内酯型。

4 溶液的配制

4.1 供试品溶液的配制

取本品3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入乙腈10 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率250 W, 频率40 kHz) 30 min, 放冷, 再称

定重量,用乙腈补足减少的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

4.2 内酯型洛伐他汀对照品溶液的配制

取洛伐他汀对照品11.21 mg,精密称定,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

4.3 酸型洛伐他汀的制备^[6-8]

取洛伐他汀对照品11.10 mg,精密称定,置于10 mL量瓶内,用0.1 mol·L⁻¹ NaOH溶液(用75%乙醇配制)溶解并稀释至刻度,在50 °C水浴中加热转化1 h,放冷,精密加入1 mL 1 mol·L⁻¹盐酸中和,混匀,即得。

4.4 混合对照品溶液的配制

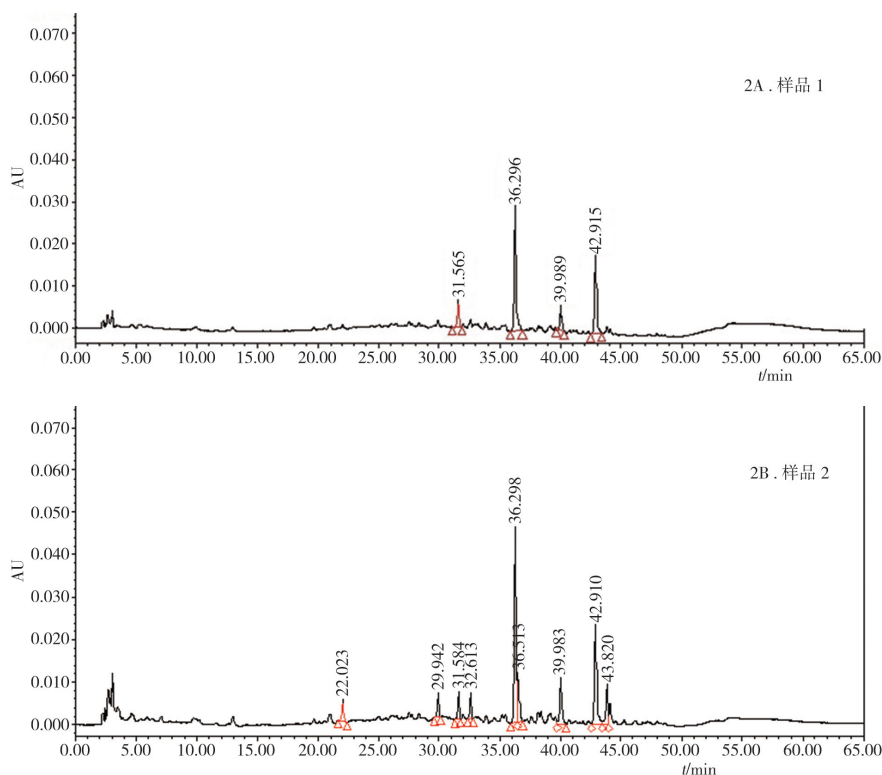
取“4.2”和“4.3”节下的内酯型洛伐他汀对照品溶液和酸型洛伐他汀溶液,按照1:1比例混合,作为混合对照品溶液。

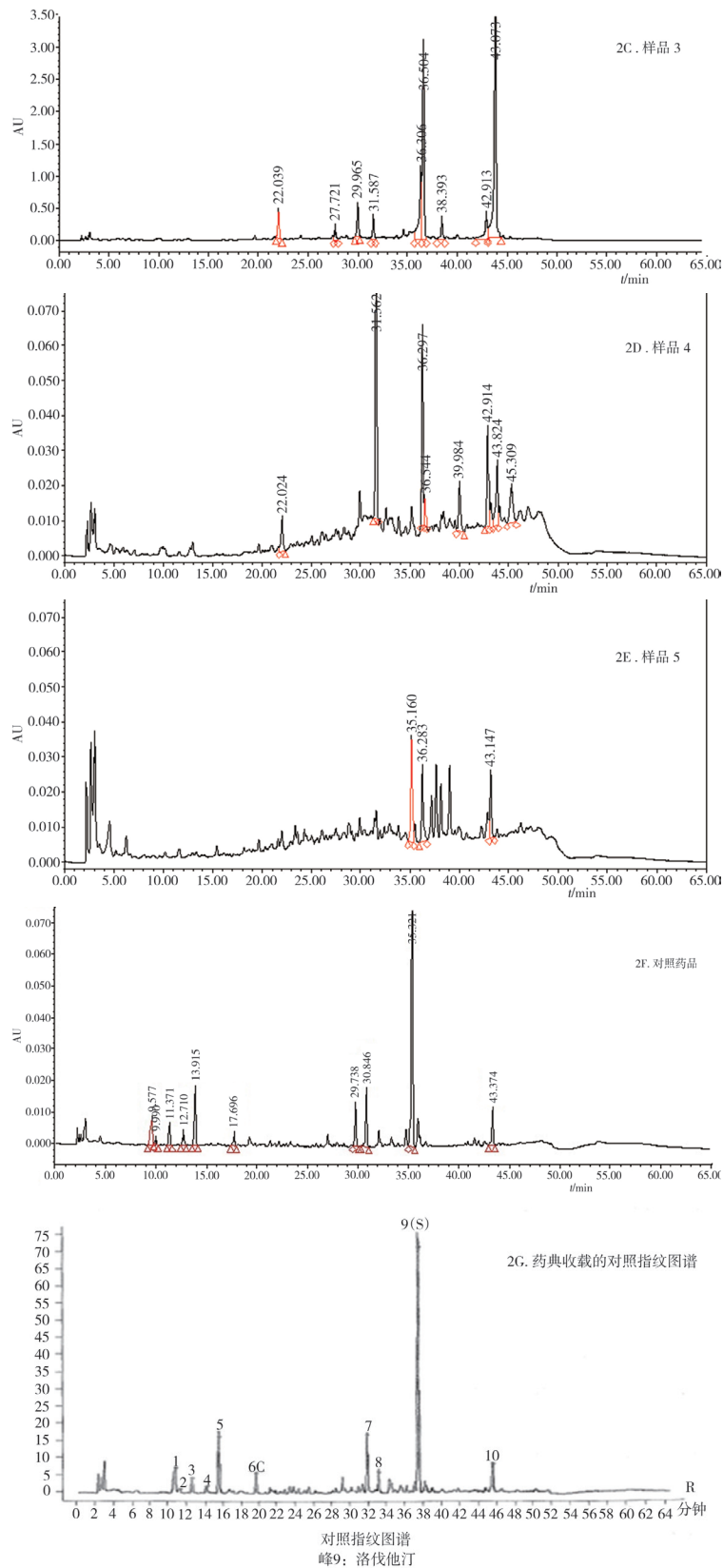
5 结果

5批红曲样品的指纹图谱(2A~2E)与《中国药典》中收录的红曲对照指纹图谱(2G)均有显著性差异,如图2所示;全部样品均未呈现对照指纹图谱中的10个特征峰;而且各指纹图谱之间也有显著性差异。而红曲对照药材的指纹图谱(2F)则能呈现对照指纹图谱中的10个特征峰。

5批红曲样品中均未检出洛伐他汀:酸型和内酯型洛伐他汀对照品的保留时间分别为30.12 min和35.72 min,两者的UV提取光谱一致,在239 nm有最大吸收,在232 nm和248 nm有两个肩峰(见图3A);红曲对照药材在上述出峰位置处的UV提取光谱(图3B)与酸型和内酯型洛伐他汀对照品的一致;各样品在上述出峰位置处的色谱峰UV提取光谱基本一致,见图3C,与酸型和内酯型洛伐他汀的提取光谱均有显著性差异,而且其他响应值较高的色谱峰UV提取光谱与洛伐他汀的差异也非常显著,提示这5批样品中他汀类物质的含量很低(洛伐他汀的最低检出限约为1 ng)。采用《中国药典》(2015年版一部)“血脂康胶囊”项下的“红曲”含量测定方法(甲醇-水系统)^[9],检验结果一致,即5批红曲样品中的内酯型或酸型洛伐他汀含量均低于检出限。

对照药材能呈现出紫色红曲霉发酵菌的典型特征,例如有分支、带横隔的菌丝体、球型子囊壳(闭囊壳)、孢子等^[10],而这5批红曲样品中却难以发现上述典型特征,提示流通市场上的红曲药材质量亟需规范。



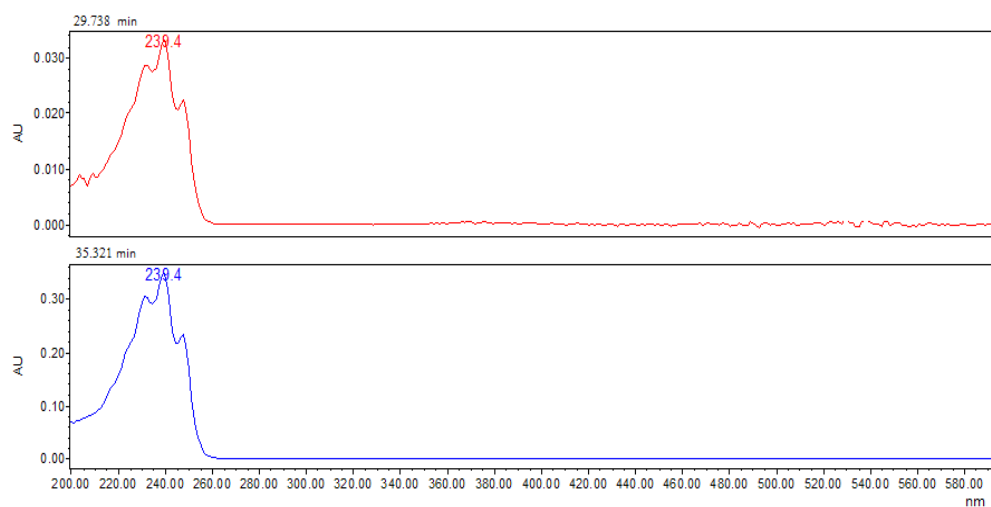


3号样品的色谱峰紫外吸收强度远高于其它样品，故其指纹图谱的纵坐标采用了3.5；其它样品与药典对照指纹图谱一致。

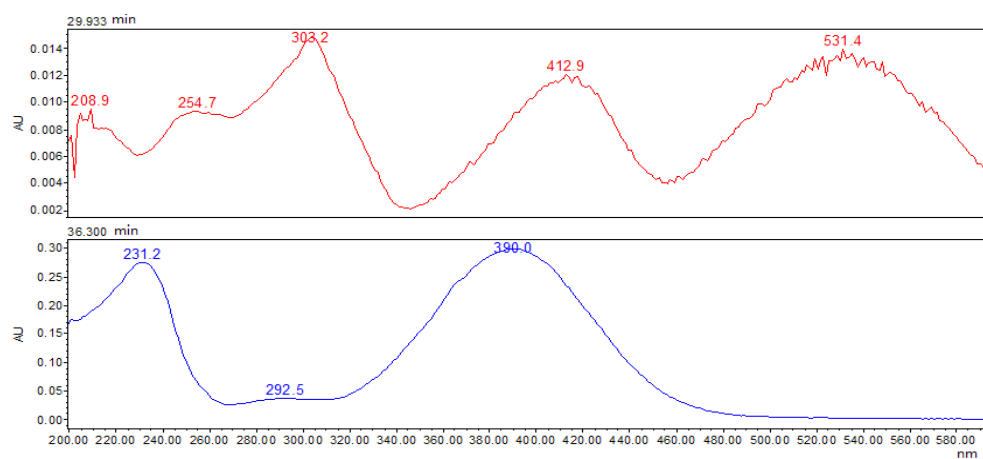
图2 红曲样品(2A~2E)、对照药品(2F)的指纹图谱
与ChP2015版一部收录的红曲对照指纹图谱(2G)的比较



3A. 混合对照品溶液



3B. 红曲对照药材



3C. 红曲样品

在酸型洛伐他汀 ($t_r=30.12$ min) 和内酯型洛伐他汀 ($t_r=35.72$ min) 出峰位置的色谱峰 UV 提取光谱比较。

图3 混合对照品(3A)、对照药材(3B)和红曲样品(3C)

6 结论与讨论

从流通市场上随机抽取的5份红曲药材中均未检出洛伐他汀,显微鉴别也没有发现紫色红曲霉发酵菌应具备的典型特征,而且它们的指纹图谱与药典记载的对照指纹图谱均有显著性差异,彼此之间的指纹图谱也存在显著性差异,提示红曲药材的质量一致性较差,亟需规范提高。

《中国药典》(2015版)中收录的许多中成药,如血脂康片/胶囊、舒筋活络酒、新癬片、再造丸、国公酒等,处方中均含红曲药材,但仅血脂康胶囊/片项下收录了其原料红曲的质量标准,无单独、统一的红曲药材国家标准。现有地方红曲中药材标准亦不统一,多以显微鉴别和水分控制为主,难以合理引导国内红曲产业的规范化。

红曲属于发酵产品,它的发酵菌株、发酵方式、发酵时间、培养基质、pH等因素均会影响红曲的代谢产物种类和含量^[11-12]。后续工作中,本课题组将收集更多的红曲样品,以活性为导向,深入探索影响红曲药材质量的关键因素及质量控制的合理途径,为制订科学的红曲质量标准提供科学依据。

参考文献:

- [1] Yang CW, Mou SA. The Effect of Red Yeast Rice (Monascus Purpureus) in Dyslipidemia and Other Disorders[J]. Complem Ther Med, 2012, 20 (6): 466-474.
- [2] 蔡若舟, 侯安国. 脂必妥制剂临床应用研究进展[J]. 云南医药, 2014, 35 (2): 227-229.
- [3] Endo A, Hasuimi K, Neiishi S, et al. New Inhibitors of Cholesterol Biosynthesis Produced by Monascus Ruber[J]. J Antibiot, 1985, 38 (3): 420-422.
- [4] 王玲, 吴军林, 吴清平. 红曲降血脂功能的研究及应用概况[J]. 食品工业科技, 2014, 35 (8): 387-389.
- [5] 郝盛源, 王磊, 李红, 等. 一测多评法测定红曲及脂必妥片中洛伐他汀和洛伐他汀酸[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (5): 74-78.
- [6] 杨艳, 郑仁锦, 华永有, 等. 高效液相色谱法同时测定保健红曲中酸式与内酯式洛伐他汀含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24 (12): 1714-1717.
- [7] 刘翼飞, 叶本贵, 张大永, 等. HPLC测定糯米红曲中的洛伐他汀[J]. 华西药学杂志, 2017, 32 (3): 289-290.
- [8] 缙三虎, 刘杰, 何苗, 等. 红曲中洛伐他汀的分离鉴定和稳定性评价[J]. 中成药, 2016, 38 (5): 1184-1187.
- [9] 中国药典:一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 860.
- [10] 林晓民, 李振岐, 侯军, 等. 中国菌物[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 61.
- [11] 陆磊, 刘秀河. 功能性红曲米发酵工艺及控制[J]. 山东食品发酵, 2013, 4 (171): 9-12.
- [12] 陈勉华, 吉达维, 马人杰, 等. 不同发酵基质对红曲重要代谢产物的影响[J]. 山东食品发酵, 2013, 32 (3): 22-24.

(收稿日期 2017年10月12日 编辑 范玉明)