

中药红曲的薄层色谱法鉴别*

邢旺兴¹, 陈士景¹, 宓鹤鸣², 程荣珍³(1. 解放军第 117 医院, 杭州 310013; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 3. 杭州尖峰德康药业有限公司, 杭州 310014)

摘要: 目的: 建立中药红曲的质量控制方法。方法: 应用 TLC 法对国内常见的 7 种红曲霉制备而成的中药红曲进行了鉴别研究。结果: 不同种红曲霉制备的红曲的薄层色谱行为存在明显差异。结论: TLC 法可作为红曲药材的质量评价手段之一。

关键词: 薄层色谱法; 红曲; 质量评价

中图分类号: R927; R282 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0111(2000 02- 0093- 03)

Distinguish of the chinese traditional medicine, *Hongqu* with thin layer chromatography*

XING Wang-xing¹, CHENG Shi-jing¹, MI He-ming², CHENG Rong-zhen³, (1. The 117th Hospital of PLA, Hangzhou 310013; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433; 3. Hangzhou Jianfeng Dekang Pharmaceutic Limited Company, Hangzhou 310014)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To establish a quality control method of the chinese traditional medicine, *Hongqu*. **METHODS:** *Hongqu* made up of 7 ordinary species *Monascus* including *M. aurantiacus* Lee, et al were distinguished using thin layer chromatography (TLC). **RESULTS:** The chromatographic behaviors of *Hongqu* made up of different species *Monascus* exist obviously differences. **CONCLUSION:** TLC can be used as one tool of quality evaluation of *Hongqu*.

KEY WORDS: TLC, *Hongqu*, quality evaluation

红曲是一种食疗兼备的传统中药, 具有活血化瘀、健脾消食等功效。近年来的研究发现, 红曲同时具有降脂、降压、降糖和抑制肿瘤生长的作用; 但制备红曲的基原真菌种类较多, 我国约有 19 种^[1], 由于菌种、生产方法及所用大米不同等使不同产地红曲所含成分存在差异而致临床疗效不同, 需要提供较好的鉴别方法; 中药材经一定的溶剂提取后进行薄层色谱指纹图谱

的比较, 对其进行鉴别研究已有较多报道, 为中药鉴定提供了更多的信息^[2~4]; 我们对收集到的用 7 种红曲霉制备的红曲进行了薄层色谱法鉴别研究, 结果重现性良好。

1 材料与方法

1.1 试药与样品 菌株来源见表 1, 硅胶 G(薄层层析用, CP, 青岛海洋化工厂), 其余氯仿等化学试剂均为 AR。

表 1 试验用红曲霉的名称与来源

序号	菌株	种名	来源
1	橙色红曲霉 5015	<i>Monascus aurantiacus</i> Lee	由汾酒酒曲分离
2	变红红曲霉 5016	<i>M. seroubeceus</i> Sato	由古田红曲米中分离
3	发白红曲霉 5017	<i>M. albidus</i> Sato	大连科学研究所 M171
4	巴克红曲霉 5021	<i>M. barkeri</i> Dangerd	由广州酒曲分离 M146
5	红色红曲霉 5029	<i>M. ruber van Tieghem</i>	四川食品工业研究所 3. 530
6	紫红红曲霉 5032	<i>M. purpureus</i> Went	上海工业微生物研究所 M212
7	烟色红曲霉 5035	<i>M. fuliginosus</i> Sato	由茅台酒厂分离

* 基金项目: 国家中医药管理局重点课题基金, No: 97- Z- 097

1.2 制曲 采用纯化菌种法。将在麦芽汁琼脂斜面培养基^[5]上复壮的红曲霉菌,转入麦芽汁液体培养基中,于30~32℃摇床培养5d作为曲种;使用前应镜检无污染后方可使用。取洁净完整的粳米100g加入沸水120ml,放入大烧瓶中,高压灭菌后,待蒸米温度降至约40℃时,加入含5%醋酸的曲种液,充分搅拌,在无菌条件下,将上述曲种接种入大米中,接种量为每kg蒸米加菌液100ml。将拌好的曲料装入特制盒内,堆积,上盖白布,30~32℃保持24h后,将曲米摊开,复堆,48h后由于水分大量蒸发,可将曲米在水中浸润20min,此后,每6h淋水一次,使水分保持在38%~40%并时常搅拌使发酵均匀;约5d后湿成品外观全呈紫红色即可。

1.3 供试液制备 将不同红曲霉菌种发酵的红曲米于60℃烘干,粉碎,过40目筛,各取4g置索氏提取器中,加氯仿回流提取4h,提取液浓缩蒸干,加氯仿适量溶解使浓度成4g生药/ml作为红曲氯仿提取液备用。

1.4 薄层板制备 取硅胶G与0.5%CMC-Na溶液按1:3(g/ml)比例混合,研磨均匀后,手工制成厚约2mm的湿板,室温阴干,105℃活化1h,置干燥器中备用;10cm×20cm,每板2g硅胶。

1.5 薄层层析 分别吸取供试液在薄层板上点样15μl,以下列展开剂展开,展距15cm,展至距前沿14cm时取出凉干,置UV灯(365nm)下,观察荧光后,再以碘蒸汽显色使呈现棕色斑点,

照相记录并计算比移值(Rf)。

展开剂 A: 乙醚:正己烷:甲酸(50:50:0.5, v/v/v)

展开剂 B: 乙醚:氯仿:正己烷:甲酸(25:17.5:8.0.5, v/v/v/v)

2 结果

2.1 曾试验了文献报告^[3]的几种展开系统,结果不太理想,经实验以上2种展开剂对样品能达到较好分离,且斑点数较多,故用于鉴别研究。

2.2 红曲药材氯仿提取液薄层层析结果,见图1,表2。

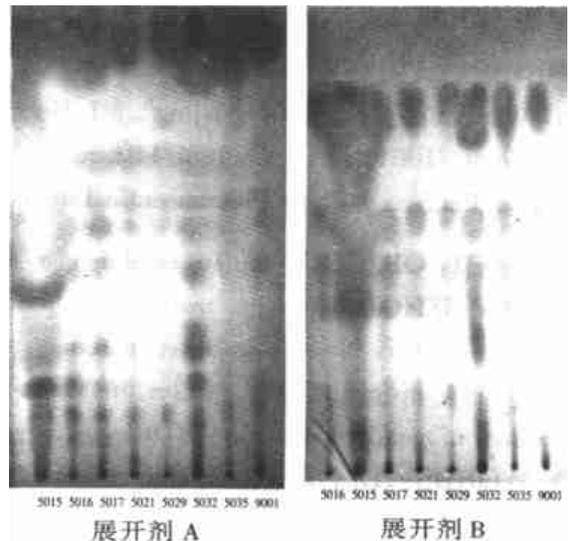


图1 红曲药材氯仿提取液薄层层析结果(碘显色)

表2 红曲氯仿提取液薄层层析比移值

展开剂 A		展开剂 B	
荧光斑点	碘斑点	荧光斑点	碘斑点
5015 0.18; 0.29; 0.34; 0.38; 0.53	0.15; 0.17; 0.23; 0.34; 0.41; 0.91	0.20; 0.33; 0.65	0.10; 0.20; 0.41; 0.50; 0.65; 0.93
5016 0.16; 0.29; 0.34; 0.56	0.15; 0.23; 0.30; 0.44; 0.65; 0.93	0.10; 0.33; 0.65	0.41; 0.50; 0.65; 0.93
5017 0.16; 0.22; 0.29; 0.34; 0.38; 0.56	0.11; 0.15; 0.23; 0.30; 0.32; 0.44; 0.53; 0.58; 0.66; 0.91	0.10; 0.33; 0.66	0.20; 0.33; 0.41; 0.50; 0.65; 0.93
5021 0.16; 0.22; 0.29; 0.34; 0.38; 0.56; 0.69	0.15; 0.32; 0.36; 0.44; 0.53; 0.58; 0.66; 0.91	0.66; 0.72	0.20; 0.33; 0.41; 0.50; 0.65; 0.93
5029 0.56	0.15; 0.44; 0.53; 0.66; 0.74; 0.91	0.10; 0.33; 0.66	0.20; 0.41; 0.50; 0.65; 0.93
5032 0.13; 0.16; 0.22; 0.34; 0.38; 0.54; 0.56	0.13; 0.15; 0.23; 0.30; 0.32; 0.44; 0.53; 0.58; 0.66; 0.91	0.6; 0.86	0.10; 0.20; 0.33; 0.41; 0.50; 0.65; 0.86; 0.93
5035 0.16; 0.56; 0.59	0.15; 0.44; 0.53; 0.58; 0.66; 0.91	0.10; 0.33; 0.65	0.20; 0.41; 0.50; 0.65; 0.93

由表可见,在展开剂 A 体系中,7 种红曲能产生 1~7 个荧光斑点(R_f 值 0.13~0.69 或 6~10 个碘斑点(R_f 值 0.11~0.91),在展开剂 B 体系中,7 种红曲能产生 2~3 个荧光斑点(R_f 值 0.10~0.86 或 4~8 个碘斑点(R_f 值 0.10~0.93),基于红曲生药氯仿提取液的薄层色谱,解析成 0 与 1 表示的数量化矩阵,并进行聚类分析,得到种间的相似性矩阵,见表 3。

表 3 不同种红曲薄层层析结果的相似性矩阵(%)

	5015	5016	5017	5021	5029	5032	5035
5015	100						
5016	59.46	100					
5017	53.33	80.95	100				
5021	51.16	61.90	83.33	100			
5029	51.43	75.00	70.00	41.38	100		
5032	51.06	63.64	80.77	76.00	57.14	100	
5035	48.65	76.47	76.19	70.00	87.50	63.64	100

由表可见,红曲霉种间的相似率为 41.38%~87.50%,平均 64.44%;种间具有显著性意义,5015 与其它种的相似性最差,5016 与 5017,5017 与 5021、5032,5029 与 5032 的相似性较好。

3 小结与讨论

3.1 不同种红曲霉用相同方法发酵制备而成的红曲,其外观性状、组织构造及化学成分等方面极为相似,因此单纯依靠经典方法的鉴定有一定的困难,同时红曲的降脂作用与红曲中含有的洛伐他汀及其类似物等成分的含量高低密

切相关,不同种红曲药材的临床疗效存在较大差异。薄层色谱的特征是由化合物的结构所确定,斑点的多少及位置定性地反映了不同样品所含化学成分上的差异,而化学成分的差异正是导致品种间质量差异的主因;我们利用红曲氯仿提取液的薄层色谱所含有的信息,通过统计分析发现红曲种间存在较大的差异,相似率范围为 41.38%~87.50%,可用来加以区分鉴别,反映了红曲霉属的分类与所含的化学成分及红曲色素的分布有关联性,可用作分类的指标来考察。

3.2 作为商品药材主流的紫红曲与橙色红曲、变红红曲及红色红曲在外观性状上极为相似,但在化学成分上存在明显差异,通过薄层层析可以鉴别红曲的品种,结果可靠,而避免人为因素,可作为中药鉴定的一种简便有效方法加以推广。

参考文献:

- [1] 宋洪涛,宓鹤鸣,郭涛. 中药红曲的研究进展[J]. 药学实践杂志, 1999, 17(3): 172.
- [2] 宋洪涛,郭涛,宓鹤鸣,等. 薄层扫描法测定血脂平胶囊中洛伐他汀的含量[J]. 中草药, 1997, 28(12): 723.
- [3] 章育中,郭希圣. 薄层层析和薄层扫描法[M]. 北京: 中国医药出版社, 1990. 118.
- [4] 苏薇薇. 聚类分析法在黄芩鉴别分类中的应用[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(10): 579.
- [5] 傅金泉. 中国红曲及其实用技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997. 23

收稿日期: 1999-12-06

(上接第 92 页)

3 讨论

3.1 吡啶美辛具弱酸性,有较强极性,参考有关文献^[2],选用甲醇-水(60:40 pH6.3 作为流动相,结果色谱峰宽,柱效低。加入 H_3PO_4 ,可抑制吡啶美辛的解离,使峰明显变窄,柱效提高,同时 t_R 延长;加入乙腈,可增加溶剂的洗脱强度, t_R 随乙腈量的增加而缩短,最终实验选用甲醇-水-乙腈-磷酸(60:25:15:0.04 为流动相。

3.2 最低检测浓度测定,当信噪比(S/N)为 3

时,吡啶美辛的最低检测浓度为 13ng/ml。

3.3 吡啶美辛结构中含有酰胺键,容易水解,同时本品遇光遇热不稳定,逐渐降解,将吡啶美辛溶液于 60℃水浴加热 24h 后测定,杂质峰增加,但与主峰有良好的分离,故本法也可用于吡啶美辛原料及制剂的稳定性研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药品标准,二部第六册[M](生化药品第一册). 1998. 108.
- [2] 王茂义,杨亚惠,田薇. 复方消炎镇痛软膏中三组分的 HPLC 测定法[J]. 中国医药工业杂志, 1994, 25(1): 30

收稿日期: 1999-11-25