

附录 A (规范性附录)

功能红曲中莫拉可林 K (Monacolin K) 含量的测定

A.1 原理

将红曲米粉碎,使用 75%乙醇超声提取其中的洛伐他汀,离心去除不溶残渣,取上清液用反相高效液相色谱分离出内酯(闭环)及酸式(开环)洛伐他汀,并用紫外检测器在 238nm 波长下检测。利用被测组分与标准品的保留时间定性,利用被测组分峰面积与标准品的峰面积之比进行定量。

A.2 试剂

A.2.1 甲醇:色谱纯。

A.2.2 无水乙醇:分析纯。

A.2.3 磷酸:分析纯。

A.2.4 氢氧化钠:分析纯。

A.2.5 洛伐他汀标准储备液

准确称取莫拉可林 K 或洛伐他汀(内酯)标准品 40.0mg,以 75%乙醇定容 100mL。此溶液浓度为 400 μ g/mL。

A.2.6 洛伐他汀标准工作液

准确量取洛伐他汀标准储备液 1mL,以 75%乙醇定容 10mL。此溶液浓度为 40 μ g/mL。

A.3 仪器设备

A.3.1 高效液相色谱仪。

A.3.2 紫外检测器。

A.3.3 低速离心机。

A.3.4 超纯水系统。

A.3.5 超声波清洗器。

A.3.6 精密分析天平。

A.4 分析步骤

A.4.1 试样处理

将红曲米粉碎(40目,粉状)并充分混合均匀。准确称取 400.0mg~600.0mg 试样于 50mL 容量瓶中。加入 30mL 75%乙醇(体积分数),摇匀,室温下超声 50min。加 75%乙醇至接近刻度,再超声 10min,之后冷却至室温,用 75%乙醇定容至 50mL。以 3500r/min 的旋转速度离心 10min。取上清液经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,滤液待用。

A.4.2 定性用酸式(开环)洛伐他汀的制备

称取洛伐他汀(内酯)标准品 4mg,以 0.2mol/L 氢氧化钠溶液定容至 100mL,在 50℃条件下超声转化 1h,放置到室温后再放置 1h。

A.4.3 液相色谱参考条件

A.4.3.1 色谱柱: C18 柱 250mm $\times$ 4.6mm。

A.4.3.2 柱温: 室温 20℃~25℃。

A.4.3.3 紫外检测器: 238nm 检测波长。

A.4.3.4 流动相: 甲醇:水:磷酸=385:115:0.14(体积分数)。

A.4.3.5 流速：1.0mL/min。

A.4.3.6 进样量：20μL。

A.4.4 标准曲线制备

配制浓度为 0.1、1、10、30、75、150、300μg/mL 洛伐他汀标准溶液，分析时，用洗脱液平衡分析柱，基线稳定后将不同浓度的洛伐他汀标准液进行 HPLC 分析，测定峰面积，以峰面积为纵坐标，以洛伐他汀含量为横坐标作图，线性关系良好， r 在 0.9995 以上时，进行后续样品测定。

A.4.5 色谱分析

将处理好的样品提取液 20μL 进样，与标准溶液保留时间对照定性，用被组分内酯及酸式洛伐他汀峰面积之和与标准洛伐他汀（内酯）的峰面积之比进行定量。

A.4.6 计算

莫拉可林 K 按公式 A.1 计算：

$$X = \frac{(h_1 + h_2) \times c \times 50}{h_3 \times m} \quad \text{..... (A.1)}$$

式中：

X —— 试样中莫拉可林 K 的含量，单位为毫克每克 (mg/g)；

h_1 —— 样品中内酯型洛伐他汀峰面积；

h_2 —— 样品中酸式洛伐他汀峰面积；

c —— 标准洛伐他汀（内酯）溶液浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

50 —— 试样定容体积，单位为毫升 (mL)；

h_3 —— 标准洛伐他汀（内酯）溶液峰面积；

m —— 试样称取量，单位为克 (g)。

A.4.7 结果表示

检测结果保留小数点后两位有效数字。

A.5 允许差

平行样测定相对误差 $\leq \pm 5\%$ 。