

荧光分光光度法测定姜黄制剂中的姜黄素

严建伟 鲍慰文 梁炳圻 郝曾谓¹(杭州 310009 浙江中医学院;¹杭州 310012 浙江省药品质量监测站)

摘要 用荧光分光光度法测定姜黄胶囊制剂中的姜黄素。以四氢呋喃为溶剂,姜黄素的激发波长和发射波长分别为 $\lambda_{ex} = 442\text{nm}$, $\lambda_{em} = 475\text{nm}$ 。姜黄素标准曲线的线性范围为 $0.010 \sim 0.40\mu\text{g/ml}$ 。最低检测浓度 5ng/ml ;回收率 $100.00\% \pm 0.28\%$; $RSD < 1\%$ 。本法操作简便、快速、灵敏,适用于姜黄制剂中姜黄素的含量。

关键词 荧光分光光度法;姜黄素;姜黄胶囊制剂

Determination of curcumin in curcuma longa L. of perparation by spectrophotofluorimetry

Yan Jianwei (Yan JW), Bao Weiwen (Bao WW), Liang Bingqi (Liang BQ), et al (Zhejiang Collegeg of Tradition Chinese Medicine, Hangzhou 310009)

ABSTRACT In this paper, A new spectrophotofluorimetric method for the determination of curcumin in curcuma longa L. of preparation was developed, using tetrahydrofuran for solvent, in case of fixed wavelength measurement, $\lambda_{ex} = 445\text{nm}$, $\lambda_{em} = 475\text{nm}$, a spectrofluorimetric of curcumin was obtained. The calibration curve in linear over the range of $0.010 \sim 0.400\mu\text{g/ml}$ ($r = 0.9995$), the detection limit is 5ng/ml , and the coefficient of variation is not more than 1% ($n = 5$). This method has been used to determine curcumin preparation sample, and it is quick and simple and the mean recovery is $100.00\% \pm 0.28\%$.

KEY WORDS curcumin, preparations of curcuma longa L., HPLC

姜黄为常用中药,有破血行气、散结止痛作用。姜黄中姜黄素(Curcumin)为姜黄一主要有效成份,以往主要作为化学试剂和食品工业中作为添加剂用外,还作为药用^[1,2],具有较好的抗炎、降血脂、抗氧化等多种药理学活性。

姜黄中姜黄素含量测定方法有比色法、薄层扫描法、高效液相等^[3,4],本文报告用荧光分光光度测定姜黄制剂中姜黄素的含量,该法操作简便、快速、灵敏,适用于姜黄胶囊制剂中姜黄素含量测定。

1 仪器与试剂

日本 Shimadzu 公司 RF-5000 荧光分光光度计, 80-2 离心沉淀机(上海手术机械厂); XW-80A 旋涡混合器。

姜黄素(中国药品生物制品检定所,批号:823-9401,纯度 99%以上),姜黄胶囊制剂(本院分子医学研究所,规格 50mg); 醋酸乙酯、四氢呋喃、二氯甲烷、无水乙醇、冰醋酸均为分析纯(市售)。

2 方法与结果

2.1 精密称取 105°C 恒重姜黄素对照品 10mg,置量瓶,用四氢呋喃溶解并定量,使其浓度为 0.2mg/ml ,置冰箱备用。

2.2 实验条件的选择

2.2.1 姜黄素激发光谱与发射光谱:将姜黄素贮备液以四氢呋喃稀释,使其浓度为 20ng/ml ,在 RF-5000 荧光分光光度计上进行激发光谱和发射光谱扫描。实验结果,姜黄素对照品的激发波长和发射波长分别为 $\lambda_{ex} = 442\text{nm}$, $\lambda_{em} = 475\text{nm}$,再将姜黄胶囊制剂精密称取适量,以四氢呋喃溶解定量,离心(2500r/min , 10min),取上清液,用四氢呋喃稀释 20ng/ml (含姜黄素提取物)在荧光分光光度计上进行激发波长和发射波长光谱扫描,结果姜黄胶囊制剂与姜黄素标准液具有相同的激发波长与发射波长。再用空白胶囊制剂与姜黄胶囊制剂同法操作进行激发波长和发射波长光谱扫描,结果空白胶囊制剂与四氢呋喃激发波长光谱和发射波长光谱重迭,不干扰姜黄素的测定。因此,测定条件选用四氢呋喃为溶剂,激发波长和发射波长分别为 $\lambda_{ex} = 442\text{nm}$, $\lambda_{em} = 475\text{nm}$ 为姜黄胶囊制剂荧光分光光度法的测定条件,不受制剂中辅料及其它成份的干扰(见图 1)。

2.2.2 姜黄素在四氢呋喃溶剂中的荧光稳定性:取姜黄贮备液适量,用四氢呋喃稀释成含姜黄素 20ng/ml 。室温放置,分别于不同时间($20, 40\text{min}$, $1, 2, 4, 6, 8\text{h}$)测

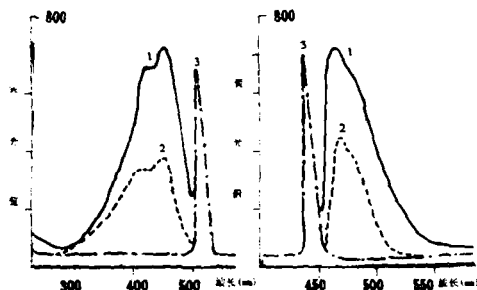


图1 姜黄素激发、发射光谱

1-姜黄素对照液;2-姜黄胶囊制剂;3-空白胶囊制剂和四氢呋喃溶媒

定荧光强度,结果,荧光强度无显著变化。

2.3 标准曲线的绘制

分别取5份姜黄素贮备液适量,用四氢呋喃稀释成不同浓度(20, 80, 140, 200, 260ng/ml)。以四氢呋喃为空白。测定荧光强度($\lambda_{ex} = 442\text{nm}$, $\lambda_{em} = 475\text{nm}$)。以荧光强度 F 为纵座标、姜黄素浓度为横座标绘制标准曲线($n=5$)(见图2)。

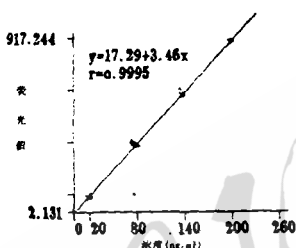


图2 姜黄素的标准曲线

2.4 回收率试验

取模拟空白制剂适量,按配方比例精密加入姜黄素对照品,用四氢呋喃为溶剂稀释,按上述分析步骤和分析条件测定,测定结果(见表1)。其平均回收率为 $100.00\% \pm 0.28\%$ 。

表1 回收率测定结果($n=5$)

编号	对照品加入量 (ng)	测得值 (ng)	平均回收率 (%)	RSD(%)
1	31.3	31.2	99.68	0.23
2	24.5	24.7	100.82	0.34
3	29.1	29.0	99.66	0.26

2.5 样品测定

取姜黄胶囊制剂研细,精密称取适量相当于姜黄10mg,用四氢呋喃溶解并定容至50ml,过滤,再用四氢呋喃稀释,使其浓度在线性范围,在荧光分光光度计上测定其荧光强度,且得相应的浓度,结果见表2。

2.6 重现性试验

为确定上述分析条件下定量分析精密度,考察了3批样品的重现性,每批5次重复测定, RSD 均小于

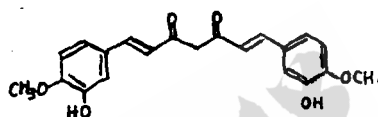
1%。

表2 样品荧光分光测定结果($n=5$)

编号	荧光强度(平均值)	RSD(%)	含量(%)
1	348.00	0.54	98.72
2	378.00	0.67	101.02
3	354.00	0.61	98.12

3 讨论

3.1 溶剂对姜黄的姜黄素荧光强度影响:姜黄素的化学结构为



以5种溶剂进行姜黄素荧光强度比较,5种溶剂分别为醋酸乙酯、四氢呋喃、二氯甲烷、无水乙醇、冰醋酸(30%)。实验结果(见图2)表明,在浓度、环境温度等条件相同的情况下,姜黄素荧光强度依次为:四氢呋喃>醋酸乙酯>二氯甲烷>无水乙醇>30%冰醋酸。故本文选择四氢呋喃作为测定溶剂。

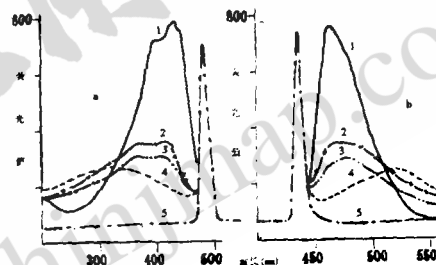


图3 相同浓度的姜黄素对照品在不同溶媒中激发光谱(a)和发射光谱(b)

1-四氢呋喃;2-醋酸乙酯溶媒;3-二氯甲烷;4-无水乙醇;5-溶剂峰,空白胶囊制剂

3.2 本法与比色法、薄层扫描法、高效液相色谱法相比,具有操作简便、快速、灵敏等优点。适用于姜黄制剂有效成份姜黄素含量测定。

参考文献

- 1 黄惠,等.姜黄降脂疗效临床观察小结.重庆医学院学报,1979,21(1):88.
- 2 薛春生,等.姜黄支脉粥样硬化作用的初步实验研究.新医药学杂志,1978,11(9):59.
- 3 杨模坤,等.姜黄化学成分的研究.中草药,1984,13(5):5.
- 4 杨模坤,等.姜黄及其制剂中姜黄素的测定.中成药研究,1985,25(2):33.
- 5 Tenfisch kurt, et al. Sci Pharm, 1970, 38(1):50.

收稿日期:1997-08-08