

目前国内该项工作刚刚起步,研究较少,有待于更为深入的研究。FTIR 技术正逐渐成为微生物研究中的一个重要工具。

#### 参考文献:

- [1] Naumann D, Helm D, Labischinski H. Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy [J]. *Nature*, 1991, 351(6321): 81.
- [2] Helm D, Labischinski H, Challehn GS, *et al.* Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy [J]. *J Gen Microbiol*, 1991, 137(pt1): 69.
- [3] 李 胜,周学秋. 傅立叶变换红外光谱进行微生物特征的研究[A]. 见:布鲁克光学仪器公司编. 傅立叶红外光谱仪技术及应用论文集[C]. 武汉,2000:151.
- [4] 吴瑾光,近代傅立叶变换红外光谱技术及应用(上卷)[M]. 北京:科学技术文献出版社,1994,282.
- [5] Lang PL, Sang SC, The in site infrared microspectroscopy of bacterial colonies on agar plate [J]. *Cell Mol Biol*, 1998, 44(1): 237.
- [6] 任玉林, 柳春亭, 逯家辉. 近红外漫反射光谱的主成份分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 1996, 16(6): 31.
- [7] Holmes E, Nicholls AW, Lindon JC, *et al.* Chemometric models for toxicity classification based on NMR Spectra of Biofluids [J]. *Chem Res Toxicol*, 2000, 13(6): 471.
- [8] Goodacre R, Timmins EM, Burton R, Rapid identification of urinary tract infection bacteria using hyperspectral whole-organism fingerprinting and artificial neural networks [J]. *Microbiology*, 1998, 144(pt5): 1157.
- [9] Haag H, Gremlich HU, Bergmann R, *et al.* Characterization and identification of actinomycetes by FT-IR spectroscopy [J]. *J Microbiol Meth*, 1996, 27(2-3): 157.
- [10] Bastert J, Korting HC, Traenkle P, *et al.* Identification of dermatophytes by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) [J]. *Mycosis*, 1999, 42(9-10): 525.
- [11] Johnsen K, Nielsen P, Diversity of *Pseudomonas* strains isolated with King's B and Gould's SI agar determined by repetitive extragenic palindromic-polymerase chain reaction, 16s rDNA sequencing and Fourier transform infrared spectroscopy characterization [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1999, 173(1): 155.
- [12] Kummerle M, Scherer S, Seiler H, Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by Fourier-transform infrared spectroscopy [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64(6): 2207.
- [13] Timmins EM, Howell SA, Alsberg KA, *et al.* Rapid differentiation of closely related *Candida* species and strains by pyrolysis-mass spectrometry and Fourier transform-infrared spectroscopy [J]. *J Clin Microbiol*, 1998, 36(2): 367.
- [14] Lefier D, Hirst D, Holt C, *et al.* Effect of sampling procedure and strain variation in *Listeria monocytogenes* on the discrimination of species in the genus *Listeria* by Fourier transform infrared spectroscopy and canonical variates analysis [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1997, 147(1): 45.
- [15] Tintelnott K, Haase G, Seibold M, *et al.* Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis* [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(4): 1599.
- [16] Sockalingum GD, Bouhedja W, Pina P, *et al.* ATR-FTIR spectroscopic investigation of imipenem-susceptible and-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isogenic strains [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 232(1): 240.
- [17] Irmischer HM, Fischer R, Beer W, *et al.* Characterization of nosocomial *Serratia marcescens* isolates: comparison of Fourier-transform infrared spectroscopy with pulsed-field gel electrophoresis of genomic DNA fragments and multilocus enzyme electrophoresis [J]. *Zentralbl Bakteriol*, 1999, 289(3): 249.
- [18] Schmalreck AF, Trankle P, Vanca E, *et al.* Differentiation and characterization of yeasts pathogenic for humans and algae pathogenic for animals using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in comparison with conventional methods [J]. *Mycosis*, 1998, 41(7): 71.
- [19] 陆 峰,徐 铮,林培英,等. 红外光谱法鉴别白念珠菌耐药菌株的初步研究[J]. 第二军医大学学报,待发表.
- [20] Schuster KC, Monitoring the physiological status in bioprocesses on the cellular level [J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2000, 66: 185.

收稿日期:2002-03-03

## 自乳化莜术油软胶囊中莜术油的含量测定研究

李国栋<sup>1</sup>, 许 付<sup>2</sup>, 尤英微<sup>2</sup>, 钟延强<sup>1</sup>, 高 申<sup>1</sup>(1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 本校药学专业 2002 届毕业学员)

**摘要** 目的:建立自乳化莜术油软胶囊中莜术油含量测定方法。方法:采用可见光分光光度法,将胶囊中内容物用无水乙醇稀释后,采用香草醛硫酸溶液显色,于(520±2)nm 检测,测定其吸收度。结果:莜术醇浓度在 40~320μg·ml<sup>-1</sup> 范围内,线性关系良好( $r=0.9979$ ),回收率 96.59%,RSD 为 1.03%。结论:本方法准确,可靠,适合用于自乳化莜术油软胶囊制剂的含量测定。

**关键词** 分光光度法; 莜术油; 自乳化软胶囊

## Determination of the content in self-emulsifying curcuma oil soft capsules

LI Guo-dong, XU Fu, YOU Yin-wei, ZHONG Yan-qiang, GAO Shen

(Department of pharmaceutics, Pharmaceutical College of Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT OBJECTIVE:** To study the determination method of self-emulsifying Curcuma oil soft capsule. **METHODS:** The content of soft capsules was diluted by anhydrous alcohol, and then colored by sulfuric acid-vanillin reagent. **RESULTS:** The absorbance was measured at  $(520 \pm 2)$  nm. Curcumenol revealed linearity over the arrange of  $40 \sim 320 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , the average recovery was 96.59%, and *RSD* was 1.03%. **CONCLUSION:** This method is accurate, reliable, and it is suitable for the content of determination of self-emulsifying curcuma oil soft capsules.

**KEY WORDS** spectrophotography; curcuma oil; self-emulsifying soft capsules

自乳化莪术油软胶囊是我院开发的一种新剂型,其中莪术油具有抗肿瘤,抗菌,抗病毒等作用,临床上用于治疗少儿病毒性肺炎和宫颈癌,肝癌等疾病。莪术油葡萄糖注射液,中国药典 2000 年版二部采用分光光度法<sup>[1]</sup>,以莪术醇计算,测定莪术油的含量。有文献报道<sup>[2,3]</sup>,采用气相色谱法测定莪术油含量,但自乳化莪术油软胶囊处方中含有非离子型表面活性剂吐温-85 难以挥发,易堵塞毛细管,且实际工作中吐温-85 难以分离,因此,本实验采用可见分光光度法。本方法准确,可靠,分析时间短。

### 1 仪器与试剂

751G 分光光度计(中华人民共和国上海分析仪器厂);UV-3000 紫外扫描仪(日本岛津);自乳化莪术油软胶囊(本院自制);莪术醇(中国药品生物制品检定所,0185-9703);莪术油(江西省吉永县水南药用北草油提炼厂);吐温 85(中国医药集团上海化学试剂公司);香草醛、油酸乙酯(均为中国医药集团上海化学试剂公司产品),无水乙醇(分析纯),硫酸(分析纯)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 测定波长的选择

精密称取莪术醇对照品 100mg,置 10ml 容量瓶中,加乙醇至刻度,移取 0.8ml 于 50ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度,配制标准品溶液。精密称取 125mg 吐温 85,125mg 油酸乙酯,置 100ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度,移取 6ml 溶液置 50ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度,制备空白溶液。

精密吸取标准品与空白溶液各 0.2ml,分别置 10ml 量瓶中,加香草醛硫酸溶液(取香草醛 0.2g,加

乙醇 1ml,使溶解,再加冷的硫酸溶液(1→2)100ml,摇匀,即得)至刻度,摇匀,在 20~25℃ 放置 1h,将其在 190~800nm 波长范围内进行扫描。结果表明,莪术醇标准品溶液在 520nm 有最大吸收,且空白溶液基本无吸收,故选 520nm 为测定波长。

#### 2.2 莪术油含量测定方法

**2.2.1 样品溶液的配制** 空白溶液:精密称取 125mg 吐温 85,125mg 油酸乙酯,置 100ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度,标志为空白溶液 I,移取 6ml 溶液至 50ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度。

对照品溶液:精密称量莪术醇对照品 100mg,置 10ml 容量瓶中,加乙醇至刻度,移取 0.8ml 于 50ml 容量瓶中,移取空白溶液 I 6ml 于上述 50ml 容量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度。

供试品溶液:取莪术油软胶囊内容物约 0.4g,精密称定置 100ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度,移取 6ml 溶液至 50ml 容量瓶中,加无水乙醇至刻度。

**2.2.2 莪术油软胶囊中莪术油的测定** 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 0.2ml,分别置 10ml 量瓶中,加香草醛硫酸溶液(取香草醛 0.2g,加乙醇 1ml,使溶解,再加冷的硫酸溶液(1→2)100ml,摇匀,即得)至刻度,摇匀,在 20~25℃ 放置 1h,照分光光度法(《中国药典》2000 年版二部附录 IVA),在  $(520 \pm 2)$  nm 的波长处测定吸收度。另精密称取空白溶液 0.2ml,同法操作,测定空白吸收,按下式计算软胶囊中莪术油的含量:

$$\begin{aligned} \text{莪术油}\% &= A_{\text{供}}/A_{\text{对}} \times \text{醇油系数} \times 8/50 \times 50 \\ &\quad \times 100/6 \times 1/400 \\ &= A_{\text{供}}/A_{\text{对}} \times \text{醇油系数} \times 1/3 \end{aligned}$$

**2.2.3 醇油系数的确定** 精密称取莪术油 100mg, 置 10ml 容量瓶中, 加乙醇至刻度, 移取 0.8ml 于 50ml 容量瓶中, 加无水乙醇至刻度。按莪术油软胶囊中莪术油的测定项下分别测定莪术油和莪术醇溶液的吸光度, 除去空白吸收, 结果见表 1。

表 1 醇油系数

$A_{\text{醇}} (0.16\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	$A_{\text{油}} (0.16\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})$	醇油系数	$\bar{x} \pm s$
0.400	0.300	1.333	
0.405	0.295	1.373	
0.403	0.297	1.357	1.351 ± 0.017
0.402	0.296	1.358	
0.400	0.300	1.333	

### 2.3 方法的考察

**2.3.1 线性关系** 精密称量莪术醇对照品 100mg, 置 10ml 容量瓶中, 加乙醇至刻度, 分别移取 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6ml 于 50ml 容量瓶中, 精密移取 1.0ml 置 50ml 容量瓶中, 加香草醛硫酸溶液(取香草醛 0.2g, 加乙醇 1ml, 使溶解, 再加冷的硫酸溶液(1→2) 100ml, 摇匀, 即得)至刻度, 摇匀, 在 20 ~ 25℃ 放置 1h, 照分光光度法(《中国药典》2000 年版二部附录 IVA), 在(520 ± 2) nm 的波长处测定吸光度。另精密称取乙醇空白溶液 0.2ml, 同法操作, 测定空白吸收, 以吸光度值为纵坐标, 莪术醇浓度为横坐标, 线性回归, 回归方程为  $A = 0.002C + 0.0583$ , 相关系数  $r = 0.9979 (n = 8)$ 。

**2.3.2 精密度实验** 精密称量莪术醇对照品 100mg, 置 10ml 容量瓶中, 加乙醇至刻度, 分别移取 0.8ml 于 50ml 容量瓶中, 照线性关系项下测定样品溶液和空白溶液的吸光度 5 次。吸光度分别为 0.405, 0.400, 0.410, 0.405, 0.410, 平均值为 0.406, RSD 为 1.03%。

**2.3.3 样品溶液的稳定性** 精密量取 0.8ml 10mg/ml 的莪术醇溶液, 置 50ml 量瓶中, 分别在 0, 1, 2, 4, 8, 10h, 照线性关系项下测定样品溶液和空白溶液的吸光度, 结果如表 2:

表 2 莪术醇样品溶液稳定性测定

名称	时间(h)						平均值	RSD (%)
	0	1	2	4	8	10		
吸光度	0.290	0.295	0.292	0.286	0.286	0.290	0.290	1.20

**2.3.4 加样回收率** 精密称取莪术醇对照品 100mg, 置 10ml 容量瓶中, 加乙醇至刻度, 移取 3 份 0.2ml 于 25ml 容量瓶中, 再分别加入 0.1, 0.2,

0.3ml 于其中, 加乙醇稀释至刻度, 分别移取 0.2ml 于 10ml 量瓶中, 同法操作, 测定吸光度。结果见表 3。

表 3 莪术醇回收率测定结果

编号	相当莪术醇量 ( $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	加入莪术醇量 ( $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	测得量	回收率 (%)	平均值 (%)
1	0.08	0.04	0.116	90.88	
2	0.08	0.08	0.153	90.65	96.59
3	0.08	0.12	0.210	108.25	

### 2.4 样品的测定

分别取 3 批样品, 标示量为含莪术油 150mg/粒, 将其制成供试品溶液, 按莪术软胶囊中莪术油的测定项下测定吸光度值, 计算软胶囊中莪术油的含量, 结果见表 4。结果表明, 莪术油的含量为标示量的 90% ~ 110%。

表 4 3 批样品莪术油的含量

批号	标示量 (mg)	测量值 (mg)	占标示量百分比 (%)	RSD (%)
020912	150	141.12	94.13	0.302
020915	150	153.04	102.02	1.459
020920	150	144.32	96.21	1.151

### 3 讨论

莪术油中的莪术醇能使香草醛被氧化成红色化合物, 但莪术油中成分复杂, 据报道, 目前已从莪术油中提取出并确定其结构的约有 20 多种成分, 莪术油中莪术醇的含量只有 7% 左右, 且能氧化香草醛的不只莪术醇<sup>[4]</sup>。因此, 我们只能测定莪术油相当莪术醇的总量, 通过醇油系数, 由莪术醇对照品的含量换算出莪术油的含量, 较药典方法有所改进。

本实验室发现, 莪术油香草醛硫酸溶液的颜色, 即吸光度受测定时间的影响较大, 药典规定在 20 ~ 25℃ 放置 1h, 再进行测定。1h 后, 溶液的吸光度明显下降。另外, 本方法受影响因素较多, 如温度, pH 值, 香草醛溶液是否新配等。

#### 参考文献:

- [1] 中国药典 2000 年版[S]. 二部. 2000: 附录, 543.
- [2] 郑少珠, 朱维华. 气相色谱法测定莪术醇的含量[J]. 广东药学院学报, 1997, 13(2): 120.
- [3] 王建中, 姜月芬, 陆锦芳. 复方莪术油微囊中莪术醇的气相色谱测定[J]. 中国临床药学杂志, 2001, 10(2): 107.
- [4] 邓 嵘, 陈济民, 高声传, 等. 莪术油明胶微球剂的含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(2): 79.

收稿日期: 2002-04-10