

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.03.019

复方薄荷脑苯酚搽剂质量标准研究*

陈燕霞, 陈洁, 黄樱华, 丘振文[△], 李得堂, 黄月纯, 孙亦群

(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要:目的 建立复方薄荷脑苯酚搽剂中水杨酸和苯酚的定量分析方法。方法 采用紫外-可见分光光度法测定水杨酸的含量,检测波长为300 nm;采用高效液相色谱法测定苯酚含量,色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(48:52, V/V),流速为1.0 mL/min,柱温为25℃,检测波长为270 nm,进样量为10 μL。结果 水杨酸质量浓度在0.005 1~0.030 4 mg/mL范围内与吸光度线性关系良好($r=0.999\ 2, n=6$),平均加样回收率为100.90%,RSD为0.69%($n=9$)。苯酚进样量在0.264 0~3.299 8 μg范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9, n=6$),平均加样回收率为100.54%,RSD为0.61%($n=9$);水杨酸和苯酚精密度、重复性、稳定性试验结果的RSD均小于2%。结论 该方法操作简便,结果准确,重复性和稳定性均好,可用于控制复方薄荷脑苯酚搽剂的质量。

关键词:复方薄荷脑苯酚搽剂;水杨酸;苯酚;含量测定;质量控制

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)03-0081-03

Quality Standard of Compound Menthol Phenol Liniment

CHEN Yanxia, CHEN Jie, HUANG Yinghua, QIU Zhenwen, LI Detang, HUANG Yuechun, SUN Yiqun

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China 510405)

Abstract: **Objective** To establish a method for the quantitative analysis of salicylic acid and phenol in Compound Menthol Phenol Liniment. **Methods** The content of salicylic acid was determined by the ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrophotometry at the detection wavelength of 300 nm. The content of phenol was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method, the chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (48:52, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 25℃, the detection wavelength was 270 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The mass concentration of salicylic acid showed a good linear relationship with absorbance in the range of 0.005 1-0.030 4 mg/mL ($r=0.999\ 2, n=6$), the average recovery rate was 100.90% with an RSD of 0.69% ($n=9$). The injection volume of phenol showed a good linear relationship with absorbance in the range of 0.264 0-3.299 8 μg ($r=0.999\ 9, n=6$), the average recovery rate was 100.54% with an RSD of 0.61% ($n=9$). The RSDs of precision, repeatability and stability tests of salicylic acid and phenol were less than 2%. **Conclusion** The method is simple, accurate, reproducible and stable, which can be used for the quality control of Compound Menthol Phenol Liniment.

Key words: Compound Menthol Phenol Liniment; salicylic acid; phenol; content determination; quality control

复方薄荷脑苯酚搽剂(原名止痒酒精)为我院的医院制剂(粤药制字Z20150062),由水杨酸、苯酚、薄荷脑、75%乙醇组成,具有抗炎、止痒、消毒功效^[1-3],临床常用于治疗皮肤瘙痒等症。复方薄荷脑苯酚搽剂原质量标准中存在滴定法测定水杨酸含量不准确、无苯酚含量等问题。根据《广东省医疗机构(化学药)制剂质量标准制定的技术要求(试行)》文件精神,并参考《中国药典(二部)》^[4]及文献^[5-6],本研究中建立了测定水杨酸含量的紫外-可见分光光度法,以及测定苯酚含量的高效液相色谱法,以进一步提高质量标准。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Cary60型紫外-可见分光光度计、HP1200型高效液相色谱仪,购于安捷伦科技(中国)有限公司;XA105型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)公司,

精度为十万分之一)。

1.2 试剂

复方薄荷脑苯酚搽剂(广州中医药大学第一附属医院制剂中心,批号分别为S1,S2,S3);水杨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号为100106-2011104,纯度为99.9%);苯酚试剂(天津市大茂化学试剂厂,批号为20160701,纯度为99.11%);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 紫外-可见分光光度法测定水杨酸含量^[5]

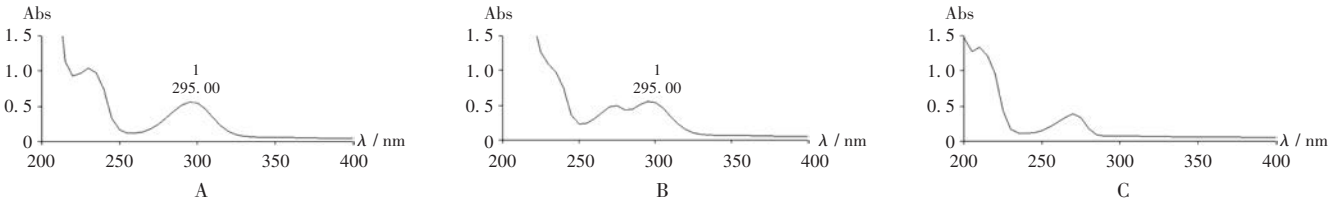
2.1.1 溶液制备

取水杨酸对照品13 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加入75%乙醇制成每1 mL含0.253 0 mg的对照品贮备液,精密吸取1 mL,置25 mL容量瓶中,加入75%乙醇稀释成每1 mL含0.010 12 mg的水杨酸对照品溶

*基金项目:广州中医药大学第一附属医院创新强院工程项目[2017ZWB10]。

第一作者:陈燕霞,女,硕士,主管中药师,研究方向为中药饮片炮制工艺、医院制剂研发与质量标准,(电子信箱)973414396@qq.com。

[△]通信作者:邱振文,男,博士,主任中药师,研究方向为药物剂型与医院制剂,(电子信箱)qzhenwen@163.com。



1. 水杨酸
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 紫外-可见分光光谱图

1. Salicylic acid

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 UV - Vis spectograms

液。精密吸取样品 2 mL, 置 100 mL 容量瓶, 加入 75% 乙醇稀释并定容, 精密吸取 5 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 加入 75% 乙醇稀释, 定容, 即得供试品溶液。按处方称取缺水杨酸的阴性样适量, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.1.2 方法学考察

专属性试验: 分别吸取 2.1.1 项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各适量, 在 200~400 nm 波长范围内扫描, 记录紫外-可见吸收光谱图(见图 1)。可见, 在 295 nm 波长处, 对照品溶液与供试品溶液均有最大吸收峰, 且阴性对照品溶液在此波长处无吸收峰, 表明制剂中的其他成分对水杨酸的测定无干扰。

线性关系考察: 精密吸取 2.1.1 项下对照品贮备液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL, 分别置 25 mL 容量瓶中, 加入 75% 乙醇稀释, 并定容; 以 75% 乙醇为空白, 于 300 nm 波长处测定吸光度。以质量浓度(C , mg/mL)为横坐标、吸光度(A)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $A = 25.4849C + 0.00947$ ($r = 0.9992$, $n = 6$), 表明水杨酸质量浓度在 0.0051~0.0304 mg/mL 范围内与吸光度线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取 2.1.1 项下对照品溶液(质量浓度为 0.02024 mg/mL)适量, 平行测定 6 次。结果平均吸光度为 0.5371, RSD 为 0.02% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 精密吸取样品(批号为 S1)适量, 平行 6 份, 按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 依法测定吸光度。结果平均吸光度为 0.5238, RSD 为 0.10% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 精密吸取重复性试验项下供试品溶液适量, 分别于 0, 1, 2, 3, 6, 8 h 时依法测定吸光度。结果平均吸光度为 0.5375, RSD 为 0.09% ($n = 6$), 表明供试品溶液在室温下 8 h 内稳定性良好。

加样回收试验: 精密吸取已知含量的样品(批号为 S1) 0.8, 1.0, 1.2 mL, 分别精密加入 80%, 100%, 120% 水杨酸对照品, 平行 3 份, 依法测定吸光度, 并计算加样

回收率。结果见表 1。

表1 加样回收试验结果($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
水杨酸	苯酚	水杨酸	苯酚	水杨酸	苯酚	水杨酸	苯酚	水杨酸	苯酚	水杨酸	苯酚
16.14	9.85	16.05	8.03	32.43	17.93	101.50	100.62				
16.14	9.85	16.09	8.03	32.48	17.94	101.55	100.75				
16.14	9.85	16.19	8.03	32.65	17.90	101.98	100.25				
20.18	9.85	20.13	10.04	40.31	20.02	100.00	101.29				
20.18	9.85	20.03	10.04	40.29	20.03	100.40	101.39	100.90	100.54	0.69	0.61
20.18	9.85	20.07	10.04	40.25	19.98	100.00	100.90				
24.21	9.85	24.01	12.05	48.44	21.88	100.92	99.83				
24.21	9.85	24.07	12.05	48.51	21.93	100.96	100.25				
24.21	9.85	24.15	12.05	48.55	21.85	100.79	99.59				

2.1.3 样品含量测定

取样品(批号分别为 S1, S2, S3), 平行 3 份, 按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 依法测定吸光度, 代入回归方程, 计算得 3 批样品的平均含量为 2.02%, RSD 为 0.36% ($n = 9$)。

2.2 高效液相色谱法测定苯酚含量^[6]

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(48:52, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

2.2.2 溶液制备

取苯酚对照品 1.3 g, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加水溶解并定容, 即得对照品贮备液; 精密吸取 10 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 加水稀释并定容, 过滤, 取滤液, 即得每 1 mL 含 1.3199 mg 的苯酚对照品溶液。精密吸取样品(批号为 S1) 1 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 加水稀释并定容; 精密吸取稀释液 6 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加水稀释并定容; 过滤, 取滤液, 即得供试品溶液。精密吸取缺水杨酸的阴性样品 1 mL, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

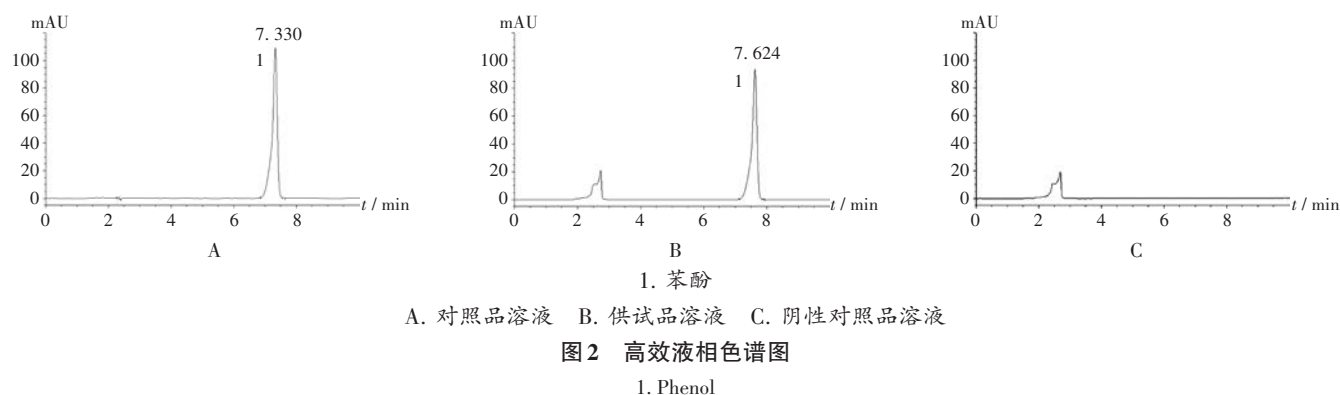


Fig. 2 HPLC chromatograms

2.2.3 方法学考察

专属性试验:分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各10 μL ,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图(见图2)。可知,各峰分离良好,且阴性对照品溶液在相应位置无吸收峰,表明制剂中其他成分不干扰苯酚的测定。

线性关系考察:精密吸取2.2.2项下对照品溶液2, 5, 10, 15, 20, 25 mL,分别置100 mL容量瓶中,加水稀释并定容,滤过,取滤液,按2.2.1项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 940.826 X + 4.0051$ ($r = 0.9999, n = 6$),表明苯酚进样量在0.2640~3.2998 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.2.2项下对照品溶液10 μL ,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果的 RSD 为0.46% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:精密吸取样品(批号为S1)适量,平行6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为1.80% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:精密吸取重复性试验项下供试品溶液10 μL ,分别于0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为1.11% ($n = 8$),表明供试品溶液在常温下放置24 h内稳定性良好。

加样回收试验:精密吸取已知含量的样品(批号为S1)0.5 mL,分别精密加入80%, 100%, 120%对照品溶液,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,每组平行3份,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表1。

2.2.4 样品含量测定

取样品(批号分别为S1, S2, S3),按2.2.2项下方法制备供试品溶液,平行3份,按2.2.1项下色谱条件进

样测定,记录峰面积,代入回归方程计算得3批样品的平均含量为1.88%, RSD 为1.98% ($n = 9$)。

3 讨论

前期预试验中,按2020年版《中国药典(二部)》收载方法,采用滴定法测定水杨酸和苯酚的含量,结果发现水杨酸阴性对照品溶液消耗氢氧化钠滴定液较多,而苯酚阴性对照品溶液消耗溴滴定液较多,可能与苯酚与水杨酸存在相互干扰而导致结果误差较大有关,故滴定法不适合用于复方薄荷脑苯酚搽剂中水杨酸和苯酚的含量测定。

在含量测定研究中,采用紫外-可见分光光度法测定样品中水杨酸的含量,结果准确,操作便捷。采用高效液相色谱法测定苯酚含量,由于未能购买到苯酚对照品,故使用苯酚试剂(化学纯),并按2020年版《中国药典(二部)》收载方法测定其纯度。结果天津市大茂化学试剂厂生产的苯酚试剂含量为99.11%, RSD 为0.07%,纯度高,可用作复方薄荷脑苯酚搽剂中苯酚含量测定的工作对照品。试验结果表明,本方法测得样品中苯酚平均含量为1.88%, RSD 为1.98%,数据准确,方法可行。

综上所述,本研究中建立的方法操作简便快捷,结果准确可靠,灵敏度高,重复性和稳定性均较好,可用于复方薄荷脑苯酚搽剂的质量控制。

参考文献

- [1] 朱亚丽. 复方水杨酸洗剂药效学研究[J]. 中国药业, 2012, 21(11): 7-8.
- [2] 周文菊, 豆小文, 杨美华, 等. 薄荷及其饮片质量控制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9): 1569-1577.
- [3] 勉丽娜, 牛凌梅, 康维钧, 等. 苯酚与DNA相互作用的光谱研究[J]. 河北医科大学学报, 2008, 29(5): 715-718.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 78, 443.
- [5] 冯云晓, 吴华涛. 复方苯甲酸酊中水杨酸和苯甲酸含量的测定[J]. 怀化学院学报, 2009, 28(2): 48-51.
- [6] 毕雪艳, 周万辉, 郭金英, 等. 高效液相色谱法测定苯酚滴耳液中苯酚的含量[J]. 中南药学, 2006, 8(4): 285-286.

(收稿日期: 2021-03-06; 修回日期: 2021-07-26)