

中图分类号: R932; R284.1
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.07.017

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2023)07-0078-04



气相色谱法同时测定麝香止痛贴膏中冰片、薄荷脑和水杨酸甲酯含量*

方永凯, 赵群涛

(河南省信阳市食品药品监督管理局, 河南 信阳 464000)

摘要:目的 建立同时测定麝香止痛贴膏中冰片、薄荷脑和水杨酸甲酯含量的气相色谱内标法。方法 色谱柱为 PEG-20M 毛细管柱 (30 m×0.32 mm, 0.25 μm), 检测器为氢火焰离子化检测器 (FID), 以萘为内标, 进样口温度为 230 ℃, 检测器温度为 250 ℃, 程序升温 (初始温度 100 ℃, 保持 15 min, 以 10 ℃/min 的速率升至 200 ℃, 保持 5 min), 进样量为 1 μL, 分流比为 5:1。结果 冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯的质量浓度分别在 0.078 6~1.572 5 ng/mL、0.124 9~2.498 4 ng/mL、0.080 0~1.606 0 ng/mL 范围内与对照品和内标峰面积比值线性关系良好 ($r \geq 0.999 8$, $n = 6$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均低于 2.0%; 加样回收率分别为 95.83%, 95.01%, 95.46%, RSD 分别为 0.57%, 0.34%, 0.29% ($n = 6$)。结论 该方法稳定性和重复性均良好, 可有效控制麝香止痛贴膏的质量。

关键词: 麝香止痛贴膏; 气相色谱法; 内标法; 冰片; 薄荷脑; 水杨酸甲酯; 含量测定

Simultaneous Determination of Borneol, Menthol and Methyl Salicylate in Shexiang Zhitong Plaster by GC

FANG Yongkai, ZHAO Quntao

(Xinyang Institute for Food and Drug Control, Xinyang, Henan, China 464000)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography (GC) internal standard method for the simultaneous determination of borneol, menthol and methyl salicylate in Shexiang Zhitong Plaster. **Methods** The chromatographic column was PEG-20M capillary column (30 m×0.32 mm, 0.25 μm), the detector was a flame ionization detector (FID), with naphthalene as the internal standard, the inlet temperature was 230 ℃, the detector temperature was 250 ℃, the temperature was programmed (the initial temperature was 100 ℃, maintained for 15 min, and rising to 200 ℃ at the rate of 10 ℃/min, maintained for 5 min), the injection volume was 1 μL, and the split ratio was 5:1. **Results** The linear ranges of borneol, menthol and methyl salicylate were 0.078 6–1.572 5 ng/mL, 0.124 9–2.498 4 ng/mL and 0.080 0–1.606 0 ng/mL respectively ($r \geq 0.999 8$, $n = 6$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The recovery rates of borneol, menthol and methyl salicylate were 95.83%, 95.01% and 95.46% respectively, with the RSDs of 0.57%, 0.34% and 0.29% respectively ($n = 6$). **Conclusion** The method is stable and repeatable, which can effectively control the quality of Shexiang Zhitong Plaster.

Key words: Shexiang Zhitong Plaster; GC; internal standard method; borneol; menthol; methyl salicylate; content determination

麝香止痛贴膏由人工麝香、当归、川芎、白芷、冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯等 16 味中药组方, 现收载于《卫生部药品标准 中药成方制剂 (第二册)》^[1], 具有祛风除湿、活血舒筋、消肿止痛的功效, 用于治疗风湿性关节痛、腰背冷痛、跌打损伤等症。由于该制剂所含冰片 (龙脑和异龙脑)、薄荷脑、水杨酸甲酯均为挥发性成分, 显著影响制剂质量的稳定性, 故控制挥发性成分的含量是质量控制的关键。原标准中无含量测定项, 已有河南省食品药品监督管理局起草的《麝香止痛贴膏国家药品标准草案》^[2], 以期监督市售不同厂家麝香止痛贴膏的质量。同时有大量研究对冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯等成分进行了研究, 对各挥发性成分的定量分析有很好的借鉴意义^[3-10]。前期试验在混合对照品中添加了

樟脑辅助考察挥发性成分, 发现部分产品中含有樟脑成分, 可能为各厂家的工艺差异。本研究中采用气相色谱法同时测定该制剂中冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯 3 种挥发性成分的含量, 样品分析各组分峰间分离度良好, 峰形尖锐、对称, 能更好地控制麝香止痛贴膏的质量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

PerkinElmer Clarus580 型气相色谱仪 (铂金埃尔默仪器有限公司); Precisa 92SM-DR 型电子天平 (瑞士普利赛斯称重设备有限公司, 精度为 0.01 mg); 基因型 1850 摩尔超纯水机 (重庆摩尔水处理设备有限公司)。

*基金项目: 河南省药品监督管理局科技计划项目 [2020DB031]。

第一作者: 方永凯, 男, 大学本科, 主管药师, 主要从事药品检验工作, (电子信箱) 42644172@qq.com。

1.2 试药

樟脑对照品(批号110707-202011,含量98.8%),冰片对照品(批号110743-201706,含量97.6%),薄荷脑对照品(批号110728-201707,含量99.8%),水杨酸甲酯对照品(批号110707-201614,含量100.0%),均购自中国食品药品检定研究院;萘及其他试剂均为分析纯,水为Ⅰ级超纯水;麝香止痛贴膏均为市售,样品信息见表1。

表1 麝香止痛贴膏样品信息

Tab.1 Information of Shexiang Zhitong Plaster samples

厂家	批号
湖南金寿制药有限公司	200101
荆州市津奉药业有限公司	200702
河南羚锐制药股份有限公司	200601,200706
湖南杏林春药业有限公司	200502
湖南富兴飞鸽药业有限公司	2005084
广东粤城制药有限公司	20200803,20200514
安徽金马药业有限公司	20200904
沈阳管城制药有限公司	20200602

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:PEG-20M毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm);检测器:氢火焰离子化检测器(FID);进样口温度:230℃;检测器温度:250℃;程序升温,初始温度100℃、保持15 min,以10℃/min的速率升至200℃、保持5 min;进样量:1 μL;分流比:5:1。

2.2 溶液制备

内标溶液:取萘适量,精密称定,加乙酸乙酯溶解,制成萘质量浓度为5.006 0 mg/mL的内标溶液。

混合对照品溶液:取冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯、樟脑对照品各适量,精密称定,置同一容量瓶中,精密加入内标溶液5 mL,加乙酸乙酯制成含冰片质量浓度0.841 0 mg/mL、薄荷脑0.832 0 mg/mL、水杨酸甲酯0.936 8 mg/mL、樟脑1.235 0 mg/mL的溶液。

供试品溶液:取样品14.5 cm×14.5 cm,剪成小块,

除去盖衬,置250 mL烧瓶中,加水150 mL,照2020年版《中国药典(四部)》通则2204 挥发油测定法甲法^[11],自测定器上端加水至充满刻度部分,并溢流入烧瓶时为止,再加乙酸乙酯4 mL,加热回流提取3 h,放冷,分层,取乙酸乙酯液置10 mL容量瓶中,以适量乙酸乙酯分次洗涤容器,洗涤液并入同一容量瓶中,精密加入内标溶液2 mL,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,即得。

阴性对照品溶液:根据处方工艺制备不含冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯、樟脑的阴性样品,精密加入内标溶液5 mL,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,色谱图见图1。

线性关系考察:取6个10 mL容量瓶,分别加入0.5,1,2,4,6,8 mL 2.2项下混合对照品溶液,加乙酸乙酯定容,滤过,测定峰面积。以各成分质量浓度(X , ng/mL)为横坐标、对照品和内标峰面积比值(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表2。

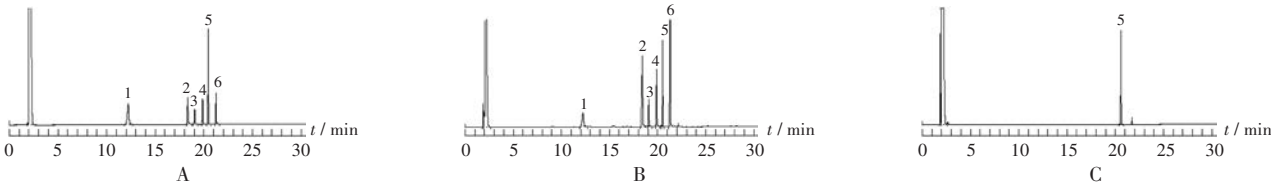
表2 各成分线性关系考察结果($n=6$)

Tab.2 Results of the linear relation test of components ($n=6$)

待测成分	回归方程	相关系数(r)	线性范围(ng/mL)
冰片	$Y=0.7782X+0.0062$	0.9999	0.0786~1.5725
樟脑	$Y=0.7099X-0.0032$	1.0000	0.1250~2.8528
薄荷脑	$Y=0.7726X+0.0095$	0.9999	0.1249~2.4984
水杨酸甲酯	$Y=0.5185X+0.0032$	0.9998	0.0800~1.6060

精密度试验:精密吸取2.2项下混合对照溶液,按2.1项下色谱条件进样测定6次,计算峰面积积分值。结果冰片、樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯峰面积的RSD分别为0.77%,0.83%,0.98%,0.92%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一批(200601)样品适量,依法平行制备供试品溶液,分别于0,1,3,6,9,12,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯峰面积的RSD分别为1.17%,1.39%,



1. 樟脑 2. 薄荷脑 3. 异龙脑 4. 龙脑 5. 萘(内标) 6. 水杨酸甲酯

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 气相色谱图

1. Camphor 2. Menthol 3. Isoborneol 4. Borneol 5. Naphthalene(internal standard) 6. Methyl salicylate

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

Fig.1 GC chromatograms

表3 加样回收试验结果($n = 6$)
Tab. 3 Results of the recovery test ($n = 6$)

样品含量(mg)			加入量(mg)			测得量(mg)			回收率(%)			$\bar{X}(\%)$			RSD(%)		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
26.849 5	12.206 3	23.722 8	1.682 0	1.664 0	1.873 6	28.474 9	13.777 0	25.520 6	96.63	94.39	95.95	95.83	95.01	95.46	0.57	0.34	0.29
26.849 5	12.206 3	23.722 8	1.682 0	1.664 0	1.873 6	28.454 4	13.787 4	25.508 8	95.42	95.02	95.32						
26.849 5	12.206 3	23.722 8	1.682 0	1.664 0	1.873 6	28.463 6	13.791 1	25.513 2	95.97	95.24	95.56						
26.849 5	12.206 3	23.722 8	1.682 0	1.664 0	1.873 6	28.448 2	13.786 0	25.510 8	95.05	94.93	95.43						
26.849 5	12.206 3	23.722 8	1.682 0	1.664 0	1.873 6	28.459 0	13.792 4	25.504 6	95.69	95.32	95.10						
26.849 5	12.206 3	23.722 8	1.682 0	1.664 0	1.873 6	28.468 1	13.790 4	25.509 7	96.23	95.20	95.37						

注:A为冰片,B为薄荷脑,C为水杨酸甲酯。表4同。

Note:A refers to borneol,B refers to menthol,and C refers to methyl salicylate (for Tab. 3 - 4).

1.42%($n = 7$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。
重复性试验:取同一批(200601)样品适量,依法平行制备供试品溶液6份,按2.1项下色谱条件进样测定。结果冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯峰面积的RSD分别为0.96%,0.93%,1.33%($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(200601)样品6份,每份14.5 cm × 14.5 cm,精密称定,精密加入2.2项下混合对照品溶液2 mL,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。结果见表3。

2.4 样品含量测定

取不同厂家的样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定3次。结果见表4。

表4 样品含量测定结果($n = 3$)

Tab. 4 Results of content determination of borneol,menthol and methyl salicylate in samples ($n = 3$)

批号	含量(mg / 100 cm ²)			RSD(%)		
	A	B	C	A	B	C
200101	29.81	14.67	9.61	0.88	1.04	1.04
200702	4.37	5.63	8.80	0.75	1.41	0.63
200601	44.75	20.34	39.54	0.90	1.18	0.86
200706	43.51	20.56	38.72	1.40	1.02	1.42
200502	26.38	11.65	15.91	1.16	0.89	0.90
2005084	19.67	7.64	16.07	1.42	0.92	0.87
20200803	21.08	11.65	18.48	1.13	0.78	1.22
20200514	20.48	11.27	21.30	1.38	0.93	1.06
20200904	48.18	18.11	5.69	1.51	1.12	0.95
20200602	17.09	13.39	15.43	1.04	0.68	0.96

3 讨论

3.1 挥发性成分选择

冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯均易挥发,在制备及存储过程中易受到温度的影响,导致有效成分含量波动较大。本研究中建立了气相色谱法同时测定麝香止痛贴膏中冰片、薄荷脑和水杨酸甲酯挥发性成分的含量,完善和提高了其质量标准,能更好地控制其质量。

3.2 提取溶剂选择

比较了乙酸乙酯、正己烷、石油醚等溶剂的提取效率,结果乙酸乙酯提取液中冰片、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量均略高,且考虑乙酸乙酯毒性较小,故选择乙酸乙酯作为溶剂。

3.3 添加樟脑辅助考察挥发性成分

橡胶膏剂主要是通过透皮吸收发挥局部治疗或全身治疗的作用,因橡胶膏剂膏层载药量小,有效成分皮肤透过率较低,一般常使用薄荷醇、冰片、樟脑、水杨酸甲酯等作为透皮促进剂^[12]。试验设计时加入樟脑制备混合对照品溶液进行辅助考察,部分厂家检出樟脑成分,麝香止痛贴膏处方中并未添加樟脑原料,可能存在添加价格相对低廉的樟脑达到促进吸收的目的。

3.4 不同厂家产品质量差异大

近年来,关于麝香止痛贴膏有效成分含量测定的研究较少,质量控制主要采用鉴别反应,本研究中直接测定其有效成分含量。药品含量测定结果表明,不同厂家冰片、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量差异大,这可能与不同厂家使用中药材的质量、生产工艺参数、生产设备、含量控制措施等因素相关^[13-14]。

参考文献

[1] WS₃-B-0469-90,中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第二册)[S].
[2] 国家药典委员会. 关于麝香止痛贴膏国家药品标准草案的公示[EB/OL]. (2021-07-13)[2022-01-20]. <https://www.chp.org.cn/gjjyw/zy/16270.jhtml>.
[3] 刘杰,董文玲. 4种中药橡胶膏剂中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的气相色谱法测定[J]. 中成药,2004,26(10): 795-798.
[4] 沈小钟,崔穗旭,邱蔚芬,等. GC法同时测定跌打镇痛膏中樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯含量[J]. 中国药师,2020,23(4): 772-774.
[5] 王海波,宋汉敏,李振国. 气相色谱法同时测定关节止痛膏中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,