

GC 内标法测定复方樟脑乳膏中樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量

王国英,周 刚*

(内蒙古自治区药品检验研究院 化学药品室,内蒙古 呼和浩特 010020)

【摘要】目的 建立GC内标法同时测定复方樟脑乳膏中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯主要成分的含量。方法 采用SHIMADZU SH-Rtx-Wax毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),载气为氮气,流速1 mL/min,空气流速200 mL/min,氢气流速32 mL/min,FID为检测器,检测器温度250 °C,进样口温度250 °C,分流比10:1,程序升温(起始温度为160 °C,维持13.5 min,以60 °C/min的速率升温至240 °C,维持15 min),正十三烷为内标。结果 复方樟脑乳膏中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯分离度良好,方法专属性强、线性范围宽、精密度好、准确度高、耐用性好。樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯分别在0.89~1.85 mL/min($r = 0.9999$)、0.75~1.70 mL/min($r = 0.9990$)、0.38~1.33 mL/min($r = 0.9998$)浓度范围内与其峰面积及内标溶液峰面积的比值呈线性关系,低、中、高浓度平均回收率分别为100.5%(RSD = 0.7%)、99.9%(RSD = 0.9%)、102.3%(RSD = 1.0%)。结论 该方法操作简单、准确度高、重现性好,可用于复方樟脑乳膏的质量控制。

【关键词】复方樟脑乳膏;GC内标法;樟脑;薄荷脑;水杨酸甲酯

中图分类号: R47.5

文献标识码: A

文章编号: 2095-512X(2022)03-0234-05

DETERMINATION OF CAMPHOR, MENTHOL AND METHYL SALICYLATE IN COMPOUND CAMPHOR CREAM BY GC INTERNAL STANDARD METHOD

WANG Guoying, ZHOU Gang*

(Chemical Inspection Room, Inner Mongolia Institute for Drug Control, Hohhot 010020, China)

【Abstract】 Objective To establish a method for the determination of camphor, menthol and methyl salicylate in compound camphor cream by GC internal standard method. **Methods** GC method was performed on SHIMADZU SH-Rtx-Wax capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) column, with nitrogen as the carrier gas, the flow rate was 1.0 mL/min, air 200 mL/min, hydrogen 32 mL/min, and FID as the detector (temperature is 250 °C), injector temperature is 250 °C, split ratio 10:1. The temperature programme: initial temperature was 160 °C, which was retained 13.5 minutes, and then 60 °C per minute up to 240 °C, retaining 15 minutes. N-tridecane was used as the internal standard. **Results** Camphor, menthol, methyl salicylate, n-tridecane and various accessories in compound camphor cream were well separated. The method was specific, linear, accurate, precise and robust. The linear ranges of camphor, menthol and methyl salicylate were 0.89~1.85 mL/min ($r = 0.9999$), 0.75~1.70 mL/min ($r = 0.9990$), 0.38~1.33 mL/min ($r = 0.9998$), respectively. The average recoveries of low, middle and high concentrations were 100.5% (RSD = 0.7%), 99.9% (RSD = 0.9%), 102.3% (RSD = 1.0%). **Conclusions** The method was simple with high accuracy and good reproducibility, and provides a reliable way for evaluating the quality of compound camphor cream.

【Keywords】 Compound camphor cream; GC internal standard method; Camphor; Menthol; Methyl salicylate

收稿日期: 2022-03-01; 修回日期: 2022-05-24

第一作者: 王国英(1983-), 女, 硕士, 主管药师。研究方向: 化学药品(抗生素)检验及质量研究与评价。

E-mail: 914217563@qq.com

*通信作者: 周刚, 男, 硕士, 主任药师。研究方向: 化学药品(抗生素)检验及质量研究与评价。 E-mail: gangzhou412@126.com

复方樟脑乳膏是由樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯、盐酸苯海拉明、葡萄糖酸氯己定、甘草次酸等溶解或分散于乳状液型基质中形成的均匀性半固体制剂。其主要用于湿疹、虫咬皮炎、神经性皮炎、玫瑰糠疹、丘疹性荨麻疹等,也可用于肩胛酸痛、肌肉痛及烫伤后的皮肤疼痛^[1-6]。该药品不含激素、安全性高、不良反应发生率低、患者耐受性好,局部使用不易产生耐药性,因此临床应用较为广泛。

经国家食品药品监督管理局网站查询该品种共8个生产厂家具有批准文号,规格均为“每克含樟脑40 mg,薄荷脑30 mg,水杨酸甲酯20 mg,盐酸苯海拉明10 mg,葡萄糖酸氯己定2 mg,甘草次酸3 mg”。现行法定检验标准为《国家食品药品监督管理局国家药品标准》化学药品地方标准上升国家药品标准第一册 WS-10001-(HD-0041)-2002^[7]。原标准检验项目设置简单,仅对其中两种主药成分薄荷脑和水杨酸甲酯进行控制,未对其他成分的含量进行控制,不能全面准确评价该药品质量。本研究建立气相色谱内标法测定复方樟脑乳膏中樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量并进行了方法学验证。该方法简单可行、方法可靠、重复性好,可作为复方樟脑乳膏的质量控制依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 GC-2030 型气相色谱仪;AOC-20i plus 自动进样器,FID 检测器;Millipore 超纯水机;Sarlorius AL204(万分之一)、Sarlorius MSA125P-1CE-DI(十万分之一);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DHG-9145A 型电热鼓风干燥箱(上海-恒科学仪器有限公司)。

1.2 试剂

高纯水(实验室自制)、无水乙醇、乙酸乙酯、正十三烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 对照品及样品

樟脑对照品(批号:110747-201810,纯度99.0%)、薄荷脑对照品(批号:110728-201707,纯度:99.8%)、水杨酸甲酯对照品(批号:110723-201715,纯度99.6%),上述对照品均购自中国食品药品检定研究院。复方樟脑乳膏,企业A(批号:2019090497)、企业B(批号:1907080101)、企业C(批号:19070831)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用毛细管色谱柱,型号 SHIMADZU SH-Rtx-Wax(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);程序升温:起始温度为 160 °C,维持 13.5 min,以 60 °C/min 的速率升温至 240 °C,维持 15 min;载气为高纯氮,流速 1 mL/min,空气流速 200 mL/min,氢气流速 32 mL/min,尾吹气为氮气,流速 24 mL/min,进样口温度为 250 °C,分流比 10:1;FID 检测器,检测器温度为 250 °C,进样量 1 μL,按内标法以峰面积计算,内标峰及各成分峰的分离度应大于 1.5。

2.2 溶液制备

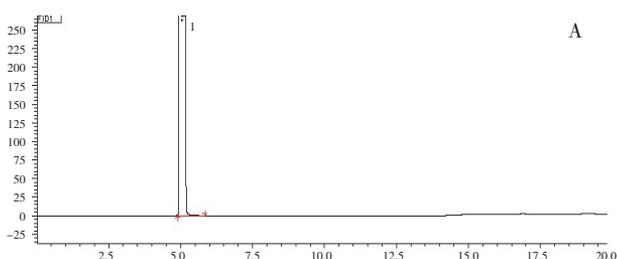
2.2.1 内标溶液 取正十三烷 6 g,置于 100 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度摇匀,制成每 1 mL 约含 60 mg 的溶液作为内标溶液。

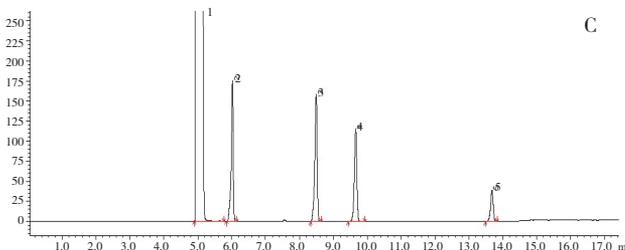
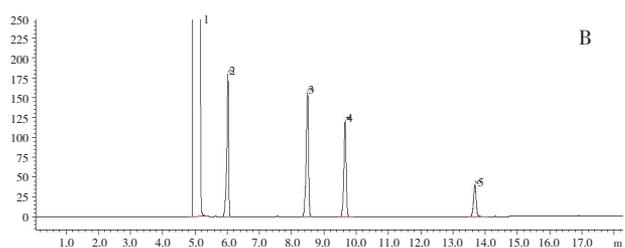
2.2.2 混合对照品溶液 分别取樟脑对照品约 80 mg、薄荷脑对照品约 60 mg、水杨酸甲酯对照品约 40 mg,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,加无水乙醇适量溶解,精密加入内标溶液 1 mL,加无水乙醇稀释至刻度摇匀,制成每 1 mL 分别约含樟脑 1.6 mg、薄荷脑 1.2 mg、水杨酸甲酯 0.8 mg 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 精密称取本品 2 g,置于 50 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1 mL,加无水乙醇约 40 mL,塞住,用封口膜密封,30 °C 超声 15 min,放至室温,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液,精密量取 1 μL,注入气相色谱仪,并记录色谱图,按内标法以峰面积计算,即得。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验 按复方樟脑乳膏处方比例,取出樟脑、薄荷脑及水杨酸甲酯的阴性空白基质 2 g,按“2.2.3”项下方法制备专属性试验溶液。取专属性试验溶液、混合对照品溶液、供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件检测,结果显示,空白溶剂及辅料在樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯及内标物质出峰时间内对测定不存在干扰,专属性较好(见图1)。





A: 阴性空白溶液; B: 混合对照品溶液; C: 供试品溶液

1. 乙醇; 2. 内标溶液(正十三烷); 3. 樟脑;
4. 薄荷脑; 5. 水杨酸甲酯

图1 专属性试验液相色谱图

- A: blank solution;
B: mixed reference substance solution; C: samples
1. ethanol; 2. internal standard(N-tridecane);
3. camphor; 4. Menthol; 5. methylsalicylate

Fig.1 The chromatograms of specificity test

2.3.2 线性关系考察 精密称取正十三烷适量,加无水乙醇稀释制成 1 mL 中约含 1.20 mg 的正十三烷溶液,摇匀。另精密称取樟脑对照品 102.87 mg、薄荷脑对照品 92.40 mg、水杨酸甲酯对照品 72.18 mg,置于 50 mL 量瓶中,加正十三烷溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品储备液。分别精密量取混合对照品储备液适量,用正十三烷溶液稀释制成分别约含樟脑 1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 mg/mL、薄荷脑 0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 mg/mL 和水杨酸甲酯 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mg/mL 的系列浓度混合对照品溶液。精密量取上述混合对照品溶液,照“2.1”项下色谱条件,取 1 μL 注入气相色谱仪,并记录色谱图;以对照品与内标峰面积比为横坐标,对照品浓度 (mg/mL) 为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程(见表 1)。试验结果表明:在各自的线性范围内,各组分线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 精密量取同一批供试品溶液,照“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯含量的 RSD 分别为 0.2%、0.3%、1.6%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 照“供试品溶液”项下处理供试品 1 份,分别于 0、2、4、6、8、12 h 进行测定,12 h 内樟

表 1 3 种主要成分的线性关系

Tab. 1 Linearity of determination of 3 components

组分	线性范围 (mg/mL)	回归方程	r
樟脑	0.89 ~ 1.85	Y= 1.2872X+0.0248	0.9999
薄荷脑	0.75 ~ 1.70	Y= 1.2544X+0.0391	0.9990
水杨酸甲酯	0.38 ~ 1.33	Y=2.1285X+0.0263	0.9998

脑、薄荷脑、水杨酸甲酯峰面积与内标峰面积比值的 RSD 分别为 1.4%、0.4%、1.0%,表明供试品溶液 12 h 内稳定性较好。

2.3.5 重复性试验 取 2.2.3 项下混匀样品,平行制备 6 份供试品溶液,照“2.1”项下色谱条件检测,结果 6 份样品中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的平均含量分别为 40.4 mg/g、30.3 mg/g、18.9 mg/g, RSD 分别为 0.5%、0.7%、0.5%,表明该方法重复性良好。

2.3.6 回收率试验 设计低、中、高 3 种不同浓度,每种浓度分别制备 3 份供试品溶液,用 9 份样品测定结果进行评价。取 2.2.3 项下混匀样品,精密称取 1 g,置于 50 mL 量瓶中,按表 2 设置不同的浓度梯度,分别加入樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯对照品适量,各精密加内标溶液 1 mL,加无水乙醇约 40 mL,塞住,用封口膜密封,30 °C 超声 15 min,放至室温,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,照“2.1”项下色谱条件检测,试验结果见表 2。

表 2 回收率试验测定结果

Tab. 2 The result of recovery determination

组分	浓度 (%)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
樟脑	80	39.21	31.92	71.01	99.62	100.5	0.7
		38.57	31.92	70.41	99.74		
		39.22	31.92	71.33	100.59		
	100	38.33	39.93	78.45	100.47		
		38.33	39.93	78.51	100.62		
		38.69	39.93	79.00	100.95		
	120	38.56	47.93	86.30	99.60		
		39.81	47.93	88.32	101.21		
		39.34	47.93	87.89	101.29		
薄荷脑	80	28.66	24.04	52.91	100.87	99.9	0.9
		28.20	24.04	52.30	100.24		
		28.68	24.04	52.60	99.50		
	100	28.02	30.07	57.81	99.06		
		28.02	30.07	57.83	99.13		
		28.28	30.07	58.53	100.59		
	120	28.19	36.10	63.84	98.75		
		29.10	36.10	65.14	99.83		
		28.76	36.10	65.33	101.30		

表2 回收率试验测定结果(续表)
Tab. 2 The result of recovery determination

组分	浓度 (%)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
水杨酸甲酯	80	19.64	15.99	35.80	101.06	102.3	1.0
		19.33	15.99	35.70	102.37		
		19.66	15.99	36.00	102.18		
	100	19.20	20.00	39.30	100.50		
		19.21	20.00	39.53	101.60		
		19.38	20.00	40.02	103.20		
	120	19.32	24.01	44.21	103.66		
		19.95	24.01	44.70	103.08		
		19.71	24.01	44.43	102.95		

2.3.7 耐用性试验 取对照品溶液分别对柱温、载气流速、色谱柱进行耐用性试验考察,通过改变初始柱温(155 ℃、160 ℃、165 ℃),改变载气流速(0.76、1.0 mL/min),更换不同品牌色谱柱[SHIMADZU SH-Rtx-Wax(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)、Agela DA-INNOWAX(30 m × 0.53 mm × 1 μm)]进行方法耐用性试验,结果显示内标峰及各成分峰的分离度均大于 3.0,表明方法耐用性较好。

3 样品含量测定

取企业 A、企业 B、企业 C 的样品制备供试品溶液,并按照“2.1”项下色谱条件检测,并记录色谱图,按内标法以峰面积计算。企业 A 和企业 C 执行的法定标准中未对樟脑含量做出规定,结合检测结果来看存在生产过程中樟脑的投料量偏高现象,结果见表 3。

表3 样品含量测定结果表(mg/g, n = 3)
Tab. 3 Result of sample determination (mg/g, n = 3)

生产企业	批号	樟脑含量	薄荷脑含量	水杨酸甲酯含量
企业 A	2019090497	56.1	26.9	18.5
企业 B	1907080101	40.4	30.3	18.9
企业 C	19070831	62.5	27.6	16.4

4 讨论

4.1 方法建立的意义

该品种各企业处方量相同,但执行标准不统一。经国家局网站查询该品种共 8 个生产企业。其中有两家企业执行《国家食品药品监督管理局国家药品标准》化学药品地方标准上升国家药品标准第一册(Ws-10001-(Hd-0041)-2002),另外有 6 家企业执行各自的注册标准^[8,9]。现行法定标准仅对薄荷脑和水杨酸甲酯的含量进行控制,未对其他主

药成分进行控制;各企业标准虽对各成分进行了控制,但是提取方式、色谱条件各不相同,既不利于客观公正地评价该品种内在质量情况,也不利于药品安全监管和企业之间的公平竞争,因此有必要制订一个统一的含量测定方法,为药品生产、提高药品质量、保证用药安全提供技术支撑^[10]。

4.2 提取方法的制定

4.2.1 提取溶剂的选择 相关试验分别考查了乙酸乙酯和无水乙醇作为提取溶剂溶解样品。结果显示,乙酸乙酯沸点较低,室温容易挥发,易造成因溶剂变少而供试品浓度不准确,重复性不好^[11,12]。无水乙醇不仅对样品的溶解性较好,提取效率高,且较乙酸乙酯毒性低,因此选择无水乙醇作为提取溶剂。

4.2.2 提取时间的选择 分别对超声提取时间 10、15 min、20 min 进行了考察,结果显示超声 10 min 提取效率最低,超声 15 min 和 20 min 无明显差异,考虑节约分析时间,选择超声 15 min 进行提取。

4.2.3 超声温度的选择 由于乳膏剂基质复杂,各企业使用的辅料种类及比例不同,在样品测定过程中发现,个别企业的样品在室温下振摇或者超声均无法使膏体分散均匀,导致样品提取不完全,测定结果不平行。因此将超声提取温度提升至 30 ℃,提取后放至室温进行测定,试验结果表明该条件下方法回收率及重复性均较好^[13]。

4.3 结论

本研究所建立的含量测定方法操作简单、科学合理、结果准确、可靠,可作为复方樟脑乳膏的质量控制方法。

参考文献

- [1]林利虹,杨松.复方樟脑乳膏治疗虫咬皮炎的疗效观察[J].内蒙古中医药,2011,30(23):10-12
- [2]杜军兴,荀军锋,安翠翠,等.除湿胃苓汤联合灸法及复方樟脑乳膏治疗湿疹临床观察[J].现代中西医结合杂志,2021,30(3):273-277
- [3]刘随,高琳,刘斌,等.复方樟脑乳膏治疗局限性神经性皮炎疗效观察[J].药物流行病学杂志,2016,25(12):755-756+781
- [4]薛伟杰,郭晨晖.玫瑰糠疹治疗效果分析[J].中国社区医师,2014,30(3):81+84
- [5]陈克云.复方樟脑乳膏联合依巴斯汀治疗儿童丘疹性荨麻疹的临床研究[J].现代药物与临床,2021,36(8):1698-1701
- [6]范书娟,花传政,姚龙凤,等.气相色谱法同时测定复方樟脑乳膏中 4 种成分含量[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(91):181+183
- [7]国家药品监督管理局《国家药品标准》化学药品标准上升国家标准第一册[S].2002:176
- [8]ChP 2020. Vol II (中国药典 2020 年版.二部) [S].2020:1790-1791

(下转第 242 页)

- [22]孔燕. 复方三七胶囊抗心肌缺血药理学研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005
- [23]赖潇筱. 基于功效的降香及其替代药材对气滞血瘀证心肌缺血大鼠的药效比较研究[D]. 江西: 江西中医药大学, 2021
- [24]冷建春. 人参山楂饮治疗急性心肌梗死62例的临床观察小结及人参山楂饮对大鼠急性心肌缺血一再灌注损伤模型影响的实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006
- [25]吴谕锋, 朱泽宇, 陈靖南, 等. 冰片药理作用及冰片酯的研究进展[J]. 药学研究, 2020, 39(4): 217-224
- [26]中国药典委员会. 中国药典, I部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 906
- [27]刘胤敏, 吴红兵, 周银, 等. 复方丹参滴丸对心肌缺血大鼠心肌酶学与心肌组织学的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(12): 2878-2880

(上接第 229 页)

- [15]Youngberg MR, Karpov IO, Begley A, et al. Clinical and physiological correlates of caffeine and caffeine metabolites in primary insomnia[J]. J Clin Sleep Med, 2011, 7(2): 196-203
- [16]Mysliwiec V, Gill J, Lee H, et al. Sleep disorders in US military personnel: a high rate of comorbid insomnia and obstructive sleep apnea[J]. Chest, 2013, 144(2): 549-557
- [17]Troxel WM, Shih RA, Pedersen ER, et al. Sleep in the military: promoting healthy sleep among US servicemembers[J]. Rand Health Q, 2015, 5(2): 19-20
- [18]Persad LA. Energy drinks and the neurophysiological impact of caffeine[J]. Front Neurosci, 2011, 5(2): 116-117
- [19]Chaudhary NS, Taylor BV, Grandner MA, et al. The effects of caffeinated products on sleep and functioning in the military population: a focused review[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2021, 20(6): e173206
- [20]McLean CP, Zandberg L, Roache JD, et al. Caffeine use in military personnel with PTSD: prevalence and impact on sleep[J]. Behav Sleep Med, 2019, 17(2): 202-212
- [21]Lieberman HR, Stavinoha T, McGraw S, et al. Caffeine use among active duty US army soldiers[J]. J Acad Nutr Diet, 2012, 112(6): 902-912+912
- [22]Ngueta G. Caffeine and caffeine metabolites in relation to hypertension in US adults[J]. Eur J Clin Nutr, 2020, 74(1): 77-86
- [23]Thorn CF, Aklillu E, McDonagh EM, et al. PharmGKB summary: caffeine pathway[J]. Pharmacogenet Genomics, 2012, 22(5): 389-395
- [24]Wu SE, Chen WL. Exploring the association between urine caffeine metabolites and urine flow rate: a cross-sectional study[J]. Nutrients, 2020, 12(9): 22-23

(上接第 233 页)

- [13]刘树, 汪道峰, 方翼, 等. 食管癌三野淋巴结清扫术后肺部感染的危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(11): 3-5
- [14]Ben DK, Sarosi GA, Cendan JC, et al. Decreasing morbidity and mortality in 100 consecutive minimally invasive esophagectomies[J]. Surg Endosc, 2012, 26(1): 162-167
- [15]Safranek PM, Cubitt J, Booth MI, et al. Review of open and minimal access approaches to oesophagectomy for cancer[J]. Br J Surg, 2010, 97(12): 1845-1853
- [16]Takeuchi H, Miyata H, Ozawa S, et al. Comparison of short-term outcomes between open and minimally invasive esophagectomy for esophageal cancer using a nationwide database in japan[J]. Ann Surg Oncol, 2017, 24(7): 1821-1827
- [17]Ng T, Ryder BA, Maziak DE, et al. Treatment of postpneumectomy empyema with debridement followed by continuous antibiotic irrigation[J]. J Am Coll Surg, 2008, 206(3): 1178-1183
- [18]Hamedani H, Kadlecck S, Xin Y, et al. A hybrid multibreath wash-in wash-out lung function quantification scheme in human subjects using hyperpolarized 3 he MRI for simultaneous assessment of specific ventilation, alveolar oxygen tension, oxygen uptake, and air trapping[J]. Magn Reson Med, 2017, 78(2): 611-624
- [19]刘朝晖, 刘俊灵, 樊雄辉. 探讨纤维支气管镜肺泡灌洗对肺癌合并呼吸机相关性肺炎患者血气指标及炎症因子的影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, (S1): 2-9
- [20]刘勇恩, 寇瑛琳. 食管癌术后肺部并发症发生的原因及防治进展[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2008, 15(2): 5-7
- [21]王广发, 黄珺君, 章巍. 成人诊断性可弯曲支气管镜检查术应用指南(2019年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 22(8): 573-590

(上接第 237 页)

- [9]ChP 2020. Vol I (中国药典2020年版.一部) [S]. 2020: 438
- [10]田志杰. 气相色谱法同时测定复方樟脑乳膏中4种成分含量[J]. 中国药品标准, 2018, 19(2): 141-145
- [11]乔静, 李洪亮. 气相色谱法测定复方樟脑乳膏中樟脑和薄荷脑的含量[J]. 河北医药, 2015, 37(21): 3327-3328
- [12]宋敏, 杨思贤. GC法同时测定复方樟脑乳膏中4个主要成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(6): 1120-1124
- [13]刘朋, 聂红梅, 熊维政, 等. 复方樟脑乳膏含量测定方法研究[J]. 中医学报, 2014, 29(1): 71-75