

不同的成型工艺对关节止痛膏中挥发性成分的影响

储益平 居玲玲 高志芬 杨保新

(常州市盛辉药业有限公司, 213002)

关键词 关节止痛膏; 气相色谱

关节止痛膏是由辣椒流浸膏、颠茄流浸膏、薄荷素油、水杨酸甲酯、樟脑、盐酸苯海拉明等成分组成的中西药复方外用橡胶膏剂, 对局部血管有扩张作用, 具有活血散瘀、温经镇痛的作用, 用于寒湿瘀阻经络所致风湿关节痛或关节扭伤, 收载于 2010 年版《中国药典》中药成方制剂中。樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯等成分不仅能够促进有效成分的渗透吸收, 而且自身也有一定的活血镇痛作用, 对于提高橡胶膏剂的贴敷舒适性也有不错的效果。本公司采用气相色谱法, 测定其中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量, 该法灵敏度高, 专属性好, 操作简便, 重复性好, 结果理想, 可作为本品的质量控制方法, 探讨了不同成型工艺对橡胶膏剂中挥发性成分的保留情况。

1 仪器与试剂

FA2004 十万分之一电子天平(梅特勒公司); Agilent 6820 气相色谱仪(美国安捷伦公司); FID 检测器。薄荷脑对照品(批号: 110728-200506), 水杨酸甲酯对照品(批号: 110707-200710), 樟脑对照品(批号: 110747-201008), 萘(批号: 110673-200803), 均购于中国药品生物制品检定所; 乙酸乙酯(南京化学试剂有限公司), 分析纯。关节止痛膏样品、阴性样品由本公司自制。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备 1) 对照品储备液的制备: 称取樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯适量, 精密称定。分别加乙酸乙酯制成每 1mL 各含 18.05mg、2.06mg、9.704mg 的混合溶液, 即得。2) 内标溶液的配制: 精密称取萘适量, 加乙酸乙酯溶解配制成每 1mL 含 11.10mg 萘的溶液。3) 供试品溶液的制备: 取橡胶膏 1 片, 除去盖衬, 称重后剪成适当尺寸的块状, 置于 250mL 圆底烧瓶中, 加水 100mL, 照挥发油测定法甲法, 自测定器上端加水至充满刻度部分, 并溢流入烧瓶为止, 再加甲苯 2mL, 加热回流提取 3h, 放冷, 取甲苯液, 加乙酸乙酯 3mL 稀释, 置铺有无水硫酸钠的滤纸滤过, 滤液置

50mL 量瓶中, 以适量乙酸乙酯分次洗涤容器及滤器, 洗涤液并入同一量瓶中, 精密加入内标溶液 5mL, 加乙酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 即制得供试品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱条件^[1]: 以聚乙二醇 20000(PEG-20M) 为固定相(0.32mm × 30m × 0.25μm) 的毛细管柱; 进样口温度: 200℃; 分流比为 10:1; 柱温为 140℃, 载气为氮气, 检测器温度: 250℃。

照上述色谱条件测定, 比较了樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯对照品溶液及供试品溶液及缺樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的阴性样品液的色谱图。结果表明, 在此色谱条件下, 樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的色谱峰与其他组分色谱峰均能达到基线分离, 阴性样品中色谱峰对测定无干扰, 且在未加内标的样品色谱中, 在内标相应位置未见色谱峰。

2.3 校正因子测定 分别精密吸取樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯对照品储备液制成适当浓度溶液, 加入内标溶液 1μL, 注入气相色谱仪中, 计算樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯校正因子。

2.4 线性关系的考察 精密吸取对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5mL, 置 10mL 量瓶中, 分别精密加入萘内标溶液(11.10mg/mL) 1mL, 加入乙酸乙酯稀释至刻度, 摇匀。分别取 1μL 注入气相色谱仪中, 以对照品浓度为横坐标(X), 对照品峰面积与内标峰面积比为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 计算得樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的回归方程, 分别为: $Y = 0.7401X + 0.0107, r = 0.9999 (n = 5)$; $Y = 0.6354X + 0.0011, r = 0.9999 (n = 5)$; $Y = 0.3072X + 0.0024, r = 0.9999 (n = 5)$ 。结果见表 1-3, 图 1-3。由表 1 可见樟脑在 0.903 ~ 4.513mg/mL 范围内有良好的线性关系。由表 2 可见薄荷脑在 0.103 ~ 0.515mg/mL 范围内有良好的线性关系。由表 3 可见薄荷脑在 0.485 ~ 2.426mg/mL 范围内有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取对照品溶液, 按上述色谱条件, 连续进样 6 次, 进行测定, 分别计算樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯与内标峰面积的比值, RSD(n = 6) 分别为 1.71%、1.47% 和 1.66%。结果表明仪器精密度良好。

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2008BA153B071)

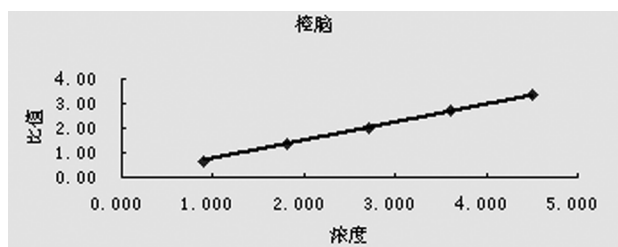


图1 樟脑的标准曲线(n = 5)

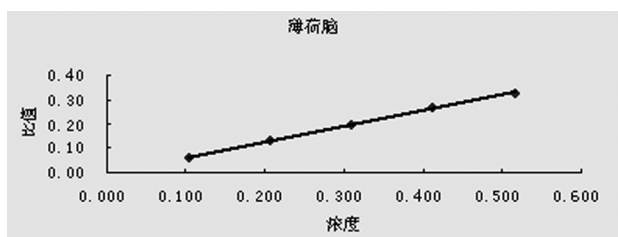


图2 薄荷脑的标准曲线(n = 5)

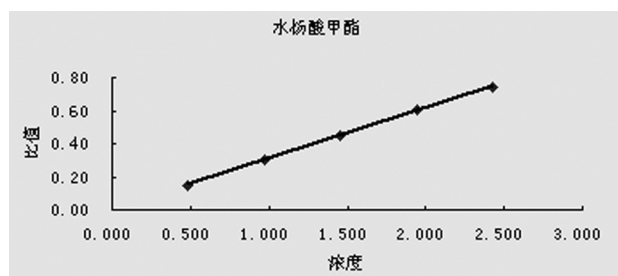


图3 水杨酸甲酯的标准曲线(n = 5)

表1 樟脑的标准曲线(n = 5)

序号	对照品浓度	对照品峰面积	内标峰面积	对照品峰面积与内标峰面积
1	0.903	2636.80	3910.50	0.67
2	1.805	5270.68	3915.24	1.35
3	2.708	7907.48	3927.24	2.01
4	3.611	10544.28	3897.07	2.71
5	4.513	13178.16	3952.14	3.33

表2 薄荷脑的标准曲线(n = 5)

序号	对照品浓度	对照品峰面积	内标峰面积	对照品峰面积与内标峰面积
1	0.103	258.22	3910.50	0.07
2	0.206	516.43	3915.24	0.13
3	0.309	774.65	3927.24	0.20
4	0.412	1032.86	3897.07	0.27
5	0.515	1291.08	3952.14	0.33

表3 水杨酸甲酯的标准曲线(n = 5)

序号	对照品浓度	对照品峰面积	内标峰面积	对照品峰面积与内标峰面积
1	0.485	587.90	3910.50	0.15
2	0.970	1175.81	3915.24	0.30
3	1.456	1764.92	3927.24	0.45
4	1.941	2352.82	3897.07	0.60
5	2.426	2940.73	3952.14	0.74

表4 樟脑的精密度结果(n = 6)

序号	对照品峰面积	内标峰面积	对照品峰面积与内标峰面积	RSD (%)
1	10737.01	3973.50	2.70	1.71
2	10503.40	3983.51	2.64	
3	10874.25	3972.42	2.74	
4	10602.68	3901.21	2.72	
5	10415.80	3967.79	2.63	
6	10631.88	3998.25	2.66	

表5 薄荷脑的精密度结果(n = 6)

序号	对照品峰面积	内标峰面积	对照品峰面积与内标峰面积	RSD (%)
1	1032.48	3973.50	0.260	1.47
2	1039.27	3983.51	0.261	
3	1051.21	3972.42	0.265	
4	1056.43	3901.21	0.271	
5	1047.30	3967.79	0.264	
6	1061.24	3998.25	0.265	

表6 水杨酸甲酯的精密度结果(n = 6)

序号	对照品峰面积	内标峰面积	对照品峰面积与内标峰面积	RSD (%)
1	2359.43	3973.50	0.594	1.66
2	2361.49	3983.51	0.593	
3	2387.01	3972.42	0.601	
4	2366.11	3901.21	0.607	
5	2391.26	3967.79	0.603	
6	2314.20	3998.25	0.579	

2.6 稳定性试验 取同一样品的供试品溶液,精密吸取 1 μ L,每间隔一定时间(0、2、4、8、12、24h)进行测定,分别计算樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量,RSD(n = 6)分别为 0.86%、1.61%和 2.50%。结果表明供试品溶液在 24h 内基本稳定。

表7 樟脑的稳定性结果(n = 6)

序号	样品面积	校正因子	内标峰面积	浓度	RSD(%)
1	10157.52	1.206	3973.50	3.42	0.86
2	9919.20	1.206	3814.28	3.48	
3	10003.66	1.206	3891.74	3.44	
4	10196.24	1.206	3914.22	3.49	
5	10103.17	1.206	3867.11	3.50	
6	10062.81	1.206	3867.23	3.48	

表8 薄荷脑的稳定性结果(n = 6)

序号	样品面积	校正因子	内标峰面积	浓度	RSD(%)
1	704.19	1.39	3973.50	0.273	1.61
2	700.13	1.39	3814.28	0.283	
3	699.52	1.39	3891.74	0.277	
4	689.55	1.39	3914.22	0.272	
5	696.99	1.39	3867.11	0.278	
6	683.49	1.39	3867.23	0.273	

表 9 水杨酸甲酯的稳定性结果(n = 6)

序号	样品面积	校正因子	内标峰面积	浓度	RSD(%)
1	1653. 19	2. 953	3973. 50	1. 36	2. 50
2	1696. 13	2. 953	3814. 28	1. 46	
3	1656. 44	2. 953	3891. 74	1. 40	
4	1661. 28	2. 953	3914. 22	1. 39	
5	1670. 98	2. 953	3867. 11	1. 42	
6	1611. 86	2. 953	3867. 23	1. 37	

2.7 重复性试验 取同一样品 5 份,按上述色谱条件进行测定,结果显示樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量(n = 5)RSD 分别为 1. 19%、2. 06% 和 1. 41%。

表 10 樟脑的重复性结果(n = 5)

序号	样品面积	校正因子	内标峰面积	浓度	RSD(%)
1	9661. 08	1. 206	3721. 56	3. 48	1. 19
2	9725. 33	1. 206	3743. 20	3. 48	
3	9655. 24	1. 206	3693. 12	3. 50	
4	9596. 84	1. 206	3599. 74	3. 57	
5	9850. 89	1. 206	3803. 36	3. 47	

表 11 薄荷脑的重复性结果(n = 5)

序号	样品面积	校正因子	内标峰面积	浓度	RSD(%)
1	656. 99	1. 39	3721. 56	0. 27	2. 06
2	644. 44	1. 39	3743. 20	0. 27	
3	672. 00	1. 39	3693. 12	0. 28	
4	631. 92	1. 39	3599. 74	0. 27	
5	679. 47	1. 39	3803. 36	0. 28	

表 12 水杨酸甲酯的重复性结果(n = 5)

序号	样品面积	校正因子	内标峰面积	浓度	RSD(%)
1	1539. 24	2. 95	3721. 56	1. 36	1. 41
2	1580. 25	2. 95	3743. 20	1. 38	
3	1513. 01	2. 95	3693. 12	1. 34	
4	1523. 15	2. 95	3599. 74	1. 39	
5	1573. 71	2. 95	3803. 36	1. 36	

表 13 樟脑加样回收率试验结果(n = 6)

序号	实测值 (mg)	加入量 (mg)	样品量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	154. 59	65. 59	87. 45	102. 36	100. 17	1. 64
2	154. 39	65. 59	87. 45	102. 06		
3	174. 70	87. 45	87. 45	99. 76		
4	173. 59	87. 45	87. 45	98. 50		
5	195. 52	109. 32	87. 45	98. 86		
6	196. 21	109. 32	87. 45	99. 49		

2.8 加样回收率试验 称取 6 份已知含量的同一批样品各 1 片,精密称定,分别精密加入对照品溶液适量,按供试品溶液的制备方法制备供试液,照上述色谱条件,测定含量,计算回收率。结果显示樟脑平均回收率为

100. 17%, RSD 为 1. 64%;薄荷脑平均回收率为 98. 25%, RSD 为 2. 04%;水杨酸甲酯平均回收率为 99. 90%, RSD 为 2. 04%。表明本方法具有良好的回收率。

表 14 薄荷脑加样回收率试验结果(n = 6)

序号	实测值 (mg)	加入量 (mg)	样品量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	11. 95	5. 12	6. 83	100. 05	98. 25	2. 04
2	11. 78	5. 12	6. 83	96. 81		
3	13. 71	6. 83	6. 83	100. 83		
4	13. 57	6. 83	6. 83	98. 78		
5	14. 98	8. 53	6. 83	95. 56		
6	15. 14	8. 53	6. 83	97. 46		

表 15 水杨酸甲酯加样回收率试验结果(n = 6)

序号	实测值 (mg)	加入量 (mg)	样品量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	60. 03	25. 60	34. 13	101. 17	99. 90	2. 04
2	60. 71	25. 60	34. 13	103. 81		
3	67. 59	34. 13	34. 13	98. 03		
4	68. 32	34. 13	34. 13	100. 17		
5	75. 62	42. 66	34. 13	97. 24		
6	76. 36	42. 66	34. 13	98. 99		

2.9 样品测定 取不同工艺关节止痛膏,按供试品溶液的制备方法进行处理。吸取供试品溶液 1 μ L,注入气相色谱仪中,采用内标法加校正因子测定樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量。样品含量以 mg/cm² 为单位,结果见表 16。

表 16 样品测定结果(mg/cm²)

组别	序号	樟脑	薄荷脑	水杨酸甲酯
现代工艺	1	1. 058	0. 0821	0. 411
	2	0. 992	0. 0791	0. 397
	3	0. 978	0. 0762	0. 384
传统工艺	1	0. 575	0. 0415	0. 223
	2	0. 669	0. 0448	0. 250
	3	0. 592	0. 0436	0. 219

表 17 挥发性成分的保留率

组别	樟脑(%)	薄荷脑(%)	水杨酸甲酯(%)
现代工艺	91. 60	88. 91	89. 08
传统工艺	54. 93	48. 65	51. 67

3 讨论

3.1 中药橡胶膏剂成型工艺一般分为溶剂法和热压法 2 种。而以溶剂法为多见,传统工艺在经过溶胶、搅拌后涂布于盖衬材料上,经蒸汽隧道烘箱高温烘干,隧道长度和烘干时间均很长,收卷后与背衬材料复合,再分条分切包装;而现代工艺在经过溶胶、搅拌后涂布于背衬材料上,经较低温度快速吹干,而后卷切一次完

大孔吸附树脂分离纯化胡黄连中胡黄连苷Ⅱ的工艺研究

李雪春^{1,2} 杨晓宁³ 李善茂¹

(1 防化指挥工程学院,北京市昌平区阳坊,102205; 2 中国医药研究开发中心有限公司; 3 亚宝药业集团股份有限公司)

关键词 胡黄连; 大孔吸附树脂分离纯化

胡黄连为玄参科植物胡黄连(*Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell)的干燥根茎,是一味传统中药,具有清热凉血、燥湿消痞的作用,用于小儿惊痫、疳积、泻痢、骨蒸劳热、自汗、盗汗、吐血、目疾、痔瘕、疮肿等。近年来国内外研究发现,胡黄连中环烯醚萜苷类成分具有抗乙型肝炎病毒及保肝、降酶等多种药理活性^[1]。本实验旨在优选出一种适合分离胡黄连苷Ⅱ的大孔树脂,并对优选出的大孔树脂分离胡黄连苷Ⅱ的工艺条件及参数进行研究,筛选出工艺简单、方法可靠的分离纯化工艺。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);胡黄连苷Ⅱ对照品(中国药品生物制品检定所,批号:111596-200301);胡黄连药材(云南药材公司);D101、D201、AB-8 和 NKA-9 大孔吸附树脂(南开大学化工厂);DB301 大孔吸附树脂(天津欧瑞生物科技有限公司)

2 方法与结果

2.1 胡黄连苷Ⅱ的含量测定方法 高效液相色谱法: Dikma Diamonsil C18 柱(250mm×4.6mm, 5 μ m),流动相:乙腈-水-冰醋酸(20:80:0.5),流速:1.0mL·min⁻¹,柱温:25℃,检测波长:275nm。理论板数按胡黄连苷Ⅱ峰计应不低于3000。

2.2 胡黄连提取液的制备 称取胡黄连药材粗粉1000g,每次加入70%乙醇8L热回流提取1h,提取3

次。提取液滤过、合并,减压回收乙醇后,按需要加水稀释至一定体积。

2.3 大孔树脂的预处理 将大孔树脂用95%的乙醇浸泡12h,湿法装柱,用95%的乙醇液洗脱2倍柱体积(BV),然后用水洗净乙醇,加2%的盐酸溶液浸泡、洗脱,水洗至pH值中性,加2%氢氧化钠溶液浸泡、洗脱,水洗至pH值中性,最后用95%的乙醇液洗至流出液加等量水无白色浑浊现象,再用水洗净乙醇备用。

2.4 树脂型号的筛选 取净化好的型号为NKA-9、AB-8、D201、DB301、D101型大孔吸附树脂各10g,湿法装柱。吸取相同已知胡黄连苷Ⅱ浓度的提取液各50mL,以相同流速通过树脂柱,并分别用20mL(约合1个柱体积)的水洗脱,合并相应的流出药液和水洗液,混匀,定容,备用。再分别用70%的乙醇各150mL洗脱,收集洗脱液,定容,备用。分别测定胡黄连提取液、各树脂柱流出液-水洗液样品和70%乙醇洗脱液样品中胡黄连苷Ⅱ的量,计算不同型号树脂的吸附容量和洗脱率,结果见表1。

表1 树脂型号筛选结果(n=2)

树脂型号	吸附容量/mg·g ⁻¹	洗脱率(%)
D101	65.7	97.0
D201	46.7	100.0
NKA-9	23.2	85.1
AB-8	32.4	100.0
DB301	46.2	97.7

由以上结果可以看出,以D101大孔树脂的吸附容量最大,为其他树脂型号的1.4~2.8倍,且70%乙

成;从安全、能耗、效率和效果上具有明显优势。

3.2 由表16、17可知不同生产工艺的关节止痛膏中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量差异较大,经分析原因,各成分的含量差异确实与制备工艺有关。目前国内药厂中药橡胶膏的生产工艺仍普遍采用溶剂法,在橡胶膏的生产过程中,使用蒸汽烘干,烘干温度较高(80℃),时间较长,挥发性成分易在加热挥去汽油等溶剂的环节中随汽油挥发而大大损失。但也有厂家通过优化橡胶膏剂的成型工艺技术烘干温度控制在40℃左右,时间短,从而大幅度减少了易挥发性成分损

失。通过保留大量挥发性成分,不仅能加快有效成分的渗透吸收,发挥活血镇痛作用,而且对提高橡胶膏剂的贴敷舒适性也有很好的效果。随着筛选新的辅料,优化基质处方,选用新型溶剂和工艺,一定会对中药橡胶膏剂这一传统剂型发挥新的作用,并使之更易于被患者接受。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2010:705.

(2011-02-21 收稿)◎