

风痛灵膏的制备工艺考察及其水杨酸甲酯的含量测定

张润容¹, 叶雪峰^{2*}, 高进¹, 陈海燕¹

- (1. 丽珠医药集团股份有限公司, 广东 珠海 519020;
2. 珠海宏利药业有限公司, 广东 珠海 519085)

[摘要] **目的:** 确立风痛灵膏的最佳成型工艺并建立其有效成分水杨酸甲酯的气相色谱测定法, 为该制剂的工业化生产与质量控制提供参考。**方法:** 以熔点、光泽、软硬度、细腻度为综合评价指标, 采用正交试验确定基质间(石蜡、蜂蜡、白凡士林、羊毛脂)的最佳配比。采用气相色谱法测定水杨酸甲酯含量, PEG-20M 毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm), 程序升温(初始温度 100 °C, 以 15 °C·min⁻¹ 升温至 190 °C, 保持 9 min), 分流比 50:1, 检测器温度 300 °C, 进样口温度 250 °C。**结果:** 石蜡、蜂蜡、白凡士林、羊毛脂最佳配比分别为 4%, 6%, 5%, 3%, 药液温度 65~75 °C。制备的 3 批样品均符合《中国药典》2010 年版软膏剂项下的规定。水杨酸甲酯的线性范围 0.66~13.25 g·L⁻¹, 平均加样回收率 98.94%, RSD 0.7%。**结论:** 优选的制备工艺稳定可行, 建立的含量测定方法简便、快速、准确, 可用于风痛灵膏的质量控制。

[关键词] 风痛灵膏; 制备工艺; 水杨酸甲酯; 毛细管气相色谱法; 石蜡; 蜂蜡; 羊毛脂

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0027-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130027

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160311.1036.008.html>

[网络出版时间] 2016-03-11 10:36

Investigation of Preparation Process of Fengtongling Plaster and Its Determination of Methyl Salicylate

ZHANG Run-rong¹, YE Xue-feng^{2*}, GAO Jin¹, CHEN Hai-yan¹

- (1. Livzon Pharmaceutical Group Co. Ltd., Zhuhai 519020, China;
2. Zhuhai Hongli Pharmaceutical Co. Ltd., Zhuhai 519085, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize molding process of Fengtongling plaster and develop GC for assay of methyl salicylate in this preparation. **Method:** Orthogonal test was adopted to optimize molding technology of Fengtongling plaster with melting point, gloss, hardness and smooth as indexes. The content of methyl salicylate was determined by GC, chromatographic conditions was PEG-20M column (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm), split ratio was 50:1. **Result:** The best proportion of paraffin wax, beeswax, white petrolatum and lanolin were 4%, 6%, 5% and 3%, respectively, liquid temperature was 65-75 °C. Three batches of products conformed standards of the 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia* on ointments. The linear range of methyl salicylate was 0.66-13.25 g·L⁻¹, average recovery was 98.94% with RSD of 0.7%. **Conclusion:** This optimized molding process is feasible and stable, this determination method is simple, rapid and accurate for quality control of Fengtongling plaster.

[Key words] Fengtongling plaster; preparation process; methyl salicylate; capillary GC; paraffin wax; beeswax; lanolin

[收稿日期] 20150723(015)

[第一作者] 张润容, 工程师, 从事药品质量及新药研究, Tel:0756-8113321, E-mail:zrr163@126.com

[通讯作者] * 叶雪峰, 工程师, 从事药品质量研究, Tel:0756-3865728, E-mail:yexuefeng1@126.com

风痛灵膏是在已上市产品——风痛灵搽剂的基础上,加入羊毛脂、凡士林等基质改进而得的软膏剂,为 8 类中药新药,由水杨酸甲酯、血竭、乳香、薄荷脑、没药、樟脑等组成,功效活血散瘀、消肿止痛,可用于治疗扭挫伤痛、风湿痹痛、冻疮红肿、急慢性软组织扭挫伤等^[1]。原搽剂标准只有简单的配制方法及鉴别,未涉及制备工艺的成型及含量测定指标。本实验通过考察不同基质配比及生产过程中温度控制情况确定风痛灵膏的制备工艺,建立水杨酸甲酯的含量测定方法,以严格控制产品质量,保证该制剂的疗效可靠、质量稳定。

1 材料

BBA231-3BC60A/S 型电子台秤(梅特勒-托利多), 6890 型气相色谱仪(美国安捷伦公司), AEG-120 G 型电子分析天平(日本岛津公司), BP 211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

乳香、没药、血竭药材均购于哈尔滨瑞国医药有限公司,经国家中药现代化工程技术研究中心曹晖研究员鉴定,均符合相关规定;阴性样品、风痛灵膏样品(珠海宏利药业有限公司),麝香草酚(广州百花香料股份有限公司),薄荷脑(安徽太岛薄荷集团有限公司),冰片(株洲松本林化有限公司),樟脑(广州黄埔化工厂),水杨酸甲酯、丁香罗勒油(佛山

市南海中南药化厂),石蜡、蜂蜡、白凡士林、羊毛脂(江西益普生药业有限公司),水杨酸甲酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号 11707-201112),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 风痛灵膏的制备工艺考察

2.1.1 基质的选择及用量 本品为软膏剂,软膏剂常用的基质很多,由于处方中所含原料均为油性物质,参照文献[2-4]及综合考虑药物的性质、特点及药用部位,选择油脂性基质石蜡、蜂蜡、白凡士林、羊毛脂等。由于基质的加入情况对产品的外观质量起到关键性的作用,根据《中国药典》2010 年版对软膏剂的质量要求,以熔点、光泽、软硬度、细腻度为综合评价指标,以摸索基质间的最佳配比。选择石蜡、蜂蜡、白凡士林、羊毛脂用量为考察因素,称取风痛灵提取物 9 份,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。熔点得分按《中国药典》2010 年版一部附录 VII C 熔点测定法第二法测定,分为 3 档, <44 °C 者,记为 10 分; ≥44 °C 且 <45 °C,或 >48 °C 者,记为 11 ~ 20 分; ≥45 °C 且 ≤48 °C 者,记为 21 ~ 30 分。光泽、软硬度、细腻度,均由好至差分为 3 档,好记为 35 分,一般记为 25 分,差记为 15 分。综合评分越高,质量越好。

表 1 风痛灵膏基质配比正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of matrix composition in Fengtongling plaster

| No. | A 石蜡用量 /% | B 蜂蜡用量 /% | C 白凡士林 用量/% | D 羊毛脂用量 /% | 分值/分 | | | | |
|-----|--------------|--------------|----------------|---------------|------|----|-----|-----|-----|
| | | | | | 熔点 | 光泽 | 软硬度 | 细腻度 | 总和 |
| 1 | 3 | 7 | 6 | 3 | 10 | 35 | 25 | 15 | 85 |
| 2 | 3 | 5 | 5 | 4 | 10 | 15 | 25 | 25 | 75 |
| 3 | 3 | 6 | 4 | 5 | 10 | 35 | 25 | 25 | 95 |
| 4 | 5 | 7 | 5 | 4 | 18 | 35 | 15 | 15 | 83 |
| 5 | 5 | 5 | 4 | 3 | 15 | 15 | 25 | 25 | 80 |
| 6 | 5 | 6 | 6 | 4 | 11 | 35 | 35 | 15 | 96 |
| 7 | 4 | 7 | 4 | 4 | 12 | 35 | 35 | 25 | 107 |
| 8 | 4 | 5 | 6 | 5 | 15 | 25 | 35 | 25 | 100 |
| 9 | 4 | 6 | 5 | 3 | 25 | 35 | 35 | 35 | 130 |

由直观分析可知,各因素对基质处方的影响顺序为 $A > B > D > C$ 。以极差最小的因素 C 为误差项进行方差分析,结果显示因素 A 具有极显著性差异,因素 B 具有显著性影响,因素 D 则无显著性影响。综合考虑,选择各因素水平的搭配 $A_3B_3C_2D_1$,即石蜡、蜂蜡、白凡士林、羊毛脂用量分别为 4%, 6%, 5%, 3%。

2.1.2 温度控制 在生产工艺的制备过程中,关键操作点的温度控制对产品质量有直接影响。由于石蜡是多种固形烃的混合物,熔点 50 ~ 65 °C,当石蜡加热到 100 °C 或更高时,在与氧气充分接触的条件下,容易被空气中的氧气所氧化。蜂蜡的熔点 62 ~ 67 °C,凡士林的熔点 45 ~ 60 °C,羊毛脂的熔点 36 ~ 42 °C,故在基质的加热熔融过程中,应控制其温

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

| 方差来源 | SS | MS | F | P |
|-------|---------|-------|---------|-------|
| A | 1 424.9 | 712.4 | 149.989 | <0.01 |
| B | 763.5 | 381.8 | 80.368 | <0.05 |
| C(误差) | 9.5 | 4.8 | | |
| D | 64.2 | 32.1 | 6.758 | >0.05 |

注: $F_{0.01}(2,2) = 99.0, F_{0.05}(2,2) = 19.0$ 。

度 < 90 °C 为宜。由于处方中主药大部分为挥发性较大的物质,遇热会增大其挥发,故熔融后的基质应稍放冷,但须略高于石蜡的熔点,以 65 ~ 75 °C 为宜。产品灌装时应保持良好的流动性,而该软膏剂的熔点约 45 °C,故灌装时温度应保持在 45 ~ 60 °C。

2.1.3 验证试验 每批取石蜡 400 g,蜂蜡 600 g,白凡士林 500 g,羊毛脂 300 g,加热熔融,放至 65 ~ 75 °C,加入风痛灵^[1] 8.2 kg,搅匀,趁热过滤,制成约 10.0 kg,保持温度 45 ~ 60 °C,灌装,即得。连续生产 3 批,批号分别为 20140601, 20140602, 20140603,结果表明本品的工艺稳定可行。

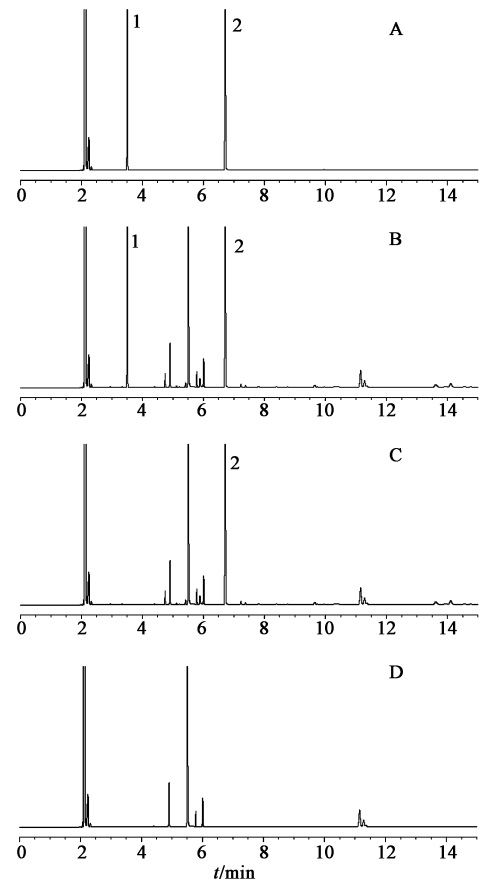
2.2 水杨酸甲酯的含量测定 水杨酸甲酯约占本品总处方量的 41%,该成分通常作为外用活血散瘀、消肿止痛药品的主要质量控制指标成分^[5-8],故选择水杨酸甲酯为指标成分,以环己酮为内标物,采用毛细管气相色谱法对风痛灵膏进行定量分析。

2.2.1 内标溶液和对照品溶液的制备 精密称取环己酮适量,加乙酸乙酯溶解并稀释至 25 g·L⁻¹ 摇匀,作为内标溶液。精密称取水杨酸甲酯对照品 100 mg,置 25 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 2 mL,用乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取本品 250 mg,置 25 mL 量瓶中,加乙酸乙酯约 15 mL,超声处理 15 min(100 W,40 kHz),放冷,精密加入内标溶液 2 mL,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,置冰浴中放置 > 2 h,取出后迅速滤过,取续滤液,摇匀,即得。

2.2.3 色谱条件 PEG-20M 毛细管柱(0.25 mm × 30 m × 0.25 μm),程序升温(初始温度 100 °C,以 15 °C·min⁻¹ 升温至 190 °C,保持 9 min),分流比 50:1。检测器温度 300 °C,进样口温度 250 °C。见图 1。

2.2.4 提取条件考察 分别称取 6 份样品(批号 20140601),超声时间分别为 10,15,20 min,其他条件同 2.2.2 项,结果水杨酸甲酯质量分数分别为 42.6%,44.2%,44.6%。为了避免因超声处理时间



A. 对照品 + 内标; B. 供试品 + 内标; C. 供试品; D. 缺水杨酸甲酯阴性样品; 1. 环己酮; 2. 水杨酸甲酯

图 1 风痛灵膏 GC

Fig.1 GC chromatograms of Fengtongling plaster

太长而导致本品挥发性成分的损失,选择超声时间 15 min。

2.2.5 线性范围的考察 精密称取水杨酸甲酯对照品适量,加乙酸乙酯溶解并制成 33 g·L⁻¹ 溶液,摇匀,作为对照品贮备液。精密吸取该贮备液 0.5, 2, 3, 4, 10 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 2 mL,加乙酸乙酯稀释至刻度,精密吸取 1 μL,按 2.2.3 项下条件测定($n = 3$),以峰面积与内标峰面积之比为纵坐标,组分质量浓度与内标物质量浓度之比为横坐标,得回归方程 $Y = 0.771X + 0.011$ ($r = 0.9998$),线性范围 0.66 ~ 13.25 g·L⁻¹。

2.2.6 精密度试验 取样品(批号 20140601)适量,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下条件连续进样 6 次,结果水杨酸甲酯峰面积的 RSD 0.5%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温放置,分别在 0,1,3,5,7,9,12 h 后按 2.2.3 项下条件测定,计算水杨酸甲酯含量的 RSD 0.2%,表明供试

品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.2.8 重复性试验 取同一批供试品,平行精密称取 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下条件测定,结果水杨酸甲酯平均质量分数 44.4%,RSD 0.5%,表明本方法重复性良好。

2.2.9 回收率试验 称取已知含量(水杨酸甲酯质量分数 44.4%)的风痛灵膏样品 9 份,每份约 125 mg,等分为 3 组,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入不同质量(40,50,60 mg)的水杨酸甲对照品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下条件测定,结果水杨酸甲酯平均回收率 98.94%,RSD 0.7%,见表 3。表明本方法具有良好的回收率,可用于风痛灵膏中水杨酸甲酯的含量测定。

表 3 风痛灵膏中水杨酸甲酯的加样回收率试验

Table 3 Recovery test of methyl salicylate in Fengtongling plaster

| 称样量 /mg | 样品中量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|------------|-------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 125.15 | 55.57 | 40.75 | 95.75 | 98.60 | | |
| 124.85 | 55.43 | 40.75 | 95.50 | 98.33 | | |
| 123.69 | 54.92 | 40.75 | 95.50 | 99.58 | | |
| 122.13 | 54.23 | 50.75 | 104.75 | 99.55 | | |
| 118.51 | 52.62 | 50.75 | 103.25 | 99.76 | 98.94 | 0.7 |
| 121.12 | 53.78 | 50.75 | 104.25 | 99.45 | | |
| 124.58 | 55.31 | 60.50 | 114.75 | 98.25 | | |
| 123.38 | 54.78 | 60.50 | 114.00 | 97.88 | | |
| 125.13 | 55.56 | 60.50 | 115.50 | 99.07 | | |

2.3 样品测定 取风痛灵膏 3 批样品(批号 20140601,20140602,20140603),按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下条件测定,结果水杨酸甲酯平均质量分数依次为 44.4%,44.6%,45.0%,RSD 依次为 0.3%,0.3%,0.6%。

3 讨论

样品前处理提取时,取消了原来传统的挥发油蒸馏提取法^[9],改用快速的超声提取后利用冰浴的方法将提取的有效成分与软膏基质进行分离,样品前处理过程操作方法简便、快速。对于水杨酸甲酯、樟脑等挥发性成分的气相色谱检测,早期基本采用填充柱^[5-6]测定,参照文献[7-15],本文采用毛细管色谱柱,并以程序升温方式,测定风痛灵膏中水杨酸甲酯的含量,方法简便、分析快速、结果准确。

水杨酸甲酯色谱峰的保留时间为 6.755 min,分别试用萘(保留时间 6.536 min)和环己酮(保留时间 3.526 min)为内标,结果发现萘出峰时间与水杨

酸甲出峰时间太接近,两者之间的分离度较差,故最终选用环己酮作为内标,其出峰在水杨酸甲酯之前,且不受其他成分峰干扰,与水杨酸甲酯分离度良好。

[参考文献]

[1] 国家药品监督管理局. 卫生部颁中药成方制剂标准. 第 9 册[S]. 1994:WS₃-B-1709-94.

[2] 华玉玲,贺祝英,张建玲,等. 中药软膏剂制备方法的研究进展[J]. 贵阳中医学院学报,2008,30(2):66-69.

[3] 陈桂红,李玉兰,王美华. 制艾软膏的制备工艺研究[J]. 中国药房,2013,24(15):1374-1376.

[4] 王显著,薛利华,郝宝玲,等. 活络止痛软膏成型性实验研究[J]. 陕西中医,2013,34(10):1410-1411.

[5] 伍乃英,叶崇义,董小平. 气相色谱法测定辛香止痛散中薄荷脑和冰片含量[J]. 中国药科大学学报,1996,27(3):169-171.

[6] 窦爱兰,钟化人,李青翠,等. 用气相色谱法测定狗骨肩痹膏中水杨酸甲酯含量[J]. 中成药,1994,16(10):13-14.

[7] 邢俊波,曹红,陈玉敏,等. 毛细管气相色谱法测定伤痛宁膏中薄荷脑和水杨酸甲酯的含量[J]. 中国中医药信息,2010,17(2):48-49.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 38-39.

[9] 莫火第,容令新,何伟蓉,等. 气相色谱法测定活络膏中薄荷脑和水杨酸甲酯的含量[J]. 中国医药导报,2010,7(18):15-17.

[10] 薛磊冰,赵佳丽,邹燕,等. 毛细管气相色谱法同时测定麝香镇痛膏中樟脑水杨酸甲酯的含量[J]. 药物分析杂志,2013,33(9):1607-1611.

[11] 钟慧敏,李彩枫. 气相色谱法测定四季油中水杨酸甲酯和薄荷脑的含量[J]. 今日药学,2013,23(9):609-611.

[12] 兰文,刘雁鸣,石笑弋. 气相色谱法测定樟酚酊中樟脑及苯酚的含量[J]. 中南药学,2013,11(12):931-933.

[13] 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,2013,19(7):77-80.

[14] 单婷婷,曹红,邢俊波,等. GC 法测定伤湿止痛膏中樟脑、冰片、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量[J]. 解放军药学报,2014,30(6):525-526,529.

[15] 聂红梅,熊维政,武惠斌. 气相色谱法同时测定消炎镇痛膏中 5 种组分含量[J]. 中医学报,2015,30(5):711-713.

[责任编辑 刘德文]