

GC 测定 5%薄荷凝胶贴膏中薄荷脑的含量

施利群¹, 徐建峰¹, 张利华¹, 朗古特¹, 臧恒昌^{2*}(1.浙江鼎泰药业股份有限公司, 浙江 桐乡 314500; 2.山东大学药学院, 济南 250012)

摘要: 目的 建立气相色谱法用于含 5%薄荷凝胶贴膏中薄荷脑的含量测定。方法 首先比较挥发油提取法和超声提取法提取样品的优劣, 其次采用 GC 测定薄荷脑含量: 以聚乙二醇 20000 为固定相的毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm), 氮气载气, 柱温为 140 °C, FID 检测器。结果 选用超声提取法提取样品更加完全。对薄荷脑凝胶贴膏检测方法的方法学考察结果显示, 精密度 RSD 为 0.4%, 重复性 RSD 为 0.67%, 平均回收率为 97.02%及其 RSD 为 0.17%, 薄荷脑浓度在 0.175~2.1 mg·mL⁻¹内线性关系良好, 回归方程为 $Y=0.802X-0.0007$ ($r=0.9999$)。用所建立的方法对 11 批样品进行含量测定, 结果均合格。结论 由于凝胶贴膏特有的交联固化过程影响, 前处理使用超声提取法比挥发油提取法更可靠、更稳定, 建立的 GC 测定凝胶贴膏中薄荷脑含量的方法可靠、稳定、重现性好, 可用于薄荷脑凝胶贴膏的质量控制。

关键词: 凝胶贴膏; 薄荷脑; 挥发油; 超声提取法; 气相色谱法

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)08-1095-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.08.014

引用本文: 施利群, 徐建峰, 张利华, 等. GC 测定 5%薄荷凝胶贴膏中薄荷脑的含量[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(8): 1095-1098.

Determination of Menthol in 5% Menthol Gel Patch by GC

SHI Liquan¹, XU Jianfeng¹, ZHANG Lihua¹, LANG Gute¹, ZANG Hengchang^{2*}(1.Zhejiang Dingtai Pharmaceutical Co., Ltd., Tongxiang 314500, China; 2.School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a GC method for the determination of menthol in 5% menthol hydrogel patch. **METHODS** Firstly, the pretreatment methods of volatile oil extraction and ultrasonic extraction were compared. Secondly, the content of menthol was determined by GC: using capillary column with polyethylene glycol 20000 as stationary phase (30 m×0.32 m, 0.25 μm); nitrogen as the carrier gas, with column temperature of 140 °C, and FID detector as the detector. **RESULTS** Sample could be well extracted by ultrasonic extraction. The methodological investigation of the detection method of menthol gel patch showed that the RSD of precision was 0.4%, the RSD of repeatability was 0.67%, the average recovery rate was 97.02% with RSD of 0.17%, the linearity was good within the menthol concentration range of 0.175–2.1 mg·mL⁻¹ and the regression equation was $Y=0.802X-0.0007$ ($r=0.9999$). Then 11 batches of the product samples were determined by the established method, and all the results were qualified. **CONCLUSION** Because of the influence of the cross-linking and solidity of hydrogel patch, the ultrasonic extraction is more reliable and stable than the volatile oil extraction in pretreatment. The established GC method is reliable, stable and reproducible for the determination of menthol in hydrogel patch. It can be used for the quality control of menthol hydrogel patch.

KEYWORDS: hydrogel patch; menthol; volatile oil; ultrasonic extraction; GC

凝胶贴膏原称为巴布膏剂, 系指原料药物与适宜的亲水性基质混匀后涂布于背衬材料上制成的贴膏剂^[1]。凝胶贴膏与橡胶贴膏对比的优势: ①与皮肤的生物相容性好, 亲水性高分子基质具有透气性、耐汗性、无致敏性以及无刺激性; ②载药量大, 尤其适合中药浸膏; ③释药性能好, 与皮肤的亲和性强, 能提高角质层的水化作用, 有利于药物透皮吸收; ④使用方便, 不污染衣物, 易洗除, 可反复粘贴; ⑤生产过程中不使用汽油

及其他有机溶剂, 避免了对环境的污染。凝胶贴膏一般由凝胶骨架、交联剂、pH 调节剂、保湿剂、增黏剂、填充剂、透皮吸收促进剂、防腐剂等组成。

薄荷脑作用于皮肤或黏膜, 有清凉止痒止痛等作用, 含 5%薄荷的凝胶贴膏可用于缓解由一般腰背痛、关节炎、损伤、瘀伤、扭伤等情况引起的肌肉和关节的轻微疼痛。中国药典 2020 年版中未收载任何凝胶贴膏产品, USP 41 也未收载以薄荷脑为活性成分的凝胶贴膏产品。为更好地控制

基金项目: “创新嘉兴·精英引领计划”领军型创新团队项目(嘉委人才(2021)2 号)

作者简介: 施利群, 女, 硕士, 主管药师 E-mail: slq@zjdingtai.com *通信作者: 臧恒昌, 男, 博士, 教授 E-mail: zanghcw@126.com

产品质量,本实验参考中国药典 2020 年版一部“关节止痛膏”项下的检测方法^[2],制定凝胶贴膏中薄荷脑的 GC 含量测定方法,并对比了挥发油提取及超声提取在 GC 测定凝胶贴膏薄荷脑含量中的适用性。

1 仪器与试剂

GC-2010 气相色谱仪(日本岛津公司); BT-125D 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; KH5200DB 数控超声波清洗仪(昆山禾创超声仪器有限公司)。

乙酸乙酯、无水乙醇、甲苯(上海润捷化学试剂有限公司,分析纯); 无水硫酸钠(西陇科学股份有限公司,含量 $\geq 99.0\%$); 薄荷脑对照品(中国药品生物制品检定所,含量为 99.6%; 批号: 170205); 萘(Aladdin Industrial Corporation, 含量为 98%; 批号: 11521023); 5%薄荷脑水凝胶贴(浙江鼎泰药业股份有限公司自制,规格为每片 8 cm \times 12 cm)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以聚乙二醇 20 000(PEG-20M)为固定相的毛细管柱(30 m \times 0.32 mm, 0.25 μ m), 氮气载气, 柱温为 140 $^{\circ}$ C, FID 检测器, 进样口温度 220 $^{\circ}$ C, 检测器温度 250 $^{\circ}$ C, 流速 1.8 mL \cdot min⁻¹。

2.2 校正因子测定

取萘适量,精密称定,加无水乙醇制成每 1 mL 含 10 mg 的溶液,作为内标溶液。

取薄荷脑对照品约 10 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1 mL,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

吸取 1 μ L 对照品溶液,注入气相色谱仪,计算校正因子。

2.3 挥发油提取法、超声提取法提取样品的比较

2.3.1 挥发油提取法 取 5%薄荷脑水凝胶贴约 100 cm², 除去盖衬,剪成约 1 cm \times 12 cm 的窄条,精密称定(M₁),置 500 mL 烧瓶中,加水 200 mL,照挥发油测定法甲法,自测定器上端加水至充满刻度部分,并溢流入烧瓶时为止,再加甲苯 2 mL 加热回流提取 2 h,放冷。取甲苯液,加乙酸乙酯 3 mL 稀释,置铺有无水硫酸钠的滤纸滤过,滤液置 50 mL 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,加乙酸乙酯稀释至刻度。精密吸取 10 mL 至 50 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 5 mL,加乙酸乙酯稀释至刻度,

摇匀,即得供试品溶液。吸取供试品溶液 1 μ L,注入气相色谱仪,测定,即得。

取出上述提取过的 5%薄荷脑水凝胶贴的膏布,加水煮,待布与膏料分离,将布取出,并用乙醇洗涤至布面不残附膏料,挥去溶剂,将布置 105 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥 30 min,移至干燥器中,冷却 30 min,精密称定(M₂),计算 M₁-M₂,即得含膏量作为样品取样量。

2.3.2 超声提取法 取 5%薄荷脑水凝胶贴 1 片(约 100 cm²),除去盖衬,剪成约 1 cm \times 12 cm 的窄条,精密称定,置 150 mL 具塞锥形瓶中,移液管精密量取无水乙醇 50 mL。将上述锥形瓶置于超声机,超声处理 60 min(预试验考察超声 45, 60, 75 min 对应的薄荷脑峰面积响应值分别为 39.34, 41.05, 39.90, 超声处理 60 min 效果最好),超声前应确保锥形瓶塞已旋紧,瓶中无水乙醇应充分浸没膏面,超声过程中每隔 15 min 适当摇晃锥形瓶,并旋紧瓶塞。超声结束后将锥形瓶放置室温后,适当置铺有无水硫酸钠的滤纸滤过,取续滤液 2 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1 mL,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。用 0.45 μ m 滤膜滤过,吸取供试品溶液 1 μ L 注入气相色谱仪,测定,按内标法以峰面积计算。

取出上述提取过后的膏布,加水煮至布与膏料分离,将布取出,并用乙醇洗涤至布面不残附膏料,挥去溶剂,将布置 105 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥 30 min,移至干燥器中,冷却 30 min,精密称定,计算,即得含膏量作为样品取样量。

2.3.3 测定结果比较 分别应用挥发油提取法及超声提取法进行前处理,用 GC 法对不同存放时间点的 5%薄荷凝胶贴膏产品进行检测,储藏条件为 15~25 $^{\circ}$ C,结果见表 1。

表 1 2 种提取方法的样品中薄荷脑含量对比

Tab. 1 Comparison of menthol content in samples by 2 extraction methods %

存放时间	挥发油提取法		超声提取法	
	样品 1(批号: ZDP19203)	样品 2(批号: ZDP19221)	样品 1(批号: ZDP19203)	样品 2(批号: ZDP19221)
0 d	105.5	101.5	105.4	104.7
2 个月	94.6	93.9	103.8	102.8
6 个月	86.8	95.0	96.0	97.6
12 个月	90.1	88.4	99.8	99.7
18 个月	77.4	84.3	104.2	103.6
24 个月	83.0	73.9	102.8	103.8

5%薄荷凝胶贴膏含薄荷脑(C₁₀H₂₀O)应为标示量的90.0%~110.0%。检测结果分析显示,用挥发油提取法做前处理,产品存放至第6个月时检测结果就出现了不合格,存放至12,18,24个月的检测结果均为不合格。而超声法做前处理,对不同存放时间点的样品直至24个月,检测结果仍然是符合质量标准要求。2种不同的前处理方法产生不同检测结果的原因是凝胶贴膏的固化是一个持续过程,凝胶贴膏的形成机制是高价金属离子与高分子聚合物的羧基结合,形成桥式结构形成具有三维网络结构的水凝胶^[3]。随着固化反应的完成,三维网络结构刚性增强,挥发油提取法因利用水蒸气蒸馏使薄荷脑从凝胶贴膏中完全提取分离出来比较困难,且在3h煮沸过程中容易爆沸导致检测失败,课题组在进行这6个时间点12份样品检测过程中因爆沸失败导致重新进行取样检测的频率是33%,尤其在存放12,18,24个月检测时爆沸失败频率是50%。而超声提取利用相似相溶原理能使薄荷脑活性成分充分溶解,提取完全,也不存在煮沸过程的爆沸现象,因此优选超声提取法用于凝胶贴膏中薄荷脑的GC含量测定。

2.4 系统适用性考察

按“2.3.2”项下方法进样测定,结果显示,薄荷脑的分离度>1.5,理论板数≥5000。均符合要求。结果见表2。

表2 系统适用性试验评价表
Tab. 2 System suitability test evaluation form

成分	保留时间/t	分离度	理论板数
萘	4.359	14.927	54 804
薄荷脑	3.099	7.379	46 198

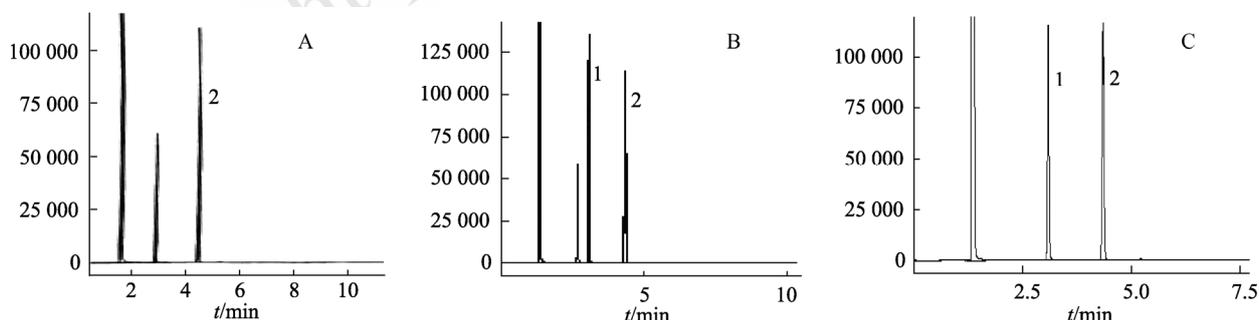


图1 气相色谱图

A-缺薄荷脑的空白供试品; B-5%薄荷凝胶贴膏样品; C-混合对照品溶液; 1-薄荷脑; 2-萘。

Fig. 1 GC chromatograms

A-blank test product lacking menthol; B-5% peppermint gel patch sample; C-mixed reference solution; 1-menthol; 2-naphthalene.

2.5 专属性试验

取缺薄荷脑的空白供试品、5%薄荷凝胶贴膏样品、对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果见图1。

2.6 仪器精密度试验

取对照品溶液1 μL,重复进样6次,以薄荷脑与内标的峰面积比计算RSD为0.4%。

2.7 重复性试验

取5%薄荷凝胶贴膏供试品(批号:ZDP20105)6份,按“2.3.2”项下方法处理,按“2.3”项下色谱条件进样测定,结果显示RSD=0.67%,说明方法的重复性良好。

2.8 稳定性试验

取“2.3.2”项下方法制备的样品溶液,分别在室温放置0,4,8,12,24h,按“2.3”项下色谱条件进样测定,测得RSD为0.58%。结果表明,制备的溶液在室温放置24h内稳定性良好。

2.9 线性关系考察

取萘适量,精密称定,加无水乙醇制成10 mg·mL⁻¹,作为内标溶液。另取薄荷脑对照品约87.5 mg,加无水乙醇溶解并稀释成25 mL,再分别精密量取0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,6.0 mL,置10 mL量瓶中,分别加内标液1 mL,再加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得浓度为0.175,0.35,0.7,1.05,1.4,2.1 mg·mL⁻¹的系列对照品溶液。各精密量取1 μL注入气相色谱仪,测定,结果见表2。以薄荷脑与内标的峰面积比为纵坐标(Y),以对照品溶液浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为Y=0.802X-0.0007,相关系数r=0.9999,表明薄荷脑浓度在0.175~2.1 mg·mL⁻¹内与内标的

峰面积比呈良好的线性关系。

2.10 加样回收率试验

取 5%薄荷水凝胶贴(已知薄荷脑含量)共 9 份, 每份 1 片(约 100 cm²), 共分 3 组; 取薄荷脑加无水乙醇制成每 1 mL 含 45 mg 的溶液, 3 组分别加 4, 5, 6 mL。分别按“2.3.2”项下方法超声提取, 滤液置 50 mL 量瓶中, 以适量无水乙醇分次洗涤容器及滤器, 洗涤液并入同一量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 精密吸取 5 mL 至 50 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 5 mL, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。吸取供试品溶液 1 μL, 注入气相色谱仪, 测定, 按内标法以峰面积计算, 结果显示平均回收率为 97.02%, RSD 为 0.17%, 结果见表 4。

表 4 回收率测定结果

Tab. 4 Results of accuracy measurement

供试品原含量/mg	加入对照品量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%
276.21	177.65	449.43	97.50	
255.89	177.62	426.22	95.90	97.21
261.07	177.70	435.61	98.22	
280.26	221.60	494.29	96.58	
271.97	221.70	488.46	97.65	96.96
280.27	221.11	494.00	96.66	
262.15	266.08	518.45	96.33	
270.47	265.74	525.43	95.94	96.90
271.02	266.28	533.12	98.43	

2.11 样品测定

取 5%薄荷凝胶贴膏 11 批, 按“2.3.2”项下方法处理, 测定含量, 结果见表 5。

表 5 样品含量测定结果

Tab. 5 Results of sample determination

样品批次	薄荷脑(标示量的百分比)/%	RSD/%
20170-1	102.11	1.64
20170-2	101.26	1.71
20170-3	102.73	0.02
ZDP22188	103.76	0.40
ZDP22189	102.12	0.49
ZDP22190	103.60	0.09
ZDP22191	101.65	0.17
ZDP22192	105.47	0.79
ZDP22193	100.81	0.32
ZDP22194	105.66	0.11
ZDP22195	103.91	0.41

3 小结

本实验结果表明, 应用超声提取 GC 测定凝胶贴膏中薄荷脑的含量方法可行, 精密度、重复性、回收率、线性等均良好, 可为标准的制定提供参考。建议适当的时候在药典及有关标准中增加采用气相色谱法测定凝胶贴膏中薄荷脑的含量, 以提高质量水平。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 四部[S]. 2020: 22.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2020: 920-921.
- [3] SHI X Y, LIU M J, YIN Z N. Influence of curing time on Lidocaine hydrogel patch[J]. West China J Pharm Sci(华西药科学杂志), 2017, 32(5): 482-484.

收稿日期: 2022-02-25

(本文责编: 蔡珊珊)