

# HPLC法测定地蒽酚水溶蜡棒的含量<sup>Δ</sup>

闫军<sup>1\*</sup>,刘燕<sup>2</sup>,张清<sup>2</sup>,李伟<sup>2</sup>,李柳<sup>2</sup>,王海钠<sup>2</sup>(1.济南市皮肤病防治院,济南 250001;2.山东大学药学院,济南 250012)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3519-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.23

**摘要** 目的:建立测定地蒽酚水溶蜡棒含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub>,流动相为乙腈-水(60:40),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 288 nm,进样量为 20 μl,柱温为 25 ℃。结果:地蒽酚检测质量浓度线性范围为 59.64~139.16 μg/ml( $r=0.9998$ ),平均回收率为 99.91%,RSD=0.57%( $n=9$ )。结论:建立的含量测定方法灵敏度高、结果准确、重复性好,可用于地蒽酚水溶蜡棒的含量测定。

**关键词** 地蒽酚水溶蜡棒;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of Dithranol Water-soluble Wax Sticks by HPLC

YAN Jun<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>2</sup>, ZHANG Qing<sup>2</sup>, LI Wei<sup>2</sup>, LI Liu<sup>2</sup>, WANG Hai-na<sup>2</sup>(1.Jinan Hospital for Skin Diseases Prevention and Treatment, Jinan 250001, China;2.School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of Dithranol water-soluble wax sticks. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (60:40) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 288 nm and the column temperature was set at 25 ℃. The sample size was 20 μl. RESULTS: The linear range of dithranol was 59.64-139.16 μg/ml ( $r=0.9998$ ) with an average recovery of 99.91% (RSD=0.57%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is sensitive, accurate and reproducible, and it is applicable for content determination of Dithranol water-soluble wax sticks.

**KEY WORDS** Dithranol water-soluble wax sticks; HPLC; Content determination

地蒽酚(又称蒽林,二羟蒽酚)为治疗慢性斑块型银屑病的药物,但由于其具有皮肤刺激性等副作用,临床曾采用了短期接触疗法及递增浓度疗法等给药方法以减轻其副作用<sup>[1-2]</sup>。尽管如此,目前地蒽酚临床并未得到广泛应用,笔者认为可能与该药市售产品只有软膏剂<sup>[3]</sup>,而这种制剂应用不够方便、易污染衣物、不易洗除有关。为此,笔者研制了地蒽酚水溶蜡棒<sup>[4-5]</sup>,并采用高效液相色谱(HPLC)法测定蜡棒中地蒽酚的含量。与紫外分光光度法测定地蒽酚含量的方法比较,本法具有定量准确等优点。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括双泵、自动进样器、二极管阵列检测器(DAD)(美国Agilent公司);DT-100型单盘分析天平(瑞士Mettler Toledo公司)。

### 1.2 药品与试剂

地蒽酚对照品(中国食品药品检定研究院,批号:200201,纯度:100%);地蒽酚原料药(山东方明药业股份有限公司,批号:080921,纯度:99.5%);地蒽酚水溶性蜡棒[济南市皮肤病防治院自制,以地蒽酚含量计,制备高(1.0%)、中(0.5%)、低

(0.1%)含量样品<sup>[6]</sup>];乙腈为色谱纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub>(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(60:40),流速:1.0 ml/min;检测波长:288 nm;进样量:20 μl;柱温:25 ℃。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液制备:取地蒽酚对照品约10 mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,使成约100 μg/ml的溶液,作为贮备液。精密量取贮备液1 ml置于10 ml量瓶中,加乙腈稀释至刻度,摇匀,制成约10 μg/ml的溶液。

2.2.2 供试品溶液制备:取地蒽酚含量为0.1%的蜡棒样品约1 g(约相当于地蒽酚10 mg),精密称定,避光操作,置于铝箔纸包裹的100 ml烧杯中。精密加入乙腈10 ml,于65 ℃水浴中加热融化,完全溶解后,将样品从水浴中取出,置于冰上冰浴1 h,待基质析出后,移取上清液至100 ml量瓶中;再次向冰浴析出的基质中精密加入乙腈10 ml,于65 ℃水浴加热复溶后,再冰浴1 h。反复提取3次,合并上清液至100 ml量瓶中,加乙腈稀释至刻度,摇匀,制成约10 μg/ml的溶液。

2.2.3 空白样品溶液制备:取空白基质样品约1 g,同供试品溶液制备方法制备。避光操作,置于100 ml棕色量瓶中,加入10 ml乙腈,于65 ℃水浴中加热融化,完全溶解后冰浴1 h,待基质

<sup>Δ</sup>基金项目:济南市科技发展计划资助项目(No.201010004)

\*副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0531-87934563。E-mail:yjcs1@163.com

析出后,取上清液至100 ml棕色量瓶中,反复提取3次,合并上清液,加乙腈定容至刻度,摇匀,即得。

### 2.3 系统适用性试验

取上述“2.2”项下3种溶液,进样分析。结果,各峰分离良好,空白基质不干扰主成分测定。色谱见图1。

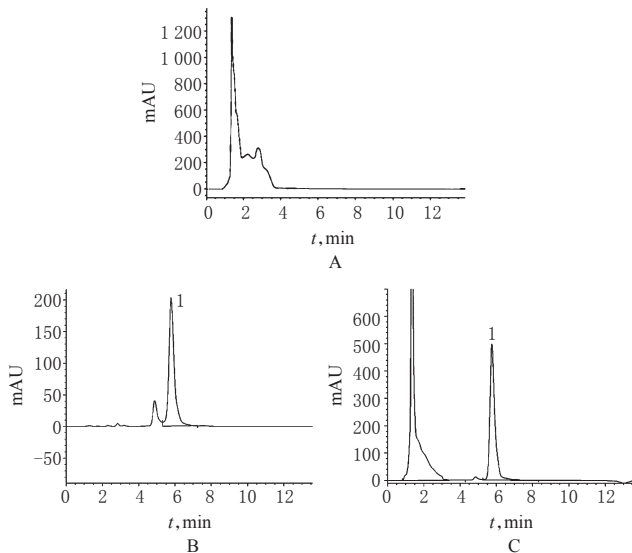


图1 高效液相色谱图

A. 空白样品; B. 对照品; C. 供试品; 1. 地萘酚

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank sample; B. substance control; C. test sample; 1. dithranol

### 2.4 检测限与定量限试验

精密称取地萘酚对照品适量,逐步稀释至信噪比为3:1及10:1时,得到地萘酚的检测限为160 ng、定量限为580 ng。

### 2.5 线性关系试验

取地萘酚对照品约50 mg,精密称定,置于50 ml棕色量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,使成约1 mg/ml的溶液,作为贮备液。分别精密量取贮备液0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml,各置于10 ml棕色量瓶中,加乙腈稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。以地萘酚质量浓度(x)对峰面积(y)进行线性回归,得回归方程: $y=115.74x-180.47$  ( $r=0.9998$ )。结果表明,地萘酚检测质量浓度线性范围为59.64~139.16  $\mu\text{g/ml}$ 。

### 2.6 重复性试验

精密称取样品(0.1%)约1 g 6份,按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液,分别测定。结果含量的RSD=0.25% ( $n=6$ ),表明该方法重复性较好。

### 2.7 稳定性试验

精密量取供试品(0.1%)溶液20  $\mu\text{l}$ ,分别放置0、1、2、4、6、8 h进样测定。结果含量的RSD=0.25% ( $n=6$ ),表明供试品溶液8 h内稳定性较好。

### 2.8 回收率试验

取空白样品约1g,精密称定9份,加入地萘酚对照品40、50、60 mg各3份,置于100 ml烧杯中,加入10 ml乙腈,避光操作,于65  $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热融化,完全溶解后冰浴1 h,待基质析出后,取上清液至100 ml量瓶中,反复提取3次,合并上清液,加

乙腈定容至刻度,摇匀,进样,测定并计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery tests( $n=9$ )

加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
39.85	40.03	100.45		
40.05	40.21	100.40		
40.25	40.32	100.17		
49.72	49.82	100.20		
49.25	48.56	98.60	99.91	0.57
50.30	50.28	99.96		
60.30	60.10	99.67		
60.24	60.30	100.10		
60.07	59.86	99.65		

### 2.9 样品含量测定

取高、中、低含量样品各1份,按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液,分别测定。结果3份样品中地萘酚的含量分别为标示量的97.56%、98.21%、98.75%,RSD分别为0.26%、0.36%、0.21%。

## 3 讨论

本试验以乙腈-水为流动相,是利用乙腈可萃取出制剂中的地萘酚特点,由此避免了使用三氯甲烷和冰醋酸等具有毒性和刺激性的溶剂。

地萘酚为黄色或淡黄棕色结晶或粉末,无臭,在三氯甲烷中溶解,在冰醋酸中微溶,在乙醇中极微溶,在水中几乎不溶,熔点为176~181  $^{\circ}\text{C}$ 。2010年版《中国药典》采用紫外-可见分光光度法在450 nm波长处测定其含量<sup>[3]</sup>,但由于本品的基质干扰,在此波长处主成分吸光度相对较低<sup>[5]</sup>,故该法不适合本品的测定。笔者建立了HPLC法测定地萘酚的含量,由于地萘酚在288 nm波长处有最大吸收,且空白基质在此处无干扰,故选288 nm为其含量测定波长。另外,由于地萘酚溶液易氧化变色,因此供试溶液的处理和保存均应避光,并尽快测试。

结果表明,本法具有灵敏度高、准确度高、重复性好等优点。

## 参考文献

- [1] Statham BN, Rowell NR. Short contact dithranol therapy: twice daily and high concentration regimes[J]. *Br J Dermatol*, 1985, 113(2):245.
- [2] Berth-Jones J, Chu AC, Dodd WA, et al. A multicentre, parallel-group comparison of calcipotriol ointment and short-contact dithranol therapy in chronic plaque psoriasis [J]. *Br J Dermatol*, 1992, 127(3):266.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:248-249.
- [4] 闫军, 王晓东, 陈声利. 一种水溶基质及其在制备地萘酚水溶性制剂中的应用: 中国, ZL201010611245.X[P]. 2012-08-08.
- [5] 张清, 李伟, 李柳, 等. 地萘酚水溶蜡棒的研制及含量测定 [J]. *今日药学*, 2012, 22(6):332.

(收稿日期:2013-02-22 修回日期:2013-03-20)