

测试报告

| 样品信息 | | | |
|------|---------------------------------------------|------|-----------------------|
| 样品名称 | 风湿骨痛片 | 编 号 | Z20220720-001 |
| 样品重量 | / | 剂 型 | / |
| 收样日期 | 2022/07/20 | 测试期间 | 2022/07/22-2022/07/28 |
| 样品描述 | / | | |
| 测试需求 | | | |
| 测试成分 | 苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、 乌头碱、次乌头碱、新乌头碱 | | |
| 参考标准 | | | |
| 参考标准 | 中国药典 2020 版 | 标样 | 有 |
| 仪器信息 | | | |
| 测试仪器 | 高效液相色谱仪 | 仪器型号 | Ultimate 3000 |

● 色谱条件:

| | | | |
|------|--------------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| 色谱柱: | 月旭 Ultimate® XB-C18(4.6×250 mm,5 μm) | | |
| 流动相 | t/min | A(乙腈:四氢呋喃 =25:15)% | B(100 mMol/L 乙酸 铵, 0.5%冰醋酸)% |
| | 0 | 18 | 82 |
| | 55 | 26 | 74 |
| | 56 | 35 | 65 |
| | 62 | 35 | 65 |
| | 64 | 18 | 82 |
| | 75 | 18 | 82 |



| | |
|-------|------------|
| 柱温: | 40 °C |
| 紫外检测器 | 235 nm |
| 流速: | 1.0 mL/min |
| 进样量: | 10 µL |

流动相的配置:

流动相 A: 量取乙腈 250 mL, 四氢呋喃 150 mL, 混匀。

流动相 B: 称取 7.7080 g 乙酸铵, 加入 1000 mL 水, 加入 0.5 mL 乙酸, 混匀抽滤。

● 溶液配置:

乌头原碱储备液: 称取乌头原碱 0.0014 g, 加入乙腈 0.7 mL, 混匀。

次乌头原碱储备液: 称取次乌头原碱 0.0011 g, 加入乙腈 0.55 mL, 混匀。

新乌头原碱储备液: 称取新乌头原碱 0.0016 g, 加入乙腈 0.8 mL, 混匀。

苯甲酰乌头原碱储备液: 称取苯甲酰乌头原碱 0.0018 g, 加入乙腈 0.9 mL, 混匀。

苯甲酰次乌头原碱储备液: 称取苯甲酰次乌头原碱 0.0008 g, 加入乙腈 1.6 mL, 混匀。

苯甲酰新乌头原碱储备液: 称取苯甲酰新乌头原碱 0.0016 g, 加入乙腈 0.8 mL, 混匀。

混合标准溶液: 分别移取苯甲酰乌头原碱 350 µL、苯甲酰次乌头原碱 400 µL、苯甲酰新乌头原碱 50 µL、乌头原碱 50 µL、次乌头原碱 50 µL、新乌头原碱 50 µL, 配制成每 1 mL 中含苯甲酰乌头原碱 700 µg、苯甲酰次乌头原碱 200 µg、苯甲酰新乌头原碱 100 µg、乌头原碱 100 µg、次乌头原碱 100 µg、新乌头原碱 100 µg 的混合溶液。

0.1 mol/L 盐酸: 移取 4.5 mL 盐酸加入至 500 mL 水中, 混匀。

氨溶液 (5→100): 移取浓氨水 5 mL 加入 95 mL 水, 混匀。

● 提取

样品: 称取风湿骨痛片粉末 1.0042 g, 加入 25 mL 0.1 mol/L 盐酸, 称定重量, 混匀, 超声 40 min, 放冷, 再称定重量, 用 0.1 mol/L 盐酸补足减失重量, 8000 r/min 离心 10 min, 移取上清液 10 mL 待过柱。

样品+标: 称取风湿骨痛片粉末 1.0035 g, 加入 500 µL 混合标准溶液, 加入 25 mL 0.1 mol/L 盐酸, 称定重量, 混匀, 超声 40 min, 放冷, 再称定重量, 用 0.1 mol/L 盐酸补足减失重量, 8000 r/min 离心 10 min, 移取上清液 10 mL 待过柱。



● 活化

Welchrom® P-SCX, 500 mg/ 3 mL 固相萃取柱, 依次用乙腈、水各 5 mL 预洗。

● 过柱

将待净化液以每秒一滴的速率过固相萃取柱。

● 淋洗

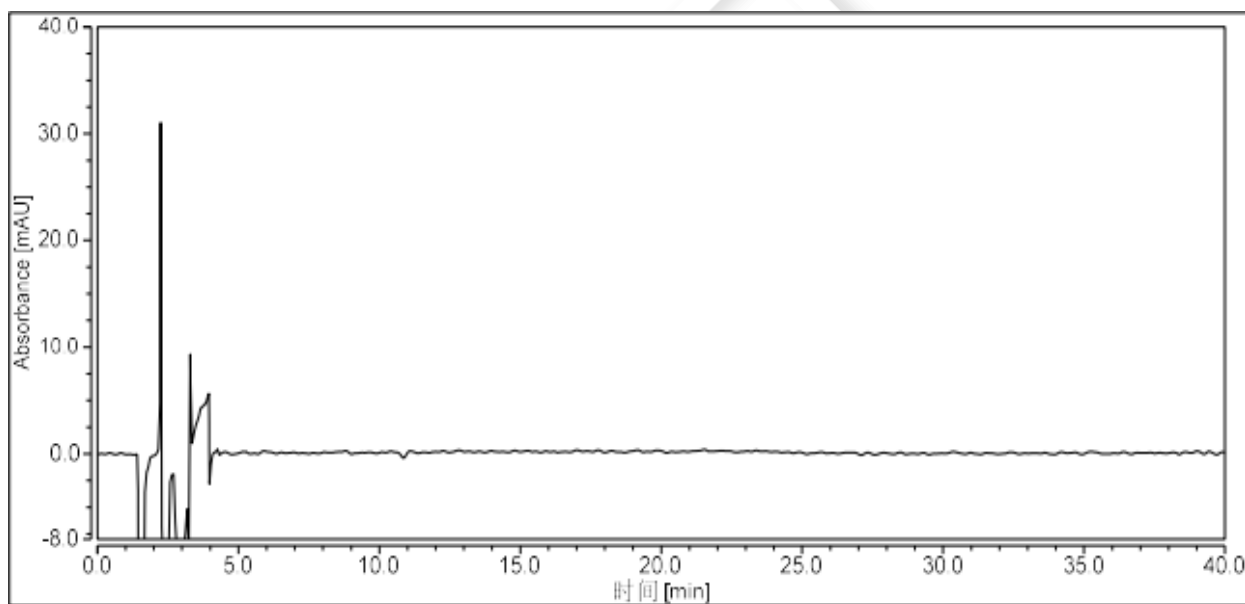
依次用水 3 mL、氨溶液（5→100）、水、甲醇、乙腈各 5 mL 淋洗。

● 洗脱

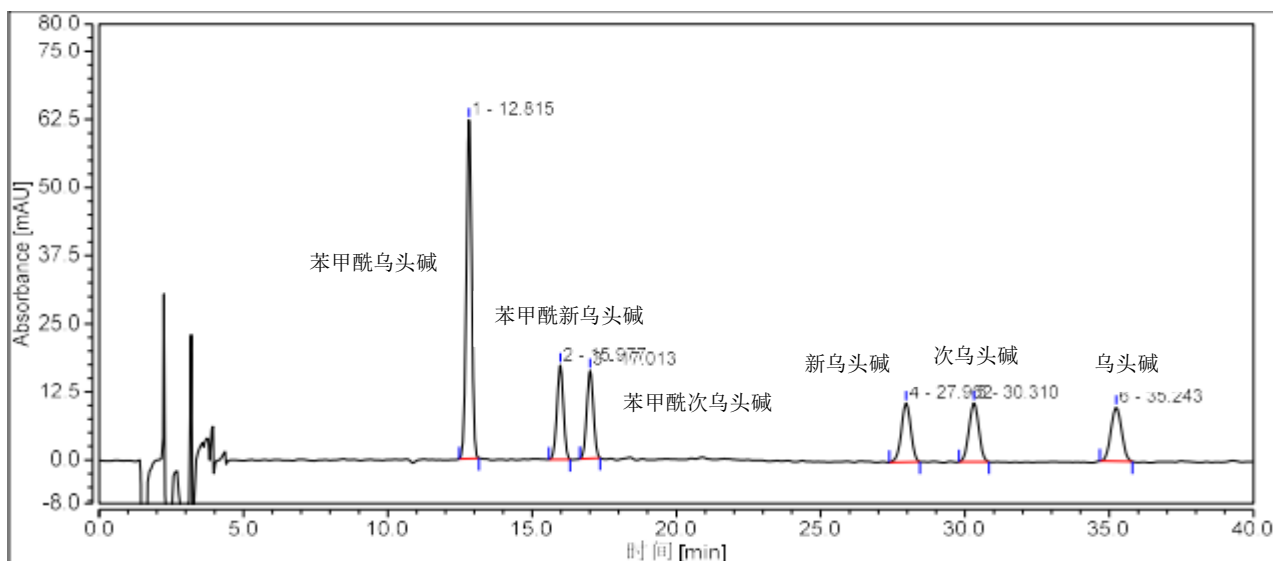
用乙腈-浓氨试液（9:1）的混合溶液 20 mL 洗脱, 收集洗脱液, 于 40℃ 下氮吹至干, 精密加入 1 mL 流动相（A:B=18:82）溶解, 过滤。

● 谱图和数据

（1）空白

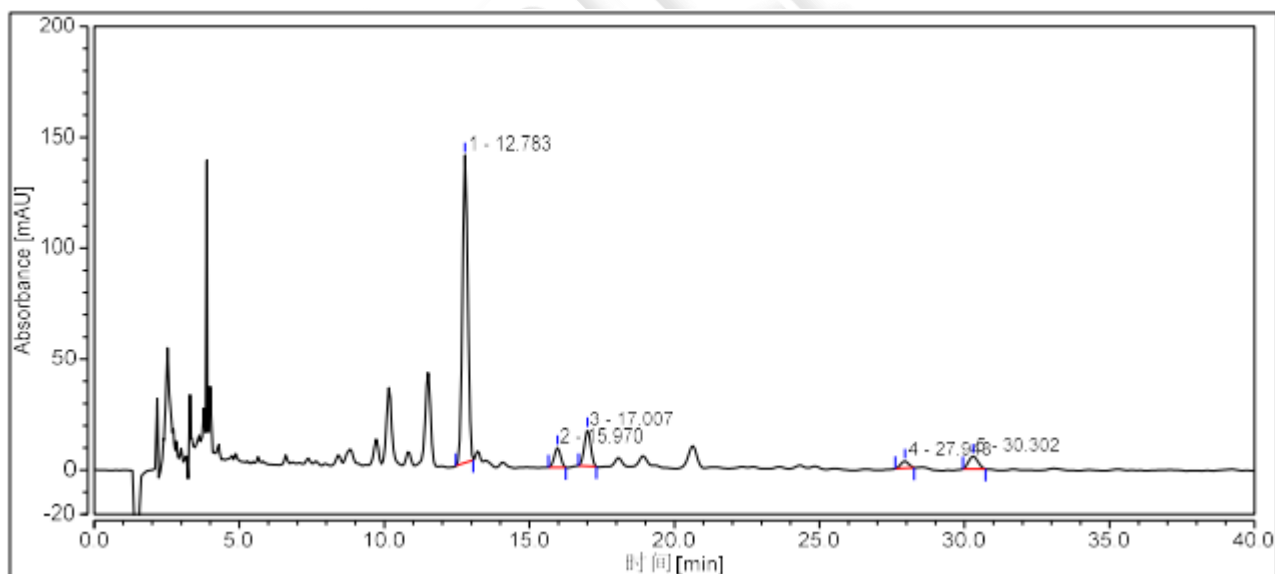


(2) 标准液



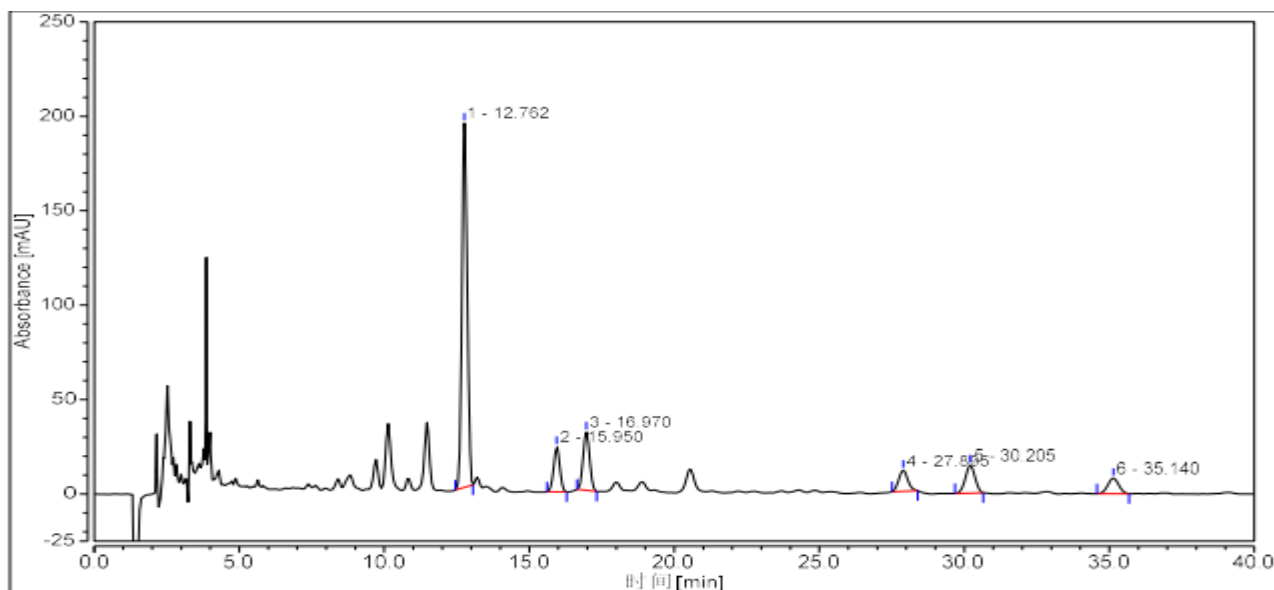
| 积分结果 | | | | | | | |
|------|-----|-------------|----------------|------------|-----------|----------|-----------|
| 序号 | 峰名称 | 保留时间 min | 峰面积 mAU*min | 相对峰面积 % | 塔板数 (EP) | 分离度 (EP) | 不对称度 (EP) |
| 1 | | 12.815 | 13.266 | 38.36 | 23011 | 8.54 | 1.00 |
| 2 | | 15.977 | 4.416 | 12.77 | 24943 | 2.52 | 0.98 |
| 3 | | 17.013 | 4.247 | 12.28 | 26183 | 21.53 | 0.99 |
| 4 | | 27.962 | 4.115 | 11.90 | 34840 | 3.84 | 0.95 |
| 5 | | 30.310 | 4.266 | 12.34 | 37245 | 7.50 | 1.00 |
| 6 | | 35.243 | 4.271 | 12.35 | 41644 | n.a. | 1.02 |
| 总和: | | | 34.580 | 100.000 | 187866.00 | 43.92 | |

(3) 样品



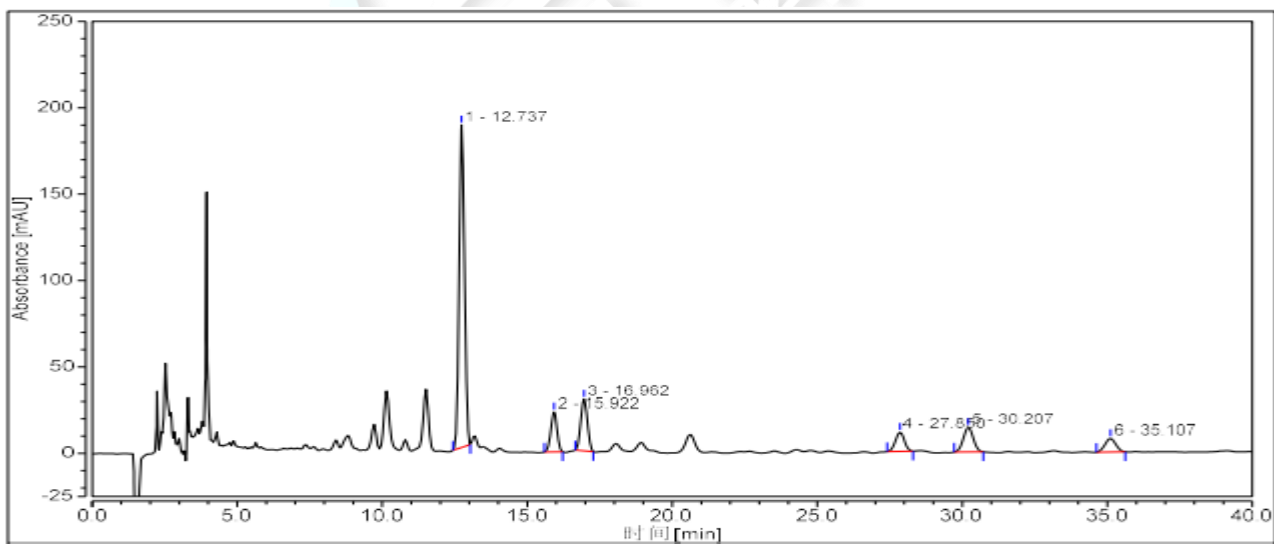
| 积分结果 | | | | | | | |
|------|-----|-------------|----------------|------------|-----------|----------|-----------|
| 序号 | 峰名称 | 保留时间 min | 峰面积 mAU*min | 相对峰面积 % | 塔板数 (EP) | 分离度 (EP) | 不对称度 (EP) |
| 1 | | 12.783 | 29.071 | 75.22 | 23370 | 8.70 | 1.04 |
| 2 | | 15.970 | 2.215 | 5.73 | 25477 | 2.53 | 0.97 |
| 3 | | 17.007 | 4.278 | 11.07 | 25892 | 23.21 | 0.99 |
| 4 | | 27.948 | 0.974 | 2.52 | 45747 | 4.19 | 0.96 |
| 5 | | 30.302 | 2.111 | 5.46 | 40329 | n.a. | 1.07 |
| 总和: | | | 38.648 | 100.000 | 160815.00 | 38.62 | |

(4) 样品加标 1



| 积分结果 | | | | | | | |
|------|-----|-------------|----------------|------------|-----------|----------|-----------|
| 序号 | 峰名称 | 保留时间 min | 峰面积 mAU*min | 相对峰面积 % | 塔板数 (EP) | 分离度 (EP) | 不对称度 (EP) |
| 1 | | 12.762 | 40.011 | 59.29 | 23847 | 8.77 | 1.10 |
| 2 | | 15.950 | 6.039 | 8.95 | 25642 | 2.51 | 0.99 |
| 3 | | 16.970 | 8.045 | 11.92 | 26607 | 22.00 | 1.02 |
| 4 | | 27.895 | 4.087 | 6.06 | 37069 | 3.86 | 1.12 |
| 5 | | 30.205 | 5.748 | 8.52 | 38008 | 7.56 | 0.98 |
| 6 | | 35.140 | 3.558 | 5.27 | 41585 | n.a. | 1.02 |
| 总和: | | | 67.487 | 100.000 | 192758.00 | 44.71 | |

(5) 样品加标 2



| 积分结果 | | | | | | | |
|------|-----|-------------|----------------|------------|-----------|----------|-----------|
| 序号 | 峰名称 | 保留时间 min | 峰面积 mAU*min | 相对峰面积 % | 塔板数 (EP) | 分离度 (EP) | 不对称度 (EP) |
| 1 | | 12.737 | 39.466 | 59.61 | 22818 | 8.63 | 1.07 |
| 2 | | 15.922 | 5.827 | 8.80 | 25011 | 2.51 | 0.97 |
| 3 | | 16.962 | 7.926 | 11.97 | 25165 | 21.76 | 1.00 |
| 4 | | 27.850 | 3.958 | 5.98 | 37458 | 3.89 | 0.99 |
| 5 | | 30.207 | 5.695 | 8.60 | 35878 | 7.42 | 1.01 |
| 6 | | 35.107 | 3.335 | 5.04 | 41905 | n.a. | 1.01 |
| 总和: | | | 66.207 | 100.000 | 188235.00 | 44.22 | |

回收率统计

| 项目 | 加标 1 | | 加标 2 | |
|----------|--------|------|--------|------|
| | 峰面积 | 回收率% | 峰面积 | 回收率% |
| 苯甲酰乌头原碱 | 40.011 | 94.5 | 39.466 | 93.2 |
| 苯甲酰新乌头原碱 | 6.039 | 91.1 | 5.827 | 87.8 |
| 苯甲酰次乌头原碱 | 8.045 | 94.3 | 7.926 | 92.9 |
| 乌头原碱 | 4.087 | 80.3 | 3.958 | 77.8 |
| 次乌头原碱 | 5.748 | 90.1 | 5.695 | 89.3 |
| 新乌头原碱 | 3.558 | 83.3 | 3.335 | 78.1 |

● 结论:

使用月旭 Welchrom® P-SCX, 500 mg/ 3 mL 固相萃取柱能够净化风湿骨痛片中苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱, 回收率符合要求。

日期: 2022/07/29

