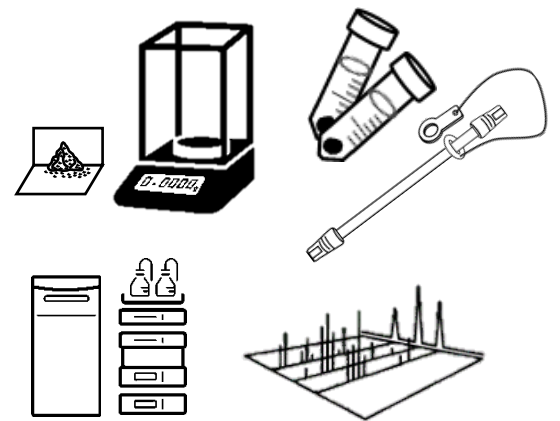




GCMTI RD-1: 2025

利用高效液相色譜/超高效液相色譜
二極管陣列技術
檢測中藥複方顆粒中芍藥苷的含量

政府中藥檢測中心方法



-空白頁-



利用高效液相色譜/超高效液相色譜二極管陣列技術 檢測複方中藥顆粒中芍藥苷的含量¹

安全預防措施：本文中涉及致癌化學品、腐蝕性化學品和可燃溶劑，處理有關化學品時請採取預防措施，如戴上護眼及護手用具，並在有需要時在抽氣櫃進行檢測工作，以免吸入該等化學品氣體。

1. 引言

- 1.1. 複方中藥顆粒是香港其中一種中成藥，並以不同處方銷售。這些處方多數是根據古代中醫藥文獻制定。一般而言，其生產過程是將一系列中藥粉碎、煎煮、濾過和濃縮後，製成為水溶性粉末。
- 1.2. 本方法包含高效液相色譜二極管陣列 (HPLC-DAD) 技術或超高效液相色譜二極管陣列 (UPLC-DAD) 技術，可用於分析以白芍為君、臣藥或主要成分的十二種處方。以下將詳細列出處方列表及所採用的技術。

項目	處方	古代中醫藥文獻	技術
1.	真武湯	傷寒論	HPLC-DAD
2.	麻子仁丸	傷寒論	HPLC-DAD
3.	固經丸	丹溪心法	HPLC-DAD
4.	桂枝加龍骨牡蠣湯	金匱要略	HPLC-DAD
5.	痛瀉藥方	丹溪心法	UPLC-DAD
6.	獨活寄生湯	備急千金要方	UPLC-DAD
7.	十全大補湯	太平惠民和劑局方	HPLC-DAD
8.	荊芥連翹湯	沈氏尊生方	UPLC-DAD
9.	人參養榮湯	三因極一病證方論	HPLC-DAD
10.	當歸芍藥散	金匱要略	HPLC-DAD
11.	黃芪建中湯	金匱要略	HPLC-DAD
12.	聖愈湯	醫宗金鑒	HPLC-DAD

- 1.3. 本方法已驗證能以 HPLC-DAD 或 UPLC-DAD 技術，對十二種含芍藥苷的處方進行定性及定量的檢測。其驗證的工作範圍均為溶液中的 2–50 µg/mL，相當於原樣本中的 200–5000 µg/g。



2. 試劑

注意：除非另有說明，否則所有使用的試劑均屬分析純級別或同等級的試劑。

2.1. 超純水，Milli Q。

2.2. 乙腈，LC-MS 級。

2.3. 甲醇，LC-MS 級。

2.4. 50 % 甲醇溶液

在 1 L 的量筒中混合 ~500 mL 的甲醇和 ~500 mL 的超純水。

2.5. 芍藥苷，CAS. No.: 23180-57-6。

2.6. 標準溶液

2.6.1. 標準儲備溶液 (~1000 µg/mL)

精密稱取 ~10 mg 的芍藥苷於 10 mL 的容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記，可配製成標準儲備溶液。

2.6.2. 標準中間溶液 (~200 µg/mL)

把 2.0 mL 的標準儲備溶液轉移至 10 mL 的容量瓶，加入 50 % 甲醇溶液，並稀釋至刻度標記，可配製成標準中間溶液。

2.7. 校準標準溶液

從標準中間溶液中，新鮮配製最少六瓶校準標準溶液。把適量的標準中間溶液分別轉移至六瓶 10 mL 的容量瓶，加入 50 % 甲醇溶液，並稀釋至刻度標記，可配製成一系列校準標準溶液。配製校準標準溶液所須的標準中間溶液建議分量表列如下：

校準標準溶液	標準中間溶液 容量 (mL)	最終容量 (mL)	最終濃度 (µg/mL)
CS1	0.1	10.0	2
CS2	0.25	10.0	5
CS3	0.5	10.0	10
CS4	1.0	10.0	20
CS5	1.5	10.0	30
CS6	2.5	10.0	50



備註： 可使用其他合適濃度，或採用其他稀釋順序來達到所需的濃度。須在數據表中記錄詳細資訊。

2.8. 初始校正驗證標準溶液

2.8.1. 初始校正驗證標準儲備溶液 (~1000 µg/mL)

精密稱取 ~10 mg 來源與校準標準品不同的芍藥苷置於 10 mL 的容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記，可配製成初始校正驗證標準儲備溶液。

2.8.2. 初始校正驗證標準中間溶液 (~200 µg/mL)

把 2.0 mL 的初始校正驗證標準儲備溶液轉移至 10 mL 的容量瓶，加入 50 % 甲醇溶液，並稀釋至刻度標記，可配製成初始校正驗證標準中間溶液。

2.8.3. 初始校正驗證標準工作溶液 (~10 或 20 µg/mL)

把 0.5 或 1.0 mL 的初始校正驗證標準中間溶液轉移至 10 mL 的容量瓶，加入 50 % 甲醇溶液，並稀釋至刻度標記，可配製成初始校正驗證標準工作溶液。

2.9. 校準檢查標準品

校準檢查標準品應為校準標準溶液中的 CS3 或 CS4，即 ~10 或 20 µg/mL。

2.10. 方法空白

方法空白應依照第 4.1.3 段至第 4.2 段進行完整的樣本製備步驟，並應含有與樣本溶液等量的試劑。

3. 器具

注意： 所有玻璃量器使用後均須儘快以丙酮及清潔劑清洗。用清潔劑清洗後，玻璃量器隨即以水沖洗，之後再以丙酮沖洗兩次。

3.1. 研磨機或攪拌機。

3.2. 10 和 25 mL 的容量瓶。

3.3. 1 L 的量筒。



- 3.4. 分析天秤，感量為 0.01 mg。
- 3.5. 300，1000 μ L 和 10 mL 的自動移液器。
- 3.6. 15 mL 的聚丙烯離心管並配備扭蓋。
- 3.7. 超聲波清洗器。
- 3.8. 漩渦振蕩器。
- 3.9. 離心機，能達到至少 4000 rpm 的轉速。
- 3.10. 0.20 和 0.45 μ m 的聚四氟乙烯過濾薄膜或同等類型的消耗品。
- 3.11. 液相色譜玻璃樣本瓶。
- 3.12. 高效液相色譜柱，Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色譜柱 (4.6 \times 250 mm，5 μ m) 或同等類型的色譜柱。
- 3.13. 超高效液相色譜柱，Acquity UPLC HSS T3 色譜柱 (2.1 \times 150 mm，1.8 μ m) 或同等類型的色譜柱。
- 3.14. 高效液相色譜儀配備二極管陣列檢測器的系統，Dionex UltiMate 3000 HPLC 系統或同等類型的系統。
- 3.15. 超高效液相色譜儀配備二極管陣列檢測器的系統，Acquity H-Class UPLC 系統或同等類型的系統。

4. 步驟

4.1. 配製樣本

- 4.1.1. 如果需要，在進行分析前，使用研磨機或攪拌機把固體的樣本進行研磨及均質化處理。
- 4.1.2. 精密稱取 ~0.25 g 的樣本放進 15 mL 扭蓋的離心管。
- 4.1.3. 把 10 mL 的 50% 甲醇溶液注入離心管，然後將離心管渦旋振蕩 ~1 min。
- 4.1.4. 把裝有混合樣本的離心管放入超聲波清洗器中以室溫進行 ~20 min 音波振動處理。



4.1.5. 以 ~4000 rpm 的轉速對樣本溶液進行 ~10 min 的離心處理並將上清液轉移至 25 mL 的容量瓶中。

4.1.6. 以 4 mL 的 50 % 甲醇溶液進行兩次第 4.1.3 段至第 4.1.5 段所述的步驟。

4.1.7. 以同一個 25 mL 的容量瓶收集所有上清液，然後加入 50 % 甲醇溶液稀釋至刻度標記，得到樣本溶液。

4.1.8. 以 0.45 μm 的聚四氟乙烯過濾薄膜過濾樣本溶液，然後再用 0.20 μm 的聚四氟乙烯過濾薄膜過濾。將濾液收集在液相色譜玻璃樣本瓶中。

備註： 如果分析物的濃度不在校準範圍內，可用 50 % 甲醇溶液把樣本溶液作進一步稀釋。

4.2. 高效液相色譜/超高效液相色譜二極管陣列分析

4.2.1. 按照使用手冊以操作高效液相色譜/超高效液相色譜儀配備二極管陣列檢測器的系統，並在下列的建議操作條件下進行分析。如要取得最佳的分離結果和輸出信號，實際操作條件或須修訂。實際的實驗條件須記錄在數據表上。

4.2.2. 建議的高效液相色譜儀配備二極管陣列檢測器之操作條件：

高效液相色譜儀	:	Dionex UltiMate 3000 HPLC 系統 或同等類型的系統		
液相色譜柱	:	Zorbax Eclipse XDB-C ₁₈ 色譜柱 (4.6 × 250 mm, 5 μm) 或同等類型的色譜柱		
流動相 A	:	超純水		
流動相 B	:	乙腈		
梯度	:	時間 (min)	A (%)	B (%)
		0.0	95	5
		3.0	95	5
		5.0	90	10
		10.0	85	15
		30.0	85	15
		35.0	80	20
		37.0	70	30
		40.0	5	95
		45.0	5	95
		46.0	95	5
		52.0	95	5



流速	:	0.5 mL/min
進樣量	:	10 μ L
報告的保留時間	:	芍藥苷 ~30.2 min
柱溫度	:	25 $^{\circ}$ C
檢測波長	:	230 nm

4.2.3. 建議的超高效液相色譜儀配備二極管陣列檢測器之操作條件：

超高效液相色譜儀	:	Acquity H-Class UPLC 系統 或同等類型的系統																																	
液相色譜柱	:	Acquity UPLC HSS T3 色譜柱 (2.1 \times 150 mm, 1.8 μ m) 或同等類型的色譜柱																																	
流動相 A	:	超純水																																	
流動相 B	:	乙腈																																	
梯度	:	<table border="1"><thead><tr><th>時間 (min)</th><th>A (%)</th><th>B (%)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.0</td><td>99</td><td>1</td></tr><tr><td>3.0</td><td>99</td><td>1</td></tr><tr><td>5.0</td><td>90</td><td>10</td></tr><tr><td>7.0</td><td>90</td><td>10</td></tr><tr><td>10.0</td><td>88</td><td>12</td></tr><tr><td>33.0</td><td>88</td><td>12</td></tr><tr><td>35.0</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>42.0</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>43.0</td><td>99</td><td>1</td></tr><tr><td>55.0</td><td>99</td><td>1</td></tr></tbody></table>	時間 (min)	A (%)	B (%)	0.0	99	1	3.0	99	1	5.0	90	10	7.0	90	10	10.0	88	12	33.0	88	12	35.0	5	95	42.0	5	95	43.0	99	1	55.0	99	1
時間 (min)	A (%)	B (%)																																	
0.0	99	1																																	
3.0	99	1																																	
5.0	90	10																																	
7.0	90	10																																	
10.0	88	12																																	
33.0	88	12																																	
35.0	5	95																																	
42.0	5	95																																	
43.0	99	1																																	
55.0	99	1																																	
流速	:	0.2 mL/min																																	
進樣量	:	10 μ L																																	
報告的保留時間	:	芍藥苷 ~29.4 min																																	
柱溫度	:	25 $^{\circ}$ C																																	
檢測波長	:	230 nm																																	

5. 計算/結果分析

5.1. 鑒別要求

比較樣本檢測峰保留時間和校準標準溶液的平均保留時間，以鑒別樣本中的目標分析物。樣本檢測峰保留時間不應與校準標準溶液的平均保留時間相差多於 5% 以作陽性鑒別。

5.2. 在線性校準模式下就分析物繪畫峰面積與校準標準溶液濃度的圖表，從而得出校準曲線。從校準曲線中取得斜率、y 截距和確定系數 (r^2)。



5.3. 按下列方程式計算樣本中分析物的濃度 ($\mu\text{g/g}$):

$$\text{分析物濃度 } (\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V \times D}{W}$$

C = 從校準曲線得出的分析物濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V = 最終體積 (mL)

D = 稀釋比

W = 樣本重量 (g)

6. 參考資料

6.1. 中國醫藥科技出版社 (2020)。《中華人民共和國藥典》(2020年版第一部)。國家藥典委員會。

1 本方法旨在提供一種可靠的測試方法，在檢測相關中成藥中目標化學指標成分的含量時作質量控制之用。檢測人員採用本方法時，有責任評估方法是否適用於擬測試的產品。

-空白頁-