



**利用高效液相色谱二极管阵列技术
检测中药复方颗粒中Z-藁本内酯和/或阿魏酸的含量¹**

安全预防措施： 本文中涉及致癌化学品、腐蚀性化学品和可燃溶剂，处理有关化学品时请采取预防措施，如戴上护眼及护手用具，并在有需要时在抽气柜进行检测工作，以免吸入该等化学品气体。

1. 引言

- 1.1. 中药复方颗粒是香港其中一种中成药，并以不同处方销售。这些处方多数是根据古代中医药文献制定。一般而言，其生产过程是将一系列中药粉碎、煎煮、滤过和浓缩后，制成为水溶性粉末。
- 1.2. 本方法包含高效液相色谱二极管阵列 (HPLC-DAD) 技术，可用于分析以当归为君、臣药或主要成分的九种处方。这九种处方表列如下。

项目	处方	古代中医药文献	分析物	
			Z-藁本内酯	阿魏酸
1.	圣愈汤	医宗金鉴	✓	✓
2.	当归四逆汤	伤寒论	✓	✓
3.	济川煎	景岳全书	---	✓
4.	补阳还五汤	医林改错	✓	✓
5.	蠲痹汤	济生方	---	✓
6.	当归芍药散	金匱要略	✓	✓
7.	调经丸	证治准绳	✓	✓
8.	消风散	外科正宗	---	✓
9.	温经汤	金匱要略	---	✓

- 1.3. 本方法已验证能以 HPLC-DAD 技术，对九种含 Z-藁本内酯和/或阿魏酸的处方进行定性及定量的检测。Z-藁本内酯验证的工作范围为溶液中的 0.02–0.5 µg/mL，相当于原样本中的 1–25 µg/g；阿魏酸验证的工作范围为溶液中 0.02–0.5 µg/mL，相当于原样本中的 50–1250 µg/g。

2. 试剂

注意： 除非另有说明，否则所有使用的试剂均属分析纯级别或同等级的试剂。

- 2.1. 超纯水，Milli Q。



2.2. 乙腈，LC-MS 级。

2.3. 甲醇，LC-MS 级。

2.4. 磷酸，ACS 级。

2.5. 0.1%磷酸溶液

在 1 L 的量筒中混合 ~1 mL 的磷酸和 ~999 mL 的超纯水。

2.6. 50 % 甲醇溶液

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

2.7. Z-藁本内酯，CAS. No.: 81944-09-4。

2.8. 阿魏酸，CAS. No.: 537-98-4。

2.9. 标准溶液

2.9.1. 标准储备溶液 (~2000 µg/mL)

分别精密称取~20 mg的Z-藁本内酯和阿魏酸于两瓶不同的10 mL容量瓶，加入甲醇溶解，并稀释至刻度标记。

2.9.2. 第一混合标准中间溶液 (INT1, ~10 µg/mL)

从两瓶不同的个别标准储备溶液，转移0.05 mL至10 mL的容量瓶，加入甲醇，并稀释至刻度标记。

2.9.3. 第二混合标准中间溶液 (INT2, ~1 µg/mL)

从第一混合标准中间溶液，转移2.5 mL至25 mL的容量瓶，加入甲醇，并稀释至刻度标记。

2.10. 校准标准溶液

以第二混合标准中间溶液新鲜配制最少六瓶校准标准溶液。把适量的第二混合标准中间溶液分别转移至六瓶 10 mL 的容量瓶，加入0.1% 磷酸溶液与乙腈 (1:1, v/v) 的混合液，并稀释至刻度标记。校准标准溶液的建议浓度表列如下：



校准标准溶液	第二混合标准 中间溶液容量 (mL)	最终容量 (mL)	Z-藁本内酯和阿 魏酸最终浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
CS1	0.2	10.0	0.02
CS2	0.5	10.0	0.05
CS3	1.0	10.0	0.1
CS4	2.0	10.0	0.2
CS5	3.0	10.0	0.3
CS6	5.0	10.0	0.5

备注： 可使用其他合适浓度，或采用其他稀释顺序来达到所需的浓度。
须在数据表中记录详细资讯。

2.11. 初始校正验证标准溶液

2.11.1. 初始校正验证标准储备溶液 ($\sim 2000 \mu\text{g/mL}$)

分别精密称取 $\sim 20 \text{ mg}$ 来源与校准标准品不同的Z-藁本内酯和阿魏酸于两瓶不同的10 mL容量瓶，加入甲醇溶解，并稀释至刻度标记。

2.11.2. 第一混合初始校正验证标准中间溶液 (ICV I, $\sim 10 \mu\text{g/mL}$)

把 0.05 mL 的初始校正验证标准储备溶液转移至10 mL的容量瓶，加入甲醇，并稀释至刻度标记。

2.11.3. 第二混合初始校正验证标准中间溶液 (ICV II, $\sim 1 \mu\text{g/mL}$)

把 1.0 mL 的第一混合初始校正验证标准中间溶液转移至10 mL的容量瓶，加入甲醇，并稀释至刻度标记。

2.11.4. 初始校正验证标准工作溶液 (~ 0.1 或 $0.2 \mu\text{g/mL}$)

把 1.0 或 2.0 mL 的第二混合初始校正验证标准中间溶液转移至 10 mL 的容量瓶，加入0.1% 磷酸溶液与乙腈 (1:1, v/v) 的混合液，并稀释至刻度标记。

2.12. 校准检查标准品

校准检查标准品应为校准标准溶液中的 CS3 或 CS4，即 ~ 0.1 或 $0.2 \mu\text{g/mL}$ 。



2.13. 方法空白

方法空白应依照第 4.1.3 段至第 4.2 段进行完整的样本制备步骤，并应含有与样本溶液等量的试剂。

3. 器具

注意： 所有玻璃量器使用后均须尽快以丙酮及清洁剂清洗。用清洁剂清洗后，玻璃量器随即以水冲洗，之后再以丙酮冲洗两次。

- 3.1. 研磨机或搅拌机。
- 3.2. 10 和 25 mL 的容量瓶。
- 3.3. 1 L 的量筒。
- 3.4. 分析天秤，感量为 0.01 mg。
- 3.5. 300, 1000 μ L 和 10 mL 的自动移液器。
- 3.6. 15 mL 的聚丙烯离心管并配备扭盖。
- 3.7. 超声波清洗器。
- 3.8. 漩涡振荡器。
- 3.9. 离心机，能达到至少 4000 rpm 的转速。
- 3.10. 0.20 μ m 的聚四氟乙烯过滤薄膜或同等类型的消耗品。
- 3.11. 液相色谱玻璃样本瓶。
- 3.12. 高效液相色谱柱，Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (4.6 $\times$ 250 mm, 5 μ m) 或同等类型的色谱柱。
- 3.13. 高效液相色谱仪配备二极管阵列检测器的系统，Dionex UltiMate 3000 HPLC 系统或同等类型的系统。

4. 步骤

- 4.1. 配制样本



4.1.1. 如果需要, 在进行分析前, 使用研磨机或搅拌机把固体的样本进行研磨及均质化处理。

4.1.2. 精密称取 ~0.5 g 的样本放进 15 mL 扭盖的离心管。

4.1.3. 把 10 mL 的 50 % 甲醇溶液注入离心管, 然后将离心管涡旋振荡 ~1 min。

4.1.4. 把装有混合样本的离心管放入超声波清洗器中以室温进行 ~20 min 音波振动处理。

4.1.5. 以 ~4000 rpm 的转速对样本溶液进行 ~10 min 的离心处理并将上清液转移至 25 mL 的容量瓶中。

4.1.6. 以 4 mL 的 50 % 甲醇溶液进行两次第 4.1.3 段至第 4.1.5 段所述的步骤。

4.1.7. 以同一个 25 mL 的容量瓶收集所有上清液, 然后加入 50 % 甲醇溶液稀释至刻度标记, 得到样本溶液。

4.1.8. 以 0.20 μm 的聚四氟乙烯过滤薄膜过滤样本溶液。将滤液收集在液相色谱玻璃样本瓶中。以进行Z-藁本内酯的分析。

4.1.9. 把第 4.1.7 段的样本溶液以 0.1% 磷酸溶液与乙腈 (1:1, v/v) 的混合液稀释50倍, 以对阿魏酸进行分析。

备注: 如果分析物的浓度不在校准范围内, 可用0.1% 磷酸溶液与乙腈 (1:1, v/v) 的混合液把样本溶液作进一步稀释。

4.2. 高效液相色谱二极管阵列分析

4.2.1. 按照使用手册以操作高效液相色谱二极管阵列检测器的系统, 并在下列的建议操作条件下进行分析。如要取得最佳的分离结果和输出信号, 实际操作条件或须修订。实际的实验条件须记录在数据表上。

4.2.2. 建议的高效液相色谱二极管阵列之操作条件:

高效液相色谱仪	:	Dionex UltiMate 3000 HPLC系统 或同等类型的系统
液相色谱柱	:	Zorbax Eclipse Plus C ₁₈ 谱柱 (4.6 × 250 mm, 5 μm)或同等类型的色谱柱
流动相 A	:	0.1%磷酸溶液
流动相 B	:	乙腈



梯度	:	时间 (min)	A (%)	B (%)
		0.0	97	3
		18.0	97	3
		20.0	95	5
		25.0	95	5
		30.0	80	20
		35.0	60	40
		40.0	50	50
		45.0	50	50
		47.0	10	90
		60.0	5	95
		65.0	5	95
		66.0	97	3
		75.0	97	3
流速	:	0.5 mL/min		
进样量	:	10 µL		
报告的保留时间	:	阿魏酸 ~41.4 min Z-藁本内酯 ~54.9 min		
柱温度	:	25 °C		
检测波长	:	320 nm		

5. 计算/结果分析

5.1. 鉴别要求

比较样本检测峰保留时间和校准标准溶液的平均保留时间，以鉴别样本中的目标分析物。样本检测峰保留时间不应与校准标准溶液的平均保留时间相差多于 5 % 以作阳性鉴别。

5.2. 在线性校准模式下就分析物绘画峰面积与校准标准溶液浓度的图表，从而得出校准曲线。从校准曲线中取得斜率、y 截距和确定系数 (r^2)。

5.3. 按下列方程式计算样本中分析物的浓度 (µg/g):

$$\text{分析物浓度 (µg/g)} = \frac{C \times V \times D}{W}$$

C = 从校准曲线得出的分析物浓度 (µg/mL)

V = 最终容量 (mL)

D = 稀释比

W = 样本重量 (g)



6. 参考资料

- 6.1. 中国医药科技出版社。2025年版《中华人民共和国药典》。国家药典委员会。

-
- 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。

-空白页-