



**利用高效液相色譜二極管陣列技術
檢測中藥複方顆粒中Z-藁本內酯和/或阿魏酸的含量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. 中藥複方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，可用於分析以當歸為君、臣藥或主要成分的九種處方。這九種處方表列如下。

項目	處方	古代中醫藥文獻	分析物	
			Z-藁本內酯	阿魏酸
1.	聖愈湯	醫宗金鑑	✓	✓
2.	當歸四逆湯	傷寒論	✓	✓
3.	濟川煎	景嶽全書	---	✓
4.	補陽還五湯	醫林改錯	✓	✓
5.	蠲痺湯	濟生方	---	✓
6.	當歸芍藥散	金匱要略	✓	✓
7.	調經丸	證治準繩	✓	✓
8.	消風散	外科正宗	---	✓
9.	溫經湯	金匱要略	---	✓

- 1.3. 本方法已驗證能以 HPLC-DAD 技術，對九種含 Z-藁本內酯和/或阿魏酸的處方進行定性及定量的檢測。Z-藁本內酯驗證的工作範圍為溶液中的 0.02–0.5 µg/mL，相當於原樣本中的 1–25 µg/g；阿魏酸驗證的工作範圍為溶液中 0.02–0.5 µg/mL，相當於原樣本中的 50–1250 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. 磷酸，ACS 級。

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 的超純水。

2.6. 50 % 甲醇溶液

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

2.7. Z-藁本內酯，CAS. No.: 81944-09-4。

2.8. 阿魏酸，CAS. No.: 537-98-4。

2.9. 標準溶液

2.9.1. 標準儲備溶液 (~2000 µg/mL)

分別精密稱取~20 mg的Z-藁本內酯和阿魏酸於兩瓶不同的10 mL容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記。

2.9.2. 第一混合標準中間溶液 (INT1, ~10 µg/mL)

從兩瓶不同的個別標準儲備溶液，轉移0.05 mL至10 mL的容量瓶，加入甲醇，並稀釋至刻度標記。

2.9.3. 第二混合標準中間溶液 (INT2, ~1 µg/mL)

從第一混合標準中間溶液，轉移2.5 mL至25 mL的容量瓶，加入甲醇，並稀釋至刻度標記。

2.10. 校準標準溶液

以第二混合標準中間溶液新鮮配製最少六瓶校準標準溶液。把適量的第二混合標準中間溶液分別轉移至六瓶 10 mL 的容量瓶，加入0.1% 磷酸溶液與乙腈 (1:1, v/v) 的混合液，並稀釋至刻度標記。校準標準溶液的建議濃度表列如下：



校準標準溶液	第二混合標準 中間溶液容量 (mL)	最終容量 (mL)	Z-藁本內酯和阿 魏酸最終濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
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

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。

2.11. 初始校正驗證標準溶液

2.11.1. 初始校正驗證標準儲備溶液 ($\sim 2000 \mu\text{g/mL}$)

分別精密稱取 $\sim 20 \text{ mg}$ 來源與校準標準品不同的Z-藁本內酯和阿魏酸於兩瓶不同的10 mL容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記。

2.11.2. 第一混合初始校正驗證標準中間溶液 (ICV I, $\sim 10 \mu\text{g/mL}$)

把 0.05 mL 的初始校正驗證標準儲備溶液轉移至10 mL的容量瓶，加入甲醇，並稀釋至刻度標記。

2.11.3. 第二混合初始校正驗證標準中間溶液 (ICV II, $\sim 1 \mu\text{g/mL}$)

把 1.0 mL 的第一混合初始校正驗證標準中間溶液轉移至10 mL的容量瓶，加入甲醇，並稀釋至刻度標記。

2.11.4. 初始校正驗證標準工作溶液 (~ 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驗證標準中間溶液轉移至 10 mL 的容量瓶，加入0.1% 磷酸溶液與乙腈 (1:1, v/v) 的混合液，並稀釋至刻度標記。

2.12. 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 ~ 0.1 或 $0.2 \mu\text{g/mL}$ 。



2.13. 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 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 Plus C₁₈ 色譜柱 (4.6 $\times$ 250 mm，5 μ m) 或同等類型的色譜柱。
- 3.13. 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。

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 ~0.5 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 0.20 μm 的聚四氟乙烯過濾薄膜過濾樣本溶液。將濾液收集在液相色譜玻璃樣本瓶中，以進行Z-藁本內酯的分析。

4.1.9. 把第 4.1.7 段的樣本溶液以 0.1% 磷酸溶液與乙腈 (1:1, v/v) 的混合液稀釋50倍，以對阿魏酸進行分析。

備註： 如果分析物的濃度不在校準範圍內，可用0.1% 磷酸溶液與乙腈 (1:1, v/v) 的混合液把樣本溶液作進一步稀釋。

4.2. 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二極管陣列之操作條件：

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 Plus C ₁₈ 譜柱 (4.6 × 250 mm, 5 μm)或同等類型的色譜柱
流動相 A	:	0.1%磷酸溶液
流動相 B	:	乙腈



梯度	:	時間 (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		
進樣量	:	10 µL		
報告的保留時間	:	阿魏酸 ~41.4 min Z-藁本內酯 ~54.9 min		
柱溫度	:	25 °C		
檢測波長	:	320 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 (µg/g):

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

C = 從校準曲線得出的分析物濃度 (µg/mL)

V = 最終容量 (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。2025年版《中華人民共和國藥典》。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-