



GCMTI RD-6:2022

利用高效液相色譜二極管陣列檢測器
檢測白鳳丸的 Z-藁本內酯含量

政府中藥檢測中心方法



利用高效液相色譜二極管陣列檢測器 檢測白鳳丸的 Z-藁本內酯含量¹

安全預防措施：本文中的步驟涉及致癌化學品、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，如戴上護眼及護手裝備，如有需要可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. 白鳳丸是中國內地和香港普遍使用的中成藥。常用於治療血虛引起的各種疾病或婦科紊亂病。古代中藥文獻和《中華人民共和國藥典》(《中國藥典》)記錄了白鳳丸處方的主要成分。然而，香港市面上有不少白鳳丸產品配方經修改，成分不盡相同。其中，人參、當歸、川芎、香附、白芍、地黃、黃芪、丹參和甘草等中藥材常見於不同品牌的白鳳丸產品。對應的化學指標成分如下：

中藥材	常見化學指標成分
人參(Ginseng Radix Et Rhizoma)	人參皂苷
當歸(Angelicae Sinensis Radix)	Z-藁本內酯
川芎(Chuanxiong Rhizoma)	Z-藁本內酯
香附(Cyper Rhizoma)	α -香附酮
白芍(Paeoniae Radix Alba)	芍藥苷
地黃(Rehmanniae Radix)	地黃苷
黃芪(Astragali Radix)	黃芪皂苷 IV
丹參(Salviae Miltiorrhizae Radix Et Rhizoma)	丹參酮和丹酚酸 B
甘草(Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma)	甘草苷

1.2. 本方法載列利用高效液相色譜二極管陣列檢測器就白鳳丸樣本內的 Z-藁本內酯含量進行定性及／或定量檢測時所涉及的步驟。

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。

2. 試劑

註：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. 甲醇，LC-MS 級

2.2. 乙腈，LC-MS 級

2.3. Milli-Q 超純水

2.4. Z-藁本內酯，CAS.編號：4431-01-0

2.5. 提取溶劑

甲醇：水(1:1 v/v)

2.6. 配製標準溶液

2.6.1. 標準儲備溶液（濃度約為每毫升 1000 微克）

精密稱取 10 毫克 Z-藁本內酯置於 10 毫升的容量瓶，加入乙腈溶解並稀釋至刻度標記，則可配製標準儲備溶液。

2.6.2. 標準中間溶液（濃度約為每毫升 100 微克）

把 1 毫升標準儲備溶液轉移至 10 毫升的容量瓶，稀釋至刻度標記，則可配製標準中間溶液。

2.6.3. 校準標準溶液（校準標準品 CS1 至 CS5）

把適量標準中間溶液分別轉移至若干 10 毫升的容量瓶，加入提取溶劑(第 2.5.段)稀釋至刻度標記，則可配製一系列校準標準溶液。配製校準標準溶液所須的標準溶液建議分量表列如下：

校準標準品	標準中間溶液體積(毫升)	最終體積(毫升)	Z-藁本內酯的濃度(微克/毫升)
CS1	0.05	10	0.5
CS2	0.10	10	1
CS3	0.50	10	5
CS4	1.00	10	10
CS5	2.00	10	20

2.6.4. 初始校正驗證(ICV)標準儲備溶液 (濃度約為每毫升 1000 微克)

精密稱取 10 毫克來源與校準標準品不同的 Z-藁本內酯置於 10 毫升的容量瓶，加入乙腈溶解並稀釋至刻度標記，則可配製 ICV 標準儲備溶液。

2.6.5. ICV 標準中間溶液 (濃度約為每毫升 100 微克)

把 1 毫升 ICV 標準儲備溶液轉移至 10 毫升的容量瓶，加入提取溶劑(第 2.5.段)稀釋至刻度標記，則可配製 ICV 標準中間溶液。

2.6.6. ICV 標準工作溶液 (濃度約為每毫升 50 微克)

把 5 毫升 ICV 標準中間溶液轉移至 10 毫升的容量瓶，加入提取溶劑(第 2.5.段)稀釋至刻度標記，則可配製 ICV 標準工作溶液。

2.6.7. 加標標準溶液 (濃度約為每毫升 1000 微克)

參考標準儲備溶液(第 2.6.1.段)。

3. 器具

所有玻璃量器用後均須儘快以丙酮及清潔劑清洗。用清潔劑清洗後，玻璃量器隨即分別以丙酮及水沖洗，之後再以丙酮沖洗兩次。

- 3.1. 研磨機或攪拌機
- 3.2. 分析天秤，感量為 0.1 毫克
- 3.3. 10 毫升和 25 毫升的容量瓶
- 3.4. 100 微升、300 微升和 1000 微升的自動移液器
- 3.5. 離心機，轉速至少為 4000 轉／分鐘
- 3.6. 15 毫升的離心管
- 3.7. 渦旋振蕩器
- 3.8. 超聲波清洗器
- 3.9. 0.45 微米聚四氟乙烯過濾薄膜
- 3.10. 液相色譜玻璃樣本瓶

- 3.11. 液相色譜柱：Inertsil ODS-4，5 微米，2.1 毫米 × 250 毫米，生產商為 GL Sciences，或具同等規格
- 3.12. 高效液相色譜二極管陣列檢測器系統

4. 步驟

4.1. 配製樣本

- 4.1.1. 分析前使用研磨機或攪拌機對固體樣本進行研磨及均質化處理。
- 4.1.2. 精密稱取 0.5 克白鳳丸樣本放進 15 毫升的離心管。
- 4.1.3. 把 10 毫升提取溶劑(第 2.5.段)注入離心管，然後將離心管渦旋振蕩 1 分鐘。
- 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 分鐘音波振動處理。
- 4.1.5. 以 4000 轉／分鐘的轉速對樣本溶液進行 10 分鐘的離心處理並將上清液轉移至 25 毫升的容量瓶中。
- 4.1.6. 以 5 毫升提取溶劑(第 2.5.段)重複進行兩次第 4.1.3.段至第 4.1.5.段所述的步驟。以同一個 25 毫升的容量瓶收集所有上清液，然後加入提取溶劑(第 2.5.段)稀釋至刻度標記，則可得到樣本溶液。
- 4.1.7. 以 0.45 微米聚四氟乙烯過濾薄膜過濾樣本溶液至液相色譜玻璃樣本瓶中，便可用高效液相色譜二極管陣列檢測。

註：如果分析物的濃度不在校準範圍內，請用提取溶劑(第 2.5.段)進一步稀釋樣本溶液。

4.2. 高效液相色譜二極管陣列檢測法

- 4.2.1. 高效液相色譜二極管陣列檢測器系統應按使用手冊操作，並在下列的建議條件下進行分析。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報表上。
- 4.2.2. 建議的高效液相色譜二極管陣列檢測器操作條件：

液相色譜系統：Waters Alliance e2695 高效液相色譜系統

	或具同等效能的系統		
液相色譜柱	： GL Sciences Inertsil ODS-4， 5 微米，2.1 毫米 x 250 毫米或具同等規格		
柱溫度	： 25 °C		
流速	： 0.2 毫升／分鐘		
進樣量	： 10 微升		
流動相	： A：水 B：乙腈		
梯度	： 時間(分鐘)	A %	B %
	0.0	80	20
	10.0	20	80
	25.0	20	80
	25.5	80	20
	35.0	80	20
檢測波長	： 328 奈納		

4.2.3. 使用至少 5 個校準標準品(第 2.6.3.段)校準高效液相色譜二極管陣列檢測器系統。

4.2.4. 使用高效液相色譜二極管陣列檢測器系統對空白對照樣本、樣本溶液、重複樣本、加標樣本和相關檢查標準溶液進行分析。使用者可根據實驗室既定的要求作質量控制。

5. 計算／結果分析

5.1. 鑒別要求

進行高效液相色譜二極管陣列檢測時，應比較樣本檢測峰保留時間和校準標準品的平均保留時間，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品的平均保留時間相差多於 5%。

5.2. 在線性校準模式下就分析物繪畫峰面積與濃度的圖表，從而得出校準曲線。

5.3. 按下列方程式計算樣本中分析物的濃度(微克／克)：

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

C = 從校準曲線得出的分析物濃度(微克／毫升)；

- V = 最終體積(毫升)；
D = 稀釋比；以及
W = 樣本重量(克)

6. 參考資料

- 6.1. 國家藥典委員會：《中華人民共和國藥典》2020 年版第一部，中國醫藥科技出版社。
- 6.2. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, Eurachem / CITAC Guide CG4, 3rd Edition, 2012.
- 6.3. V. J. Barwick and S. L. R. Ellison, “VAM Project 3.2.1 Development and Harmonisation of Measurement Uncertainty Principles Part (d): Protocol for Uncertainty Evaluation from Validation data”, LGC/VAM/1998/088 Version 5.1, January 2000.