



**利用液相色譜串聯質譜儀技術檢測中藥複方顆粒中
芍藥苷、Z-藁本內酯、阿魏酸和/或地黃苷 D 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. 本方法採用液相層析串聯質譜聯用技術(LC-MS/MS)分析28種含有白芍、當歸和/或地黃的中藥複方製劑。這些中藥複方製劑的主要成分包括君、臣藥和主要成分。以下將詳細列出處方列表。
- 1.3. 以白芍為主要核心成分，本方法已驗證了12種配方。所分析的化學標記為芍藥苷(Pae)

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

- 1.4. 以當歸為主要核心成分，本方法已驗證了10種配方。所分析的化學標記物為Z-藁本內酯(Li)和阿魏酸(FA)

項目	處方	古代中醫藥文獻
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



項目	處方	古代中醫藥文獻
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
10.	人參養榮湯	三因極一病證方論

- 1.5. 以地黃為主要成分，本方法已驗證了 12 種製劑。所分析的化學標記為地黃苷 D (Reh D)

項目	處方	古代中醫藥文獻
1.	聖愈湯	醫宗金鑒
2.	養陰清肺湯	重樓玉鑰
3.	清胃散	脾胃論
4.	小薊飲子	濟生方
5.	當歸六黃湯	蘭室秘藏
6.	左歸丸	景嶽全書
7.	八味地黃丸	博青主女科·產後編
8.	玉泉散	血證論卷八
9.	大補陰丸	丹溪心法
10.	調經丸	證治準繩
11.	芍歸膠艾湯	金匱要略
12.	消風散	外科正宗

- 1.6. 本方法已通過液相層析串聯質譜法 (LC-MS/MS) 驗證，可用於定性或定量測定中藥複方顆粒中的四種分析物，即芍藥苷、Z-藁本內酯、阿魏酸和地黃苷 D。分析中以氫化可的松作為內標。各分析物的有效工作範圍如下表所示。

分析物	濃度範圍	
	溶液濃度(μg/L)	固體濃度(μg/g)
Pae	20–500	100–2500
Li	0.2–5	1–25
FA	2–50	50–1250
Reh D	2–50	50–1250



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. 甲醇，LC-MS 級。

2.3. 乙腈，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. 5 % 乙腈溶液

在 1 L 的量筒中混合 ~950 mL 的超純水和 ~50 mL 的乙腈。

2.6. 甲酸，LC-MS 級。

2.7. 0.1% 甲酸溶液

在 1 L 的量筒中混合 ~999mL 的超純水和 ~1 mL 的甲酸。

2.8. 氫化可的松, CAS. No.: 50-23-7.

2.9. Pae, CAS. No.: 23180-57-6.

2.10. Li, CAS. No.: 81944-09-4.

2.11. FA, CAS. No.: 537-98-4.

2.12. Reh D, CAS. No.: 81720-08-3.

2.13. 內標溶液

2.13.1. 儲備內標溶液 (~2000 µg/mL)

精密稱取 ~20 mg 的氫化可的松於10 mL容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記。

2.13.2. 第一中間內標溶液 (IS1, ~10 µg/mL)



把 0.05 mL 的儲備內標溶液轉移至 10 mL 的容量瓶，加入乙腈，並稀釋至刻度標記。

2.13.3. 第二中間內標溶液 (IS2, ~100 µg/L)

把 0.1 mL 的第一中間內標溶液轉移至 10 mL 的容量瓶，加入5 % 乙腈溶液，並稀釋至刻度標記。

2.13.4. 第三中間內標溶液 (IS3, ~5 µg/L)

把 0.025 mL 的第一中間內標溶液轉移至 50 mL 的容量瓶，加入5 % 乙腈溶液，並稀釋至刻度標記。

2.14. 標準溶液

2.14.1. 個別標準儲備溶液

分別準確稱取建議量的校準標準品於不同的 10 mL 容量瓶中。用甲醇溶解並定容至刻度標記。配製個別標準儲備溶液所建議的濃度如下所示。

個別標準儲備溶液	校準標準品重量 (mg)	最終容量 (mL)	濃度 (µg/mL)
Pae	~50	10	~5000
Li	~10	10	~1000
FA	~20	10	~2000
Reh D	~20	10	~2000

2.14.2. 混合標準中間溶液 1 (INT1)

取適量的個別標準儲備溶液（第 2.14.1段）至10 mL容量瓶中。以乙腈溶液定容至刻度標記。配製混合標準中間溶液1的建議濃度如下所示。

INT1	儲備標準溶液容量 (mL)	最終容量 (mL)	濃度 (µg/mL)
Pae	2.0	10	~1000
Li	0.1		~10
FA	0.5		~100
Reh D	0.5		~100

2.14.3. 混合標準中間溶液 2 (INT2)

把0.1 mL混合標準中間溶液 1 移至 10 mL 容量瓶中。以 5% 乙腈溶液定容至刻度標記。配製混合標準中間溶液2的建議濃度如下所示。



INT2	儲備標準溶液容量 (mL)	最終容量 (mL)	濃度 (µg/L)
Pae	0.1	10	~10000
Li			~100
FA			~1000
Reh D			~1000

2.15. 校準標準溶液

由標準中間溶液(INT2和/或CS6)，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，以5%乙腈稀釋至刻度標記。配製校準標準溶液所須的標準中間溶液建議濃度表列如下：

校準標準溶液	INT2 容量 (mL)	最終濃度 (µg/L)				IS2 容量 (mL)	最終濃度 (µg/L)	最終容量 (mL)
		Pae	Li	FA	Reh D		內標	
CS3	0.1	100	1	10	10	0.5	5	10
CS4	0.2	200	2	20	20	0.5	5	10
CS5	0.3	300	3	30	30	0.5	5	10
CS6	0.5	500	5	50	50	0.5	5	10

校準標準溶液	CS6 容量 (mL)	最終濃度 (µg/L)				IS3 容量 (mL)	最終濃度 (µg/L)	最終容量 (mL)
		Pae	Li	FA	Reh D		I.S.	
CS1	0.4	20	0.2	2	2	9.6	5	10
CS2	1.0	50	0.5	5	5	9.0	5	10

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。校準標準溶液中內標的濃度應配製成約 5 µg/L。須在數據表中記錄詳細資訊。

2.16. 初始校正驗證標準溶液

2.16.1. 初始校正驗證標準儲備溶液

依照第 2.14.1. 段，使用獨立的標準品（如適用，可使用其他品牌或同一品牌的其他批次標準品）來製備儲備 ICV 標準溶液。

2.16.2. 混合初始校正驗證標準中間溶液 I (ICV I)

使用初始校正驗證標準儲備溶液，依照第 2.14.2 段建議的容量配製混合初始校正驗證標準中間溶液 I。以 乙腈加至刻度標記。



2.16.3. 混合初始校正驗證標準中間溶液II (ICV II)

依照第2.14.3. 段，使用 ICV I 配製ICV II。以 5% 乙腈溶液加至刻度標記。

2.16.4. 初始校正驗證標準工作溶液

依照第 2.15. 段中的 CS3 或 CS4，使用 ICV II 取代 INT2 配製 ICV 工作標準溶液。以 5% 乙腈溶液加至刻度標記。

2.17. 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。

2.18. 方法空白

方法空白應依照第 4.1. 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. 10，25 和 50 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. 100，300，1000 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. 轉速可調的高速離心機，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. 超高效液相色譜柱，Acquity HSS T3 Column 色譜柱 (2.1 × 150 mm，1.8 μm) 或同等類型的色譜柱。
- 3.13. 液相色譜串聯質譜儀，Dionex Ultimate 3000 UPLC 配備 Triple Quad 6500+ 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。
- 4.1.9. 取0.01 mL樣品溶液(第 4.1.8. 段)與0.05 mL IS2 (內標濃度約 100 μg/L) 移入液相層析玻璃進樣瓶中，使樣品溶液稀釋100 倍。然後再以 5% 乙腈溶液定容至 1.0 mL。所得稀釋樣品溶液即可用於 Pae 和 Li的分析。
- 4.1.10. 取0.2 mL 樣品溶液(見第 4.1.9. 段)與0.8 mL IS3 (約 5 μg/L 內標) 移入液相層析玻璃小瓶中，使樣品溶液進一步稀釋 5 倍。所得稀釋樣品溶液即可用於 FA 和 Reh D 的分析。



備註：如果分析物濃度不在校正範圍內，則需以 IS3 (約 $5\mu\text{g/L}$) 進一步稀釋樣品溶液。樣品溶液中內標物的濃度應保持在約 $5\mu\text{g/L}$ 。

4.2. 液相色譜串聯質譜儀分析

4.2.1. 按照使用手冊以操作液相色譜串聯質譜儀的系統，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. 建議的液相色譜儀之操作條件：

液相色譜儀	:	Dionex UltiMate 3000 HPLC 系統 或同等類型的系統		
液相色譜柱	:	Acquity HSS T3 色譜柱 ($2.1 \times 150\text{ mm}$, $1.8\text{ }\mu\text{m}$) 或同等類型的色譜柱		
流動相 A	:	0.1% 甲酸溶液		
流動相 B	:	乙腈		
梯度	:	Time (min)	A (%)	B (%)
		0.0	99	1
		1.0	99	1
		2.0	95	5
		3.0	95	5
		8.0	90	10
		9.0	80	20
		17.0	80	20
		19.0	35	65
		25.0	35	65
		27.0	5	95
		32.0	5	95
		33.0	99	1
		40.0	99	1
流速	:	0.2 mL/min		
進樣量	:	10 μL		
報告的保留時間	:	Reh D ~7.5 min Pae ~14.0 min FA ~17.5 min Li ~25.9 min I.S.~21.0 min		
柱溫度	:	30 °C		



4.2.3. 建議的串聯質譜儀之操作條件：

串聯質譜儀	:	Triple Quad 6500+ 系統 或同等類型的系統
離子源	:	電噴霧
離子源模式	:	正和負離子
離子噴霧電壓	:	4500 和-4500
離子源溫度	:	500°C
霧化氣 (GS1)	:	50
輔助加熱氣 (GS2)	:	50
氣簾氣 (CUR)	:	30
碰撞氣 (CAD)	:	9
掃描模式	:	多重反應監測 (MRM) 掃描模式

4.2.4. 建議的 MRM 之參數：

分析物	MRM對	極性	駐留時間 (msec)	DP	EP	CE	CXP
Pae	479.1→120.8 [*]	-ve	50	-35	-10	-32	-10
	479.1→77.0 [^]		50	-35	-10	-70	-4
Li	191.0→173.0 [*]	+ve	50	+100	+10	+22	+22
	191.0→145.0 [^]		50	+100	+10	+23	+18
FA	193.0→133.9 [*]	-ve	50	-30	-10	-24	-15
	193.0→177.9 [^]		50	-30	-10	-18	-15
Reh D	685.2→263.1 [*]	-ve	50	-130	-10	-28	-15
	685.2→179.0 [^]		50	-130	-10	-34	-11
I.S.	363.0→120.9 [*]	+ve	50	+70	+10	+30	+18
	361.0→331.3 [*]	-ve	50	-90	-10	-17	-24

備註：定量及定性的 MRM 對分別以 * 和 ^ 符號標示。

5. 計算/結果分析

5.1. 鑒別要求

- 5.1.1. 目標分析物的鑒定是透過比較樣本檢測峰的相對保留時間 (RRT_{sample}) 與校準標準溶液的平均相對保留時間 (RRT) 進行。樣本檢測峰的相對保留時間 (RRT_{sample}) 與校準標準溶液的平均相對保留時間 (RRT) 之差異不得超過 2.5%，方可作為陽性鑒別。



5.1.2. MRM 對的相對豐度應符合鑒別分析物的偏差範圍（與校準標準品的平均相對豐度比較）：

與基峰比較的相對強度	許可偏差 %
> 50 %	± 20 %
> 20 % 至 50 %	± 25 %
> 10 % 至 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 %

5.2. 在線性校準模式下，分析每種分析物相對面積比（分析物峰面積/內標峰面積）與校準標準溶液濃度的圖表。從校準曲線中獲得斜率、y軸截距和決定係數（ r^2 ）。

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

$$\text{分析物濃度 } (\mu\text{g/g}) = \frac{C \times (V/1000) \times D}{W}$$

C = 從校準曲線得出的分析物濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）

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）。《中華人民共和國藥典》（2025年版）。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-