



**利用高效液相色譜二極管陣列技術
檢測中藥複方顆粒中的人參皂苷的含量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. 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. 本方法採用高效液相色譜二極管陣列 (HPLC-DAD) 技術，分析以人參為君、臣藥或主要成分的十種處方。以下將詳細列出處方列表。

項目	處方	古代中醫藥文獻	已驗證的分析物			
			Re	Rg1	Rf	Rb1
1.	聖愈湯	醫宗金鑑	✓	✓	✓	✓
2.	舉元煎	景嶽全書	✓	✓	✓	✓
3.	理中湯	傷寒論	✓	✓	✓	✓
4.	人參養榮湯	三因極一病證方論	✓	✓	---	✓
5.	大建中湯	金匱要略	✓	✓	✓	✓
6.	六君子湯	醫學正傳	✓	✓	✓	✓
7.	附子理中湯	三因極一病證方論	✓	---	---	---
8.	人參敗毒散	太平惠民和劑局方	✓	✓	✓	✓
9.	麥門冬湯	金匱要略	✓	✓	✓	✓
10.	溫經湯	金匱要略	✓	---	---	✓

- 1.3. 本方法已驗證能以高效液相層析法 (HPLC)，定性或定量測定中藥複方顆粒中的四種分析物，即人參皂苷Re (Re)、人參皂苷Rg1 (Rg1)、人參皂苷Rf (Rf) 和人參皂苷Rb1 (Rb1)。其驗證的工作範圍為溶液中的 1–50 µg/mL，相當於原樣本中的 50–2500 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. 甲醇(MeOH)，LC-MS 級。

2.3. 乙醇(EtOH)，Absolute 級。

2.4. 乙腈(ACN)，LC-MS 級。

2.5. 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。

2.6. 95 % 乙腈溶液

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

2.7. 70 % 乙腈溶液

在 1 L 的量筒中混合 ~700 mL 的乙腈和 ~300 mL 的超純水。

2.8. Re，CAS. No.: 52286-59-6。

2.9. Rg1，CAS. No.: 22427-39-0。

2.10. Rf，CAS. No.: 52286-58-5。

2.11. Rb1，CAS. No.: 41753-43-9。

2.12. 標準溶液

2.12.1. 個別標準儲備溶液 (~2000 µg/mL)

分別精密稱取 ~20 mg 的人參皂苷 (Re、Rg1、Rf 和 Rb1) 於四瓶不同的 10 mL 容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記。

2.12.2. 混合標準中間溶液 (INT, ~100 µg/mL)

從四瓶不同的個別標準儲備溶液，轉移 0.5 mL 至一個 10 mL 的容量瓶，加入甲醇，並稀釋至刻度標記。



2.13. 校準標準溶液

從混合標準中間溶液中，新鮮配製最少六瓶校準標準溶液。把適量的混合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。校準標準溶液的建議濃度表列如下：

校準標準溶液	混合標準 中間溶液容量 (mL)	最終容量 (mL)	人參皂苷 (Re、 Rg1、Rf 和 Rb1) 最終濃度 (µg/mL)
CS1	0.1	10.0	1
CS2	0.5	10.0	5
CS3	1.0	10.0	10
CS4	2.0	10.0	20
CS5	3.0	10.0	30
CS6	5.0	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。

2.14. 初始校正驗證標準溶液

2.14.1. 初始校正驗證標準儲備溶液 (~2000 µg/mL)

依照第2.12.1.段，分別精密稱取 ~20 mg 來源與校準標準品不同的人參皂苷 (Re、Rg1、Rf 和 Rb1) 於四瓶不同的 10 mL 容量瓶，加入甲醇溶解，並稀釋至刻度標記。

2.14.2. 混合初始校正驗證標準中間溶液 (ICV, ~100 µg/mL)

從四瓶不同的初始校正驗證標準儲備溶液，轉移 0.5 mL 至一個 10 mL 的容量瓶，加入甲醇，並稀釋至刻度標記。

2.14.3. 初始校正驗證標準工作溶液 (~10 或 20 µg/mL)

把 1.0 或 2.0 mL 的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 50 % 甲醇溶液，並稀釋至刻度標記。

2.15. 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。



2.16. 方法空白

方法空白應依照第 4.1.3 段至第 4.3 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. 冷凍櫃，可在 $\sim 20^{\circ}\text{C}$ 溫度下運作。
- 3.11. 玻璃試管。
- 3.12. 離心式蒸發器或同等類型的系統。
- 3.13. 氨丙基(NH₂) 固相萃取吸附劑，55- 至 105- μ m，6-mL 固相萃取管柱，含 500 mg 吸附劑或同等類型的消耗品。
- 3.14. 0.20 μ m 的聚四氟乙烯(PTFE)過濾薄膜或同等類型的消耗品。
- 3.15. 液相色譜玻璃樣本瓶。
- 3.16. 高效液相色譜柱，Symmetry C₁₈色譜柱 (4.6 $\times$ 250 mm，5 μ m) 或同等類型的色譜柱。



3.17. HPLC Alliance 系統或性能相當的系統。

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 至 5 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. 將 2 mL 的樣本溶液轉移至新的 15 mL 離心管中。

4.1.9. 用自動移液器將 6 mL 的乙醇放入離心管中並渦旋振蕩 ~30 s。

4.1.10. 把樣本溶液（第 4.1.9 段）擺放在 ~-20 °C 的冷凍櫃中冷藏 ~10 min。

4.1.11. 以 ~4000 rpm 的轉速對樣本溶液進行 ~10 min 的離心處理，沉澱固體物或上浮物。

4.1.12. 用自動移液器將 4 mL 的上清液轉移至玻璃試管中。

4.1.13. 用離心式蒸發器在 ~80 °C 下將上清液蒸發至乾，然後用 1 mL 的 50 % 甲醇溶液重新溶解。

4.1.14. 用自動移液器依序地將 0.5 mL 的乙醇和 8.5 mL 的乙腈轉移至玻璃試管中。



4.1.15. 把樣本溶液渦旋振蕩 ~30 s。

4.2. 樣本淨化

4.2.1. 用 ~5 mL 的乙腈活化 NH_2 固相萃取柱，然後用 5 mL 的 **95 % 乙腈溶液** 洗脫。棄掉洗脫液。

4.2.2. 把樣本溶液 (第 4.1.15 段) 完全轉移至 NH_2 固相萃取柱。棄掉洗脫液。

4.2.3. 用 5 mL 的 **95 % 乙腈溶液** 沖洗玻璃試管，然後再完全轉移至 NH_2 固相萃取柱中。棄掉洗脫液。

4.2.4. 進一步將 5 mL 的 **70 % 乙腈溶液** 加入 NH_2 固相萃取柱中，並將洗脫液收集在新的玻璃試管中。

4.2.5. 用離心式蒸發器在 ~80 °C 下將洗脫液蒸發至乾，然後用 1 mL 的 50 % 甲醇溶液重新溶解。

4.2.6. 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。

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。

4.3. 高效液相色譜二極管陣列分析

4.3.1. 按照使用手冊以操作高效液相色譜二極管陣列系統，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。

4.3.2. 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	:	Alliance 系統或同等類型的系統		
液相色譜柱	:	Symmetry 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
		8.0	95	5
		15.0	85	15
		25.0	80	20



		40.0	80	20
		70.0	78	22
		95.0	65	35
		100.0	15	85
		101.0	2	98
		116.0	2	98
		116.5	95	5
		125.0	95	5
流速	:	0.8 mL/min		
進樣量	:	10 µL		
報告的保留時間	:	Re ~55.0 min Rg1 ~53.0 min Rf ~91.5 min Rb1 ~95.5 min		
柱溫度	:	25 °C		
檢測波長	:	203 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-