

衛生署
政府中藥檢測中心

助陽補益類中成藥 (含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

2025年1月

助陽補益類中成藥 (含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

內容

- 簡介政府中藥檢測中心
- 項目背景
- 利用LC-DAD檢測補骨脂和人參
- 利用LC-MS/MS檢測補骨脂和人參
- 結果計算及建議質量控制參數
- 本港市面助陽補益類中成藥產品分析



助陽補益類中成藥(含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

簡介政府中藥檢測中心

政府中藥檢測中心(檢測中心) – 發展歷程



2015

在香港科學園設立臨時中心，以開展部分工作

宣布成立檢測中心，專責中藥檢測及科研



2019

中醫醫院及檢測中心動土典禮



2025

檢測中心永久大樓預計2025年落成分階段投入服務



2017

宣布興建檢測中心永久大樓



2022



檢測中心 - 使命及目標

使命

- 利用先進的科技並通過科研，研發一系列國際認可的中藥及其產品的參考標準
- 透過技術轉移予中藥業界，加強業界對中藥及其產品的品質控制
- 建立香港中藥品牌形象



目標及功能



開展
中藥的高端科技研究



設立
中藥標本實驗室



設立
培訓及技術轉移中心



制訂
中藥參考標準

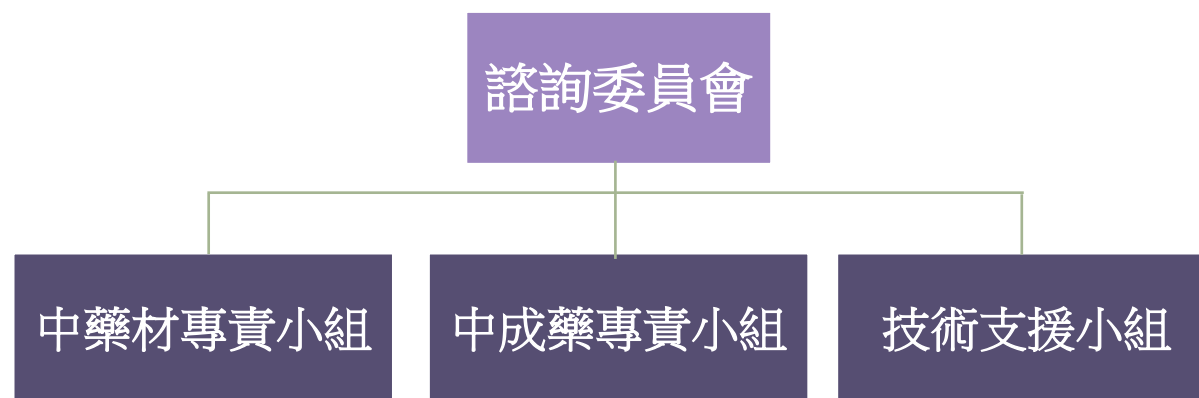
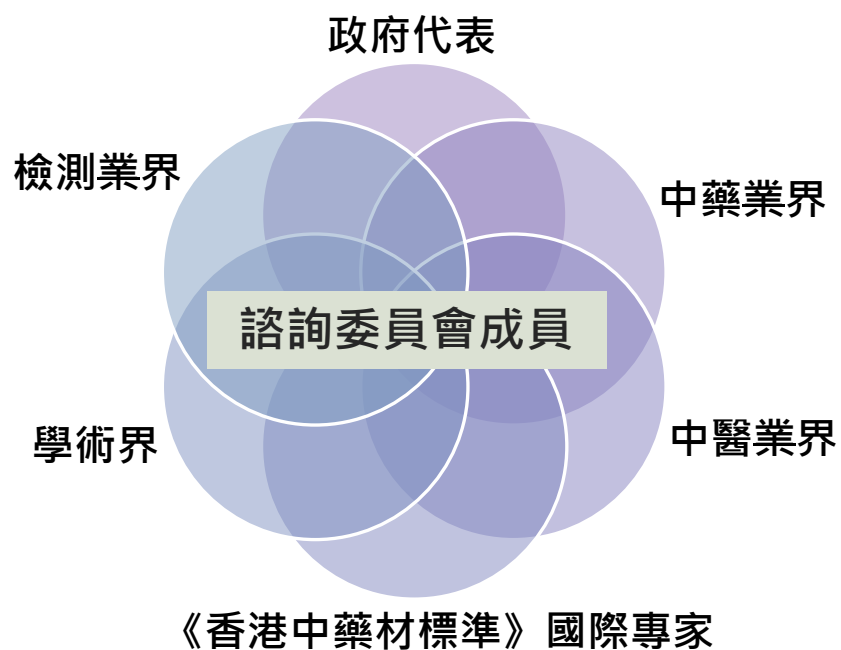


強化
與國際間之合作



政府中藥檢測中心諮詢委員會

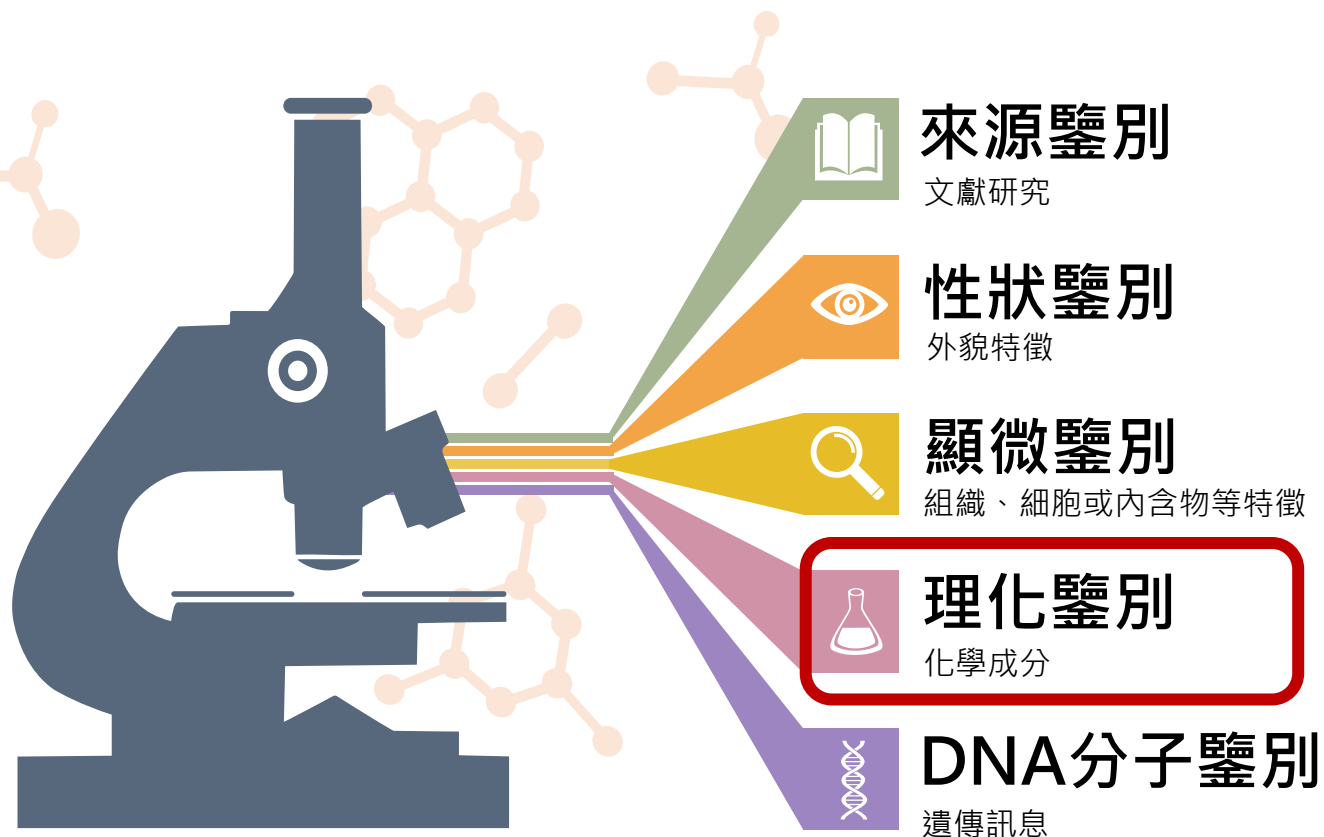
- 2017年成立，討論「檢測中心」的定位及工作目標
- 提供平台予持份者就「檢測中心」的長遠發展策略、措施及工作計劃提供意見
- 轄下小組就專門課題作聚焦討論，及就研究項目的技術問題提供專家意見



檢測中心 - 中醫藥現代化

提倡利用多學科的鑒別手段研究

- 中藥材 及 中成藥



檢測中心的實驗室



化學實驗室

性狀及顯微鑒別實驗室

DNA實驗室



檢測中心 - 實驗室認可資格

品質管制及認證

- 自2022年6月起
- 香港認可處(HKAS) - 香港實驗室認可計劃 (HOKLAS)
- 根據國際標準 ISO/IEC 17025:2017
《測試及校正實驗室能力的通用規定》

認可類別：中藥測試

認可範疇：



測試項目	認可活動	標準方法或應用技術
中成藥 (搽劑 - 藥油)	利用氣相色譜法檢測外用中藥藥油中的α-蒎烯、桉油精、樟腦、薄荷醇和水楊酸甲酯含量	政府中藥檢測中心方法 RD-MTD-13
紅花(粉末)	為紅花(粉末)進行顯微鑒別	《香港中藥材標準第六冊》
中藥材 (三七)	以脫氧核糖核酸 (DNA)測序技術鑒別三七	政府中藥檢測中心方法 RD-MTD-31





化學實驗室 研究項目

外用藥油

中藥材指標成分的分析



內服中成藥

中藥材指標成分的分析

- 枇杷膏
- 白鳳丸
- 含補骨脂和人參的中成藥
- 中藥複方顆粒的化學指標成分分析



透過不同渠道及形式積極展開宣傳及教育工作，與不同持份者分享研究成果

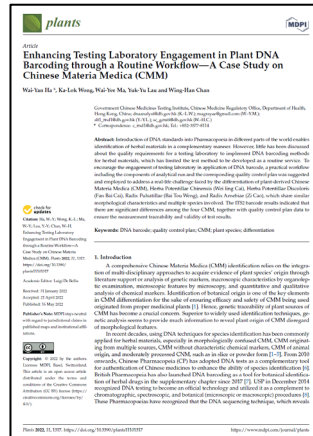
／ 舉辦簡介會及工作坊

／ 上載研究成果至衛生署網頁 (<https://www.cmro.gov.hk>)

／ 透過香港中醫藥管理委員會的《中醫組通訊》及《中藥商通訊》

／ 於電台節目及報章欄目介紹

／ 出版於科學刊物



助陽補益類中成藥(含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

項目簡介

助陽補益類中成藥產品檢測方法

助陽補益類中成藥產品檢測方法已上載至衛生署網頁

中藥材	指標成分	LC-DAD	LC-MS/MS
補骨脂	補骨脂素異 補骨脂素	GCMTI RD-8:2023	GCMTI RD-2:2024
人參	人參皂苷類	GCMTI RD-1:2024	GCMTI RD-3:2024



● 檢測方法

實驗程序

GCMTI RD-3:2024

4. 步驟

4.1. 配製樣本

4.1.1. 分析前使用研磨機或攪拌機把固體樣本進行研磨及均質化處理。

4.1.2. 精密稱取 0.25 克樣本放入 15 毫升的離心管。

4.1.3. 把 10 毫升提取劑 (第 2.8 段) 注入離心管, 然後將離心管過振盪 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 分鐘音波振盪處理。

4.1.5. 以每分鐘 4000 轉的轉軸對樣本溶液進行 10 分鐘的離心處理並將上清液轉移至 25 毫升容量瓶中。

4.1.6. 以 5 毫升提取劑 (第 2.8 段) 進行兩次第 4.1.3 段至第 4.1.5 段所述的步驟, 以一個 25 毫升的容量瓶收集所有上清液, 然後加入提取劑 (第 2.8 段) 稀釋至刻度標記。

4.2. 樣本淨化 - 固相萃取法

4.2.1. 依次用 5 毫升乙腈 (第 2.1 段) 和 5 毫升 95% (v/v) 乙腈 (第 2.9.1 段) 活化固相萃取柱 (第 3.1.1 段)。

4.2.2. 用 9.5 毫升乙腈 (第 2.1 段) 把 0.5 毫升樣本溶液 (第 4.1.6 段) 稀釋。

4.2.3. 將稀釋後的樣本溶液 (第 4.2.2 段) 加入固相萃取柱。

4.2.4. 用 5 毫升 95% (v/v) 乙腈 (第 2.9.1 段) 沖洗容器, 並將沖洗液轉移至固相萃取柱。

4.2.5. 用 8 毫升 70% (v/v) 乙腈 (第 2.9.2 段) 洗脫固相萃取柱, 收集洗脫液至 10 毫升的容量瓶, 然後加入 70% (v/v) 乙腈 (第 2.9.2 段) 稀釋至刻度標記。

4.2.6. 用提取劑 (第 2.8 段) 把樣本溶液 (第 4.2.5 段) 稀釋 2.5 倍 (樣本溶液 (第 4.1.6 段) 的稀釋度為 50 倍)。

4.2.7. 以 0.2 微米聚四氟乙烯過濾膜過濾樣本溶液至液相色譜樣本瓶中, 便可用液相色譜串聯質譜儀進行分析。
註: 如果分析物的濃度不在校準範圍內, 可用提取劑 (第 2.8 段) 把樣本溶液作進一步稀釋。

儀器設定

GCMTI RD-3:2024

4.3. 液相色譜串聯質譜分析

4.3.1. 按照使用手冊以操作液相色譜串聯質譜系統, 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報表上。

4.3.2. 建議的液相色譜操作條件:

液相色譜系統: Thermo Scientific UHMate 3000 液相色譜系統或其同等效能的系統
 液相色譜柱: GL Sciences Inertsustain C18, 5 微米, 2.1 毫米 x 250 毫米或同等規格
 柱溫度: 40 °C
 流速: 每分鐘 0.3 毫升
 樣容量: 5 微升
 流動相: A: 水
 B: 甲醇
 梯度: 時間 (分鐘) A% B%
 0.0 60 40
 2.0 60 40
 16.0 30 70
 23.0 30 70
 23.1 5 95
 25.0 5 95
 25.1 60 40
 28.0 60 40

4.3.3. 建議的串聯質譜操作條件:

串聯質譜儀系統: SCIEX 6500+ 系統
 離子源: 電噴霧 (ESI)
 離子源模式: 負離子模式
 離子噴霧電壓: -4500 伏特
 離子源溫度: 350°C
 霧化氣 (GS1): 40
 輔助加熱氣 (GS2): 40
 氣簾氣 (CUR): 25
 碰撞氣 (CAD): 中度
 掃描模式: 多重反應監測 (MRM) 掃描模式

● 補充資料

驗證方法

GCMTI RD-3:2024
補充資料

補充資料
(資訊性)

本方法經政府中藥檢測中心開發和驗證, 以下的質量控制計劃/參數和測量不確定度僅供參考, 檢測人員可採用其實驗室的既定質量控制計劃/參數, 並應自行評估測量結果的不確定度。如對本方法步驟作出任何修改, 檢測人員應加以充分驗證, 並有責任在採用本方法時評估有關修改是否適用。

S.1. 方法驗證採用由政府中藥檢測中心製備的實驗室樣本 (LCS) 和從本港市面採用的中成藥樣本 (pCm) 進行。

S.1.1. 實驗室對照樣本: 由政府中藥檢測中心將補骨脂、人參和其他不同的中藥材混合製成三個處方, 包括海狗丸 (LCS-I)、鹿茸/鹿尾丸 (LCS-II) 和鱘龍魚補片 (LCS-III)。詳細內容載列於下表:

樣本編號	LCS-I
參考處方	海狗丸
參考來源	本港市面標有海狗丸的註冊中成藥產品
成分	補骨脂 (Fructus Psoraleae) 人參 (Radix Ginseng) 鹿茸 (Radix Rehmanniae) 淫羊藿 (Herba Epimedium) 菟絲子 (Cuscuta Semen) 鱘龍魚 (Herba Cynomorii) 茯苓 (Poria) 山萸肉 (Fructus Corni) 鹿鞭 (Cortex Uromastix) 靈芝 (Radix Angelicae Sinesis) 何首烏 (Radix Morindae Officinalis) 何首烏 (Radix Polygoni Multiflori) 海狗鞭 (Ur seal penis)

方法驗證數據

GCMTI RD-3:2024
補充資料

S.7. 回收率研究: 人參皂苷 (Re, Rgl, Rf 和 Rb1) 於實驗室對照樣本 (第 S.1.1 段)、空白基質樣本 (第 S.1.2 段) 和中成藥樣本 (第 S.1.3 段) 中不同加標濃度的回收率研究結果載列於下表:

分析物	樣本編號	樣本濃度 (微克/克)	加標濃度	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相對標準偏差 (%)	數量
NS-I	ND ¹	12.6 µg/g	98.8-102.8	101.2	1.74	7	
		80.1 µg/g	101.6-104.4	102.6	0.95	7	
		122.2 µg/g	101.1-104.1	103.1	1.02	7	
	ND ²	12.6 µg/g	99.4-104.7	101.5	2.15	7	
		80.1 µg/g	99.3-103.0	101.4	1.46	7	
		122.2 µg/g	100.6-108.3	103.7	2.36	7	
	NS-II	ND ²	12.6 µg/g	99.8-103.2	101.4	1.15	7
			80.1 µg/g	98.3-101.8	99.8	1.39	7
			122.2 µg/g	102.9-106.3	104.5	1.34	7
NS-III	pCm-1	27.3	27.2 µg/g	96.5-105.8	102.2	3.18	7
		25.6	27.2 µg/g	98.4-104.2	100.4	2.23	7
		102.0	84.0 µg/g	106.1-110.1	107.9	1.19	7
	pCm-2	41.5	50.6 µg/g	99.4-108.0	103.8	3.52	7
		126.0	105.4 µg/g	100.4-106.2	103.7	2.12	7
		22.8	21.9 µg/g	99.2-104.7	102.0	2.39	7
	pCm-7	279.1	306.4 µg/g	99.1-107.6	103.8	3.14	7
		37.0	35.7 µg/g	99.9-107.6	103.7	3.15	7
		ND ¹	28.9 µg/g	96.7-101.5	99.3	2.45	7
人參皂苷 Re	LCS-I	122.5	ca. 10.5 µg/mL ¹	101.8-108.8	104.0	2.34	7
		187.3	ca. 10.5 µg/mL ¹	101.2-107.5	104.4	2.01	7
		82.1	ca. 10.5 µg/mL ¹	99.3-107.6	102.5	3.04	7
	LCS-II	27.3	ca. 10.6 µg/mL ¹	98.1-105.9	101.9	2.85	7
		25.6	ca. 10.6 µg/mL ¹	94.3-102.5	99.7	2.91	7
		102.0	ca. 10.5 µg/mL ¹	97.0-101.2	99.0	1.80	7
	pCm-4	61.5	ca. 10.5 µg/mL ¹	100.1-107.9	103.9	2.39	7
		126.0	ca. 10.5 µg/mL ¹	97.7-101.8	100.0	1.22	7
		22.8	ca. 10.5 µg/mL ¹	101.7-104.9	103.4	1.15	7
pCm-8	279.1	ca. 10.6 µg/mL ¹	96.8-107.7	99.4	2.03	7	
	37.0	ca. 10.6 µg/mL ¹	101.0-104.8	104.7	2.84	7	
	ND ¹	ca. 10.6 µg/mL ¹	96.7-109.0	100.9	3.88	7	



掃描獲取
分析方法



助陽補益類中成藥

- 助陽補益類中成藥 泛指有補腎、補血、健腦、壯腰及強健機能等功效的中成藥
- 在香港市場上本港市面常見的處方和劑型包括



☛ 根據《中醫藥條例》，**中成藥**指用中藥材作為有效成分配製成特定劑型，並用於診斷、治療、預防或舒緩疾病，調節人體機能狀態的產品

法律要求

所有中成藥必須根據《中醫藥條例》註冊

銷售條件

註冊後才可進口、製造和銷售

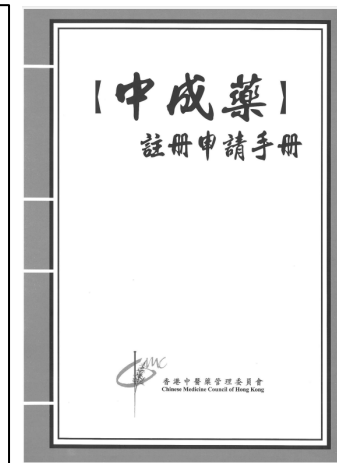
品質標準

必須符合註冊要求中的品質標準

中成藥製造商 需要為其產品進行檢測

《中醫藥條例》 (第 549 章)		
目錄		
條次		頁次
第 1 部 導言		
1.	簡稱及生效日期	1-1
2.	釋義	1-1
第 11 部 香港中醫藥管理委員會		
3.	管委會的設立	2-1
4.	管委會的組成	2-1
5.	成員的委任期	2-1
6.	代替成員	2-3
7.	職位懸空	2-3
8.	臨時成員	2-5
9.	喪失資格	2-5
10.	管委會的秘書及法律顧問	2-7
11.	管委會的職能	2-7

《中醫藥條例》



中成藥註冊手冊



🌿 業界反映，在檢測此類中成藥過程中遇到不少困難

處方劑型

市場上的助陽補益類中成藥產品處方及劑型皆多樣化

干擾問題

化學成分與基質互相干擾嚴重

費用高昂

開發方法的高昂費用讓廠商望而卻步

缺乏參考

產品具本港特色，難以找到合適的品質檢測技術作為參考



🌿 檢測中心針對業界需求，開展研究項目，**開發檢測方法**



掃描獲取
分析方法



🌿 **研究工作重點**

- 以處方中常用配伍的君臣藥，即**補骨脂**和**人參**作為研究主幹 >> **具高專屬性**
- 針對本港助陽補益類中成藥，**能廣泛應用於不同處方和劑型的產品** >> **具高通用性**
- **提供不同儀器的選擇**，配合各持份者的需求 >> **雙技術支持**

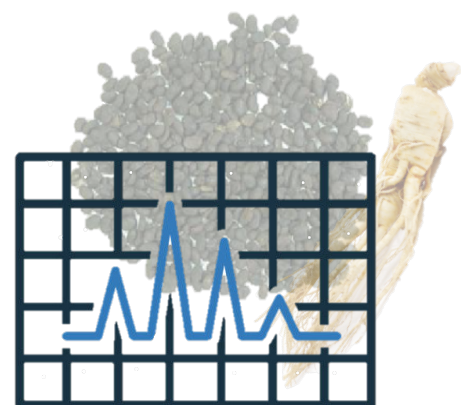
🌿 **檢測方法的重要性**

- 無需再就每一種中成藥逐一開發檢測方法
- 顯著簡化實驗室的工作流程，提升工作的效率，降低了錯誤的風險
- 減低在建立分析方法方面的成本，協助業界解決檢測技術困難及提供制定品質標準的參考



化學指標成分的選擇

- ☛ 研究項目主要針對補骨脂和人參開發檢測
- ☛ 參考〈中國藥典〉內的專論
 - 中藥材 (補骨脂和人參)
 - 成方製劑 (含有補骨脂和人參)
- ☛ 選取以下的化學指標成分作為研究對象



人參	補骨脂
人參皂苷 Re	補骨脂素
人參皂苷 Rg1	
人參皂苷 Rb1	異補骨脂素
人參皂苷 Rf	



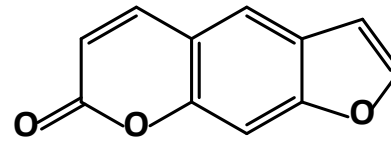
化學指標成分的選擇

人參

- 人參皂苷 Re
- 人參皂苷 Rg1
- 人參皂苷 Rb1
- 人參皂苷 Rf

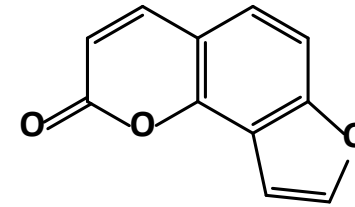
補骨脂

- 補骨脂素
- 異補骨脂素



補骨脂素
Psoralen

LC-DAD✓ | LC-MS/MS✓

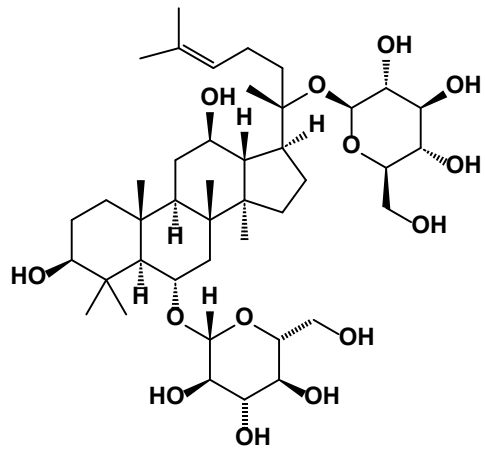


異補骨脂素
Isopsoralen

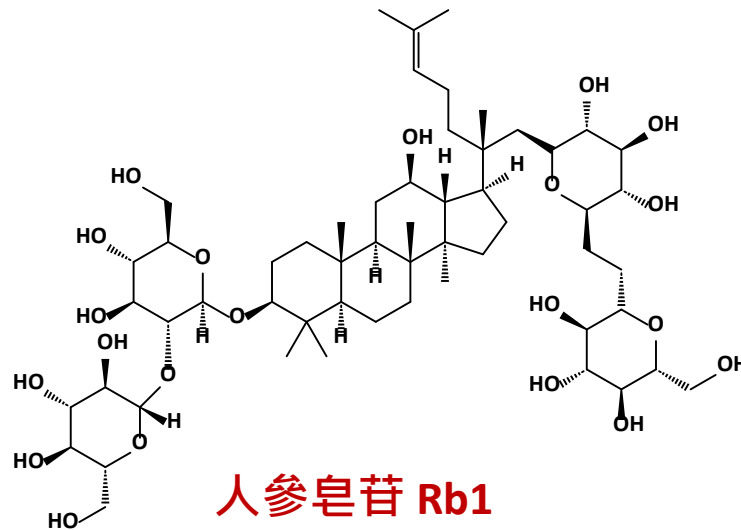
LC-DAD✓ | LC-MS/MS✓

香豆素類
Coumarin derivatives

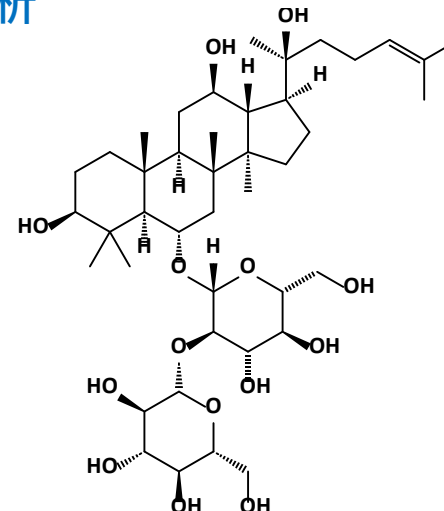
- 選擇的化學指標成分皆可透過LC-DAD和LC-MS/MS進行分析



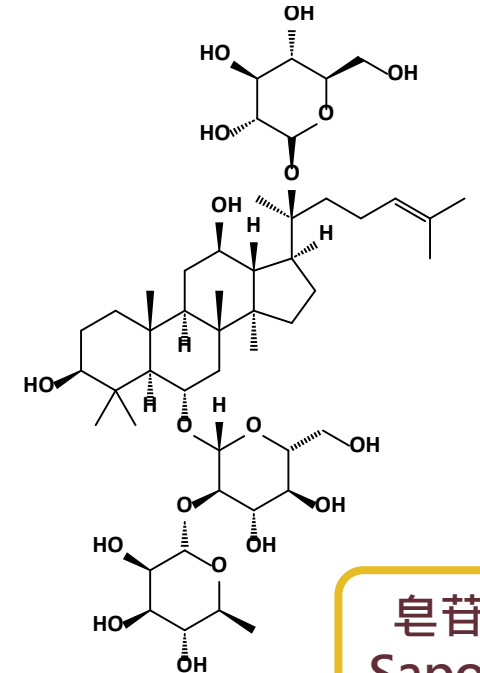
人參皂苷 Rg1
Ginsenoside Rg1
LC-DAD✓ | LC-MS/MS✓



人參皂苷 Rb1
Ginsenoside Rb1
LC-DAD✓ | LC-MS/MS✓



人參皂苷 Rf
Ginsenoside Rf
LC-DAD✓ | LC-MS/MS✓

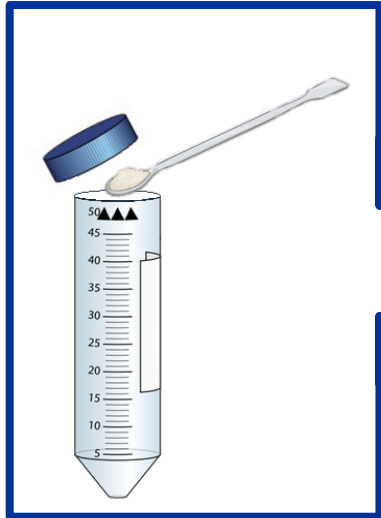


人參皂苷 Re
Ginsenoside Re
LC-DAD✓ | LC-MS/MS✓

皂苷類
Saponin



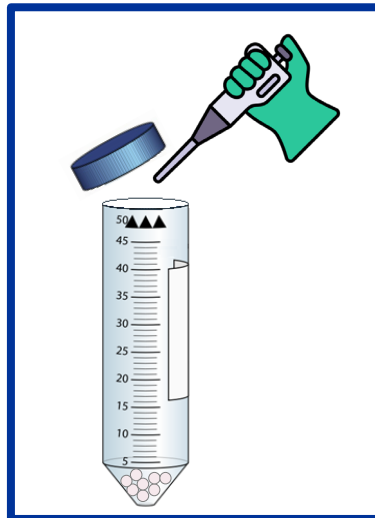
稱取



樣本用量

0.25g – 0.5g

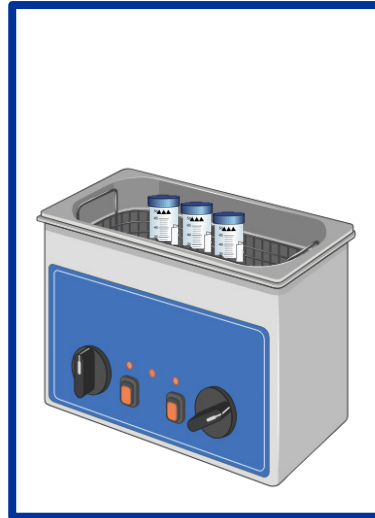
提取



溶劑提取

70% MeOH
10+5+5 mL

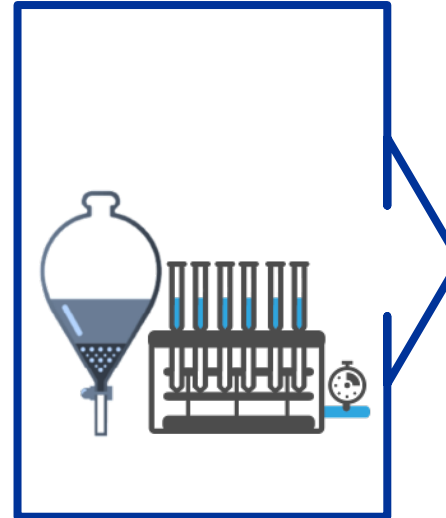
淨化



提取方法

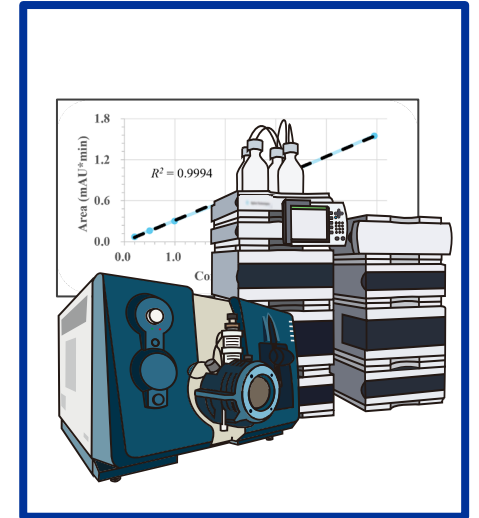
音波振動處理
20min X 3 次

分析



樣本淨化

- 溶劑提取
- 溶劑洗淨
- 固相萃取
- 稀釋



儀器分析

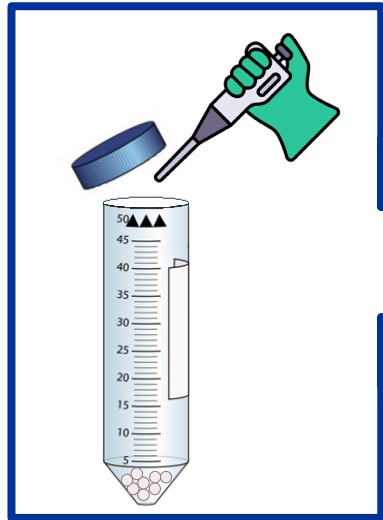
- LC-DAD
- LC-MS/MS



☛ 嘗試使用不同的溶劑組合用作提取溶劑，提高提取效益

人參皂苷類：70%MeOH \cong 50%MeOH > MeOH > EtOH > ACN

補骨脂素類：70%MeOH \cong MeOH > 50%MeOH > EtOH > ACN



溶劑提取

- 提取溶劑的影響
 - 人參皂苷類
 - 皂苷類化合物需要含水份的溶劑作有效提取
 - ACN未能有效提取皂苷類化合物
 - 補骨脂素類
 - 溶劑中過多的含水量會影響補骨脂素類的提取
- 選取70% MeOH 作提取溶劑

- 提取次數
 - 比較連續4次提取的峰面積
 - 提取第2次 > 98% 提取率
- 選取3次提取次數



方法學考察

項目	考察內容	考察樣本
專屬性 (Specificity)	空白溶液是否受干擾分析	空白溶液
線性和範圍 (Linearity)	在適當的範圍內，五點校準曲線的相關係數 ≥ 0.99	校準標準品
方法檢測限 (MDL) & 定量限 (LOQ)	分析7個加標空白基質樣本 MDL = 3.14 X SD LOQ = 10 X SD	加標空白基質樣本 [^]
重複性研究 (Repeatability)	重複進樣分析的RSD <ul style="list-style-type: none">校準標準品 (n=10)實驗室對照樣本 (n=7)中成藥樣本 (n=7)	1. 校準標準品 2. 實驗室對照樣本* 3. 中成藥樣本
回收率研究 (Recovery)	分析加標樣本 (Pre- & post-spike) <ul style="list-style-type: none">空白基質樣本實驗室對照樣本中成藥樣本	1. 空白基質樣本 2. 實驗室對照樣本 3. 中成藥樣本

* 由檢測中心製備

[^] 由檢測中心製備或從本港市面獲取

實驗室對照樣本

由檢測中心將**補骨脂**、**人參**和**其他不同的中藥材**混合製

• 海狗丸

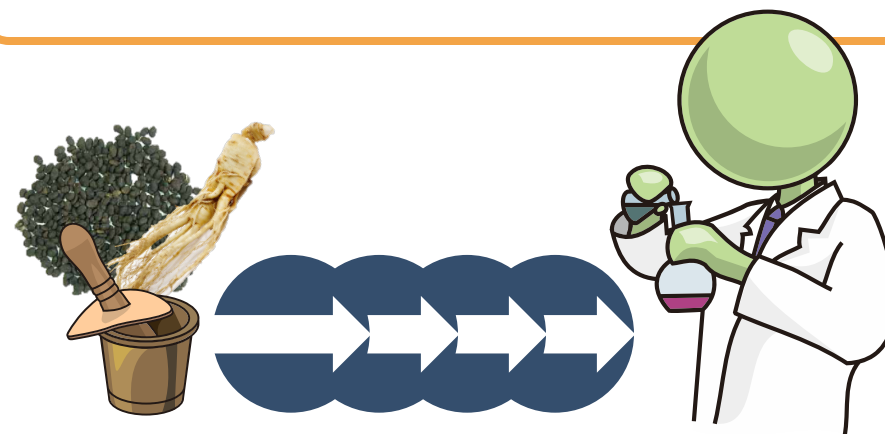
- ◆ 本港市面標有海狗丸的註冊中成藥產品

• 鹿茸 / 鹿尾朮丸

- ◆ 本港市面標有鹿茸 / 鹿尾朮丸的註冊中成藥產品

• 蠶蛾公補片

- ◆ 2020年版《中華人民共和國藥典》中蠶蛾公補片的專論



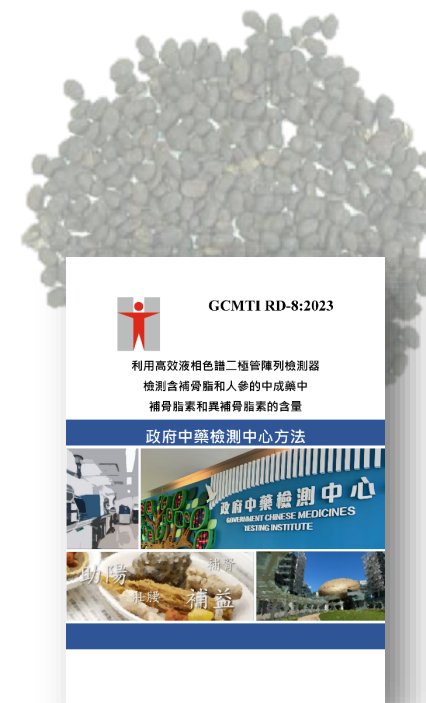
助陽補益類中成藥(含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

利用液相色譜法(LC-DAD)檢測補骨脂和人參

利用 LC-DAD 檢測補骨脂和人參

利用 LC-DAD 技術開發分析方法

分析方法	GCMTI RD-8:2023	GCMTI RD-1:2024
中藥材	補骨脂	人參
化學指標成分	補骨脂素 異補骨脂素	人參皂苷Re
樣本用量	0.25 g	0.5 g
提取溶劑	70% 甲醇	
樣本溶液的製備	聲波提取 20 min – 3次	
淨化	--	溶劑萃取/洗淨/固相萃取
校準範圍	0.25 – 5 µg/mL	10 – 50 µg/mL

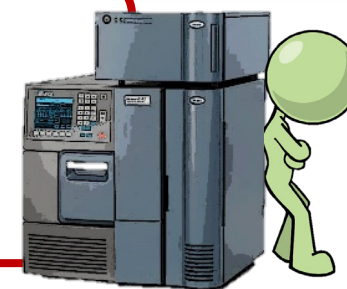


應用特點

- 方法簡單易用
- 分析儀器較普及
- 適用於化學指標成分含量較高的樣本

應用要點

- 需要更多實驗步驟來處理干擾問題
- 分析時間相對較長
- 只針對人參皂苷Re進行分析



補骨脂-化學指標成分分析

補骨脂素/異補骨脂素 - LC-DAD儀器設定

研究考察

1

色譜柱 (LC-column)

長度; 粒徑

2

流動相 (Mobile phase)

ACN vs MeOH;
Water vs 0.05% PA vs 0.1% FA

3

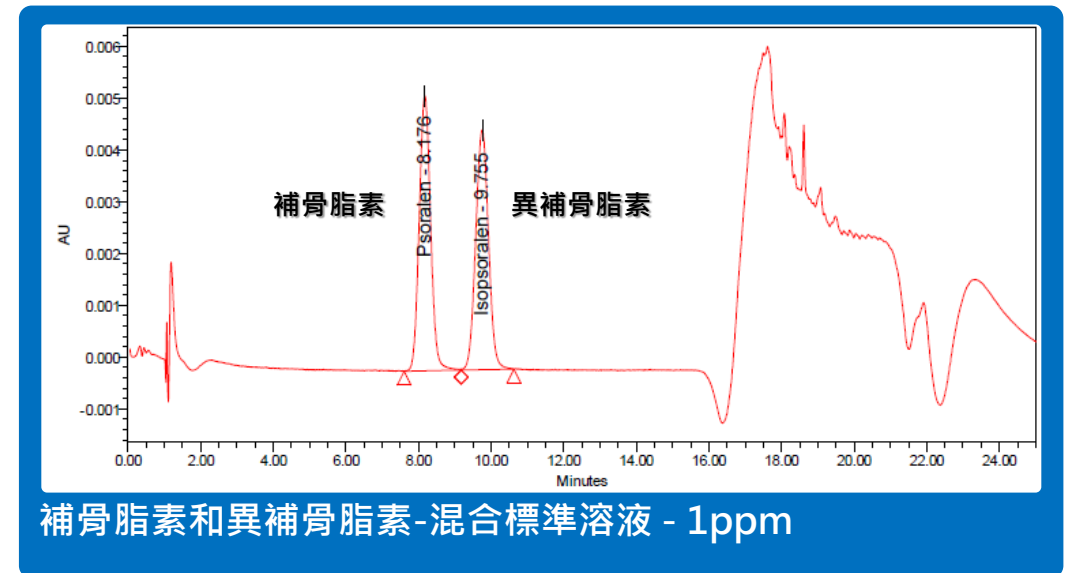
柱溫度 (Column temperature)

25°C vs 35°C

- 優化色譜峰展寬(peak width)和改善拖尾(tailing)的現象
- 檢測靈敏度高、準確性良好



液相色譜系統	: Waters Alliance e2695 HPLC system		
液相色譜柱	: Thermo Scientific Hypersil GOLD™ C18 selectivity 3 μm, 2.1 mm × 100 mm		
柱溫度	: 35 °C		
流速	: 0.3 mL/min		
進樣量	: 5 μL		
流動相	: A: 0.05 % Phosphoric acid solution B: MeOH		
梯度	: Time (min)	A%	B%
	0.0	70	30
	13.0	70	30
	13.1	5	95
	18.0	5	95
	18.1	70	30
	25.0	70	30
檢測波長	: 245nm		

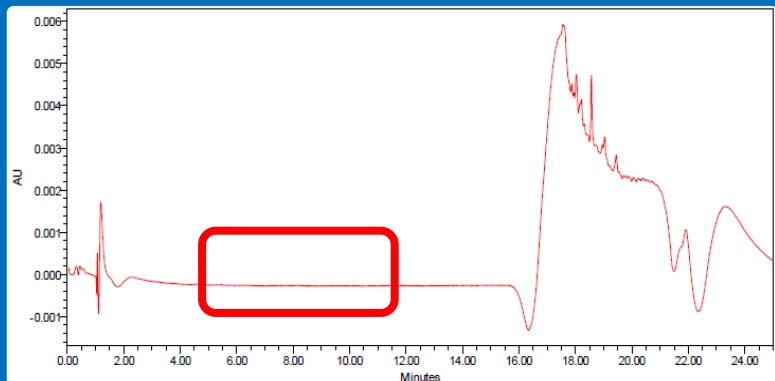


補骨脂-化學指標成分分析

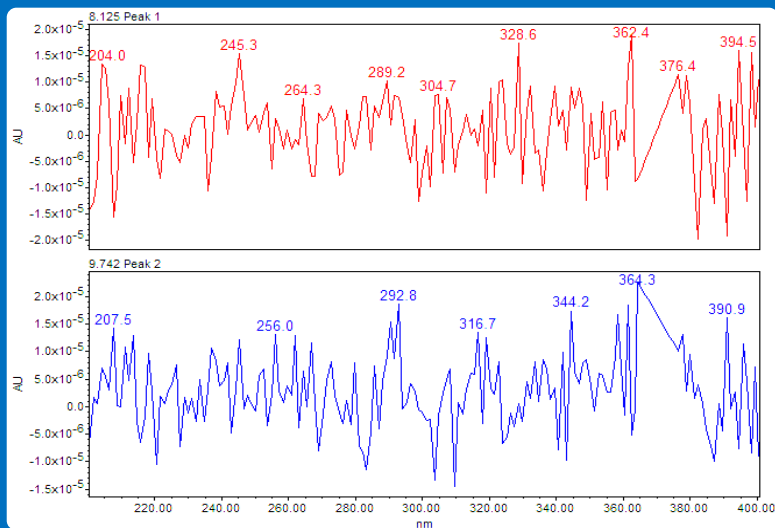
補骨脂素/異補骨脂素 - LC-DAD方法的專屬性分析

空白樣本溶液

245nm檢測的色譜圖

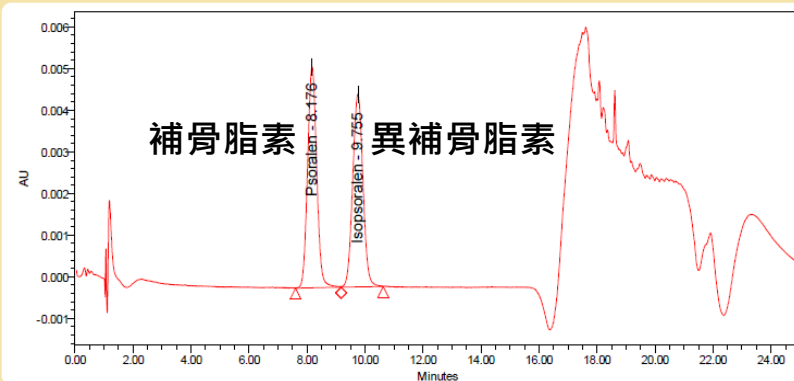


紫外線吸收光譜 (200-400nm) (上: 8.1min; 下: 9.7min)

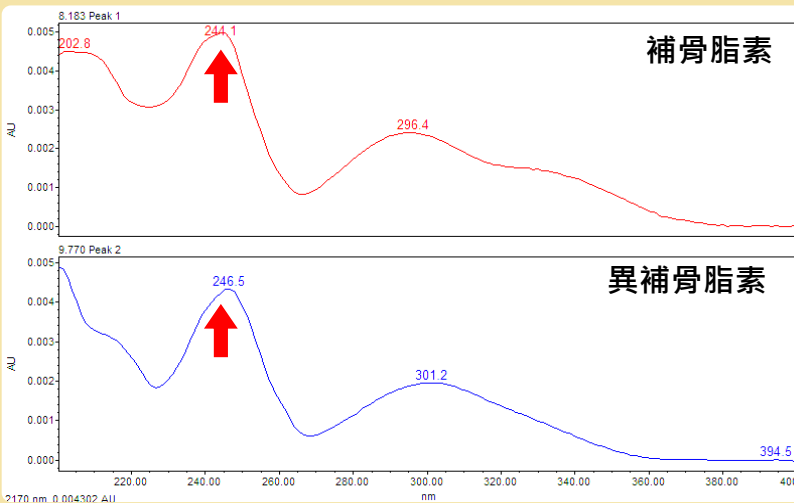


補骨脂素和異補骨脂素-混合標準溶液 - 1ppm

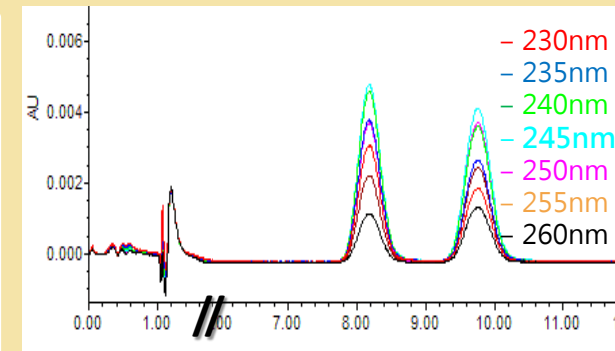
245nm檢測的色譜圖



紫外線吸收光譜 (200-400nm) (上: 8.1min; 下: 9.7min)



不同波長下測得的色譜圖



- 在優化的色譜條件下，補骨脂素和異補骨脂素可以達到基線分離 (baseline separation)，進行定量分析
- 波長 245nm 可為兩種分析物提供強烈訊號
- 空白樣本溶液無干擾



補骨脂-化學指標成分分析

補骨脂素/異補骨脂素 - LC-DAD方法的驗證結果

線性研究 (Linearity)

$r^2 \geq 0.99$ | 校準範圍: 0.25 – 5.00 $\mu\text{g/mL}$
補骨脂素: $y = 118821x + 1416.9$
異補骨脂素: $y = 120902x + 1003.7$

- 峰面積與濃度線性關係良好

方法檢測限 (MDL) 及 定量限 (LOQ)

MDL | 加標空白基質樣本
 $< 3 \mu\text{g/g}$
• 海狗丸
• 鹿茸/鹿尾朮丸
• 蠶蛾公補片
LOQ
 $< 10 \mu\text{g/g}$

- 在不同的處方下，補骨脂素/異補骨脂素的LOQ均小於10 $\mu\text{g/g}$
- 方法合適用於實際樣品的檢測

重複性研究 (Repeatability)

校準標準品 ($n=10$)

RSD
 $< 1\%$ | 濃度($\mu\text{g/mL}$)
ca. 0.25 / 1 / 5

實驗室對照樣本 ($n=7$)

RSD
 $< 2\%$ | 實驗室對照樣本
• 海狗丸
• 鹿茸/鹿尾朮丸
• 蠶蛾公補片

樣本分析 ($n=7$)

劑型: 丸/蜜丸/膠囊

RSD
 $< 5\%$ | 海狗丸類
• 實驗室對照樣本/中成藥2款
鹿茸/鹿尾朮丸類
• 實驗室對照樣本/中成藥2款
其他類別
• 實驗室對照樣本/中成藥2款

- 在不同濃度水平下的校準標準品及實驗室對照樣本的RSD值均小於5%
- 表明方法可靠，重複性良好

- 在**不同處方/劑型**的實驗室樣本及中成藥樣本的RSD值均小於5%
- 表明方法**具高通用性，適用於多種市場產品**



補骨脂-化學指標成分分析

🌿 補骨脂素/異補骨脂素 - LC-DAD方法的驗證結果



回收率研究 (Recovery)

空白基質樣本加標 (n=7)

回收率範圍
94.3-101.4 %
RSD
< 3.5 %

補骨脂素
3 款處方
校準範圍的 高/中/低 濃度
ca. 28 / 101 / 451 µg/g
平均回收率(%) : 98.2%

回收率範圍
97.6-102.2 %
RSD
< 3.7 %

異補骨脂素
3 款處方
校準範圍的 高/中/低 濃度
ca. 28 / 102 / 450 µg/g
平均回收率(%) : 99.7%

- 空白基質樣本在不同濃度均有良好的加標回收率，表明方法可靠
- RSD值均小於4%，表明重複性良好

中成藥樣本加標 (n=7)

回收率範圍
99.1-104.6 %
RSD
< 4.5 %

補骨脂素
1 :1 加標 - 6 款樣本分析中成藥
最低濃度校準點 - 空白基質中成藥
平均回收率(%) : 101.5%

回收率範圍
95.5-104.5 %
RSD
< 4.1 %

異補骨脂素
1 :1 加標 - 6 款樣本分析中成藥
最低濃度校準點 - 空白基質中成藥
平均回收率(%) : 99.8%

- 中成藥樣本的加標回收率均令人滿意，樣本分析被干擾較少
- 說明方法能提供準確的分析結果

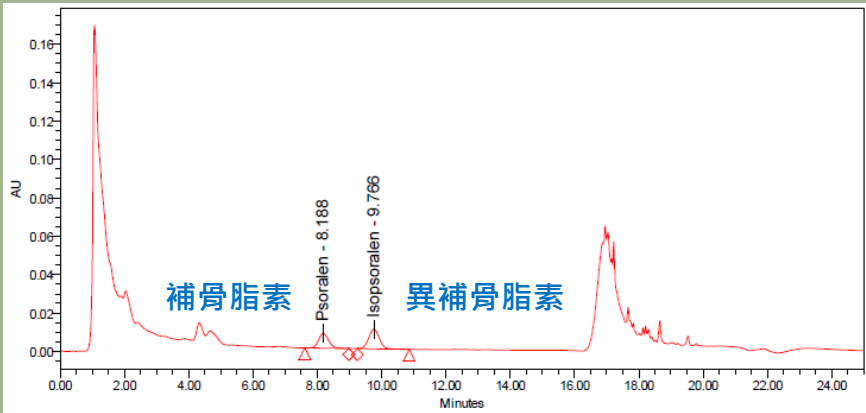


補骨脂-化學指標成分分析

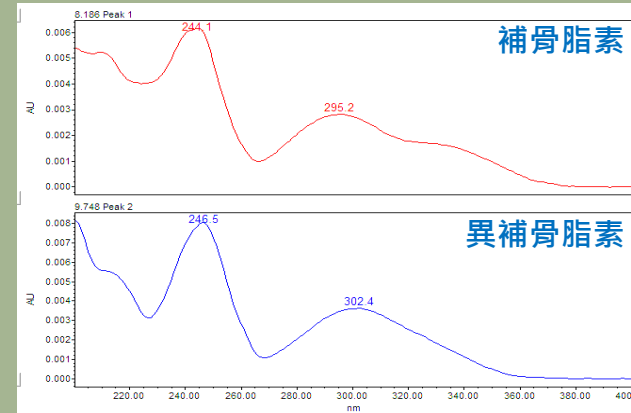
補骨脂素/異補骨脂素 - LC-DAD方法的驗證結果

• 中成藥樣本色譜圖

245nm檢測的色譜圖



紫外線吸收光譜(200-400nm)

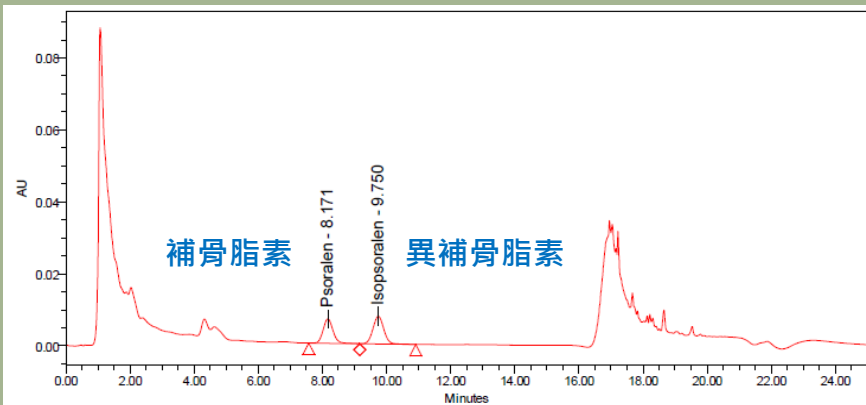


• 分析樣本的色譜圖

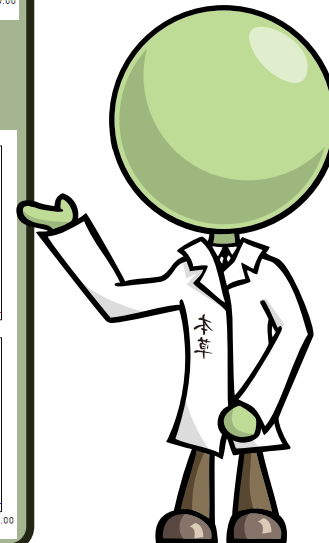
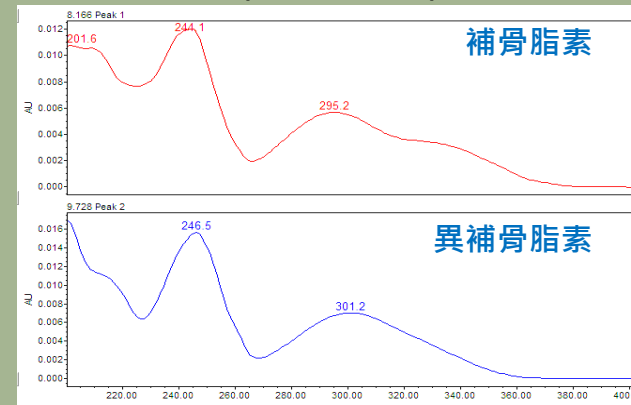
- 補骨脂素/異補骨脂素的樣本分析並未受到干擾

• 加標中成藥樣本色譜圖

245nm檢測的色譜圖

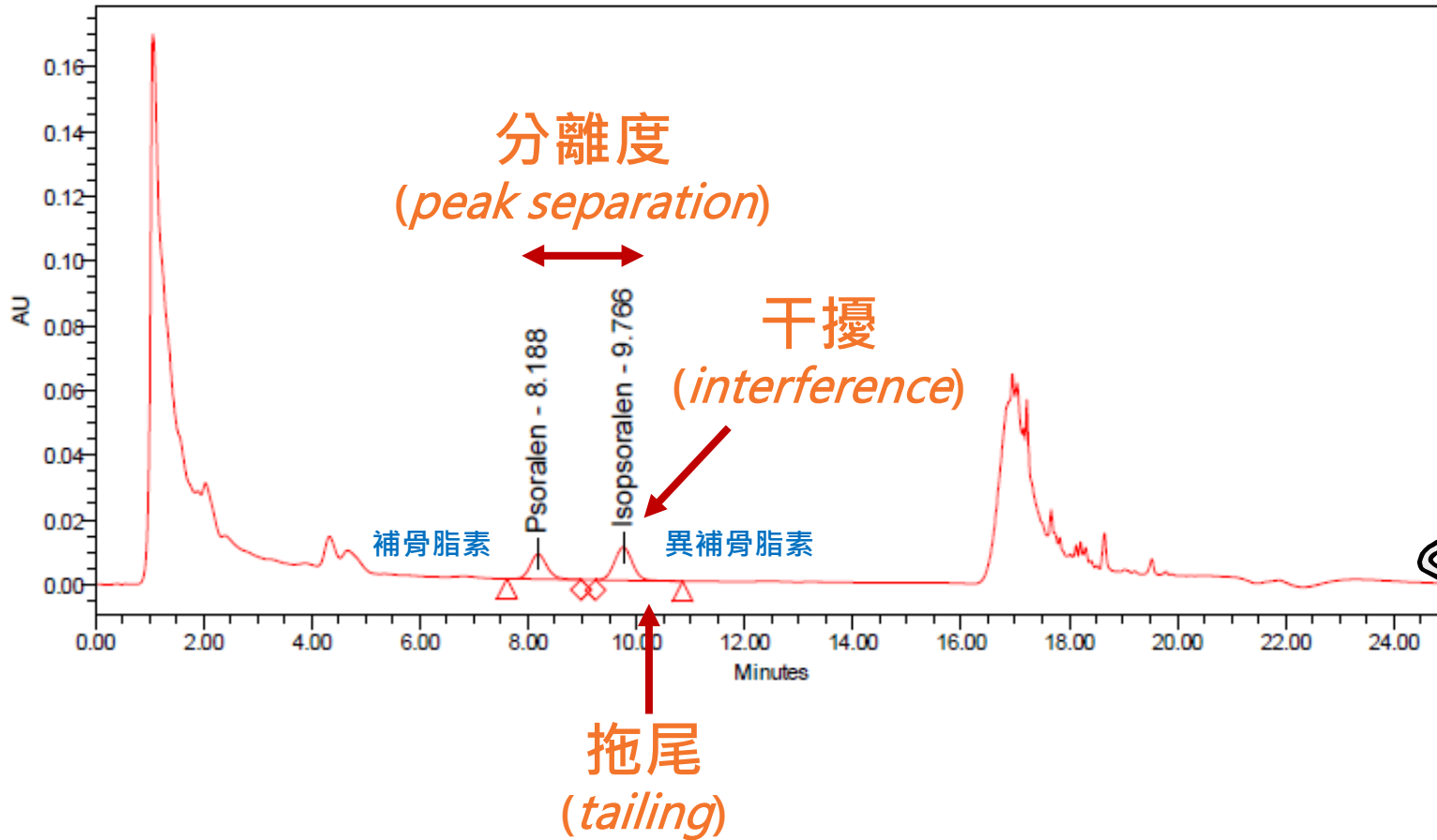


紫外線吸收光譜(200-400nm)



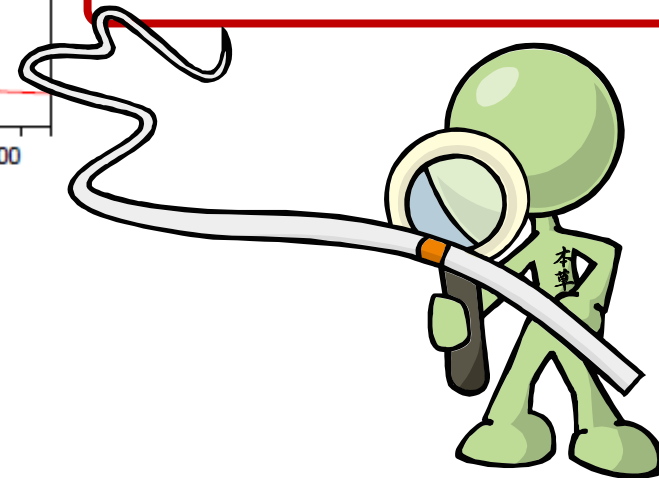
補骨脂-化學指標成分分析

補骨脂素/異補骨脂素 - LC-DAD方法



方法應用要點

- 相鄰色譜峰分離度 (*peak separation*)
- 色譜峰的拖尾現象 (*tailing peak*)
 - 液相色譜柱保養
- 干擾
 - 色譜圖
 - 紫外線吸收光譜



人參-化學指標成分分析

人參皂苷Re - LC-DAD分析方法

為提高方法的**專屬性**和**準確性**，在人參皂苷的LC-DAD分析方法 (GCMTI RD-1:2024) 中引入一系列**淨化程序**

未經淨化
樣本溶液



- 樣本用量 - 0.5g

01
正丁醇
提取



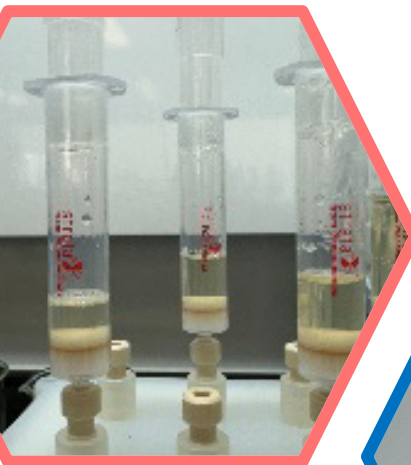
- 去除**水溶性物質**
- 如**糖類**和**無機鹽**

氨試液
洗淨
02



- 去除**酸性物質**
- 去除**顏色**

03
固相萃取
(SPE)



- 去除**其他雜質**

淨化後的
樣本溶液



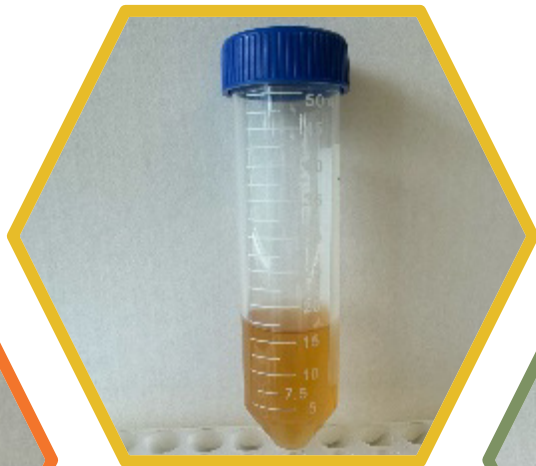
人參-化學指標成分分析

人參皂苷Re - 淨化程序的要點

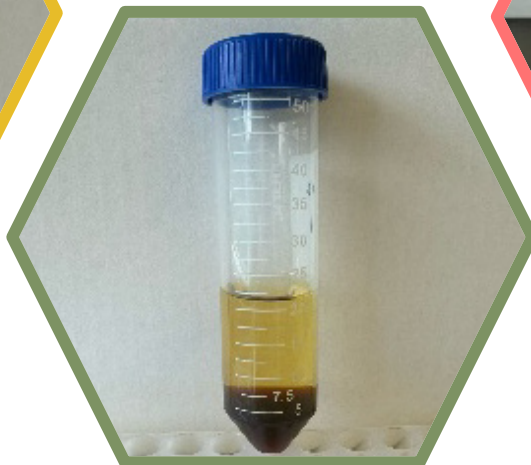
未經淨化
樣本溶液



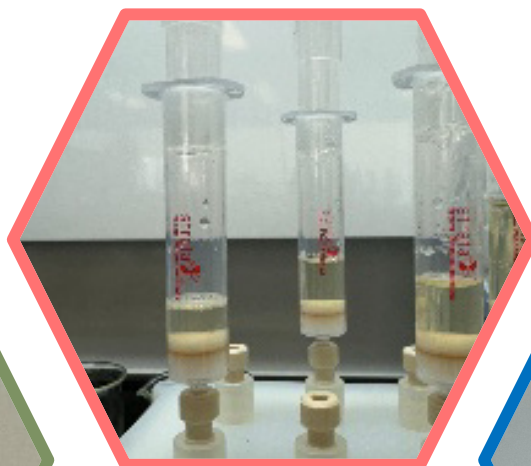
01
正丁醇
提取



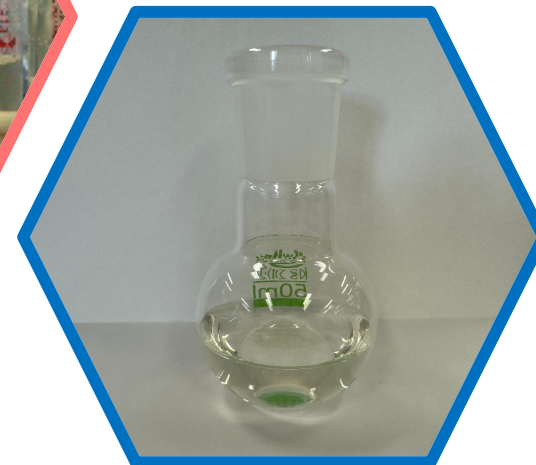
氨試液
洗淨
02



03
固相萃取
(SPE)



淨化後的
樣本溶液



注意

- 驗證過程顯示，**氨試液洗淨**會**去除人參皂苷Rb1**，因此淨化程序不適用於分析此成分

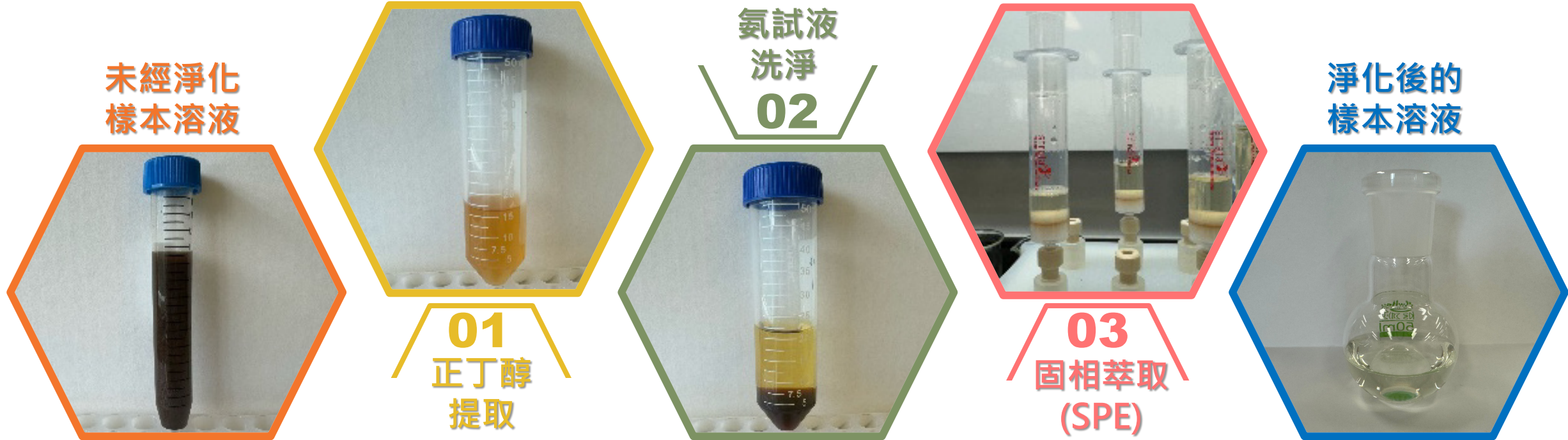
應用要點

- 溶劑用量均已驗證，**需按程序用量進行**
- 淨化程序含有多次旋蒸，需要按實驗程序進行，**過渡旋蒸會降低回收率**
- 可加入約1-2毫升提取溶液促進正丁醇蒸發過程



人參-化學指標成分分析

人參皂苷Re - 淨化程序的要點



固相萃取 - 適用人參皂苷Re / Rg1

- 吸附劑：反相聚合物
- 沖洗：30%(v/v) MeOH
- 洗脫：20%(v/v) ACN

註：人參皂苷Rf / Rb1 不能用20%(v/v) ACN完全洗脫

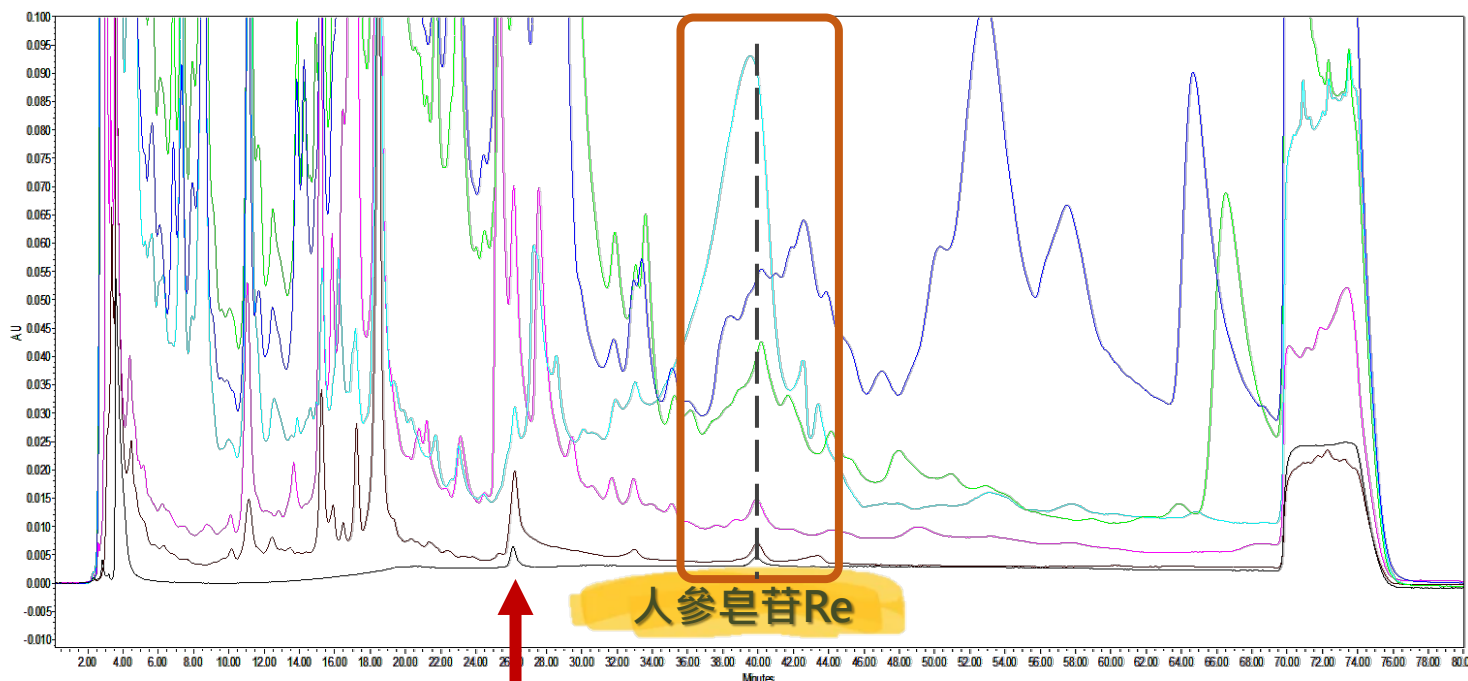


人參-化學指標成分分析

淨化程序 - 驗證結果

LC-DAD

- 未經淨化樣本溶液
- 只經 n-BuOH 提取
- 經 n-BuOH 提取/ NH₃ 洗淨
- 只經 SPE 淨化
- 經 n-BuOH 提取/NH₃ 洗淨 /SPE淨化
- 人參皂苷Re 標準物



注意

- 人參皂苷Rg1在個別樣本上會受干擾，故此並未納入分析方法內



人參-化學指標成分分析

人參皂苷Re - LC-DAD儀器設定

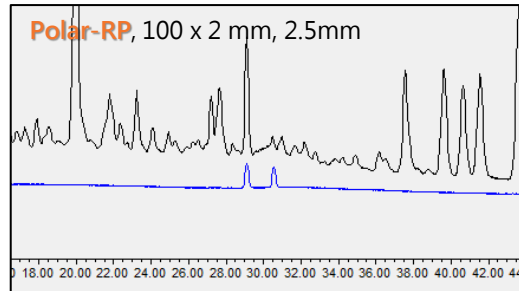
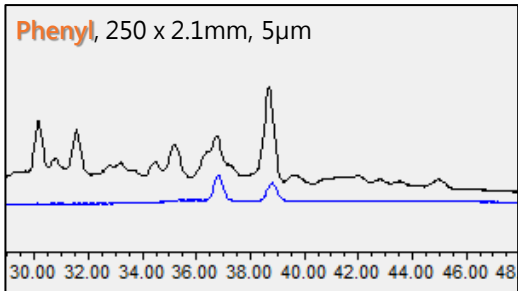
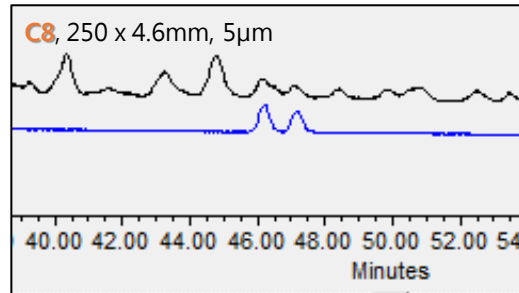
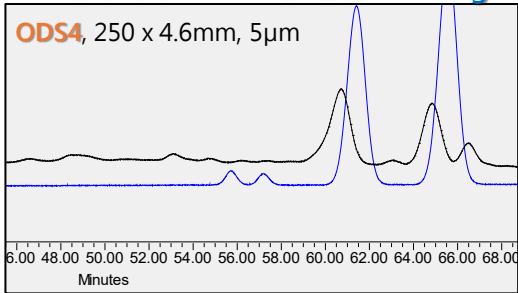
研究考察

1 色譜柱

- NH₂ vs ODS4 vs C8 vs Phenyl vs Polar RP
- 長度

- 優化分析物的出峰次序及分離度，改善干擾問題

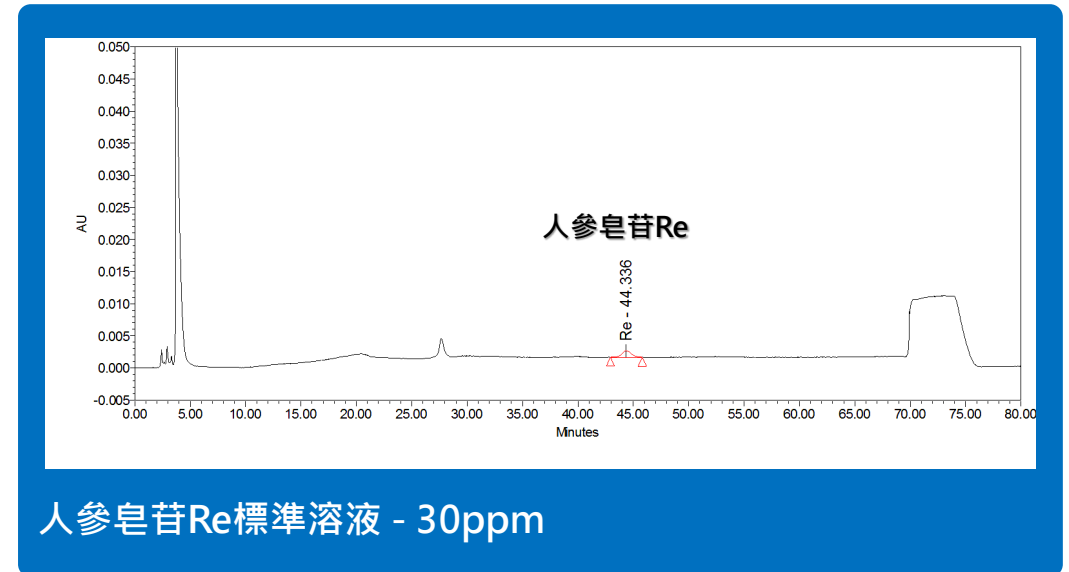
- 中成藥樣本 - 人參皂苷 Re & Rg1



液相色譜系統 : Waters Alliance e2695 HPLC system
 液相色譜柱 : GL Sciences Inertsil NH₂ 5 µm, 4.6 mm × 250 mm
 柱溫度 : 35 °C
 流速 : 1 mL/min
 進樣量 : 10 µL
 流動相 : A: Water
 B: ACN

梯度	Time (min)	A%	B%
	0.0	5	95
	5.0	5	95
	15.0	12	88
	25.0	13	87
	65.0	13	87
	65.5	25	75
	70.0	25	75
	71.0	5	95
	80.0	5	95

檢測波長 : 203nm



人參皂苷Re標準溶液 - 30ppm

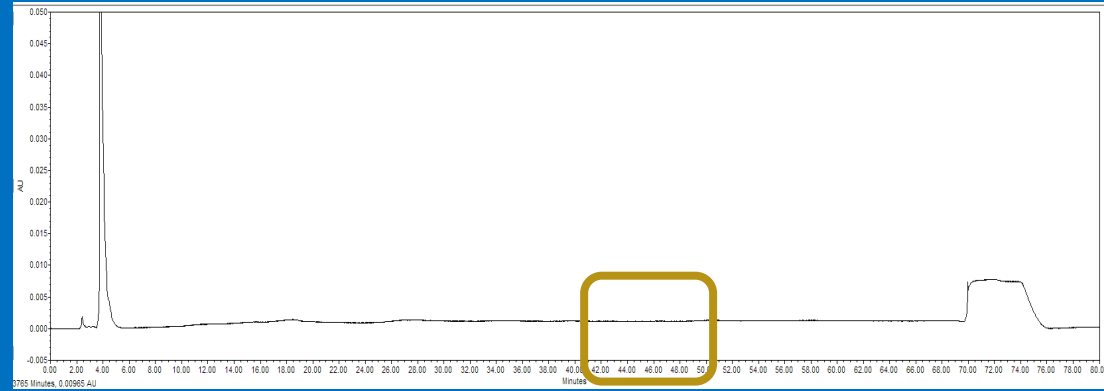


人參-化學指標成分分析

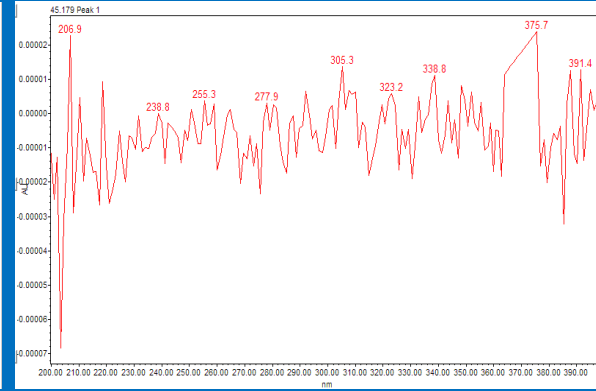
人參皂苷Re - LC-DAD方法的專屬性分析

• 空白樣本溶液

203nm檢測的色譜圖

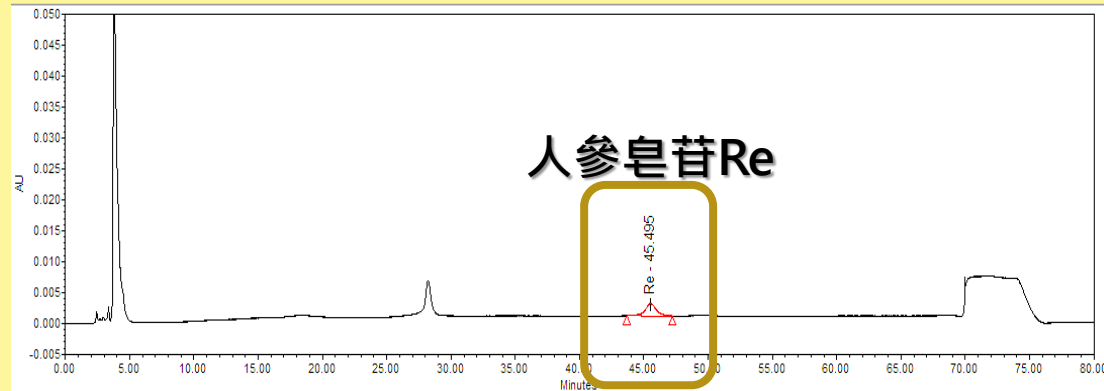


紫外線吸收光譜 (200-400nm)

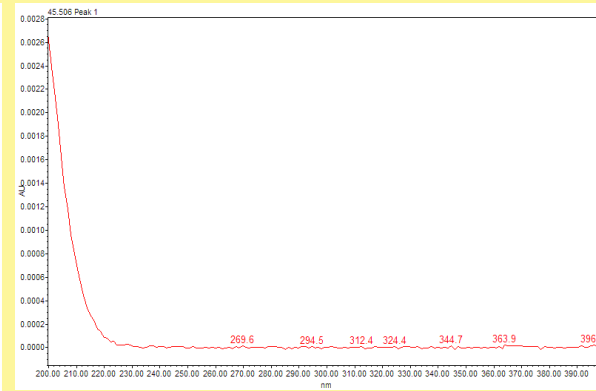


• 標準溶液 (50ppm)

203nm檢測的色譜圖



紫外線吸收光譜 (200-400nm)



- 在優化的色譜條件下，人參皂苷Re可獨立地分離
- 空白樣本溶液無干擾



人參-化學指標成分分析

人參皂苷Re - LC-DAD方法的驗證結果

線性研究 (Linearity)

$r^2 \geq 0.99$ | 校準範圍: 10-50 $\mu\text{g/mL}$
人參皂苷Re: $y = 2171.1x - 3723.2$

- 峰面積與濃度線性關係良好

方法檢測限 (MDL) 及 定量限 (LOQ)

MDL $< 3 \mu\text{g/g}$ | 加標空白基質樣本
LOQ $< 9 \mu\text{g/g}$ |

- 海狗丸
- 鹿茸/鹿尾羴丸
- 蠶蛾公補片



- 在不同的處方下，人參皂苷Re的LOQ均小於9 $\mu\text{g/g}$
- 方法合適用於**大部分**實際樣品的檢測

重複性研究 (Repeatability)

校準標準品 (n=10)

RSD $< 3\%$ | 濃度($\mu\text{g/mL}$)
ca. 10 / 30 / 50

實驗室對照樣本 (n=7)

RSD $< 4\%$ | 實驗室對照樣本
• 海狗丸
• 鹿茸/鹿尾羴丸
• 蠶蛾公補片

樣本分析 (n=7)

RSD $< 5\%$ | 劑型: 丸/蜜丸/膠囊
海狗丸類
• 實驗室對照樣本/中成藥2款
鹿茸/鹿尾羴丸類
• 實驗室對照樣本/中成藥1款
其他類別
• 實驗室對照樣本/中成藥2款

- 在不同濃度水平下的校準標準品及實驗室對照樣本的RSD值均小於4%
- 表明方法可靠，精密度及重複性良好

- 在**不同處方/劑型**的實驗室樣本及中成藥樣本的RSD值均小於5%
- 表明方法**具高通用性**，適用於**多種市場產品**



人參皂苷Re - LC-DAD方法的驗證結果

回收率研究 (Recovery)

空白基質樣本加標 ($n=7$)

回收率範圍
95.5-103.8 %
RSD
< 3.8 %

人參皂苷Re
3 款處方
校準範圍的高/中/低 濃度
ca. 24 / 61 / 89 $\mu\text{g/g}$
平均回收率(%) : 99.5%

- 空白基質樣本在不同濃度均有良好的加標回收率，表明方法可靠
- RSD值均小於4%，表明重複性良好

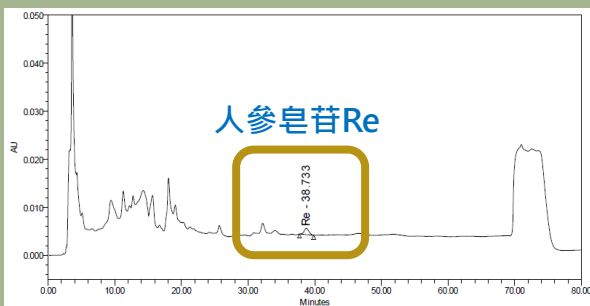
中成藥樣本加標 ($n=7$)

回收率範圍
93.3-100.6 %
RSD
< 4.9 %

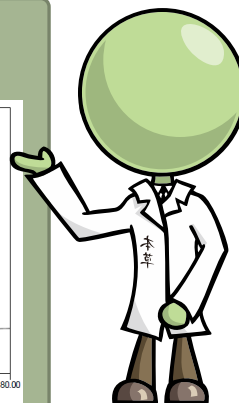
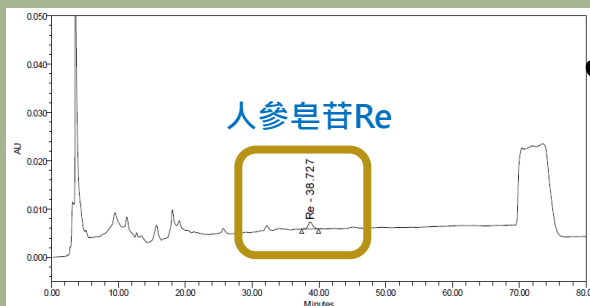
人參皂苷Re
1:1 加標 - 5 款樣本分析中成藥
平均回收率(%) : 96.9%

- 中成藥樣本的加標回收率均令人滿意，樣本分析被干擾較少
- 淨化程序有效降低干擾
- 說明方法能提供準確的分析結果

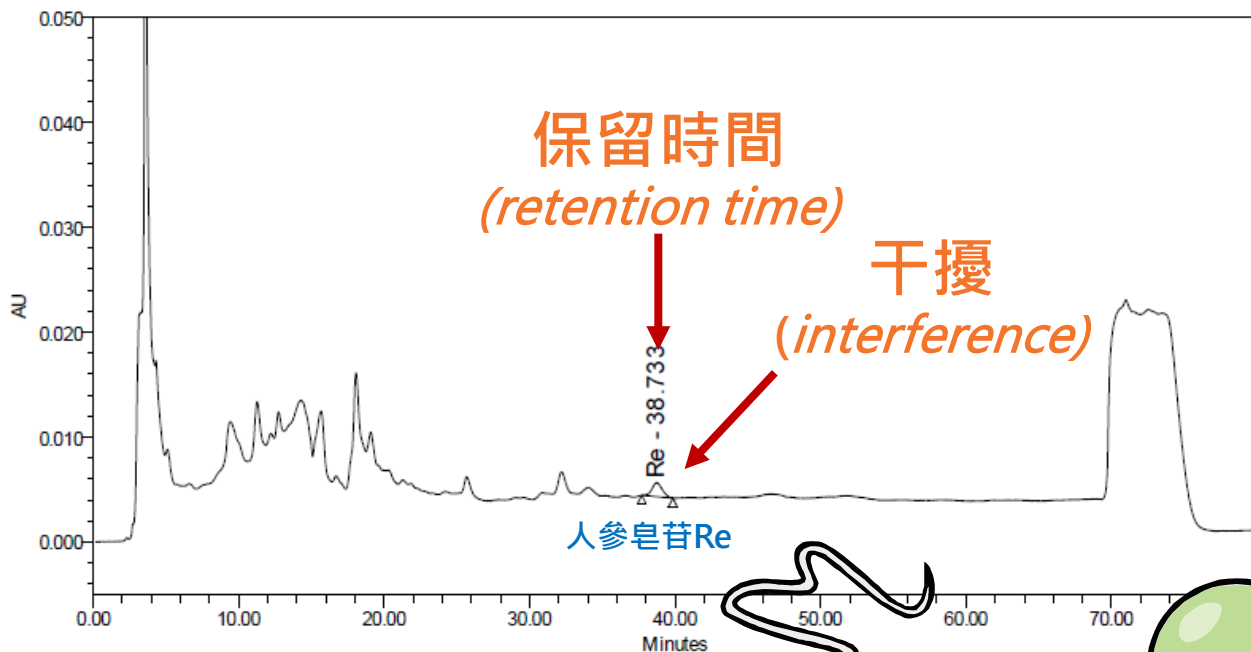
中成藥樣本色譜圖 203nm檢測的色譜圖



加標中成藥樣本色譜圖 203nm檢測的色譜圖

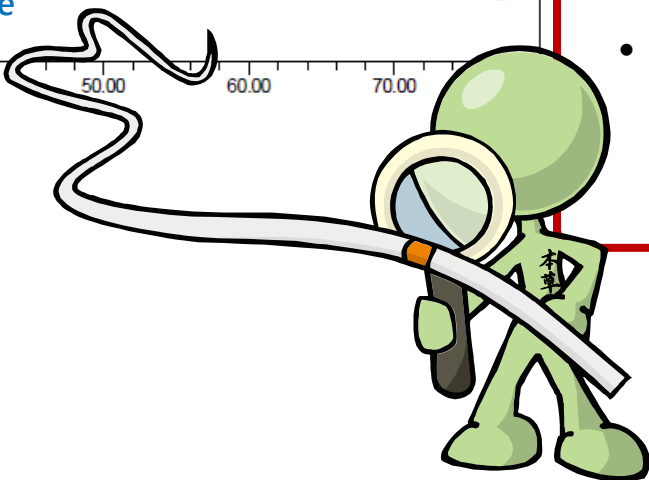


人參皂苷Re - LC-DAD方法



• 方法應用要點

- 干擾
 - 樣本色譜圖 / 樣本加標色譜圖
 - 回收率
 - 樣本的成分 – 動物藥
- 儀器的靈敏度 (*Sensitivity*) – 假陰性 (*False Negative*)
- 流動相 (*mobile phase*) 品質
- NH_2 色譜柱的特性
 - 保留時間 (*Retention time*)
 - 液相色譜柱保養



助陽補益類中成藥(含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

利用液相色譜串聯質譜法(LC-MS/MS)檢測補骨脂和人參

利用 LC-MS/MS 檢測補骨脂和人參

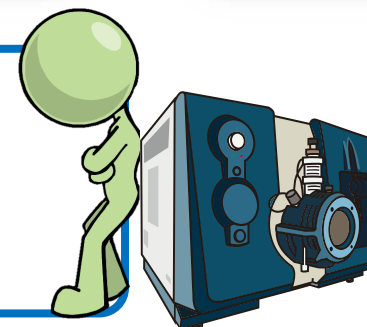
利用 LC-MS/MS 技術開發分析方法

分析方法	GCMTI RD-2:2024	GCMTI RD-3:2024
中藥材	補骨脂	人參
化學指標成分	補骨脂素 異補骨脂素	人參皂苷Re 人參皂苷Rg1 人參皂苷Rb1 人參皂苷Rf
樣本用量	0.25 g	0.25 g
提取溶劑	70% 甲醇	
樣本溶液的製備	聲波提取 20 min – 3次	
淨化	稀釋 – 50倍	固相萃取/稀釋 (共50 倍)
校準範圍	3 – 15 ng/mL	2 – 25 ng/mL* *人參皂苷Rb1的校準範圍為5-25ng/mL



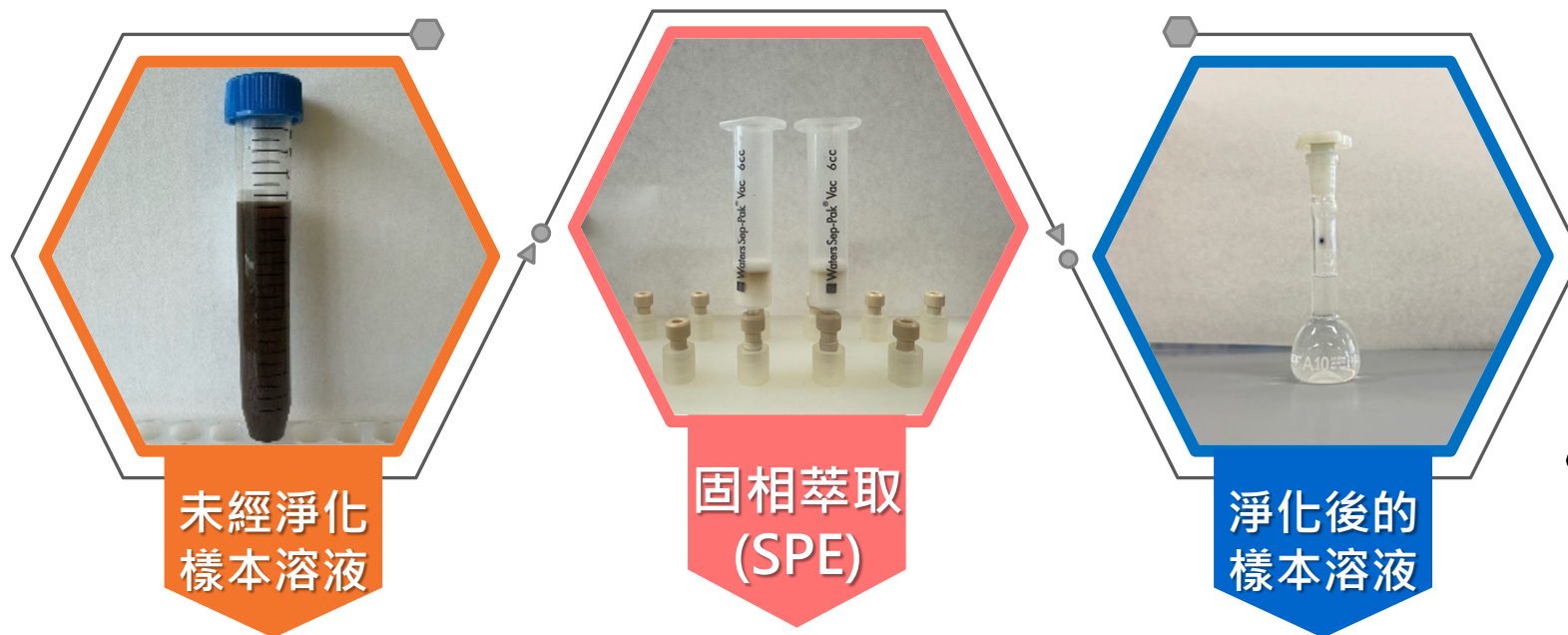
應用特點

- 適用於所有處方及劑型產品
- 適用於化學指標成分**含量較低或基質干擾嚴重的樣本**，減少對樣本的處理程序
- 靈敏度和特異性更高



補骨脂和人參化學指標成分分析 - 淨化程序

- 補骨脂素類的分析 - 稀釋 (50倍)
- 人參皂苷類的分析 - 固相萃取(SPE) / 稀釋 (共50倍)



固相萃取 - 適用人參皂苷Re / Rg1 / Rb1 / Rf

- 吸附劑：氨丙基(NH₂)
- 沖洗：95%(v/v) ACN
- 洗脫：70%(v/v) ACN

註：反相聚合物SPE配合C18色譜柱分析未能有效去除干擾

應用要點

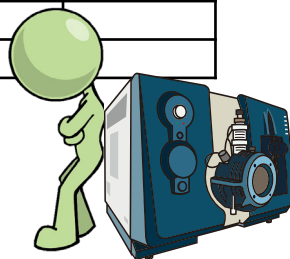
- 可使用一個樣本進行提取作不同的分析
- **固相萃取會移除補骨脂素類分析物**
- 分析不同的化學指標成分的樣本溶液**需要獨立進樣**
- 使用**提取溶劑**進行稀釋



補骨脂和人參化學指標成分分析

LC-MS/MS儀器設定

液相色譜系統	Thermo Scientific UltiMate 3000					
液相色譜柱	GL Sciences InertSustain C18 5 μm, 2.1 mm × 250 mm					
柱溫度	40 °C					
流速	0.3 mL/min					
進樣量	5 μL					
流動相A	Water					
流動相B	MeOH					
	檢測補骨脂			檢測人參		
	GCMTI RD-2:2024			GCMTI RD-3:2024		
梯度	Time (min)	A%	B%	Time (min)	A%	B%
	0.0	60	40	0.0	60	40
	2.0	60	40	2.0	60	40
	16.0	30	70	16.0	30	70
	18.0	30	70	23.0	30	70
	19.0	15	85	23.1	5	95
	22.0	15	85	25.0	5	95
	22.1	5	95	25.1	60	40
	25.0	5	95	28.0	60	40
	25.1	60	40			
	28.0	60	40			



研究考察

1

流動相

ACN vs MeOH



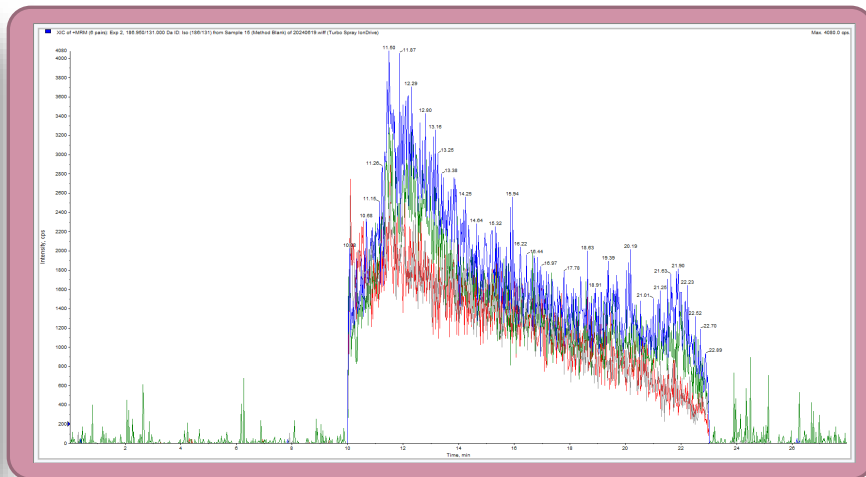
- 優化分析物的出峰次序及分離度
- 檢測靈敏度更高、準確性更良好

分析物	離子源	多重反應 監測對	駐留時間 (ms)	DP	EP	CE	CXP
補骨脂素	ESI+	186.9 → 131.0*	50	91	10	33	26
		186.9 → 115.0^	50	91	10	31	16
異補骨脂素	ESI+	186.9 → 131.0*	50	91	10	31	14
		186.9 → 115.0^	50	91	10	31	16
人參皂苷 Re	ESI-	945.6 → 637.4*	50	-240	-10	-54	-39
		945.6 → 475.4^	50	-240	-10	-70	-25
人參皂苷 Rg1	ESI-	799.6 → 637.4*	50	-205	-10	-34	-27
		799.6 → 475.4^	50	-205	-10	-50	-27
人參皂苷 Rf	ESI-	799.6 → 475.4*	50	-225	-10	-54	-29
		799.6 → 637.4^	50	-225	-10	-44	-39
人參皂苷 Rb1	ESI-	1107.6 → 945.5*	50	-255	-10	-60	-55
		1107.6 → 783.5^	50	-255	-10	-66	-45

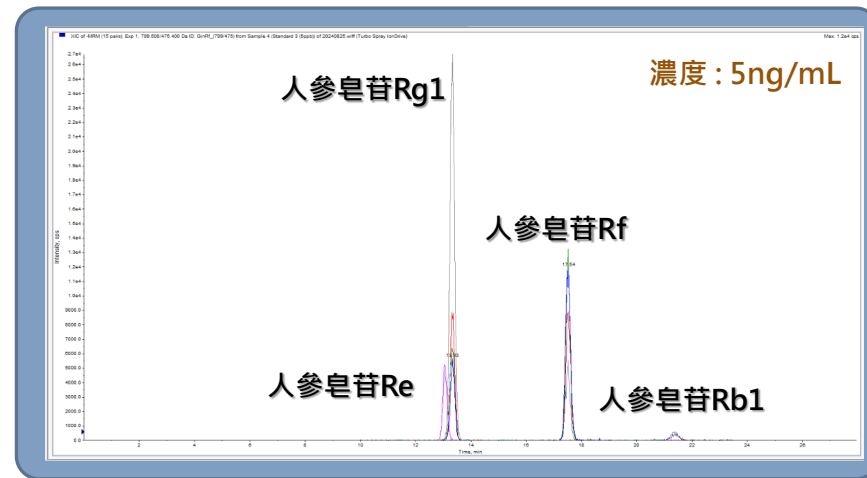
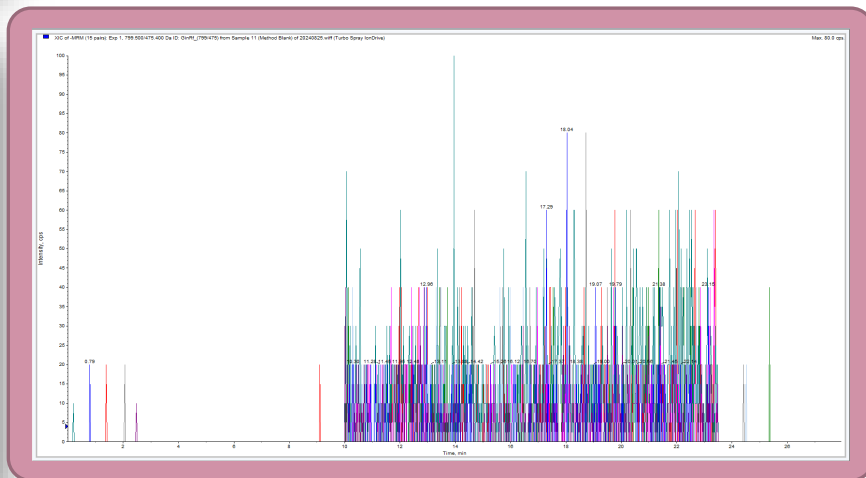
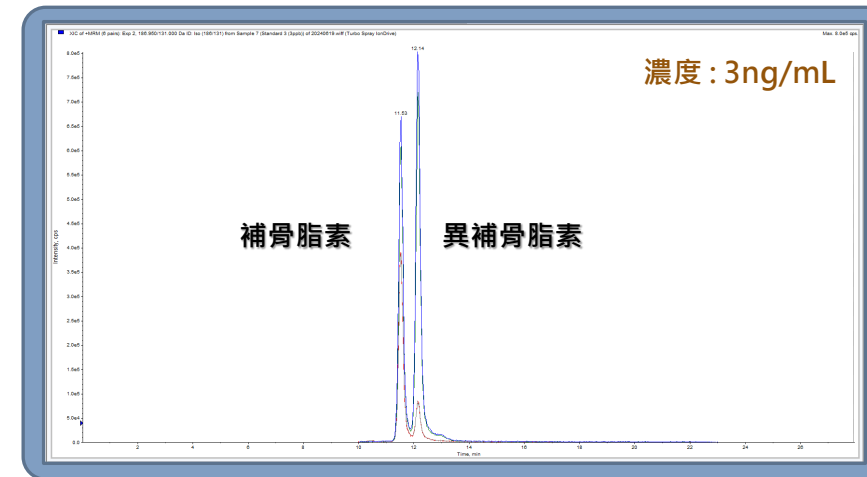


補骨脂和人參化學指標成分分析

方法的專屬性分析 • 空白對照樣本溶液



• 校準標準品



🌿 LC-MS/MS方法的驗證結果

線性研究 (Linearity)

r^2
≥ 0.99

補骨脂素類 (ESI+)

校準範圍: 3-15ng/mL

補骨脂素: $y = 2323007x + 474812$

異補骨脂素: $y = 3090140x + 618021$

人參皂苷類 (ESI-)

校準範圍: 2-25ng/mL

人參皂苷Re: $y = 10237x + 481$

人參皂苷Rg1: $y = 46068x - 4251$

人參皂苷Rf: $y = 31238x + 2490$

校準範圍: 5-25ng/mL

人參皂苷Rb1: $y = 1683x + 331$

- 峰面積與濃度線性關係良好

方法檢測限 (MDL) 及 定量限 (LOQ)

MDL
< 2.3 $\mu\text{g/g}$

LOQ
< 7.4 $\mu\text{g/g}$

MDL
< 1.4 $\mu\text{g/g}$

LOQ
< 4.3 $\mu\text{g/g}$

補骨脂素類

加標空白基質樣本

- 海狗丸
- 鹿茸/鹿尾朮丸
- 蠶蛾公補片

人參皂苷類

加標空白基質樣本

- 海狗丸
- 鹿茸/鹿尾朮丸
- 蠶蛾公補片

- 在不同的處方下
 - 補骨脂素類的LOQ 均小於8 $\mu\text{g/g}$
 - 人參皂苷類的LOQ 均小於5 $\mu\text{g/g}$
- 方法合適用於濃度低的樣本的檢測



🌿 LC-MS/MS方法的驗證結果

重複性研究 (Repeatability)

/ 校準標準品 (n=10)

RSD
< 2.1% | 補骨脂素類
濃度(ng/mL)
ca. 3 / 9 / 15

RSD
< 2.8% | 人參皂苷類
濃度(ng/mL)
ca. 5 / 15 / 25

/ 實驗室對照樣本 (n=7)

RSD
< 1.8% | 補骨脂素類 / 人參皂苷類
實驗室對照樣本
• 海狗丸
• 鹿茸/鹿尾把丸
• 蠶蛾公補片

/ 樣本分析 (n=7)

RSD
< 4.9% | 劑型: 丸/蜜丸/膠囊
海狗丸類
• 實驗室對照樣本/中成藥2款
鹿茸/鹿尾把丸類
• 實驗室對照樣本/中成藥2款
其他類別
• 實驗室對照樣本/中成藥3款

- 在不同濃度水平下的校準標準品及實驗室對照樣本的RSD值均小於3%
- 表明方法可靠，精密度及重複性良好
- 在**不同處方/劑型**的實驗室樣本及中成藥樣本的RSD值均小於5%
- 表明方法**具高通用性**，適用於多種市場產品



補骨脂和人參化學指標成分分析

🌿 LC-MS/MS方法的驗證結果

回收率研究 (Recovery)

空白基質樣本加標 (n=7)

回收率範圍
98.2-105.7 %
RSD
< 3.0 %

補骨脂素類
3 款處方
校準範圍的 高/中/低 濃度
ca. 18 / 45 / 70 µg/g
平均回收率(%) : 100.4%

回收率範圍
97.9-108.9 %
RSD
< 2.9 %

人參皂苷類
3 款處方
校準範圍的 高/中/低 濃度
Re/Rg1/Rf: ca. 13 / 79 / 120 µg/g
Rb1: ca. 30 / 79 / 120 µg/g
平均回收率(%) : 101.6%

- 空白基質樣本在不同濃度/處方均有良好的加標回收率，表明方法可靠
- RSD值均小於3%，表明重複性良好

中成藥樣本加標 (n=7)

回收率範圍
97.9-105.2 %
RSD
< 4.5 %

補骨脂素類
1:1 加標 - 7 款樣本分析中成藥
最低濃度校準點 - 2 款空白基質中成藥
平均回收率(%) : 101.2%

回收率範圍
97.6-111.2 %
RSD
< 4.2 %

人參皂苷類
1:1 加標 - 7 款樣本分析中成藥
最低濃度校準點 - 2 款空白基質中成藥
平均回收率(%) : 102.2%

- 中成藥樣本的加標回收率均令人滿意，樣本分析被干擾較少
- 淨化程序有效降低干擾
- 說明方法能提供準確的分析結果



補骨脂和人參化學指標成分分析

• 中成藥樣本溶液



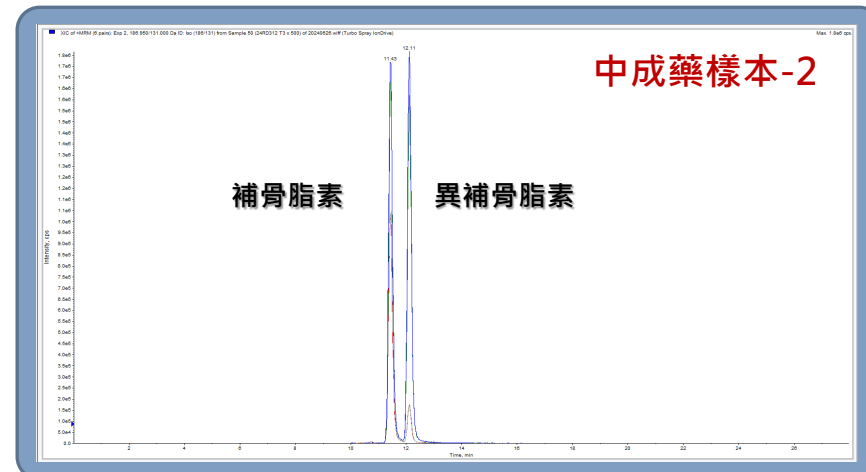
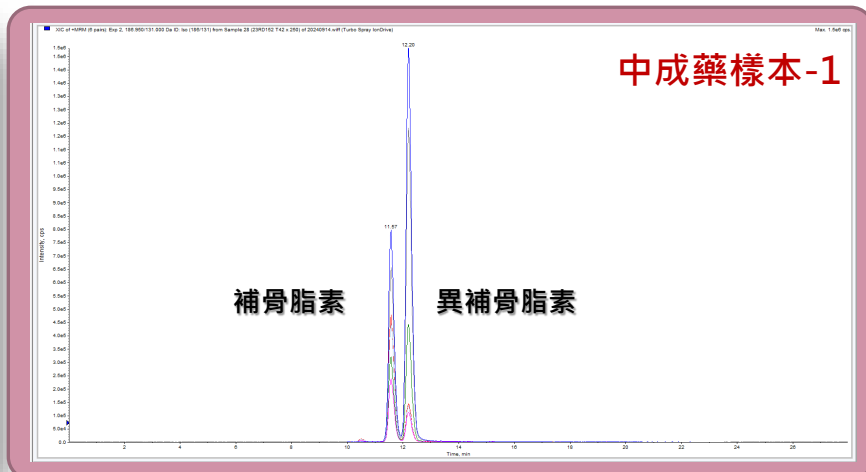
GCMTI RD-2:2024

利用液相色譜串聯質譜儀
檢測含補骨脂和人參的中成藥中
補骨脂素和異補骨脂素的含量

政府中藥檢測中心方法

政府中藥檢測中心
GOVERNMENT CHINESE MEDICINES
TESTING INSTITUTE

助陽 補腎 補益



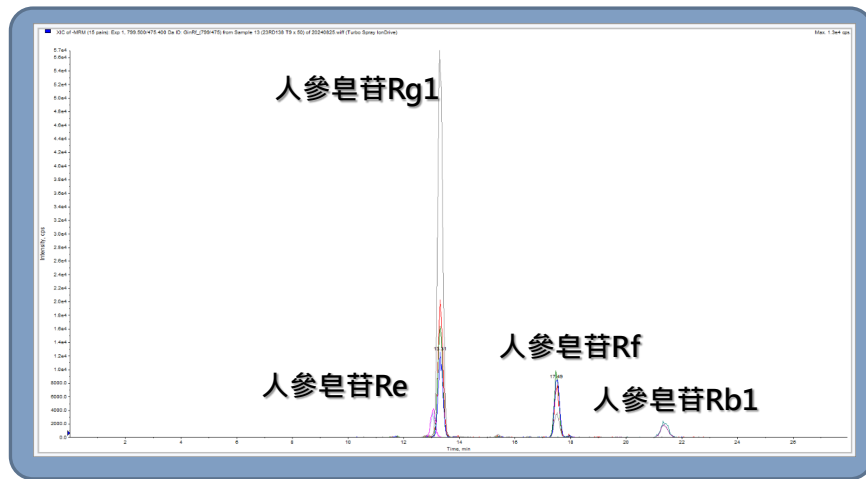
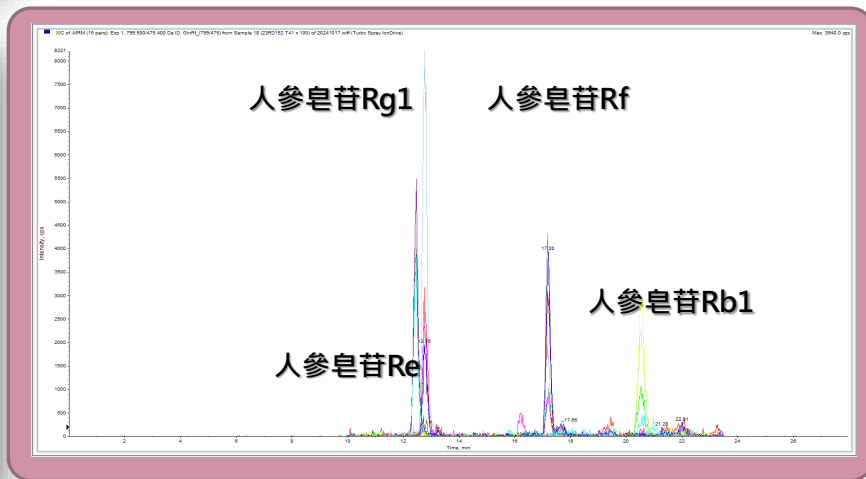
GCMTI RD-3:2024

利用液相色譜串聯質譜儀
檢測含補骨脂和人參的中成藥中
人參皂苷(Re, Rg1, Rf 和 Rb1)的含量

政府中藥檢測中心方法

政府中藥檢測中心
GOVERNMENT CHINESE MEDICINES
TESTING INSTITUTE

助陽 補腎 補益



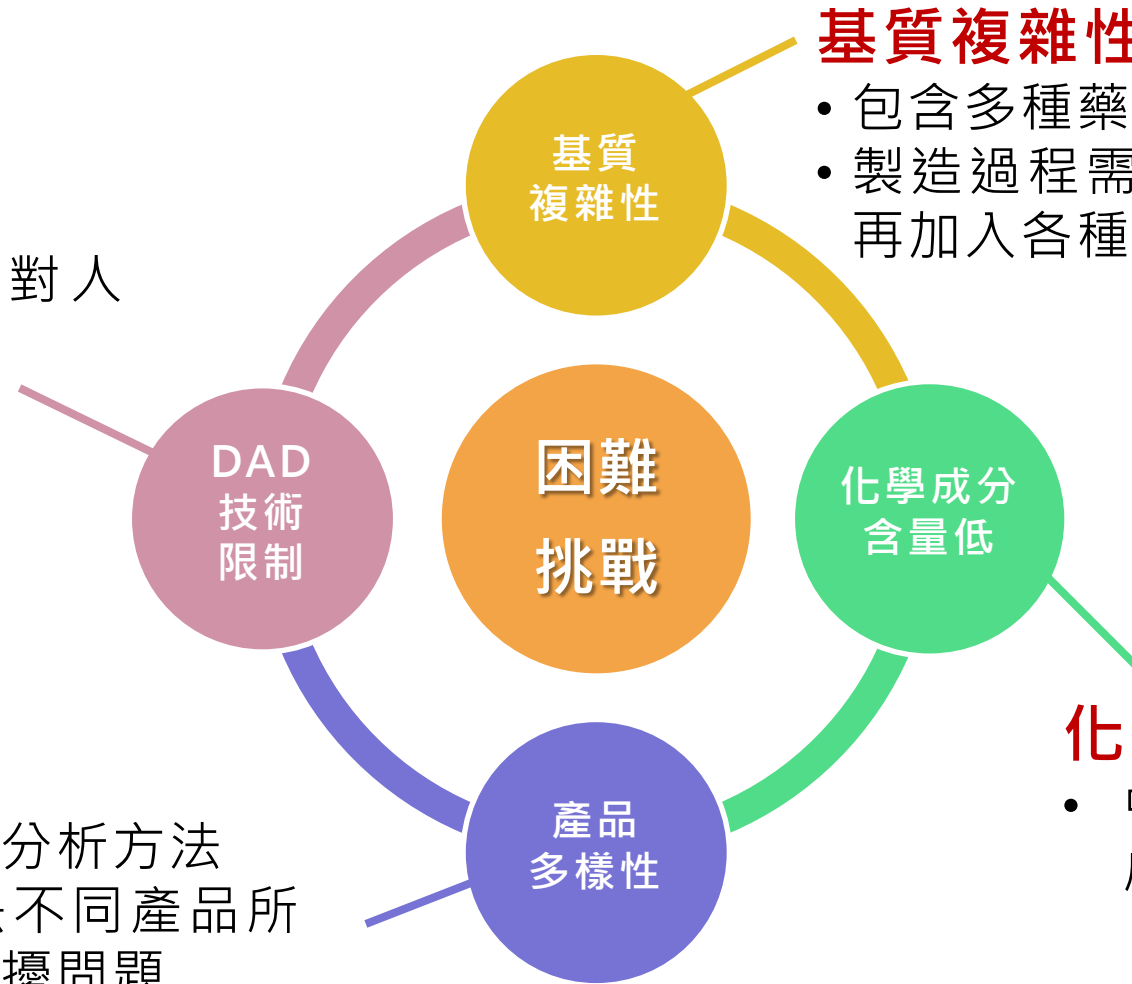
🌿 開發助陽補益類中成藥化學指標成分分析方法所遇到的困難和挑戰

技術限制:

- DAD技術原理的限制
- DAD技術的靈敏感度對人參皂苷分析的限制

產品多樣性:

- 建立高通用性分析方法
- 必須有效解決不同產品所帶來的各種干擾問題



基質複雜性:

- 包含多種藥材，例如草本植物類/動物藥
- 製造過程需要經過提取、濃縮和煎熬，再加入各種輔料或黏合劑

化學成分含量低:

- 中藥材化學指標成分於中成藥產品的含量通常較低



助陽補益類中成藥(含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

結果計算 及 建議質量控制參數

外標法 (external calibration)

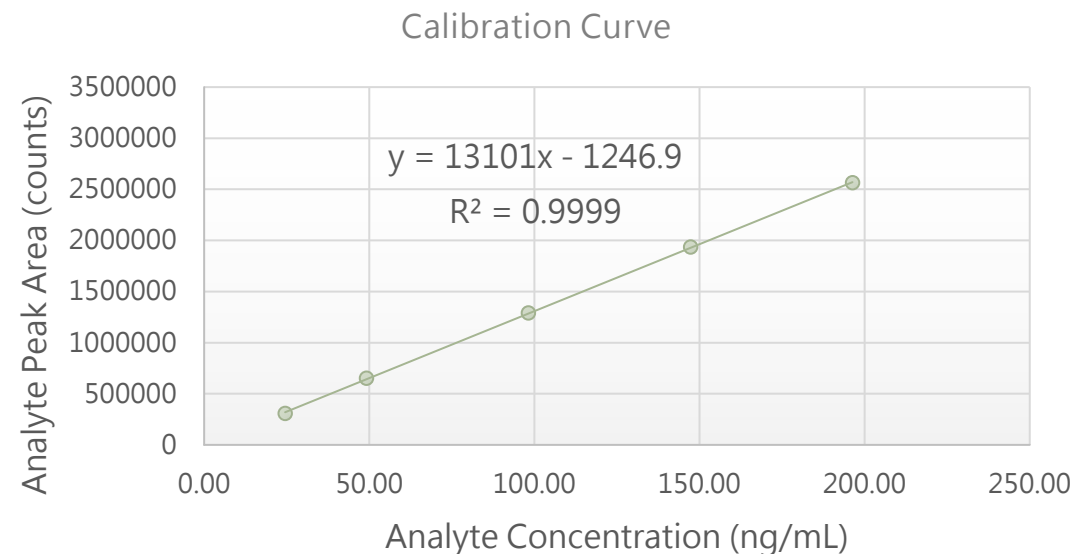
$$\text{分析物濃度}(\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V \times D}{1000 \times W}$$

C = 從校準曲線得出的分析物濃度(ng/mL)

V = 最終體積(mL)

D = 稀釋比

W = 樣本重量(g)



- 如果發現加標回收率有顯著偏差並懷疑受基質效應影響

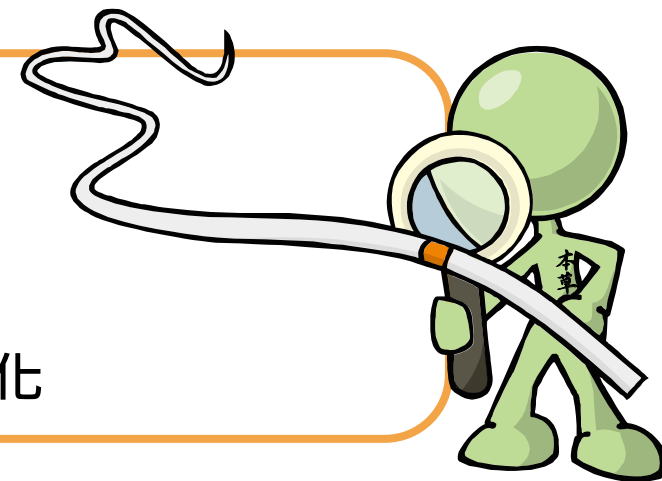
- **LC-DAD**

- (1) 使用LC-MS/MS技術減低干擾的影響

- **LC-MS/MS**

- (1) 進一步稀釋樣本溶液

- (2) 使用標準添加法進行量化



建議質量控制參數

質量控制參數	建議要求
校準曲線 No. of standards used for calibration curve	5 校準標準品
校準曲線 相關係數 Correlation coefficient (r)	≥0.995
檢測峰 保留時間 Dev. of retention time	<5%
ICV標準品 Initial Calibration Verification (ICV) standard	濃度偏差 ±15%
中間點檢查 校準標準品 Check standards	濃度偏差 ±15%
空白對照樣本 Method blanks	<濃度最低校準標準品
加標樣本 Spiked samples	回收率 80-120%
平均數平均偏差 Average deviation from mean	< 7.5%

分析順序	分析樣本
1	Blank
2	S1
3	S2
4	S3
5	S4
6	S5
7	ICV
8	Wash
9	Method Blank
10	T1
11	T2
12	T3
13	T4
14	T5
15	T6
16	T7
17	Spike T1
18	Spike T2
19	Check Standard



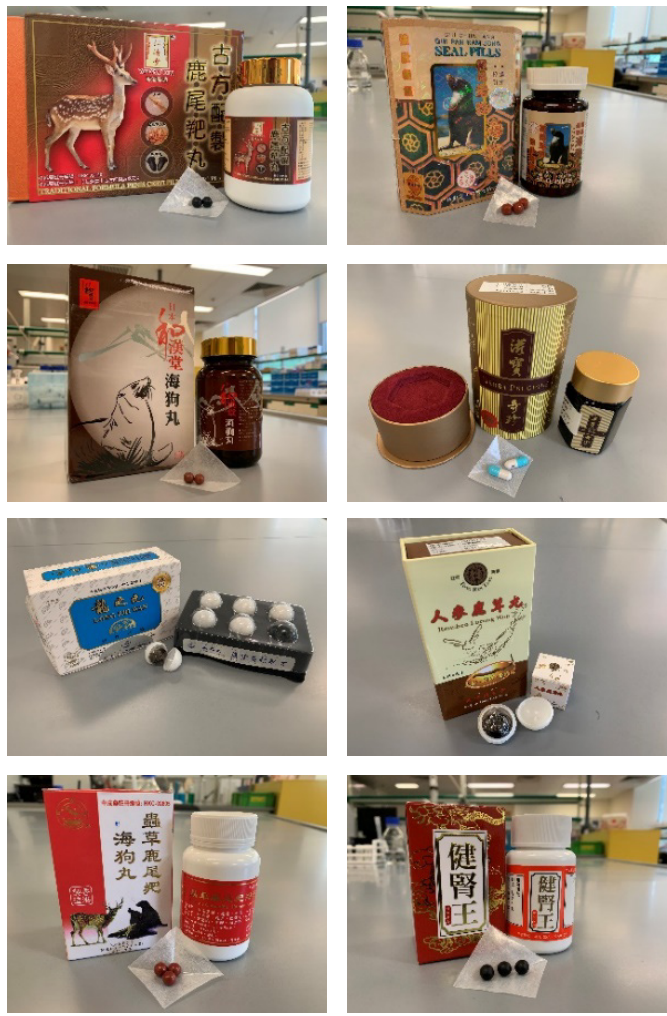
助陽補益類中成藥(含補骨脂和人參) 化學指標成分分析方法

本港市面助陽補益類中成藥產品分析

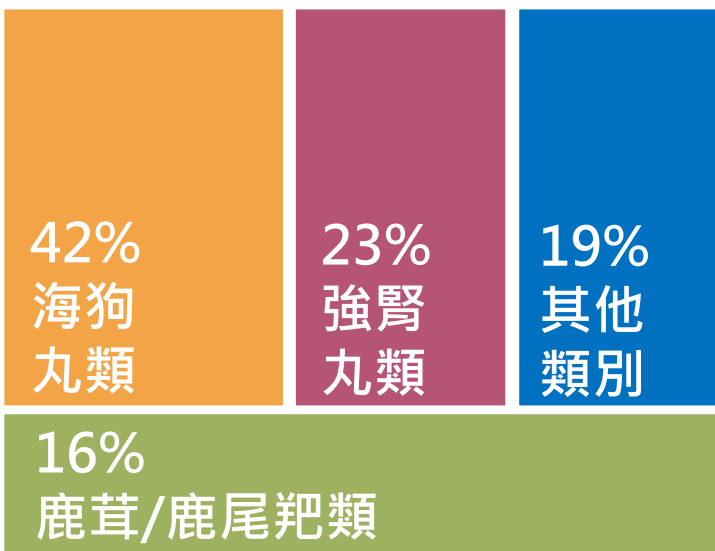
本港市面助陽補益類中成藥產品分析

- 為確保檢測方法的**適用性**，在驗證方法時亦會進行市場產品的分析
- 在本港市面採購**超過30個不同劑型和處方的中成藥產品**進行測試
- 檢測方案**
 - 每個樣本進行三個平行測試，RSD<10%
 - 質量控制按個別檢測方法實施
 - 每個樣本測試均會進行加標檢測產品開發檢測方法

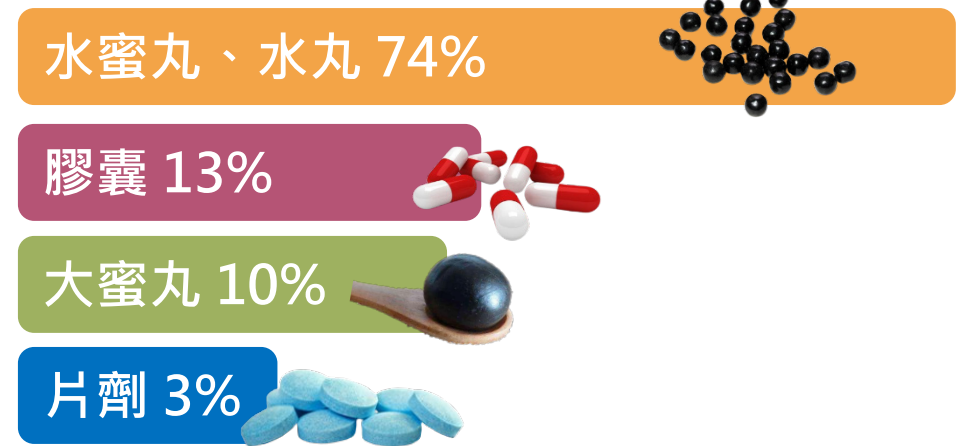




◆ 產品處方



◆ 劑型



產品種類	特色成分	常見配伍成分
海狗丸類	動物腎/鞭	菟絲子、巴戟天、杜仲、淫羊藿、當歸、茯苓 ...
鹿茸/鹿尾朮丸類	鹿茸/鹿尾朮	黃芪、巴戟天、牛膝、菟絲子、冬蟲夏草菌粉、杜仲 ...
強腎丸類	-	熟地黃、菟絲子、茯苓、五味子、當歸、巴戟天 ...

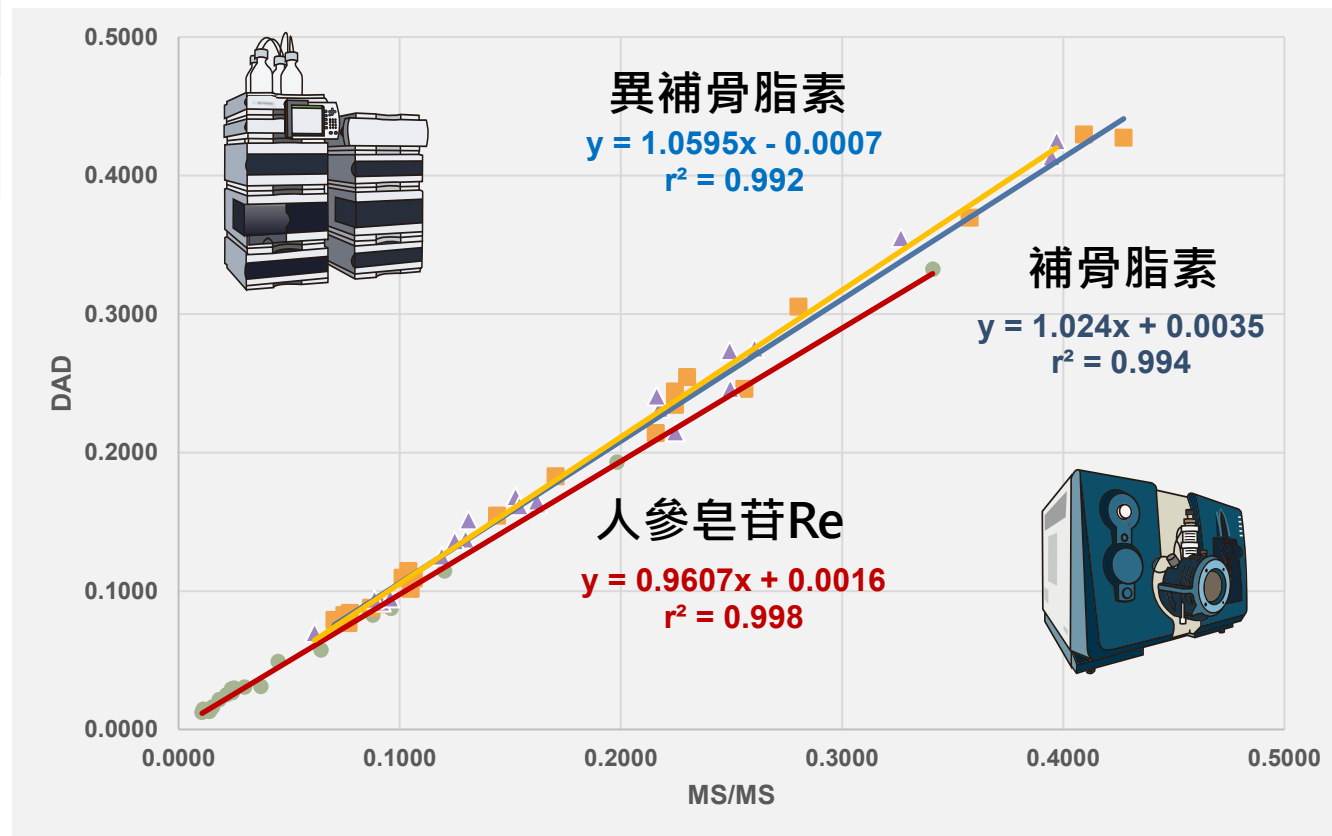


本港市面助陽補益類中成藥產品分析

中藥材	指標成分	LC-DAD	LC-MS/MS
補骨脂	補骨脂素異補骨脂素	GCMTI RD-8:2023	GCMTI RD-2:2024
人參	人參皂苷類	GCMTI RD-1:2024	GCMTI RD-3:2024

- ☞ 分析結果反映檢測方法**具高通用性**，可**廣泛應用於不同產品**
- ☞ 透過統計學方法，分析兩種技術檢測市場產品的結果，所得的係數 r^2 均 >0.99
- ☞ 統計結果表明，不同方法所得的檢測結果具**一致性**
- ☞ 業界可選擇合適的技術/儀器分析產品

線性迴歸測試 Linear Regression Test



助陽補益類中成藥
(含補骨脂和人參)
化學指標成分分析方法

謝謝

政府中藥檢測中心

網址

<https://www.cmro.gov.hk/html/eng/index.html>

電郵地址

gcmti@dh.gov.hk

問卷連結



稍後時間將會有舉辦實體工作坊，
屆時會有更多現場示範，敬請留意。

