·实验研究·

芪风二藤颗粒质量标准研究

梁珮珮[1],李幼辰[1],王欣钰[1],刘　斌[1,2*]

(1 北京中医药大学中药学院,北京 102488;2 国家中医药管理局中药经典名方有效物质发现重点研究室,北京 102488)

[摘要] **目的:**建立芪风二藤颗粒的薄层鉴别与含量测定方法。**方法:**鉴别采用 TLC 法,含量测定采用 HPLC 法。**结果:**TLC 鉴别方法能够有效鉴别处方中所有药材。HPLC 法测定芍药苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷、青藤碱、黄芪甲苷质量浓度分别在 9.01 ~ 45.1、1.69 ~ 8.44、1.04 ~ 5.20、1.32 ~ 6.59、4.35 ~ 21.7、13.5 ~ 67.5、101 ~ 506 μg·mL^{-1} 范围内线性关系良好;平均加样回收率均在 95.0% ~ 105.0% 范围内(RSD < 3.2%)。**结论:**本研究建立的薄层鉴别方法和含量测定方法均专属性强、重现性好,可用于芪风二藤颗粒的质量控制。

[关键词] 芪风二藤颗粒;TLC 法;HPLC 法;质量标准

[中图分类号] R932　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003 - 3734(2026)08 - 0882 - 07

Quality standard study of Qi Feng Er Teng Granules

LIANG Pei-pei[1], LI You-chen[1], WANG Xin-yu[1], LIU Bin[1,2*]

(1 *School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing* 102488, *China*; 2 *Key Laboratory of Discovery of Effective Substances in Classical Prescriptions of Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing* 102488, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To establish the identification and content determination methods of Qi Feng Er Teng Granules. **Methods**: TLC was used for identification and HPLC was used for content determination. **Results**: The TLC method allowed effective identification of all crude drugs in the formulation. The calibration curves of paeoniflorin, prim-*O*-glucosylcimifugin, calycosin-7-glucoside, 5-*O*-methylvisammioside, icariin, sinomenine, and astragaloside IV showed good linearity in the range of 9.01 ~ 45.1, 1.69 ~ 8.44, 1.04 ~ 5.20, 1.32 ~ 6.59, 4.35 ~ 21.7, 13.5 ~ 67.5, 101 ~ 506 μg·mL^{-1}, respectively. The average recovery rate of sample addition was within the range of 95.0% to 105.0% (RSD < 3.2%). **Conclusion**: The TLC and HPLC methods established in this study for Qi Feng Er Teng Granules have strong specificity, high sensitivity and good reproducibility, and can be used for the quality control of Qi Feng Er Teng Granules.

[**Key words**] Qi Feng Er Teng Granules; TLC method; HPLC method; quality standard

中医将类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)归属于“尪痹”范畴,《素问·痹证论》曰:“风寒湿三气杂至,合而为痹也”,认为肝肾不足、气血亏虚是 RA 发生的内在因素,而风寒湿是 RA 的诱发因素[1]。因此,从整体观理念出发,常选用祛风湿药、活血化瘀药和补虚药进行辨证施治[2]。芪风二藤方是由经典名方黄芪赤风汤根据临床用药实践加减而得,由黄芪、赤芍、防风、青风藤、宽筋藤、川牛膝、淫羊藿 7 味药组成。方中黄芪为君药,益气扶正;淫羊藿、青风藤、宽筋藤共为臣药,可补肾、祛风湿;赤芍、防风为佐药,可活血祛风;川牛膝为使药,引药下行。诸药配伍,共奏补肾益气,化浊通络之功。目前该方临床主要应用汤剂剂型,存在携带不便、质量稳定性较差等局限性。为拓展临床应用范围,本课题

[作者简介] 梁珮珮,女,硕士研究生,研究方向:中药(复方)有效成分(组分)发现与新药创制。E-mail:liang020819@163.com。

[通讯作者] *刘斌,男,教授,博士生导师,研究方向:中药(复方)有效成分(组分)发现与新药创制。E-mail:liubinyn67@163.com。

[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.08.013

组在前期有关黄芪赤风汤研究基础上[3-6]，拟运用现代制剂技术，结合《中药、天然药物注册分类及申报资料要求》（6类新药）及相关技术指导原则，将芪风二藤方开发为颗粒剂，以期为临床提供质量可控、使用便捷的复方中药新药。

芪风二藤方中黄芪的主要活性成分黄芪甲苷可调控肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）的表达[7]，毛蕊异黄酮抑制类风湿关节炎滑膜成纤维细胞（rheumatoid arthritis synovial fibroblasts，RASFs）中白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）和IL-33分泌的效果显著，同时下调环氧化酶-2（cyclooxygenase-2，COX-2）在mRNA和蛋白水平的表达[8]；青藤碱（青风藤的主要成分）可发挥调控肠道菌群与色氨酸代谢激活芳香烃受体的作用[9]；淫羊藿苷（淫羊藿的主要成分）可通过抑制核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白3（nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor pyrin domain-containing protein 3，NLRP3）炎性小体介导的炎症反应缓解RA[10]；5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、升麻素苷（防风的主要成分）可作用于酪氨酸激酶2（Janus kinase 2，JAK2），调控信号通路，抑制细胞过度增殖，发挥抗炎疗效[11]；芍药苷（芍药的主要成分）可通过调控IL1B-TNF-TLR2-JUN-MMP1-MMP3通路，从而缓解关节软骨损伤，降低RA疾病严重程度[12]。因此，根据药材活性成分的化学性质选择上述成分共同作为芪风二藤颗粒的质量控制指标，以表征制剂质量。

材　料

1　仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪（美国Agilent公司）；Waters e2695型高效液相色谱仪（美国Waters公司）；Sartorius BT 25S型1/100000电子分析天平（北京赛多利斯仪器有限公司）；B－491型旋转蒸发仪（瑞士Buchi公司）；KQ－100DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；PX224ZH型电子天平（奥豪斯仪器有限公司）；HH－S4型电热恒温水浴锅（北京科伟永兴仪器有限公司）；HP380-Pro型数显加热板（北京大龙兴创实验仪器股份公司）；ZF－20D型暗箱式紫外分析仪（上海宝山顾村电光仪器厂）。

2　试药与试剂

芪风二藤颗粒（实验室自制，规格：10 g·袋$^{-1}$）；升麻素苷（成都曼思特生物科技有限公司，批号：MUST-3052503）；5-*O*-甲基维斯阿米醇苷（成都曼思特生物科技有限公司，批号：MUST-19040410）；毛蕊异黄酮苷（南通飞宇生物科技有限公司，批号：FY14691223）；青藤碱（南京狄尔格医药科技有限公司，批号：D23050310）；黄芪对照药材（批号：120974-201612）、防风对照药材（批号：120947-201409）、宽筋藤对照药材（批号：121391-202102）、川牛膝对照药材（批号：1065-9901）、芍药苷（批号：0736-200014）、黄芪甲苷（批号：0781-200210）、淫羊藿苷（批号：0737-9709）均购自中国食品药品检定研究院；乙腈、甲醇、磷酸均为色谱级；水为娃哈哈纯净水；其余试剂均为分析纯。

方法与结果

1　TLC法定性鉴别

1.1　对照药材溶液的制备

黄芪对照药材溶液：取黄芪对照药材0.5 g，加水100 mL，加热回流1 h后滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇20 mL，超声处理30 min后滤过，滤液蒸干，残渣加水20 mL使溶解，用水饱和的正丁醇振摇提取2次，每次20 mL，合并正丁醇液，用氨试液洗涤2次，每次20 mL，合并正丁醇液，回收溶剂至干，残渣加1 mL甲醇溶解，即得。

防风对照药材溶液：取防风对照药材0.3 g，加丙酮20 mL，超声处理30 min后滤过，滤液蒸干，残渣加乙醇1 mL使溶解，即得。

川牛膝对照药材溶液：取川牛膝对照药材0.5 g，加甲醇60 mL，水浴加热回流1 h后滤过，滤液浓缩至约1 mL，加在中性氧化铝柱（100～200目，3 g，内径为1 cm）上，用甲醇-乙酸乙酯（1∶1）的混合溶液40 mL洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇1 mL使溶解，即得。

宽筋藤对照药材溶液：取宽筋藤对照药材0.5 g，加水100 mL，加热回流1 h后滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇20 mL，超声处理30 min后滤过，滤液浓缩至1 mL后，加在中性氧化铝柱（100～200目，2 g，内径为1 cm）上，用10%甲醇40 mL洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣用甲醇0.5 mL溶解，即得。

1.2　对照品溶液的制备

取黄芪甲苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷和淫羊藿苷对照品，分别加甲醇溶解，制备浓度为2、1、1 mg·mL^{-1}的对照品溶液；取芍药苷、青藤碱对照品，分别加乙醇溶解，制备浓度为1、1 mg·mL^{-1}的对照品

溶液。

1.3 供试品溶液的制备

供试品溶液 1(黄芪供试品溶液):取本品 3 g,加甲醇 30 mL,超声处理 40 min,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加水 20 mL 使溶解,用二氯甲烷振摇提取 2 次,每次 20 mL,弃去二氯甲烷液,水液用水饱和正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 mL。合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,取正丁醇液蒸干,残渣加水 2 mL 使溶解,通过 AB－8 型大孔树脂柱(内径为 1 cm,柱高为 20 cm),以水 40 mL 洗脱,弃去洗脱液,再加 50% 乙醇 40 mL 洗脱,收集洗脱液,浓缩至干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解。

供试品溶液 2(淫羊藿供试品溶液):上述 AB－8 型大孔树脂柱用 70% 乙醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,加在中性氧化铝柱(100 ~ 120 目,2 g,内径为 1 cm)上,用 40% 甲醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用甲醇 0.5 mL 溶解。

供试品溶液 3(防风供试品溶液):取本品 6 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加水 20 mL 使溶解,用乙酸乙酯、水饱和正丁醇分别振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,回收溶剂至干,残渣用甲醇 2 mL 溶解。

供试品溶液 4(川牛膝供试品溶液):取本品 5 g,加甲醇 60 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加水 20 mL 使溶解,用正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇提取液,回收溶剂至干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,加在中性氧化铝柱(100 ~ 200 目,3 g,内径为 1 cm)上,用甲醇-乙酸乙酯(1∶1)的混合溶液 40 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解。

供试品溶液 5(宽筋藤供试品溶液):另取 0.5 mL 供试品溶液 4,加在中性氧化铝柱(100 ~ 200 目,2 g,内径为 1 cm)上,用 10% 甲醇 40 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用甲醇 0.5 mL 溶解。

供试品溶液 6(青风藤供试品溶液):取本品 5 g,加乙醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加乙醇 1 mL 溶解。

供试品溶液 7(赤芍供试品溶液):另取 0.5 mL 供试品溶液 6,用水饱和正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,回收溶剂至干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解。

1.4 阴性样品溶液的制备

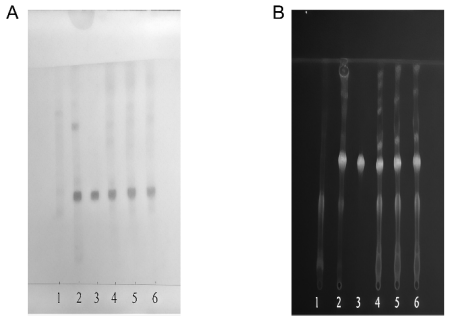
按供试品溶液制备方法,分别制备缺黄芪、防风、川牛膝、宽筋藤、青风藤、赤芍、淫羊藿阴性样品溶液。

1.5 TLC 法条件、操作方法及结果

按照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0502 薄层色谱法,于硅胶 G 薄层板上点样并进行鉴别,结果见表 1 和图 1 ~ 图 3。

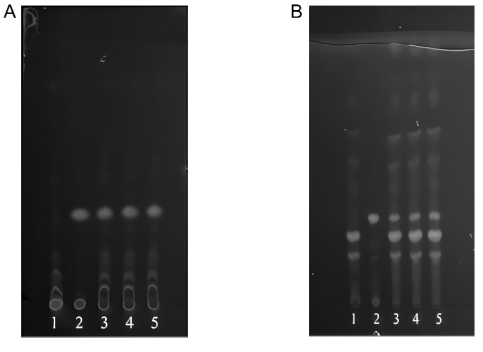
表 1 TCL 法条件、操作方法及结果

药味	点样溶液(点样量/μL)	展开剂	显色与检视	结果
黄芪	供试品溶液 2(4)、黄芪甲苷对照品溶液(4)、黄芪对照药材溶液(4)、缺黄芪阴性样品溶液(4)	三氯甲烷-甲醇-水(13∶7∶2)10 ℃以下放置分层的下层溶液	使用 10% 硫酸乙醇溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视	见图 1A
防风	供试品溶液 3(1)、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液(1)、防风对照药材溶液(4)、缺防风阴性样品溶液(1)	三氯甲烷-甲醇(4∶1)	使用 10% 硫酸乙醇溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下检视	见图 1B
川牛膝	供试品溶液 4(2)、川牛膝对照药材溶液(2)、缺川牛膝阴性样品溶液(2)	甲苯-三氯甲烷-丙酮(8∶4∶1)	使用 10% 硫酸乙醇溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下检视	见图 2A
宽筋藤	供试品溶液 5(2)、宽筋藤对照药材溶液(2)、缺宽筋藤阴性样品溶液(2)	二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(2∶4∶2∶1)10 ℃以下放置分层的上层溶液	使用 10% 硫酸乙醇溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下检视	见图 2B
青风藤	供试品溶液 6(2)、青藤碱对照品溶液(2)、缺青风藤阴性样品溶液(2)	甲苯-乙酸乙酯-甲醇-水(2∶4∶2∶1)10 ℃以下放置分层的上层溶液	使用稀碘化铋钾试液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视	见图 3A
赤芍	供试品溶液 7(2)、芍药苷对照品溶液(2)、缺赤芍阴性样品溶液(2)	三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40∶5∶10∶0.2)	使用 5% 香草醛硫酸溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视	见图 3B
淫羊藿	供试品溶液 1(2)、淫羊藿苷对照品溶液(2)、缺淫羊藿阴性样品溶液(2)	乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10∶1∶1∶1)	使用 5% 三氯化铝乙醇试液,105 ℃加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下检视	见图 3C



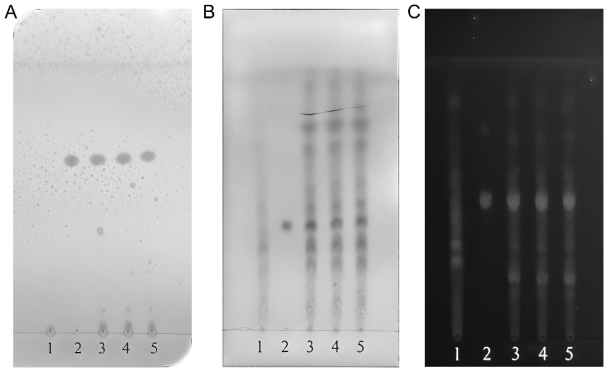
A:黄芪;B:防风;1:阴性样品溶液;2:对照药材溶液;3:对照品溶液;4~6:供试品溶液

图 1 黄芪、防风 TLC 图



A:川牛膝;B:宽筋藤;1:阴性样品溶液;2:对照药材溶液;3~5:供试品溶液

图 2 川牛膝、宽筋藤 TLC 图



A:青风藤;B:赤芍;C:淫羊藿;1:阴性样品溶液;2:对照品溶液;3~5:供试品溶液

图 3 青风藤、赤芍、淫羊藿 TLC 图

2 HPLC 法含量测定

2.1 对照品溶液的制备

取芍药苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷各对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制备相应对照品母液(浓度依次为 1 030、482、520、425、966 μg·mL^{-1})。分别精密量取各对照品母液适量,共同置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。另取青藤碱对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成浓度为 270 μg·mL^{-1}的青藤碱对照品溶液。再取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加水制成浓度为 506 μg·mL^{-1}的黄芪甲苷对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取本品适量,研细、混匀,取约 100 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加入甲醇,超声处理 30 min,放冷,并用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液Ⅰ。

取本品适量,研细、混匀,取约 100 mg,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 20 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,用甲醇(10 mL)少量多次洗涤滤渣和滤器,合并滤液和洗液,蒸干,残渣加盐酸(2 mol·L^{-1})20 mL 使溶解,用浓氨试液调节 pH 值至 9,用二氯甲烷振摇提取 4 次,每次 10 mL,合并二氯甲烷液,减压回收溶剂至干,残渣加 70% 甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,并用 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液Ⅱ。

取本品适量,研细、混匀,取约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 40 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,减压回收溶剂至干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和正丁醇振摇提取 4 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 40 mL,取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,并用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液Ⅲ。

2.3 阴性样品溶液的制备

按照芪风二藤颗粒处方和制备工艺分别制备缺赤芍、防风、黄芪、淫羊藿、青风藤样品,按照“**2.2**”项下方法制备。

2.4 色谱条件

芍药苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷色谱条件:色谱柱为 Agilent ZORBAX XDB-C_{18}柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈(A)和 0.02% 磷酸水(B),梯度洗脱:0~10 min,5%→14% A;10~23 min,14%→15% A;23~33 min,15%→20% A;33~40 min,20%→25% A;

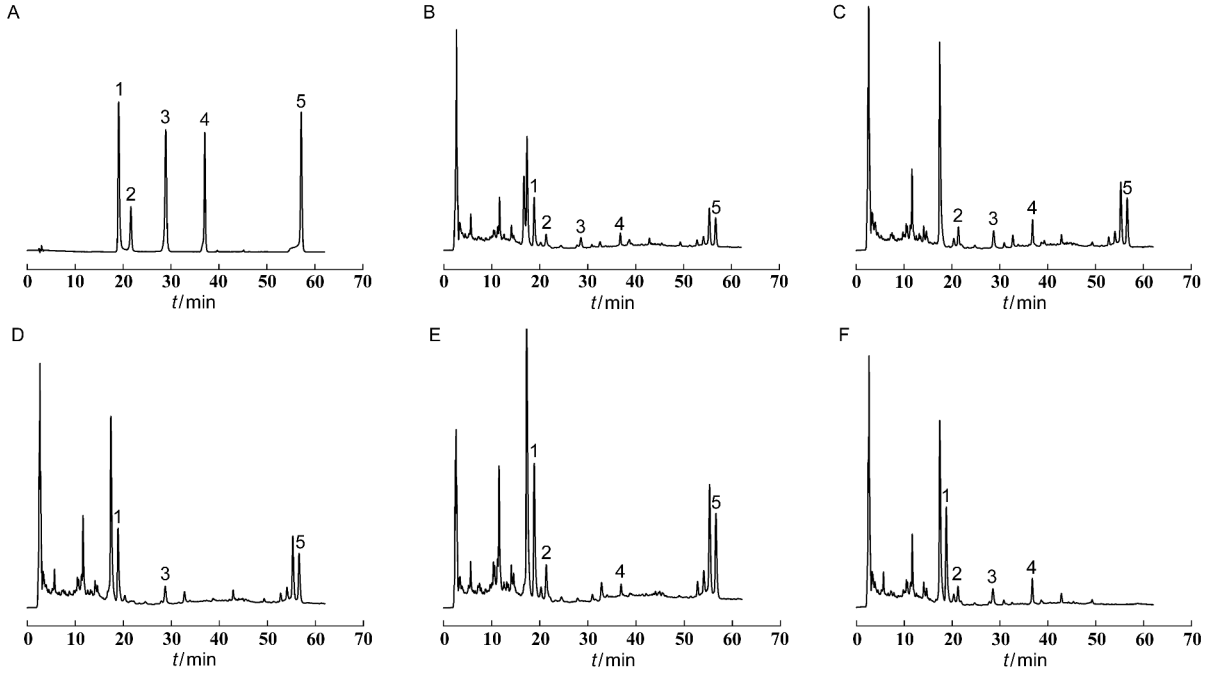
40 ~ 55 min,25% →29% A;55 ~ 62 min,29% A;检测波长:0 ~ 23 min 为 230 nm(芍药苷、升麻素苷),23 ~ 33 min 为 254 nm(毛蕊异黄酮苷),33 ~ 40 min 为 230 nm(5-*O*-甲基维斯阿米醇苷),40 ~ 62 min 为 270 nm(淫羊藿苷);柱温:30 ℃;进样量:10 μL;流速:1.0 mL·min^{-1}。

青藤碱色谱条件:色谱柱为 Agilent ZORBAX Extend-C_{18}柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈(A)和 0.1% 磷酸水(B),梯度洗脱:0 ~ 10 min,8% → 15% A;10 ~ 30 min,15% →17% A;检测波长:262 nm;柱温:30 ℃;进样量:5 μL;流速:1.0 mL·min^{-1}。

黄芪甲苷色谱条件:色谱柱为 Agilent ZORBAX Extend-C_{18}柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈-水(32∶68);检测器:蒸发光散射检测器;漂移管温度:60 ℃;气体压力:40 psi;柱温:30 ℃;进样量:20 μL;流速:1.0 mL·min^{-1}。

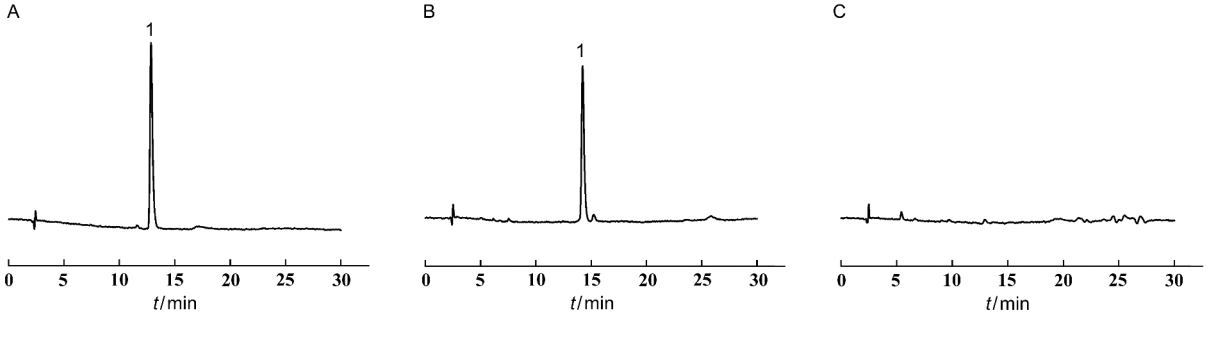
2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察 精密吸取上述对照品、供试品及阴性样品溶液适量,按照"**2.4**"项下色谱条件分别进样检测,记录色谱图(见图 4 ~ 图 6)。



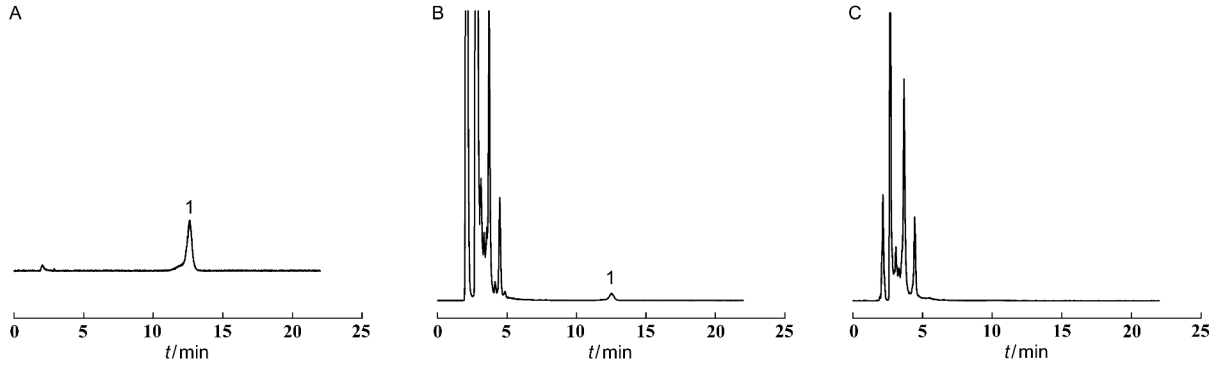
A:混合对照品溶液;B:供试品溶液Ⅰ;C:缺赤芍阴性样品溶液;D:缺防风阴性样品溶液;E:缺黄芪阴性样品溶液;F:缺淫羊藿阴性样品溶液;1:芍药苷;2:升麻素苷;3:毛蕊异黄酮苷;4:5-*O*-甲基维斯阿米醇苷;5:淫羊藿苷

图 4 芪风二藤颗粒中芍药苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷的 HPLC 图



A:青藤碱对照品溶液;B:供试品溶液Ⅱ;C:缺青风藤阴性样品溶液;1:青藤碱

图 5 芪风二藤颗粒中青藤碱的 HPLC 图



A:黄芪甲苷对照品溶液;B:供试品溶液Ⅲ;C:缺黄芪阴性样品溶液;1:黄芪甲苷

图 6 芪风二藤颗粒中黄芪甲苷的 HPLC 图

2.5.2 线性关系考察 精密量取芍药苷对照品 1.75 mL、升麻素苷对照品 0.70 mL、毛蕊异黄酮苷对照品 0.40 mL、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷对照品 0.62 mL 和淫羊藿苷对照品 0.90 mL,共同置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,制成混合对照品溶液,逐一精密移取混合对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,置 2 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得系列浓度的混合对照品溶液,进样测定峰面积;另取青藤碱对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,置 2 mL 量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得系列浓度的青藤碱对照品溶液,进样测定峰面积。以峰面积(y)和对照品溶液质量浓度(x,μg·mL^{-1})进行线性回归。

取黄芪甲苷对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,置 2 mL 量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得系列浓度的黄芪甲苷对照品溶液,进样测定峰面积。以峰面积的自然对数(y)和对照品溶液浓度的自然对数(x)进行线性回归。线性回归方程、相关系数及线性范围见表 2。

表 2 线性回归方程、相关系数、线性范围考察结果

成分	线性回归方程	r	线性范围/μg·mL^{-1}
芍药苷	$y=12.9x+0.765\ 1$	0.999 9	9.01 ~ 45.1
升麻素苷	$y=22.4x-0.636\ 1$	0.999 9	1.69 ~ 8.44
毛蕊异黄酮苷	$y=32.1x-0.363\ 4$	0.999 8	1.04 ~ 5.20
5-*O*-甲基维斯阿米醇苷	$y=25.0x-0.445\ 2$	0.999 9	1.32 ~ 6.59
淫羊藿苷	$y=17.0x-3.462$	0.999 8	4.35 ~ 21.7
青藤碱	$y=3.32x+1.004$	0.999 8	13.5 ~ 67.5
黄芪甲苷	$y=1.57x+11.51$	0.999 0	101 ~ 506

2.5.3 仪器精密度、重复性、稳定性、准确度考察 取“**2.1**”项下对照品溶液进样分析,进行仪器精密度考察。分别平行制备供试品溶液Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ各 6 份,进样分析,进行重复性考察。测定室温下供试品溶液Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ在不同时间点(配制后 0、2、4、8、12 和 24 h)的峰面积,进行稳定性考察。

取已知含量的同一批芪风二藤颗粒,每份约 50 mg,精密称定,分别精密加入与颗粒中芍药苷、升麻素苷、毛蕊异黄酮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、淫羊藿苷和青藤碱等量的对照品溶液,按供试品溶液Ⅰ、Ⅱ方法制备供试品溶液,各平行制备 6 份;取已知含量的同一批芪风二藤颗粒共 6 份,每份约 1 g,精密称定,分别精密加入与颗粒中黄芪甲苷等量的对照品溶液,按供试品溶液Ⅲ方法制备供试品溶液。测定并计算加样回收率,进行准确度考察。仪器精密度、重复性、稳定性、准确度考察结果见表 3。

表 3 仪器精密度、重复性、稳定性、准确度考察结果 $n=6$

成分	仪器精密度 RSD/%	稳定性 RSD/%	重复性 RSD/%	准确度/%	
				回收率	RSD
芍药苷	0.4	0.8	2.1	97.1～103.4	2.3
升麻素苷	0.7	0.9	2.0	96.3～103.9	2.7
毛蕊异黄酮苷	0.5	0.9	2.7	96.2～104.2	3.1
5-*O*-甲基维斯阿米醇苷	0.6	0.8	2.7	95.5～103.0	2.9
淫羊藿苷	0.6	1.0	2.1	96.7～104.0	3.2
青藤碱	0.5	1.5	2.8	97.4～103.0	2.2
黄芪甲苷	0.7	1.3	3.0	95.9～103.3	2.8

2.6 样品含量测定

分别取 3 个批次的样品，按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，测定含量。结果见表 4。

表 4 样品含量测定 $mg\cdot g^{-1}$，$n=2$

成分	批次 1	批次 2	批次 3
芍药苷	2.99	3.11	3.06
升麻素苷	0.52	0.53	0.51
毛蕊异黄酮苷	0.27	0.27	0.26
5-*O*-甲基维斯阿米醇苷	0.37	0.39	0.37
淫羊藿苷	1.38	1.35	1.37
青藤碱	3.32	3.45	3.40
黄芪甲苷	0.61	0.62	0.63

讨　论

本文从定性鉴别和含量测定两方面建立了芪风二藤颗粒的质量标准，对处方中 7 味药材的 TLC 鉴别条件进行了考察和优化，并建立了相应方法。在黄芪的 TLC 鉴别中，研究发现将展开剂置于 4 ℃冰箱静置过夜可改善色谱条带形态；通过比较不同提取纯化方法，发现采用水饱和正丁醇振摇提取后经氨试液洗涤，再结合大孔吸附树脂柱和中性氧化铝柱纯化的样品分离效果最佳，色谱斑点清晰度显著提高。对于川牛膝的鉴别，研究发现《中华人民共和国药典》2020 年版一部所载方法存在显色不清晰和阴性干扰问题，通过优化展开系统，将其中使用的三氯甲烷-甲醇（10∶1）改为甲苯-三氯甲烷-丙酮（8∶4∶1），获得了良好的分离效果。宽筋藤的鉴别方法系参考《中华人民共和国药典》2020 年版一部青风藤的鉴别方法改进而来，鉴于甲苯-乙酸乙酯-甲醇-水（2∶4∶2∶1）系统展开效果不佳，将展开剂改为二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水（2∶4∶2∶1），虽能显示特征斑点但背景存在干扰，之后将样品用中性氧化铝柱纯化，分离效果明显改善。鉴别淫羊藿时，发现《中华人民共和国药典》2020 年版及文献方法存在干扰[13]，研究发现样品须经 AB-8 大孔树脂柱纯化，优选洗脱溶剂为 50% 乙醇，分离效果好且无阴性干扰。根据芪风二藤颗粒组方药味中所含化学成分的理化性质和药理作用，选择 5 味药材中 7 种活性成分建立了多成分的 HPLC 含量测定方法。上述建立的芪风二藤颗粒质量控制方法覆盖药味全面，指标成分与活性关联性强，能够较有效地控制和评价芪风二藤颗粒的质量，为保障临床用药的安全、有效奠定了基础。

[参 考 文 献]

[1] 任妮娜，凌益，马武开，等. 中药复方治疗类风湿关节炎的实验研究进展[J]. 风湿病与关节炎，2020，9(9)：62－66，71.
[2] 陈武，张敏，黄琳，等. 专利中药复方治疗类风湿关节炎的用药规律及机制研究[J]. 中药新药与临床药理，2022，33(8)：1131－1136.
[3] 谷雨龙，朱丹，柏冬，等. 黄芪赤风汤对大鼠胶原诱导性关节炎的治疗作用[J]. 山东医药，2018，58(44)：14－17.
[4] GU YL，LIU B，JIANG YY，*et al*. Simultaneous determination of five major constituents in the effective fractions of huangqichifeng medicinal broth，by uplc-ms/ms[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*，2014，37(10)：1404－1415.
[5] 谷雨龙，刘斌，姜艳艳. LCMS-IT-TOF 法分析黄芪赤风汤提取物的化学成分[J]. 中华中医药学刊，2018，36(3)：630－637.
[6] 谷雨龙，刘斌，姜艳艳. 高效液相色谱法测定黄芪赤风汤提取物中萜类和色酮类成分的含量[J]. 环球中医药，2017，10(3)：293－296.
[7] 邓杏好，谭梅英，姚远华. 参芪抗炎方中调控 TNF-α 表达治疗类风湿关节炎成分的筛选和 HPLC-ELSD 同时测定[J]. 海峡药学，2020，32(7)：58－61.
[8] SU XH，HUANG QC，CHEN JY，*et al*. Calycosin suppresses expression of pro-inflammatory cytokines via the activation of p62/Nrf2-linked heme oxygenase 1 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. *Pharmacol Res*，2016，113(Pt A)：695－704.
[9] 蒋政萌，曾素玲，黄天擎，等. 青藤碱通过调控肠道菌群与色氨酸代谢激活芳香烃受体改善类风湿性关节炎[J]. 科学通报，2023，68(14)：1540－1555.
[10] 雷杰，张志文，贺梦吟，等. 淫羊藿苷对类风湿关节炎小鼠 NLRP3 炎性小体信号通路的影响[J]. 现代中西医结合杂志，2020，29(29)：3206－3211.
[11] 乔萍，王佳丽，谢辉，等. 经典名方羌活胜湿汤指纹图谱及药效关联物质预测分析[J]. 药物分析杂志，2022，42(4)：618－629.
[12] 毛霞，陈文佳，李鹰飞，等. 基于网络药理学研究策略探究芍药苷对佐剂诱导型关节炎大鼠模型的治疗作用及其分子机制[J]. 药学学报，2019，54(11)：2000－2010.
[13] 王蕾，谈瑄忠，毛春芹，等. 淫桂通便颗粒的质量标准研究[J]. 中国药房，2013，24(15)：1400－1402.

编辑：姚佳敏/接受日期：2025－06－17