中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2025)12－0081－04
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.12.018

益气养阴颗粒质量标准研究*

谢俊杰[1]，刘国彬[1]，姜　蕾[1]，郁冬冬[1]，郭怀宇[1]，苏　婷[2△]

（1. 安徽省六安市中医院，安徽 六安　237005；　2. 皖西学院，安徽 六安　237012）

摘要：目的　建立益气养阴颗粒的质量标准。**方法**　采用薄层色谱（TLC）法对制剂中黄芪、甘草和炒白术进行定性鉴别；以高效液相色谱（HPLC）法对制剂中黄芪甲苷进行含量测定。色谱柱为 Agilent 5 TC－C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈－水（37∶63，*V*/*V*），流速为 1.0 mL/min，柱温为 30 ℃，进样量为 10 μL。**结果**　黄芪、炒白术和甘草的 TLC 图斑点清晰，分离度良好，阴性对照无干扰。黄芪甲苷质量浓度在 1.19～4.16 μg/mL（r=0.999 8）范围内与峰面积线性关系良好；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均小于 2.0%；平均加样回收率为 98.36%，*RSD* 为 2.02%（n=6）；耐用性试验结果的 *RSD* 均小于 2.0%。12 批样品中黄芪甲苷的含量为 0.111 7～0.182 8 mg/g，平均转移率为 33.66%。**结论**　该研究中建立的质量标准操作简便，结果稳定可靠，可用于益气养阴颗粒的质量控制。

关键词：益气养阴颗粒；黄芪甲苷；薄层色谱法；高效液相色谱法；质量标准

Establishment of Quality Standard for Yiqi Yangyin Granules

XIE Junjie[1], LIU Guobin[1], JIANG Lei[1], YU Dongdong[1], GUO Huaiyu[1], SU Ting[2]

(1. Lu'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lu'an, Anhui, China　237005;　2. West Anhui Uniersity, Lu'an, Anhui, China　237012)

Abstract: Objective　To establish quality standard for Yiqi Yangyin Granules. **Methods**　Thin－layer chromatography (TLC) was employed for the qualitative identification of Astragali Radix, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and Fried Atractylodis macrocephalae Rhizoma in the preparation. The high－performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the contents of astragaloside Ⅳ in the preparation. The chromatographic column was Agilent 5 TC－C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile－water (37∶63, *V*/*V*), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results**　The TLC spots of astragaloside Ⅳ, Fried *Rhizoma Atractylodis* and and *Glycyrrhiza uralensis* were clear and well－separated, and the negative control had no interference. The concentration of astragaloside Ⅳ ranged from 1.19－4.16 μg/mL, showing good linearity with peak area (r=0.999 8). The *RSDs* of precision, stability and repeatability test results were all less than 2.0 %. The average recovery was 98.36 % and *RSD* was 2.02% (n=6). The *RSD* of durability test results was less than 2.0%. The content of astragaloside Ⅳ in 12 batches of samples ranged from 0.111 7－0.1828 mg/g, and the average transfer rate was 33.66 %. **Conclusion**　The quality standard established in this study is simple, stable and reliable, and can be used for the quality control of Yiqi Yangyin Granules.

Key words: Yiqi Yangyin Granules; astragaloside Ⅳ; TLC; HPLC; quality standard

益气养阴颗粒是以六安市中医院临床经验方益气养阴汤为基础开发研制的制剂，由黄芪、南沙参、炒白术、茯苓、山药、麦冬、鱼腥草、瓜蒌皮、甘草9味药材组方，有益气养阴、健脾化痰功效，临床主要用于佐治气阴两虚型中晚期肺腺癌，可改善患者气阴两虚证候和生存质量[1－2]。相比传统汤剂，制剂具有携带方便、储存时间长、治疗依从性好等优点。但在日常抽样检验中发现，该制剂的现行质量标准仅包括简单的常规检查项，对其处方中有效成分尚未进行质量控制，影响其疗效的发挥。鉴于此，本研究中对制剂中黄芪、甘草和炒白术进行薄层色谱（TLC）鉴别，并采用高效液相色谱（HPLC）法测定制剂中黄芪甲苷含量，为提升益气养阴颗粒的质量标准提供技术支撑。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

1200型高效液相色谱仪（美国Agilent公司）；ELSD 6000蒸发光散射检测器（美国Altech公司）；KQ－5200DA型超声波清洗器（昆山禾创超声仪器有限公司）；XPR2型电子分析天平（瑞士Mettler Toledo公司，精度为0.001 mg）；XWK－Ⅲ型空气发生器（天津市津分分析仪器制造有限公司）；BT125D型电子分子天平（德国Sartorius公司，精度为0.1 mg）。

*基金项目：安徽省大别山中医药研究院开放课题[TCMADM－2023－02，TCMADM－2023－08，TCMADM－2024－14]。

第一作者：谢俊杰，男，硕士，主管中药师，研究方向为医院院内制剂研究，（电子信箱）xjj7294@163.com。

△通信作者：苏婷，女，博士，高级工程师，研究方向为药效物质基础与中药药剂学，（电子信箱）suting_1989@126.com。

1.2 试药

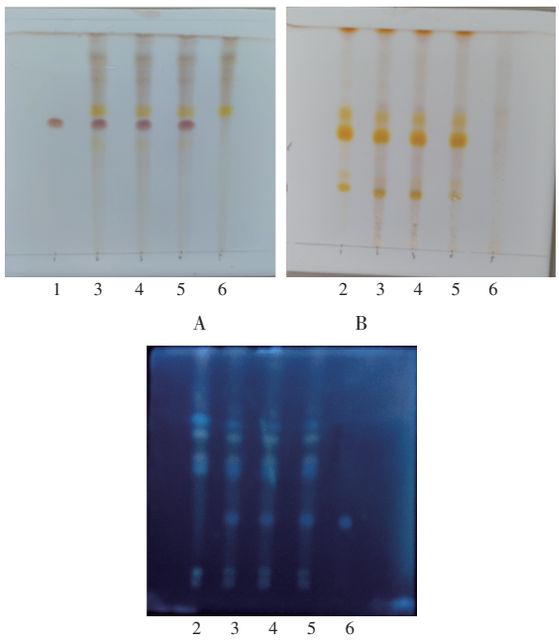
益气养阴颗粒（六安市中医院中药制剂中心，批号分别为20230323、20230331、20230415、20230427、20230509、20230521、20230528、20230605、20230616、20230716、20230727、20230812）；甘草对照药材（批号为 120904 - 202021）、白术对照药材（批号为 120925 - 202114）、黄芪甲苷对照品（批号为 110781 - 201717，含量 96.9%），均购自中国食品药品检定研究院；Silica gel 60 硅胶薄层板（德国 Merck 公司）；乙腈和甲醇均为色谱纯，其他试剂均为分析纯，水为超纯水。黄芪饮片（批号分别为 2303083、2304063、2305123）为市售，经六安市中医院主任药师许永鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

黄芪甲苷[3]318 - 319：取样品 4 g，研细，置 150 mL 具塞锥形瓶中，加甲醇 100 mL，超声（功率 100 W、频率 40 Hz，下同）处理 30 min，滤过，滤液蒸干。残渣加水 20 mL 使溶解，用水饱和正丁醇萃取 4 次，每次 40 mL，合并正丁醇液。用氨试液洗涤 2 次，每次 40 mL，弃氨液，蒸干。用甲醇溶解并移至 5 mL 容量瓶中，加甲醇定容，摇匀，即得供试品溶液。取黄芪甲苷对照品 1.533 g，精密称定，置 5 L 容量瓶中，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。按益气养阴颗粒处方和工艺制备缺黄芪的阴性样品，并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按 2020 年版《中国药典（一部）》通则 0502 薄层色谱法试验，吸取供试品溶液、阴性对照品溶液各 8 μL 及对照品溶液 1 μL，分别点于同一硅胶薄层板上，以三氯甲烷 - 甲醇 - 水（13∶7∶2，*V* / *V* / *V*）的下层溶液（10 ℃下分层静置 30 min 以上）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，105 ℃加热约 5 min 斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色斑点，且阴性对照无干扰。详见图 1A。

甘草[3]88 - 89：取样品 5 g，研细，加甲醇 50 mL，超声处理 30 min，滤过，滤液蒸干，残渣加水 30 mL 使溶解，乙醚振摇提取 2 次，每次 30 mL，弃乙醚液；水层用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次，每次 30 mL，合并正丁醇提取液，蒸干，过 10 g 中性氧化铝（100 ~ 200 目，内径 1.5 cm）柱，甲醇 40 mL 洗脱，弃洗脱液；40% 甲醇 60 mL 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，即得供试品溶液。取甘草对照药材 1 g，加水 50 mL，加热回流 1 h，放冷，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 30 mL，超声 30 min，滤过，滤液蒸干；按供试溶液制备方法制成对照药材溶液。按益气养阴颗粒处方和工艺制备缺甘草的阴性样品，并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按 2020 年版《中国药典（上部）》通则 0502 试验，吸取上述



1. 对照品溶液 2. 对照药材溶液 3 - 5. 供试品溶液 6. 阴性对照品溶液

A. 黄芪 B. 甘草 C. 炒白术

图 1 薄层色谱图

1. Reference solution 2. reference medicinal solution 3 - 5. Test solution 6. Negative reference solution

A. Astragali Radix B. Glycyrrhizae Radix et Rhizoma C. Fried Atractylodis macrocephalae Rhizoma

Fig. 1 TLC chromatograms

3 种溶液各 5 ~ 10 μL，分别点于同一硅胶薄层板上，以乙酸乙酯 - 甲酸 - 冰醋酸 - 水（15∶1∶1∶2，*V* / *V* / *V*）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，105 ℃加热至斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱在与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色斑点，且阴性对照无干扰。详见图 1 B。

炒白术[4]：取样品 4 g，研细，加水 50 mL 溶解，加入石油醚（30 ~ 60 ℃）萃取，提取 2 次，每次 30 mL，将 2 次萃取剂混合置于水浴锅中挥发蒸干，加入 1 mL 甲醇溶解，即得供试品溶液。取白术对照药材 0.5 g，加水 40 mL 溶解，加热回流 1 h，冷却，过滤，取滤液，按供试溶液制备方法制成对照药材溶液。按益气养阴颗粒处方和工艺制备缺炒白术的阴性样品，并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按 2020 年版《中国药典（一部）》通则 0502 薄层色谱法试验，吸取上述 3 种溶液各 10 μL，分别点于同一硅胶薄层板上，以环己烷 - 乙酸乙酯（7∶3，*V* / V）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 对二甲氨基苯甲醛硫酸溶液，110 ℃加热 5 min，置紫外光灯（365 nm）下检视。结果供试品溶液色谱与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色斑点，阴性对照无干

扰。详见图 1 C。

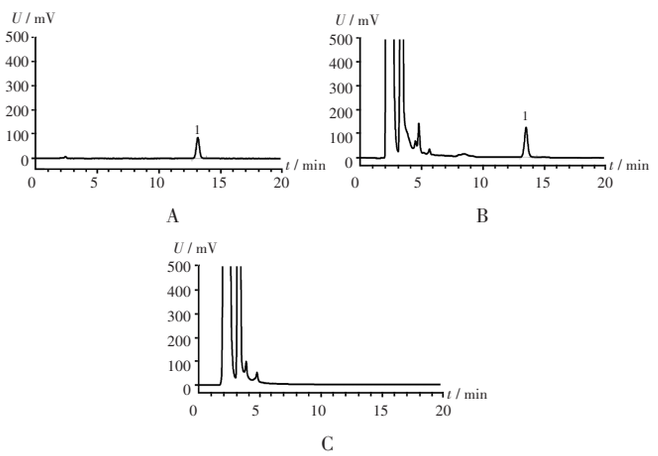
2.2 甲苷含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱：Agilent 5 TC－C_{18}柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)；流动相：乙腈－水(37∶63,*V*/*V*)；流速：1.0 mL/min；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。

2.2.2 方法学考察[5－7]

专属性考察：取 2.1 项下供试品溶液和阴性对照品溶液各 20 μL，对照品溶液 10 μL，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果供试品溶液色谱与对照品溶液色谱相同保留时间处出现相应色谱峰，分离效果良好，且阴性对照无干扰，表明专属性良好。见图 2。



1. 黄芪甲苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 2 高效液相色谱图

1. Astragaloside Ⅳ

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

线性关系考察：分别取 2.1 项下对照品溶液 4，6，8，10，12，14 μL，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，以黄芪甲苷质量浓度(*X*，μg/mL)为横坐标、峰面积为纵坐标(*Y*)进行线性回归。得回归方程 $Y = 1.650\,2X + 5.788$($r = 0.999\,8$，$n = 6$)。结果表明，黄芪甲苷质量浓度在 1.19～4.16 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验：取 2.1 项下对照品溶液 10 μL，按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果的 *RSD* 为 1.16%($n = 6$)，表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取供试品溶液(批号为 20230323)适量，分别于室温放置 0，2，4，8，12，24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果的 *RSD* 为 1.86%。表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验：分别取样品(批号为 20230323)4.001 8，4.006 9，4.012 0，4.011 9，4.014 8，4.014 1 g，按 2.1 项下供试品溶液制备方法制得供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果黄芪甲苷平均含量为 0.182 8 mg/g，*RSD* 为 1.91%($n = 6$)，表明方法重复性较好。

加样回收试验：取已知含量样品(批号为 20230323)适量，共 6 份，加入对照品溶液，按 2.1 项下供试品溶液制备方法制备供试品溶液，再按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果($n = 6$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$(%)	*RSD*(%)
2.027 2	0.371	0.353	0.725	100.28	98.36	2.02
2.006 5	0.367	0.343	0.700	97.08		
2.007 8	0.367	0.390	0.750	98.21		
2.005 0	0.367	0.385	0.750	99.48		
2.011 0	0.368	0.349	0.700	95.13		
2.014 4	0.368	0.357	0.725	100.00		

耐用性考察：取 2.1 项下 3 种溶液各适量，分别考察不同色谱柱(Agilent 5 TC－C_{18}柱，Agilent Eclipse XDB－C_{18}柱，Agilent Zorbax SB－C_{18}柱)，不同流动相比例[乙腈－水(33∶67、34∶66、35∶65、37∶63、38∶62、39∶61，*V*/*V*)]，流速(0.8，0.9，1.0，1.1，1.2 mL/min)，柱温(25，30，35 ℃)及漂移管温度(95，100，105 ℃)对样品中黄芪甲苷峰面积、分离度的影响。结果的 *RSD* 均小于 2.0%，表明色谱柱、流动相比例、柱温及漂移管温度发生一定程度变化时，本方法满足试验要求耐用性良好。

2.2.3 样品含量测定及转移率计算

分别取 12 批样品适量，按 2.1 项下供试品溶液制备方法制备供试品溶液，并按 2.2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算样品含量，并计算转移率[转移率(%)＝各批次成品中黄芪甲苷的含量×各批次成品的总量/(投料饮片中黄芪甲苷的含量×饮片投料量)×100%]。结果见表 2。

3 讨论

本研究仅完成制剂组方 9 种药材中黄芪、炒白术和甘草的 TCL 鉴别，其他 6 味药材均未建立稳定可靠的鉴别方法。在后续研究中应加强对其他 6 味药材的定性鉴别。益气养阴颗粒中黄芪为君药，有益气固表、养阴润肺之效，2020 年《中国药典(一部)》中也对黄芪的含量作了明确要求。有研究显示，黄芪甲苷能通过多个信号通路调节免疫细胞，从而发挥抗肿瘤的作用[8－12]，结合安徽省药品监督管理局制订的《安徽省医疗机构应用传统工艺配制中药制剂备案管理实施细则》[13]中有关含量测定的要求，本研究中采用 HPLC 法测定样品中黄芪甲苷的含量。

表2 样品中黄芪甲苷含量测定结果及转移率计算结果

Tab. 2 Results of content determination and transfer rate of astragaloside Ⅳ in samples

饮片		样品		转移率(%)	
批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)	数值	$\overline{X}$
2303083	1.60	20230323	0.182 8	34.28	33.66
		20230331	0.179 5	33.66	
		20230415	0.180 1	33.77	
		20230427	0.181 2	33.98	
2304063	1.40	20230509	0.168 5	36.11	
		20230516	0.169 6	36.34	
		20230528	0.165 6	35.49	
		20230605	0.170 1	36.45	
2305123	1.10	20230616	0.122 5	30.68	
		20230716	0.116 4	31.75	
		20230727	0.113 6	30.98	
		20230812	0.111 7	30.46	

目前测定黄芪甲苷含量时，样品前处理多采用醇提碱洗，大孔树脂洗脱[14-18]。但由于大孔树脂对黄芪甲苷存在一定的死吸附，洗脱时，会有少量的黄芪甲苷会吸附在大孔树脂中[19-20]。因此，本研究中供试品溶液未采用大孔树脂洗脱。减少了样品的前处理时间，提高了检测效率，及含量测定结果的准确度。同时预试验中采用单因素变量法，对超声时间、水饱和正丁醇萃取次数及氨试液洗涤次数对黄芪甲苷含量测定结果影响进行考察，结果显示，超声时间对含量测定有明显影响，水饱和正丁醇萃取次数越多，测出的含量越高，但当萃取达到4次后，萃取次数对含量影响较小。黄芪甲苷主要来源于其衍生物的转化及游离态成分，黄芪甲苷衍生物在碱性环境下被水解成游离态的黄芪甲苷有关，造成氨试液洗涤1次与2次含量相差较大，因此为了结果的准确性，本研究在处理样品时使用氨试液充分处理2次。

含量测定是药品质量标准不可或缺的一部分，而转移率是制订含量限度时的主要参考因素。本研究中对3批黄芪饮片和12批制剂中黄芪甲苷的含量测定及转移率的计算，结果仅20230616、20230716、20230727、20230812 4批含量较低，其余8批转移率较稳定，说明益气养阴颗粒在整个煎煮、浓缩、干燥、制粒系列过程中，成品制剂工艺稳定、可靠，质量稳定可控。

综上所述，该研究建立的含量测定方法操作简便，结果稳定可靠，可用于益气养阴颗粒的质量控制。

参考文献

[1] 梁 惠，喻怀斌，李要轩，等. 益气养阴汤联合厄洛替尼治疗中晚期肺腺癌临床研究[J]. 安徽中医药大学学报，2019，38(5)：41-44.
[2] 李要轩，梁 惠，夏 磊，等. 益气养阴汤联合厄洛替尼对中晚期肺腺癌患者生活质量的影响[J]. 安徽中医药大学学报，2018，37(6)：39-41.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020.
[4] 王 鼎，王 佳，胡军华，等. 小儿健脾颗粒质量标准建立研究[J]. 中草药，2023，54(18)：5933-5940.
[5] 陈 勇，杨 欢. 黄芪甲苷在液体制剂中含量测定优化方法的探索[J]. 中国药物评价，2022，39(2)：122-124.
[6] 田 明，李 伟，孙宏宇，等. 高效液相色谱测定条件的耐用性试验研究[J]. 中医药学报，2010，38(3)：77-80.
[7] 王 铮，吕益涛，蒋倩倩，等. 高效液相色谱法测定复方黄芪健脾口服液中黄芪甲苷含量[J]. 中国药业，2023，32(10)：68-71.
[8] 姜 怡，蔡雨晴，张 朋，等. 益气养阴解毒方及黄芪甲苷体外对CTLA-4介导的肺癌免疫逃逸的影响[J]. 中成药，2021，43(8)：2173-2177.
[9] 吴安妮，袁 力，邢 婧，等. 黄芪甲苷对非小细胞肺癌细胞A549、SPC-A1增殖凋亡的调控作用及其机制[J]. 山东医药，2021，61(3)：18-22.
[10] 周 威，陈贡斌，刘海燕，等. 黄芪甲苷对乌拉坦诱导肺癌小鼠的防治作用及其机制[J]. 新乡医学院学报，2021，38(1)：18-25.
[11] 李紫瑞. 黄芪甲苷逆转非小细胞肺癌A549/DDP细胞顺铂耐药的作用机制研究[D]. 南京：南京中医药大学，2022.
[12] 安徽省药品监督管理局办公室. 关于印发安徽省医疗机构应用传统工艺配制中药制剂备案管理实施细则的通知[A/OL]. (2022-09-19)[2024-05-20]. https://mpa.ah.gov.cn/public/4140867/121359151.html.
[13] 张振飞，刘雨晴，蒋 珊，等. 黄芪甲苷对非小细胞肺癌A549细胞增殖侵袭迁移及免疫球蛋白样转录子4表达的影响[J]. 中医临床研究，2022，14(6)：91-96.
[14] 黄一挚，赵斌斌，盘雯慧，等. 安肠液质量标准的建立[J]. 中国药业，2022，31(10)：85-89.
[15] 颜仁梁，张小勇，李冠霖，等. HPLC-ELSD法测定阿胶三宝颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 海峡药学，2021，33(8)：38-40.
[16] 熊有明，崔 虹，熊学庆. 高效液相-蒸发光散射法测定芪归益母膏中黄芪甲苷含量[J]. 中国药业，2020，29(9)：123-125.
[17] 杨广安，马海霞，谭琪明，等. HPLC-ELSD法测定黄芪精粉中黄芪甲苷的含量[J]. 广东化工，2019，46(21)：134-135.
[18] 马 宁，郝 娟，王景雪. HPLC-ELSD法测定不同产地、剂型黄芪饮片中黄芪甲苷含量[J]. 山西农业科学，2020，48(9)：1431-1434.
[19] 肖柳君，吕 尚，魏惠珍，等. 药典法测定黄芪药材黄芪甲苷含量方法的商榷[J]. 江西中医药大学学报，2022，34(2)：84-87.
[20] 洪 毅，高 莉，姜作玲. 养心氏滴丸纯化工艺研究[J]. 中国现代中药，2017，19(3)：425-429.

(收稿日期：2024-05-20；修回日期：2024-12-01)