

UFLC 法同时测定黄芪桂枝五物汤中 4 个活性成分的含量*

关皎, 张颖, 刘爽爽, 郝乘仪, 冯波, 梁承武, 朱鹤云**

(吉林医药学院药学院, 吉林 132013)

摘要 目的: 建立超快速液相色谱法同时测定黄芪桂枝五物汤(黄芪、桂枝、芍药、生姜、大枣)中毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的含量, 为黄芪桂枝五物汤的质量控制提供依据。方法: 采用 Shim-Pack XR-ODS 色谱柱(75 mm×3.0 mm, 2.2 μm); 流动相为 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~5 min, 10%B→20%B; 5~10 min, 20%B→25%B; 10~15 min, 25%B→35%B; 15~18 min, 35%B→43%B), 平衡时间为 5 min; 流速为 0.4 mL·min⁻¹; 柱温为 35 °C; 检测波长分别为 232 nm(毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷)和 290 nm(桂皮酸); 进样量为 5 μL。结果: 毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸质量浓度分别在 1~50 μg·mL⁻¹(*r*=0.999 7)、10~500 μg·mL⁻¹(*r*=0.999 8)、2.5~125 μg·mL⁻¹(*r*=0.999 8)和 5~250 μg·mL⁻¹(*r*=0.999 7)范围内与峰面积呈良好的线性关系; 平均回收率分别为 96.9%、99.4%、98.5% 和 98.9%。6 批样品中上述 4 个成分的含量范围分别为 0.185~0.221、18.80~23.49、4.00~4.92 和 0.644~0.681 mg·mL⁻¹。结论: 本法可用于黄芪桂枝五物汤的质量控制。

关键词: 黄芪桂枝五物汤; 毛蕊异黄酮苷; 芍药苷; 芍药内酯苷; 桂皮酸; 黄酮类成分; 有机酸类成分; 单萜苷类成分; 黄芪; 桂枝; 芍药; 超快速液相色谱法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2018)10-1683-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.10.04

Simultaneous determination of four active constituents in Huangqi Guizhi Wuwu decoction by UFLC*

GUAN Jiao, ZHANG Ying, LIU Shuang-shuang, HAO Cheng-yi,
FENG Bo, LIANG Cheng-wu, ZHU He-yun**

(College of Pharmacy, Jilin Medical University, Jilin 132013, China)

Abstract Objective: To develop an ultra-fast liquid chromatography (UFLC) method for simultaneous determination of four active constituents (calycosin-7-O-β-D-glucoside, paeoniflorin, albiflorin and cinnamic acid) in Huangqi Guizhi Wuwu decoction. **Methods:** Chromatographic separation was achieved on a Shim-Pack XR-ODS column (75 mm×3.0 mm, 2.2 μm). The mobile phase consisted of water (containing 0.1% phosphoric acid) (A) and acetonitrile (B) with gradient elution (0~5 min, 10%B→20%B; 5~10 min, 20%B→25%B;

* 国家自然科学基金项目(81703683); 吉林省中医药管理局项目(2018124); 吉林省中医药管理局项目(2017250); 吉林省教育厅项目(2016242); 吉林省卫生计生委项目(2017Q048); 吉林市科技局杰出青年基金项目(20166031); 吉林市科技局杰出青年基金项目(20166029); 2016 年吉林医药学院大学生创新创业项目

** 通信作者 Tel: (0432) 64560530; E-mail: zhy19820903@126.com
第一作者 Tel: 13578505986; E-mail: rainbowguanjiao@sina.com

10–15 min, 25%B → 35%B; 15–18 min, 35%B → 43%B) at a flow rate of 0.4 mL · min⁻¹ and the equilibration time was 5 min. Column temperature was maintained at 35 °C and the injection volume was 5 μL. Calycosin-7-O-β-D-glucoside, paeoniflorin and albiflorin were determined at 232 nm, and cinnamic acid was determined at 290 nm. **Results:** The linear ranges were 1.0–50 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$) for calycosin-7-O-β-D-glucoside, 10–500 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$) for paeoniflorin, 2.5–125 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$) for albiflorin and 5.0–250 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 7$) for cinnamic acid. The average recoveries ($n=9$) of calycosin-7-O-β-D-glucoside, paeoniflorin, albiflorin and cinnamic acid were 96.9%, 99.4%, 98.5% and 98.9%, respectively. The content ranges of four components in six batches of samples were 0.185–0.221 mg · mL⁻¹ for calycosin-7-O-β-D-glucoside, 18.80–23.49 mg · mL⁻¹ for paeoniflorin, 4.00–4.92 mg · mL⁻¹ for albiflorin and 0.644–0.681 mg · mL⁻¹ for cinnamic acid. **Conclusion:** The developed method is suitable for the quality control of Huangqi Guizhi Wuwu decoction.

Keywords: Huangqi Guizhi Wuwu decoction; calycosin-7-O-β-D-glucoside; paeoniflorin; albiflorin; cinnamic acid; flavonoids; organic acids; monoterpene glycosides; Astragali Radix; Cinnamomi Radix; Paeoniae Radix Alba; UFLC

黄芪桂枝五物汤是汉代张仲景所著《金匮要略》中治疗血痹症的经典方剂,原文记载“血痹阴阳俱微,寸口关上微,尺中小紧,外证身体不仁,如风痹状,黄芪桂枝五物汤主之”^[1]。该方由黄芪、桂枝、芍药、生姜和大枣共 5 味药材组成,具有益气温经及和血通痹的功效。研究表明,黄芪桂枝五物汤具有抗炎镇痛,增强免疫,保护心脑血管,抗冻伤,神经保护等多种生物活性,临床上广泛用于骨关节炎、糖尿病周围神经病变、冠心病、脑梗、颈椎病、皮肤瘙痒症、冻伤等疾病的治疗^[2-4]。

黄芪桂枝五物汤的配方体现了中药复方君臣佐使的思想,方中黄芪益气固卫,振奋阳气为君药,桂枝温经通阳,协黄芪达表而运行气血为臣药,芍药养血和营为佐药,生姜祛散风邪,大枣调和营卫为使药。黄芪中主要含有毛蕊异黄酮苷等黄酮类成分和黄芪甲苷等皂苷类成分,具有增强免疫力,促进血液循环等功效^[5-7];桂枝中主要含有桂皮酸等有机酸类成分,具有抑菌、抗炎、抗过敏、抗肿瘤、抗病毒、利尿等功效^[8-9];芍药主要含有芍药苷和芍药内酯苷等单萜苷类成分,具有镇痛、解痉、抗炎和促进肌肉松弛等功效^[10-11]。目前,关于黄芪桂枝五物汤的质量控制已有文献报道^[12-13],仅选择方中指标性成分黄芪甲苷进行含量测定,所采用的方法为高效液相色谱法,采用的检测器为蒸发光散射检测器(ELSD),存在操作烦琐,检测指标少,重现性差等缺点。关于黄芪桂枝五物汤中多种药材的多种成分同时测定尚未见文献报道。近年来,超快速液相色谱(ultra-fast liquid chromatography, UFLC)技术由于在峰容量、分析效率、灵敏度和分辨率方面均优于常规的 HPLC 法,并

可在极短的时间内达到柱平衡或重新平衡,显著减少分析时间,减少了溶剂用量,降低了分析成本,已越来越多地应用于中药复方的质量控制研究^[14-15]。本研究建立了同时测定黄芪桂枝五物汤中毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸含量的超快速液相色谱法,所建立的分析方法分析时间明显缩短,分析效率显著提高,可为全面评价黄芪桂枝五物汤的内在质量提供科学依据。

1 仪器与试剂

日本岛津公司 Prominence UFLC 型超快速液相色谱仪(配备 Prominence SIL-20AHT 自动进样器, LC-20AD 二元泵, CTO-20A 柱温箱, SPD-20A 紫外检测器, LC solution 色谱工作站),昆山市超声仪器有限公司 KQ-250DE 型数控声波清洗器;赛多利斯仪器有限公司 CPA 225D 型电子天平。

乙腈和甲醇为色谱纯(美国 Fisher Scientific 公司),磷酸为分析纯(国药集团化学试剂有限公司),所用水为经过 Milli-Q 型超纯水仪净化后的超纯水,其他试剂均为分析纯。对照品毛蕊异黄酮苷(批号 111920-201606)和芍药苷(批号 110736-201640)购自中国食品药品检定研究院,对照品芍药内酯苷(批号 151109)和桂皮酸(批号 150924)购自成都普菲德生物技术有限公司,纯度均大于 98%。

黄芪、桂枝、芍药、生姜、大枣均购自吉林市吉林大药房,产地分别为内蒙古、安徽、广西、新疆、吉林,经吉林医药学院生药教研室李景华副教授鉴定,黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥

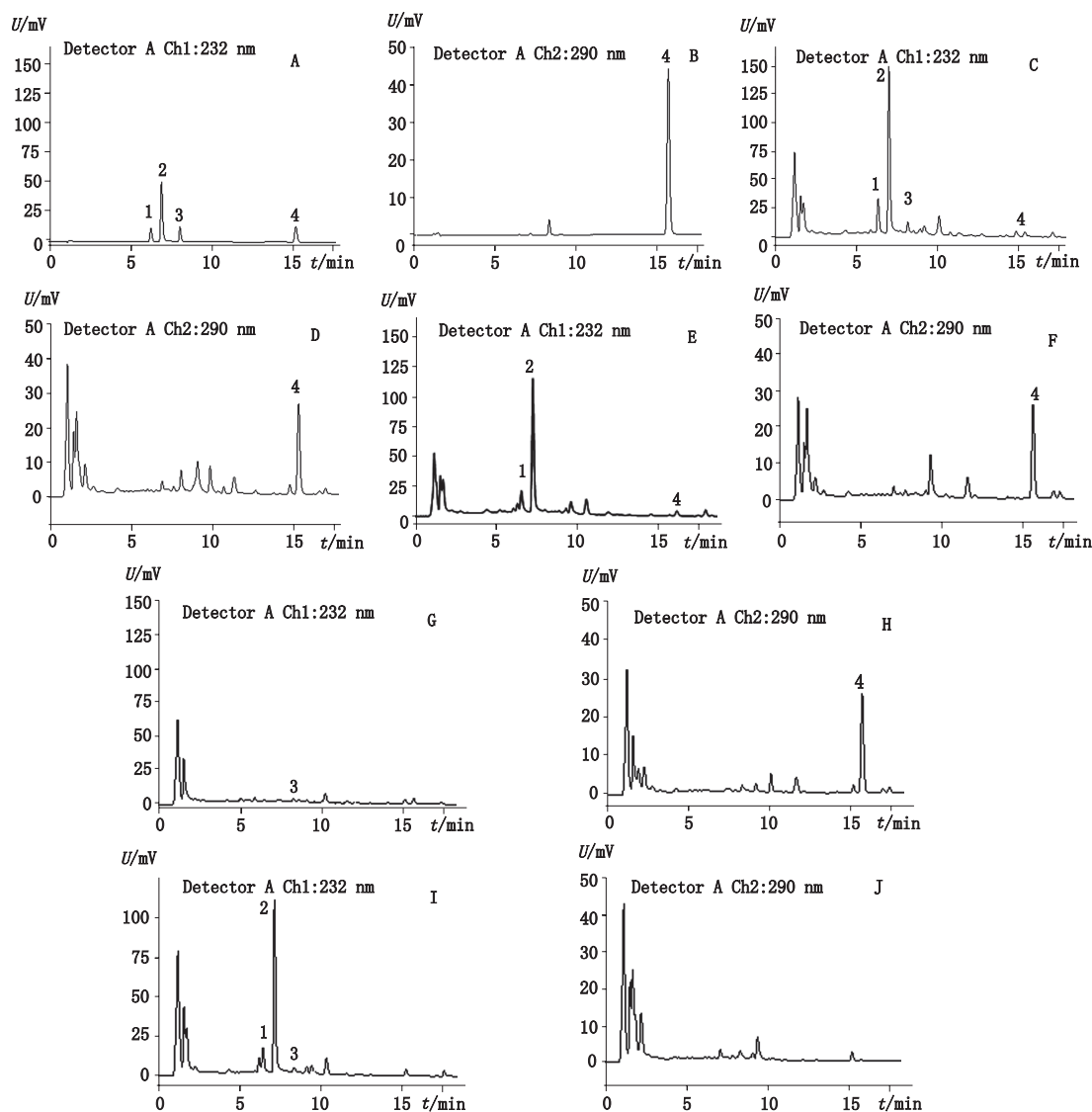
根,桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝,芍药为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rose. 的新鲜根茎,大枣为鼠李科植物枣 *Ziziphus Jujuba* Mill. 的干燥成熟果实,样本留存于吉林医药学院药学院中药样品室。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Shim-Pack XR-ODS (75 mm × 3.0 mm,

2.2 μm), 预柱为 C₁₈ 保护柱 (4 mm × 3.0 mm, 2.2 μm), 流动相为 0.1% 磷酸水溶液 (A)–乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 10%B → 20%B; 5~10 min, 20%B → 25%B; 10~15 min, 25%B → 35%B; 15~18 min, 35%B → 43%B), 平衡时间为 5 min, 流速 0.4 mL · min⁻¹, 检测波长分别为 232 nm (毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷) 和 290 nm (桂皮酸), 柱温为 35 °C, 进样量 5 μL。典型色谱图见图 1。



1. 芍药内酯苷 (albiflorin) 2. 芍药苷 (paeoniflorin) 3. 毛蕊异黄酮苷 (calycosin-7-O-β-D-glucoside) 4. 桂皮酸 (cinnamic acid)

图 1 混合对照品 232 nm (A)、混合对照品 290 nm (B)、黄芪桂枝五物汤样品 232 nm (C)、黄芪桂枝五物汤样品 290 nm (D)、缺黄芪的阴性样品 232 nm (E)、缺黄芪的阴性样品 290 nm (F)、缺芍药的阴性样品 232 nm (G)、缺芍药的阴性样品 290 nm (H)、缺桂枝的阴性样品 232 nm (I)、缺桂枝的阴性样品 290 nm (J) 的 UFLC 色谱图

Fig. 1 UFLC chromatograms of mixed reference substances at 232 nm (A), mixed reference substances at 290 nm (B), Huangqi Guizhi Wuwu decoction sample at 232 nm (C), Huangqi Guizhi Wuwu decoction sample at 290 nm (D), negative sample without Huangqi at 232 nm (E), negative sample without Huangqi at 290 nm (F), negative sample without Shaoyao at 232 nm (G), negative sample without Shaoyao at 290 nm (H), negative sample without Guizhi at 232 nm (I), negative sample without Guizhi at 290 nm (J)

2.2 黄芪桂枝五物汤的制备

参照《金匮要略》原文,折合成现代剂量,分别称取黄芪 9 g、桂枝 9 g、白芍 9 g、生姜 18 g、大枣 4 枚,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入 10 倍量水浸泡 0.5 h,回流提取 1 h,放冷过滤,滤渣再加入 10 倍量的水回流提取 1 h,放冷过滤。最后合并 2 次滤液,用旋转蒸发仪浓缩至 50 mL,置于 4 °C 冰箱中保存,备用。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品储备液 取毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的对照品适量,精密称定,分别置于 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释并定容至刻度,制成含毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸均为 1.0 mg·mL⁻¹ 的单一对照品溶液,置于 4 °C 冰箱中保存,备用。

2.3.2 供试品溶液 取“2.2”项下黄芪桂枝五物汤 0.5 mL,置 50 mL 锥形瓶中,加甲醇溶液 25 mL,称量,超声(功率 250 W,频率 50 kHz)提取 30 min,放冷后再称量,用甲醇补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后作为供试品溶液。

2.3.3 阴性样品溶液 按处方量分别制备不含黄芪的阴性样品、不含芍药的阴性样品、不含桂枝的阴性样品,分别按“2.3.2”项方法操作,即得。

2.4 线性关系考察及检测下限、定量下限测定

分别精密吸取“2.3.1”项下毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的对照品储备液适量,置于 5 mL 量瓶中,用甲醇配制成毛蕊异黄酮苷质量浓度为 1、2、5、10、20 和 50 μg·mL⁻¹,芍药苷质量浓度为 10、20、50、100、200 和 500 μg·mL⁻¹,芍药内酯苷质量浓度为 2.5、5、12.5、25、50 和 125 μg·mL⁻¹,桂皮酸质量浓度为 5、10、25、50、100 和 250 μg·mL⁻¹ 的系列混合对照品溶液,依次注入液相色谱仪,测定色谱峰面积,以对照品的浓度 X (μg·mL⁻¹) 为横坐标,色谱峰面积积分值 (Y) 为纵坐标,进行线性回归,毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的回归方程分别为:

$$Y=5.0 \times 10^4 X + 1.3 \times 10^4 \quad r=0.9997$$

$$Y=1.9 \times 10^4 X + 1.1 \times 10^4 \quad r=0.9998$$

$$Y=1.7 \times 10^4 X + 2.4 \times 10^4 \quad r=0.9998$$

$$Y=7.9 \times 10^4 X + 3.0 \times 10^4 \quad r=0.9997$$

结果表明,毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸质量浓度分别在 1~50 μg·mL⁻¹ ($r=0.9997$)、10~500 μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$)、2.5~125

μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$)、5~250 μg·mL⁻¹ ($r=0.9997$) 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

将毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸对照品储备液逐步稀释后进样,以信噪比 (S/N) 为 3 考察其检测下限,以信噪比 (S/N) 为 10 考察其定量下限。毛蕊异黄酮苷的检测下限和定量下限分别为 3 ng·mL⁻¹ 和 10 ng·mL⁻¹,芍药苷的检测下限和定量下限分别为 30 ng·mL⁻¹ 和 100 ng·mL⁻¹,芍药内酯苷的检测下限和定量下限分别为 7.5 ng·mL⁻¹ 和 25 ng·mL⁻¹,桂皮酸的检测下限和定量下限分别为 15 ng·mL⁻¹ 和 50 ng·mL⁻¹。

2.5 精密度试验

取“2.4”项下制备的含毛蕊异黄酮苷 10 μg·mL⁻¹,芍药苷 100 μg·mL⁻¹,芍药内酯苷 25 μg·mL⁻¹ 和桂皮酸 50 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸峰面积的 RSD ($n=6$) 分别为 2.8%、0.61%、0.64% 和 0.72%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一批次的供试品溶液,放置于室温,分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,记录峰面积。结果毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸峰面积的 RSD ($n=6$) 分别为 0.51%、2.8%、2.0% 和 2.6%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批样品 6 份,精密称定,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,进样 5 μL,分别计算毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的含量,结果上述 4 个成分的平均含量 ($n=6$) 分别为 0.212、21.53、4.53 和 0.662 mg·mL⁻¹,RSD 分别为 0.53%、1.5%、1.2% 和 1.9%,表明方法重复性良好。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量(毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的含量分别为 0.212、21.53、4.53 和 0.662 mg·mL⁻¹) 的黄芪桂枝五物汤样品溶液共 9 份,每份 0.25 mL,精密称定,分别加入相当于样品中毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸含量的 80%、100%、120% 的对照品溶液适量,各 3 份。按“2.3.2”项下方法制备供试溶液,进样 5 μL 进行测定,计算毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的回收率和 RSD,结果见表 1。

表 1 黄芪桂枝五物汤样品中毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的回收率

Tab. 1 Recoveries of calycosin-7-O-β-D-glucoside, paeoniflorin, albiflorin and cinnamic acid

组分 (component)	样品中含量 (content in sample)/(mg·mL ⁻¹)	加入量 (added)/ (mg·mL ⁻¹)	测得量 (measured)/ (mg·mL ⁻¹)	回收率 (recovery)/% (n=3)	RSD/ %	平均值 (average recovery)/% (n=9)
毛蕊异黄酮苷 (calycosin-7-O-β-D-glucoside)	0.106	0.085	0.188	97.4	2.1	96.9
	0.106	0.106	0.209	97.2	1.5	
	0.106	0.127	0.229	96.0	1.7	
芍药苷 (paeoniflorin)	10.77	8.62	19.31	99.3	1.7	99.4
	10.77	10.77	21.49	99.5	0.92	
	10.77	12.92	23.61	99.2	1.4	
芍药内酯苷 (albiflorin)	2.27	1.82	4.05	98.4	0.93	98.5
	2.27	2.27	4.51	98.7	1.1	
	2.27	2.72	4.96	98.5	0.81	
桂皮酸 (cinnamic acid)	0.331	0.265	0.592	98.9	0.53	98.9
	0.331	0.331	0.658	98.8	0.92	
	0.331	0.397	0.725	99.0	0.82	

2.9 样品含量测定

按“2.2”项下方法制备 6 批黄芪桂枝五物汤,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,进样 5 μL,记录峰面积,代入回归方程,计算毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的含量。6 批样品测定结果见表 2。

表 2 黄芪桂枝五物汤样品中毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的含量 (mg·mL⁻¹)

Tab. 2 The contents of calycosin-7-O-β-D-glucoside, paeoniflorin, albiflorin and cinnamic acid in Huangqi Guizhi Wuwu decoction

批号 (lot No.)	毛蕊异黄酮苷 (calycosin-7-O-β-D-glucoside)	芍药苷 (paeoniflorin)	芍药内酯苷 (albiflorin)	桂皮酸 (cinnamic acid)
2017001	0.203	21.67	4.54	0.644
2017002	0.217	22.42	4.80	0.651
2017003	0.221	23.49	4.92	0.674
2017004	0.185	18.80	4.00	0.661
2017005	0.192	20.63	4.34	0.672
2017006	0.193	19.53	4.16	0.681

3 讨论

3.1 流动相的优化

分别考察了水-甲醇、水-乙腈、0.1% 甲酸水-甲醇、0.1% 甲酸水-乙腈、0.1% 磷酸水-甲醇、0.1%

磷酸水-乙腈共 6 种流动相体系。结果表明,采用 0.1% 磷酸水-乙腈作为流动相时能够获得较好的分离效果,在该流动相条件下,毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸的分析时间仅为 18 min,且药材中其他色谱峰不干扰样品的测定。

3.2 梯度洗脱程序的选择

毛蕊异黄酮苷、芍药苷和芍药内酯苷的极性很相近,采用等度洗脱无法完全分离。因此,本文采用 0.1% 磷酸溶液(A)-乙腈(B)作为流动相,考察了不同的梯度洗脱条件。结果表明,梯度条件设定为 0~5 min, 10%B → 20%B; 5~10 min, 20%B → 25%B; 10~15 min, 25%B → 35%B; 15~18 min, 35%B → 43%B 时,毛蕊异黄酮苷、芍药苷和芍药内酯苷能够很好地分离,且杂质峰无干扰。由于黄芪甲苷结构中无共轭结构,仅存在微弱的紫外末端吸收,最大吸收波长位于 203 nm 左右,干扰较大,常采用 ELSD 检测器测定,因而本实验并未考虑采用紫外检测器对黄芪甲苷进行测定。

3.3 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器(DAD)进行全波长扫描,对黄芪桂枝五物汤中 4 个活性成分进行光谱扫描;结果表明,毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷在 232 nm 处有最大吸收峰,而桂皮酸的最大吸收峰在 290 nm 处。为了同时兼顾上述 4 个活性成分的测定,本研究选用 232 nm 和 290 nm 作为检测波长。

3.4 提取方法及提取溶剂的选择

本实验对比了超声法和回流法对黄芪桂枝五物汤中 4 个活性成分的提取效果,结果表明,超声法出峰效果较好,受杂峰影响小,因此选择超声法作为黄芪桂枝五物汤的提取方法。此外,本实验对比了含水的 50%、70%、100% 乙腈溶液,50%、70%、100% 乙醇溶液和 50%、70%、100% 甲醇溶液作为提取溶剂对黄芪桂枝五物汤中活性成分的提取效率,结果显示纯甲醇的综合提取效率最高,故本实验采用纯甲醇作为提取溶剂。

3.5 小结

中药复方化学成分复杂,在以往的研究中常采用对君药或用量较多的药味的主要成分进行质量控制的方法,这种方法存在一定的片面性,无法全面评价中药复方的质量。本研究建立 UFLC 法同时测定黄芪桂枝五物汤中毛蕊异黄酮苷、芍药苷、芍药内酯苷和桂皮酸共 4 个活性成分的含量,方法稳定,重复性好,专属性强,分析时间短,可为黄芪桂枝五物汤的质量控制提供参考和依据。

参考文献

- [1] 陈纪藩. 金匮要略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 183
CHEN JF. Synopsis of the Golden Chamber[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 183
- [2] 张副兴, 祝雨田, 季也民. 黄芪桂枝五物汤提取工艺与药理作用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 16(6): 242
ZHANG FX, ZHU YT, JI YM. Progress in extraction and pharmacological effects of Huangqi Guizhi Wuwu decoction[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 16(6): 242
- [3] 黄兆胜, 施旭光, 朱伟, 等. 黄芪桂枝五物汤及其配伍抗炎镇痛的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(2): 93
HUANG ZS, SHI XG, ZHU W, et al. Comparative studies on the anti-inflammation and analgesic actions of Huangqi Guizhi Wuwu decoction and its compositions[J]. Tradit Chin Drug Res Pharmacol, 2005, 16(2): 93
- [4] 张保国, 刘庆芳. 黄芪桂枝五物汤现代临床应用[J]. 中成药, 2010, 32(5): 837
ZHANG BG, LIU QF. Modern clinical application of Huangqi Guizhi Wuwu decoction[J]. Chin Tradit Pat Med, 2010, 32(5): 837
- [5] 张蕾, 高文远, 满淑丽, 等. 黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3203
ZHANG Q, GAO WY, MAN SL, et al. Chemical composition and pharmacological activities of Astragali Radix[J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37(21): 3203
- [6] 梁瑾, 刘小花, 任远, 等. HPLC-DAD-ELSD 法同时测定黄芪中 5 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(2): 210
LIANG J, LIU XH, REN Y, et al. Simultaneous determination of five compounds in Radix Astragali by HPLC coupled with diode array and evaporative light scattering detectors[J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33(2): 210
- [7] 芮雯, 冯毅凡, 石忠峰, 等. 不同产地黄芪药材的 UPLC/Q-TOF-MS 指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 607
RUI W, FENG YF, SHI ZF, et al. UPLC/Q-TOF-MS study on fingerprint of *Astragalus membranaceus* obtained from 7 different origins[J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(4): 607
- [8] 许源, 宿树兰, 王团结, 等. 桂枝的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(4): 674
XU Y, SU SL, WANG TJ, et al. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of Ramulus Cinnamomi[J]. J Chin Med Mater, 2013, 36(4): 674
- [9] 何秀菊, 张振秋, 王婧宁, 等. HPLC 波长切换法同时测定桂枝、白芍药对提取物中 8 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(11): 1899
HE XJ, ZHANG ZQ, WANG JN, et al. HPLC with UV switch determination of 8 indicative components in combination extracts of *Persicae Ramulus* and *Paeoniae Radix Alba*[J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33(11): 1899
- [10] ZHANG XJ, LI Z, LEUNG WM, et al. The analgesic effect of paeoniflorin on neonatal maternal separation-induced visceral hyperalgesia in rats[J]. J Pain, 2008, 9: 497
- [11] 胡增晓, 徐岚, 闫蓉, 等. 芍药苷作用于神经系统的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 297
HU ZY, XU L, YAN R, et al. Advance in studies on the effect of paeoniflorin on nervous system[J]. China J Chin Mater Med, 2013, 38(3): 297
- [12] 施旭光, 许晓峰, 朱伟, 等. HPLC 测定黄芪桂枝五物汤及方中药对的黄芪甲苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2): 20
SHI XG, XU XF, ZHU W, et al. Determination of astragaloside in Huangqi Guizhi Wuwu decoction and its compatible recipes by HPLC[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2006, 12(2): 20
- [13] 孙学惠, 樊蓉, 陈宇峰, 等. HPLC-ELSD 法测定黄芪桂枝五物汤中黄芪甲苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2): 461
SUN XH, FAN R, CHEN YF, et al. Determination of astragaloside IV in Huangqi Guizhi Wuwu decoction by HPLC-ELSD[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2006, 12(2): 461
- [14] 张林林, 王永吉, 李航, 等. UFLC 法同时测定护肝胶囊中五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素[J]. 中成药, 2013, 35(1): 96
ZHANG LL, WANG YJ, LI H, et al. Simultaneous determination of schizandrol A, schisandrin A and schisandrin B in Hupan capsules by UFLC[J]. Chin Tradit Pat Med, 2013, 35(1): 96
- [15] 关皎, 朱鹤云, 郝乘仪, 等. UFLC 法同时测定胆胆中 3 种环烯醚萜苷的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(1): 81
GUAN J, ZHU HY, HAO CY, et al. Simultaneous determination of three iridoid glycosides in Radix Gentianae by UFLC[J]. Tradit Chin Drug Res Pharmacol, 2017, 28(1): 81

(本文于 2017 年 10 月 12 日收到)