

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)14-0070-06  
doi: 10.3969/j.issn.1006-4931.2024.14.017



# 黄芪桂枝五物汤高效液相色谱指纹图谱及含量测定研究\*

张顺宵, 陈月, 苟小军<sup>△</sup>

(上海市宝山区中西医结合医院内分泌代谢病中心, 上海 201999)

**摘要:**目的 建立黄芪桂枝五物汤的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱及多指标成分含量测定方法。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Waters SunFire™ C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为 40 °C, 进样量为 10 μL。以桂皮醛峰为参照, 测定 10 批样品的 HPLC 指纹图谱, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版)进行相似度评价, 并对共有峰进行鉴定和药材归属。在上述色谱条件下测定芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、桂皮酸、桂皮醛的含量。结果 10 批样品共有 17 个共有峰, 相似度均大于 0.990; 经验证, 10 批样品 HPLC 图谱与对照指纹图谱一致性较好。上述 5 种成分质量浓度分别在 19.0~171.0 μg/mL、61.6~555.0 μg/mL、8.3~75.0 μg/mL、18.0~162.0 μg/mL、28.4~255.9 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 检测限为 0.1~1.2 μg/mL, 定量限为 0.3~4.9 μg/mL; 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 3.0%; 平均加样回收率分别为 99.31%, 98.93%, 100.89%, 98.83%, 100.85%, RSD 分别为 0.25%, 0.30%, 0.60%, 1.99%, 0.74%(n=6)。结论 该方法操作简便, 稳定可行, 重复性好, 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; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 含量测定

## Study on HPLC Fingerprint and Content Determination of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction

ZHANG Shunxiao, CHEN Yue, GOU Xiaojun

(Endocrine and Metabolic Disease Center, Baoshan District Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Shanghai, China 201999)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of Huangqi Guizhi Wuwu

\* 基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会科研课题[20184Y0092]; 上海市宝山区科学技术委员会医学卫生项目[21-E-62]。

第一作者: 张顺宵, 女, 在读博士研究生, 主治医师, 研究方向为内分泌临床, (电子信箱)joinlxiang@126.com。

<sup>△</sup>通信作者: 苟小军, 男, 博士, 主任药师, 研究方向为中药质量控制与体内代谢, (电子信箱)gouxiaojun1975@163.com。

中医药, 2021, 40(2): 148-149.

[9] 张兴旺, 于瑞涛, 文怀秀, 等. 唐古特铁线莲中黄酮含量的反相高效液相色谱测定[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3048-3049.

[10] 孙宇, 陈雪, 唐守祥, 等. 黄芪中主要成分含量测定及其抗氧化活性研究[J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 90-97.

[11] 戈雅倩, 谢和兵, 尼玛次仁, 等. 电子束辐照对肉豆蔻药材质量及灭菌效果的影响[J]. 中国药业, 2023, 32(16): 90-93.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 232.

[13] 李洪祥, 代淑娟, 郝晓亮, 等. 正交试验优化远志黄酮提取工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(3): 74-76.

[14] 余杨健, 谢和兵, 尼玛次仁, 等. 小儿清热颗粒指标成分测定和水提工艺研究[J]. 中国药业, 2023, 32(7): 64-68.

[15] 刘欣宇, 吕玉媛, 林乐珍, 等. 罗汉松种子总黄酮含量测定[J]. 中国药业, 2020, 29(23): 21-23.

[16] 邝敏贤, 区展龙, 黄友安. 正交试验法优选瞿麦总黄酮的提取工艺[J]. 药品评价, 2022, 19(22): 1362-1365.

[17] 刘滢, 董金香, 高原, 等. 基于多指标综合评价炒桑白皮炮制工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(9): 2150-2153.

[18] 童晓东, 方小云, 彭敏. 多指标综合评价法优选慢前康颗粒剂的提取工艺[J]. 湖北中医药大学学报, 2022, 24(1): 49-53.

[19] 刘文娟, 肖莹, 买占海, 等. 多指标综合评价法结合正交试验优化黄芪-当归水提物制备工艺[J]. 动物医学进展, 2023, 44(1): 78-83.

[20] 张屏, 包温根, 其格, 吉日木巴图, 等. 蒙药材细叶铁线莲薄层鉴别和含量测定方法研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 367-369.

[21] 沈喆安, 侯英泽, 赵耀焜, 等. 中草药中黄酮类化合物的提取工艺及药理作用研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2023, 40(6): 66-68.

[22] 王溢萍. 黄酮类化合物药理作用的分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(70): 151.

[23] TANG SM, DENG XT, ZHOU J, et al. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anticancer effects [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109604.

[24] REYES - FARIAS M, CARRASCO - POZO C. The Anti - Cancer Effect of quercetin: Molecular implications in cancer metabolism [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): 3177.

[25] FUENTES J, ATALA E, PASTENE E, et al. Quercetin oxidation paradoxically enhances its antioxidant and cytoprotective properties [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(50): 11002-11010.

(收稿日期: 2023-06-20; 修回日期: 2024-01-30)

Decoction and a content determination method of multi - indicator components. **Methods** The HPLC method was adopted. The chromatographic column was the Waters SunFire™ C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.1% formic acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL / min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 10 μL. The HPLC fingerprint of 10 batches of samples was established with cinnamaldehyde peak as a reference. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012A Version) was used for similarity evaluation. The common peaks were identified, and the medicinal herb attribution analysis was conducted. The contents of albiflorin, paeoniflorin, calycosin - 7 - O - β - D - glucoside, cinnamic acid and cinnamaldehyde were determined by the above chromatographic conditions. **Results** A total of 17 common peaks in 10 batches of samples were identified, with the similarity greater than 0.990. The verification test showed that the HPLC fingerprint of 10 batches of samples was consistent with the reference fingerprint. The linear ranges of albiflorin, paeoniflorin, calycosin - 7 - O - β - D - glucoside, cinnamic acid and cinnamaldehyde were 19.0 - 171.0 μg / mL, 61.6 - 555.0 μg / mL, 8.3 - 75.0 μg / mL, 18.0 - 162.0 μg / mL and 28.4 - 255.9 μg / mL, respectively. The limit of detection was in the range of 0.1 - 1.2 μg / mL, and the limit of quantitation was in the range of 0.3 - 4.9 μg / mL. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 3.0%. The average recovery rates of the above five components were 99.31%, 98.93%, 100.89%, 98.83%, 100.85% with the RSD of 0.25%, 0.30%, 0.60%, 1.99%, 0.74% respectively (n = 6). **Conclusion** The method is sample, stable, feasible and repeatable, which can be used for quality control of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction.

**Key words:** Huangqi Guizhi Wuwu Decoction; HPLC; fingerprint; content determination

黄芪桂枝五物汤始载于《金匱要略》，由黄芪、芍药、桂枝、生姜、大枣组方，有益气温补经络、活血通痹之功效<sup>[1]</sup>，是我国治疗血管疾病的主要传统方剂。该汤剂对各种心脑血管疾病具有积极的治疗作用，如可改善中风患者的脑血流量，缓解糖尿病周围神经病变的主观症状<sup>[2-3]</sup>，可有效改善糖尿病患者的下肢大血管病变症状<sup>[4]</sup>。目前，关于该汤剂的研究集中在药理作用与临床应用方面，质量控制研究较少，含量测定中多选择3~4种有效成分<sup>[5-7]</sup>，缺乏全面评价。本研究中建立了该汤剂的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱，同时对其中芍药苷、芍药内酯苷、毛蕊异黄酮苷、桂皮酸、桂皮醛进行多指标定量分析，以更好地反映其化学成分的整体性和复杂性，为其质量控制提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

ACQUITY型高效液相色谱仪(美国Waters公司); Option R7 ultra AN型超纯水系统(英国ELGA LabWater公司); YP2002N型电子天平(上海菁海仪器有限公司, 精度为0.01 g); XSR205DU型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司, 精度为0.01 mg); DZTW型调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司); KQ-800DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

芍药内酯苷对照品(批号为HR2011B2)、芍药苷对照品(批号为HR16106B1)、毛蕊异黄酮苷对照品(批号为HR20112B1),均购自宝鸡市辰光生物有限公司;桂皮酸对照品(批号为HR61128S1)、桂皮醛对照品(批号为HR20031W2),均购自上海源叶生物科技有限公司,

含量均大于98%;乙腈、甲醇均为色谱纯,甲酸为分析纯,水为纯化水。黄芪饮片(批号为2203002)、桂枝饮片(批号为2111027)、白芍饮片(批号为2110081),均购自上海雷允上中药饮片厂;大枣饮片(批号为211230),购自上海虹桥中药饮片厂;生姜为市售。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Waters SunFire™ C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A) - 0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~5 min时5%A, 5~10 min时5%A → 12%A, 10~13 min时12%A → 17%A, 13~43 min时17%A → 45%A, 43~48 min时45%A → 90%A; 48~50 min时90%A); 流速: 1.0 mL / min; 检测波长: 254 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 10 μL。

### 2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷对照品各适量, 精密称定, 各置10 mL容量瓶中; 取桂皮酸、桂皮醛对照品各适量, 精密称定, 各置25 mL容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 得各成分质量浓度分别为0.823, 0.531, 0.695, 0.420, 0.500 mg / mL的单一对照品贮备液; 分别吸取适量, 置同一10 mL容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 即得各成分质量浓度分别为0.057 0, 0.185 0, 0.002 5, 0.005 4, 0.085 3 mg / mL的混合对照品溶液。

供试品溶液: 取黄芪饮片、桂枝饮片、白芍饮片各7.25 g, 生姜饮片14.50 g, 大枣饮片6.30 g, 置烧瓶中, 加入10倍量水浸泡30 min, 回流提取1.5 h, 滤过, 取滤液; 滤渣加8倍量水回流提取1.0 h, 滤过, 合并2次的滤

液,定容至1 000 mL;取8 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,静置,移取上清液,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取滤液,即得供试品溶液(样品S1-S10)。

单味药材溶液及阴性对照品溶液:取单味药材饮片,并按黄芪桂枝五物汤处方和工艺制备相应药材饮片的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备单味药材溶液及阴性对照品溶液。

## 2.3 指纹图谱研究

### 2.3.1 方法学考察

精密度试验:取2.2项下供试品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积,以桂皮醛色谱峰为参照,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果的RSD分别小于0.01%,0.97%(n=6),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,6,8,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以桂皮醛色谱峰为参照,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果的RSD分别小于0.08%,2.91%(n=6),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:称取处方量药材饮片适量,精密称定,各6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以桂皮醛色谱峰为参照,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果的RSD分别小于0.01%,2.84%(n=6),表明方法重复性良好。

### 2.3.2 指纹图谱建立

取2.2项下供试品溶液(S1-S10),按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)对图谱进行分析。设置时间窗为0.2 min,采用平均数法、经多点校正进行峰匹配,生成对照指纹图谱(R),结果见图1、图2。相似度计算结果显示,S1-S10样品的相似度为0.998~0.999。

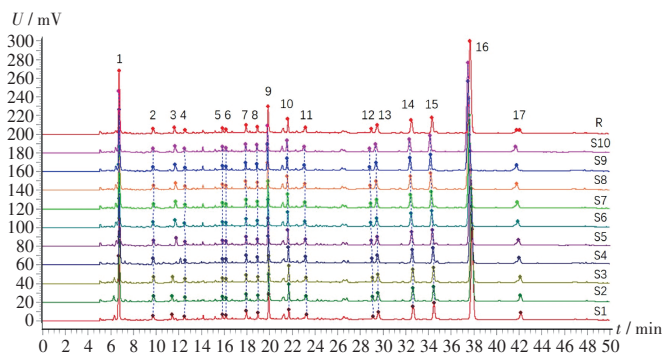


图1 10批样品的高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of 10 batches of samples

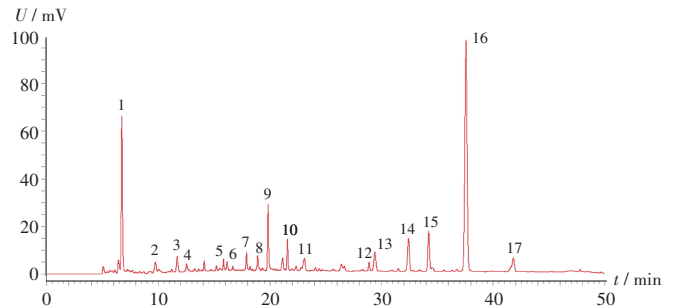


图2 样品的高效液相色谱对照指纹图谱

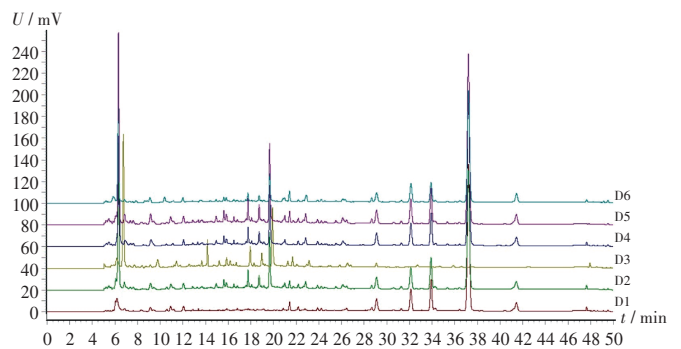
Fig. 2 HPLC reference fingerprint of samples

### 2.3.3 主要色谱峰鉴定

取2.2项下单一对照品贮备液各适量,加甲醇稀释,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并与对照品图谱信息比对。结果表明,对照指纹图谱中的8号、9号、10号、15号、16号峰对应成分分别为芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、桂皮酸和桂皮醛。

### 2.3.4 主要色谱峰归属

取2.2项下供试品溶液、各单味药材溶液和各单一阴性对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并与图2比对,以各峰保留时间为鉴定标准,进行色谱峰指认。结果2-4号、10号、13号、14-17号,1号、5-9号色谱峰分别为黄芪、桂枝、白芍的特征峰,生姜、大枣对共有峰的贡献不明显。详见图3、图4。



D1 - D5. 单一阴性对照品溶液(分别缺白芍、大枣、桂枝、黄芪、生姜) D6. 供试品溶液

图3 样品与阴性对照品的高效液相色谱图

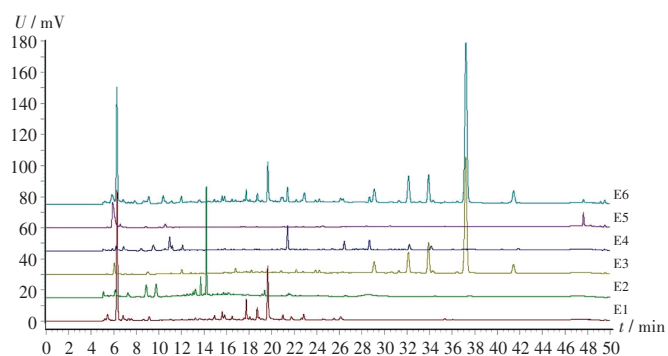
D1 - D5. Single negative reference solution (lacking *Paenoniae Radix Alba*, *Jujubae Fructus*, *Cinnamomi Ramulus*, *Astragali Radix*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, respectively) D6. Test solution

Fig. 3 HPLC chromatograms of sample and negative reference

## 2.4 多指标成分含量测定

### 2.4.1 方法学考察

系统适用性试验:分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液及供试品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果各成分色谱峰与对照品色谱峰保留时间保持一致,基线平稳,与相邻色谱峰的分离度大于1.5,理论板数均大于10 000。详见图5。



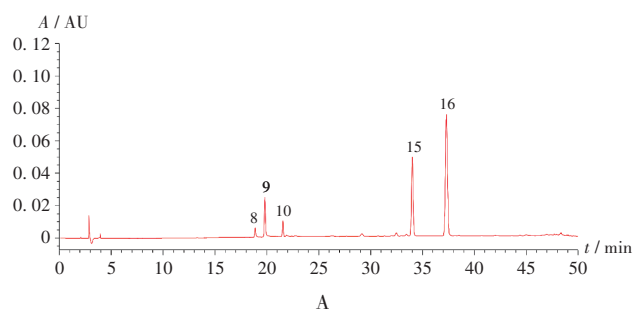
E1 - E5. 单味药材溶液(分别为白芍、大枣、桂枝、黄芪、生姜)

E6. 供试品溶液

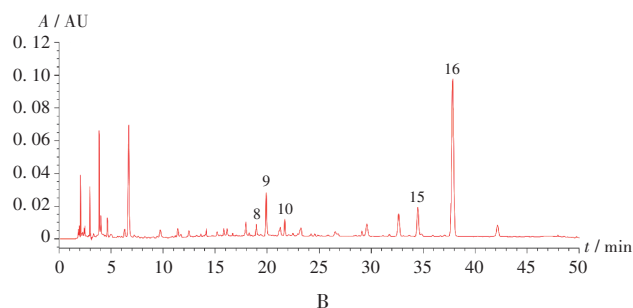
图4 样品与药材饮片的高效液相色谱图

E1 - E5. Single medicinal herb solution (Paeoniae Radix Alba, Jujubae Fructus, Cinnamomi Ramulus, Astragali Radix, Zingiberis Rhizoma Recens, respectively) E6. Test solution

Fig. 4 HPLC chromatograms of sample and medicinal herbal decoction pieces



A



B

8. 芍药内酯苷 9. 芍药苷 10. 毛蕊异黄酮苷 15. 桂皮酸  
16. 桂皮醛

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图5 各成分的高效液相色谱图

8. Albiflorin 9. Paeoniflorin 10. Calycosin - 7 - O -  $\beta$  - D - glucoside  
15. Cinnamic acid 16. Cinnamaldehyde

A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 5 HPLC chromatograms of each component

线性关系考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,加甲醇,制成系列混合对照品溶液。取适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,结果见表1。

定量限与检测限考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按2.1项下色谱条件进

表1 线性关系考察结果

Tab. 1 Results of the linear relation test

待测成分	回归方程	$R^2$	线性范围 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	定量限 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	检测限 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
芍药内酯苷	$Y_1 = 1330.2 X_1 - 13652$	0.9995	19.0~171.0	1.9	0.8
芍药苷	$Y_2 = 1062.2 X_2 - 9658.8$	0.9994	61.6~555.0	4.9	1.2
毛蕊异黄酮苷	$Y_3 = 2518.8 X_3 - 148.27$	0.9996	8.3~75.0	0.8	0.4
桂皮酸	$Y_4 = 9547.6 X_4 + 1795.9$	0.9995	18.0~162.0	0.3	0.1
桂皮醛	$Y_5 = 11243 X_5 + 12455$	0.9995	28.4~255.9	0.4	0.1

样测定,以信噪比( $S/N$ )为10:1、3:1时的待测成分质量浓度分别作为定量限、检测限。结果见表1。

精密度试验:取2.2项下供试品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、桂皮酸和桂皮醛峰面积的 $RSD$ 分别为0.71%,0.11%,1.16%,0.17%,0.37% ( $n=6$ ),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,6,8,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、桂皮酸、桂皮醛峰面积的 $RSD$ 分别为2.59%,0.19%,2.88%,1.12%,1.04% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品( $S_1$ ),按2.2项下方法制备6份供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、桂皮酸、桂皮醛峰面积的 $RSD$ 分别为0.89%,0.45%,1.20%,0.40%,2.36% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品适量,各6份,分别加入对照品溶液,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表2。

#### 2.4.2 样品含量测定

取10批样品各适量,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,计算样品含量。结果见表3。

### 3 讨论

#### 3.1 指标成分选择

黄芪桂枝五物汤由5味中药组方,根据中药复方的配伍原则,优先选择方中君药(黄芪)、臣药(桂枝)及使药(白芍)的有效成分作为质量控制的指标。黄芪含有黄酮类、皂苷类、多糖类等多种活性成分。参照2020年版《中国药典(一部)》中黄芪的检测指标,选择毛蕊异黄酮作为其检测指标。毛蕊异黄酮具有免疫调节、抗炎、抗病毒和抗氧化特性<sup>[8]</sup>,桂枝含有桂皮醛、桂皮酸等化学成分,桂皮酸具有抗氧化、抗菌、抗癌、神经保护、

表2 加样回收试验结果(n=6)  
Tab.2 Results of the recovery test (n=6)

待测成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
芍药内酯苷	0.2201	0.2189	0.4379	99.50	99.31	0.25
	0.2205	0.2189	0.4387	99.68		
	0.2203	0.2189	0.4374	99.18		
	0.2200	0.2189	0.4370	99.13		
	0.2201	0.2189	0.4376	99.36		
	0.2206	0.2189	0.4374	99.04		
芍药苷	1.0077	1.0064	2.0043	99.03	98.93	0.30
	1.0063	1.0064	2.0034	99.08		
	1.0074	1.0064	1.9987	98.50		
	1.0070	1.0064	1.9996	98.63		
	1.0068	1.0064	2.0050	99.19		
	1.0075	1.0064	2.0055	99.17		
毛蕊异黄酮苷	0.2284	0.2273	0.4582	101.10	100.89	0.60
	0.2277	0.2273	0.4547	99.87		
	0.2280	0.2273	0.4590	101.63		
	0.2281	0.2273	0.4583	101.28		
	0.2273	0.2273	0.4565	100.84		
	0.2272	0.2273	0.4560	100.66		
桂皮酸	0.0901	0.0915	0.1831	101.64	98.83	1.99
	0.0920	0.0915	0.1844	100.98		
	0.0905	0.0915	0.1802	98.03		
	0.0904	0.0915	0.1798	97.70		
	0.0911	0.0915	0.1798	96.94		
	0.0906	0.0915	0.1800	97.70		
桂皮醛	0.6245	0.6237	1.2535	100.85	100.85	0.74
	0.6244	0.6237	1.2477	99.94		
	0.6247	0.6237	1.2480	99.94		
	0.6240	0.6237	1.2568	101.46		
	0.6243	0.6237	1.2572	101.48		
	0.6243	0.6237	1.2569	101.43		

表3 样品含量测定结果(mg/g, n=2)

Tab.3 Results of the content determination of five components in samples (mg/g, n=2)

编号	芍药内酯苷	芍药苷	毛蕊异黄酮苷	桂皮酸	桂皮醛
S1	4.26	15.23	2.18	1.62	9.47
S2	3.51	16.18	3.92	1.43	9.95
S3	3.52	16.12	3.65	1.45	9.99
S4	3.23	16.06	4.18	1.47	9.89
S5	3.53	15.94	3.35	1.44	9.91
S6	3.41	15.84	3.17	1.45	9.70
S7	3.81	15.82	3.02	1.50	9.77
S8	3.58	15.68	2.79	1.52	9.56
S9	3.92	15.61	2.61	1.53	9.40
S10	4.02	15.54	2.45	1.57	9.33

抗炎和抗糖尿病的特性<sup>[9-13]</sup>,桂皮醛有益于糖尿病及其并发症的治疗<sup>[14]</sup>,芍药内酯苷和芍药苷均为芍药中的有效成分<sup>[15-16]</sup>,故选取这5种成分作为定量指标。

### 3.2 梯度洗脱程序选择

芍药内酯苷、芍药苷和毛蕊异黄酮苷极性很接近,等度洗脱无法将三者分开。因此,预试验中采用0.1%甲酸水溶液-乙腈作为流动相,考察了不同的梯度洗脱条件,并结合色谱峰的分离度、峰形,最终确定梯度的设置条件。

### 3.3 方法评价

本研究中根据中药经典名方新药开发政策的相关要求,进行黄芪桂枝五物汤质量控制考察,建立了HPLC指纹图谱并测定了指标成分含量,方法操作简便,稳定可行,重复性好,可用于方剂的质量评价。

### 参考文献

- [1] 刘曼曼,冯珍凤,姜健,等.黄芪桂枝五物汤不同剂量治疗糖尿病周围神经病变临床研究[J].河南中医,2022,42(3):343-347.
- [2] 白清.黄芪桂枝五物汤对糖尿病周围神经病变的疗效及神经传导速度的影响[J].中成药,2015,37(5):962-964.
- [3] PANG B, ZHAO TY, ZHAO LH, et al. Huangqi guizhi wuwu decoction for treating diabetic peripheral neuropathy: a meta-analysis of 16 randomized controlled trials [J]. Neural Regen Res, 2016, 11(8): 1347-1358.
- [4] HU H, TIAN W, QIN Y. Clinical effect of huangqi guizhi wuwu decoction on diabetic vascular lesions in lower limbs [J]. Clinical Research and Practice, 2018, 3(9): 109-110.
- [5] 余爱明,闫向丽,王圣鑫,等.黄芪桂枝五物汤标准汤剂HPLC指纹图谱建立及3种成分含量测定[J].中华中医药学刊,2019,37(9):2196-2200.
- [6] 关皎,张颖,刘爽爽,等.UFLC法同时测定黄芪桂枝五物汤中4个活性成分的含量[J].药物分析杂志,2018,38(10):1683-1688.
- [7] 崔悦,高兴,韩丽琴,等.UFLC-MS/MS法同时测定黄芪桂枝五物汤中4个活性成分的含量[J].中国兽医杂志,2021,57(6):80-85.
- [8] NIE XH, OUYANG J, XING Y, et al. Calycosin inhibits migration and invasion through modulation of transforming growth factor beta-mediated mesenchymal properties in u87 and u251 cells [J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10: 767-779.
- [9] RUWIZHI N, ADERIBIGBE BA. Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(16): 5712.
- [10] ZHANG WX, WANG H, CUI HR, et al. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Cinnamic Acid Derivatives with Synergetic Neuroprotection and Angiogenesis Effect [J]. Eur J Med Chem, 2019, 183: 111695.
- [11] DE LIMA GDA, RODRIGUES MP, DE MENDES TAO, et al. Synthesis and Antimetastatic Activity Evaluation of Cinnamic