# 经典名方黄芪桂枝五物汤物质基准的薄层色谱鉴别与含量测定

陈明，黎柳冰，詹家辉，卢其福（广州白云山潘高寿药业股份有限公司，广东 广州 511490）

**摘要：目的** 建立经典名方黄芪桂枝五物汤物质基准的鉴别及白芍中芍药苷的含量测定方法。**方法** 采用薄层色谱法，对黄芪桂枝五物汤物质基准中的黄芪、桂枝、白芍、生姜进行定性鉴别；采用高效液相色谱（HPLC）系统进行芍药苷定量分析，色谱柱：Thermo Hypersil GOLD $C_{18}$（4.6 mm×250 mm，5 μm），流动相：乙腈-0.1%磷酸溶液（14∶86），检测条件：流速 1.0 mL·min$^{-1}$，波长 230 nm，柱温 25 ℃。**结果** 黄芪、桂枝、白芍、生姜的的薄层色谱展开情况较好，斑点清晰，专属性强。芍药苷在 148.00～2 368.00 μg·mL$^{-1}$线性关系良好，$r$=0.999 9，平均加样回收率为 98.48%，*RSD* 为 0.95%。**结论** 该方法灵敏度高，简便可靠，适用于经典名方黄芪桂枝五物汤研发的质量控制。

**关键词：**黄芪桂枝五物汤；薄层色谱；芍药苷；含量测定；质量控制

**中图分类号：**R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674-229X（2026）03-00179-06

**Doi：**10.12048/j.issn.1674-229X.2026.03.004

## Study on Identification and Content Determination in Material Benchmark of *Huangqi Guizhi Wuwutang*

CHEN Ming，LI Liubing，ZHAN Jiahui，LU Qifu（*Guangzhou BaiYunShan PanGaoShou Pharmaceutical Co.，Ltd.，Guangzhou，Guangdong* 511490，*China*）

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a TLC identification method and the content determination of paeoniflorin in material benchmark of *Huangqi Guizhi Wuwutang*. **METHODS** Thin-layer chromatography was employed for the identification of *Astragali Radix*（*Astragalus root*），*Cinnamomi Ramulus*（*cinnamon twig*），*Paeoniae Radix Alba*（white peony root）and *Zingiberis Rhizoma Recens*（*fresh ginger*）in material benchmark of *Huangqi Guizhi Wuwutang*. The quantitative analysis of paeoniflorin was performed by high performance liquid chromatography（HPLC）on a Thermo Hypersil GOLD $C_{18}$ column（4.6 mm×250 mm，5 μm）. The mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution（14∶86）with isocratic elution；the flow rate was 1.0 mL·min$^{-1}$，the detection wavelength was 230 nm，and the column temperature was 25 ℃. **RESULTS** The linear range of paeoniflorin was 148.00－2 368.00 μg·mL$^{-1}$（$r$=0.999 9）. The average recovery of paeoniflorin was 98.48%（*RSD*=0.95%）. **CONCLUSION** The established method is sensitive，simple，reliable and suitable for the quality control in the research and development of the classic formula *Huangqi Guizhi Wuwutang*.

**KEYWORDS**：*Huangqi Guizhi Wuwutang*；thin-layer chromatography（TLC）；paeoniflorin；content determination；quality control

经典名方黄芪桂枝五物汤出自汉代张仲景的《金匮要略》。该方由黄芪、桂枝、白芍、生姜、大枣配伍而成。方中黄芪为君药，能益气固卫，其活性成分为多糖类、皂苷类；桂枝为臣药，温经通阳，其主要成分为苯丙素类；白芍养血和营为佐药，其有效成分为单萜及其苷类、黄酮类；生姜、大枣共为使药，前者祛散风邪，后者调和营卫。黄芪桂枝五物汤主治血痹，临床上可用于治疗糖尿病周围神经病变[1,2]、类风湿性关节炎[3,4]等多种疾病。黄芪桂枝五物汤收录于国家中医药管理局公布的《古代经典名方目录（第一批）》，其研发要求全过程质量控制。经典名方的物质基准是根据国家公布的关键信息制备的药用物质标准，承接了经典名方的古法制备工艺与现代制剂工艺。本研究运用薄层色谱技术，对黄芪桂枝五物汤物质基准中黄芪、桂枝、白芍及生姜四味药材进行定性鉴别；同时采用高效液相色谱法，针对白芍中芍药苷成分开展含量测定研究。旨在通过上述质量控制方法的建立，为黄芪桂枝五物汤的研发提供科学的质量评价依据。

**基金项目：**澳门特别行政区科学技术发展基金（0006/2020/AKP）

**作者简介：**陈明，博士，工程师，研究方向：中药质量控制，E-mail：347423241@qq.com

## 1 材料

### 1.1 仪器

UltiMate 3000型高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher公司);DGJ-10C型真空冷冻干燥机(上海博登生物科技有限公司);AE200型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];GOODLOOK-1000型薄层色谱成像系统(上海科哲生化科技有限公司);KQ-300DA型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂与试药

黄芪对照药材(批号:120974-201612)、桂枝对照药材(批号:121191-201605)、白芍对照药材(批号:120905-201610)、黄芪甲苷(批号:110781-201717,纯度:96.9%)、桂皮醛(批号:110710-201821,纯度:99.5%)、芍药苷(批号:110736-220315,纯度:95.1%)、6-姜辣素(批号:111833-202007,纯度:99.3%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯)购于美国TEDIA公司;乙醚、正丁醇、氨水、二氯甲烷、石油醚(60 ℃~90 ℃)、乙酸乙酯、甲醇、甲酸、乙酸乙酯、磷酸(分析纯)均购自广州化学试剂厂;硅胶G薄层板购于德国默克公司;15批黄芪桂枝五物汤物质基准样品(批号:220301、220302、220303、220304、220305、220306、220307、220308、220309、220310、220311、220312、220313、220314、220315)及黄芪、桂枝、白芍、生姜阴性样品均为广州白云山潘高寿药业股份有限公司自制。

## 2 方法与结果

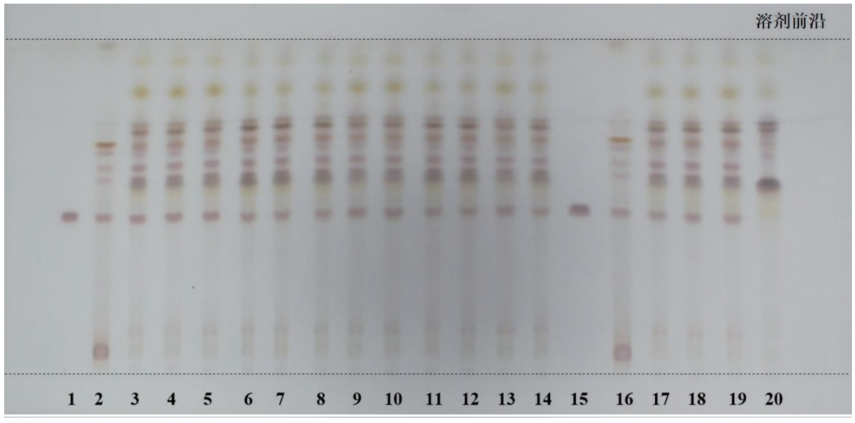
### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1** 黄芪 供试品溶液制备:精密称取物质基准4 g,加入30 mL蒸馏水溶解。用乙醚进行2次萃取(每次15 mL),合并有机相备用。水相转移至分液漏斗,以水饱和正丁醇萃取2次(每次15 mL),合并正丁醇萃取液,取半数体积备用;剩余部分经氨水洗涤2次(每次15 mL),合并洗涤后的正丁醇液,水浴蒸干。残渣加0.5 mL甲醇溶解,即得。对照药材溶液制备:取黄芪对照药材2 g,加30 mL蒸馏水超声处理30 min,过滤。滤液按上述供试品处理流程同步进行乙醚脱脂、正丁醇萃取及氨水洗涤,0.5 mL甲醇溶解。阴性对照溶液制备:依同法制备不含黄芪药材的阴性对照溶液。对照品溶液制备:精密称取黄芪甲苷对照品,加甲醇配制浓度为1 mg·mL$^{-1}$的溶液。

薄层色谱分析:参照2020年版中国药典四部通则0502方法操作,于硅胶G薄层板分别点注供试品溶液与阴性对照溶液各6 μL、对照药材溶液8 μL、对照品溶液4 μL,展开剂为二氯甲烷-甲醇-水(15∶7∶2,*v/v/v*)下层溶液,均匀喷洒10%硫酸乙醇溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,日光下观察色谱。

结果判定:供试品色谱中,在与对照药材及对照品相应位置处显特征性棕色斑点,且阴性对照无干扰(图1)。实验温度(25±1)℃,相对湿度(49±5)%。

**2.1.2** 桂枝 供试品溶液制备:取"2.1.1"项下乙醚萃取部位,低温挥干溶剂,残渣用0.5 mL甲醇溶解,即得。对照药材溶液制备:称取桂枝对照药材粉末0.4 g,加入15 mL乙醚超声提取(30 min),过滤,滤液低温挥干,残渣加1 mL甲醇溶解。阴性对照溶液制备:取桂枝阴性样品2 g,按供试品溶液制备流程同步操作。对照品溶液制备:精密量取桂皮醛对照品,加甲醇配制浓度为1 μL·mL$^{-1}$的溶液。




注:1.黄芪甲苷对照品;2.黄芪对照药材;3.样品220301;4.样品220302;5.样品220303;6.样品220304;7.样品220305;8.样品220306;9.样品220307;10.样品220308;11.样品220309;12.样品220310;13.样品220311;14.样品220312;15.黄芪甲苷对照品;16.黄芪对照药材;17.样品220313;18.样品220314;19.样品220315;20.黄芪阴性对照。

**图1 黄芪薄层色谱图**

薄层色谱分析：参照2020年版中国药典四部通则0502方法，于硅胶G薄层板分别点注供试品溶液、阴性对照溶液各12 μL，对照药材溶液10 μL，对照品溶液2 μL，以石油醚（60 ℃~90 ℃）-乙酸乙酯（17∶3，*v*/*v*）为展开剂，均匀喷洒二硝基苯肼乙醇试液，日光下观察。

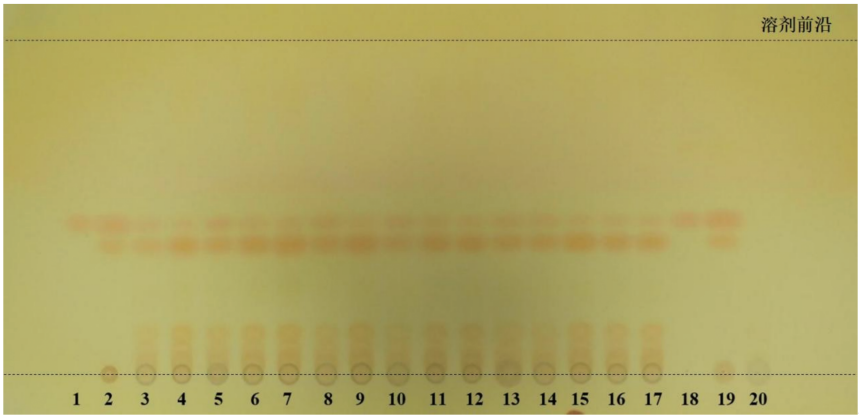
结果判定：供试品色谱中，在与对照药材及对照品相同位置处均呈现特征性黄色斑点，阴性对照无对应斑点干扰（图2）。实验温度（23±1）℃，相对湿度（53±5）%。

**2.1.3** 白芍 供试品溶液制备：取“2.1.1”项下正丁醇部位，水浴挥干，残渣加1 mL甲醇溶解。对照药材溶液制备：称取白芍对照药材粉末0.25 g，加15 mL蒸馏水超声处理（30 min）。依次经2次乙醚脱脂（每次15 mL）、2次水饱和正丁醇萃取（每次15 mL），合并正丁醇蒸干，残渣以1 mL甲醇溶解。阴性对照溶液制备：取白芍阴性样品2 g，依供试品制备流程同步操作。对照品溶液制备：精密称取芍药苷对照品，加甲醇配制1 mg·mL$^{-1}$溶液。

薄层色谱分析：按2020年版中国药典四部通则0502操作，于硅胶G薄层板分别点注对照药材溶液5 μL、对照品溶液2 μL、供试品与阴性对照溶液各1 μL，以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸（8∶1∶1.5∶0.04，*v*/*v*/*v*/*v*）展开，均匀喷洒5%香草醛-硫酸溶液，105 ℃加热至显色清晰，日光下观察。

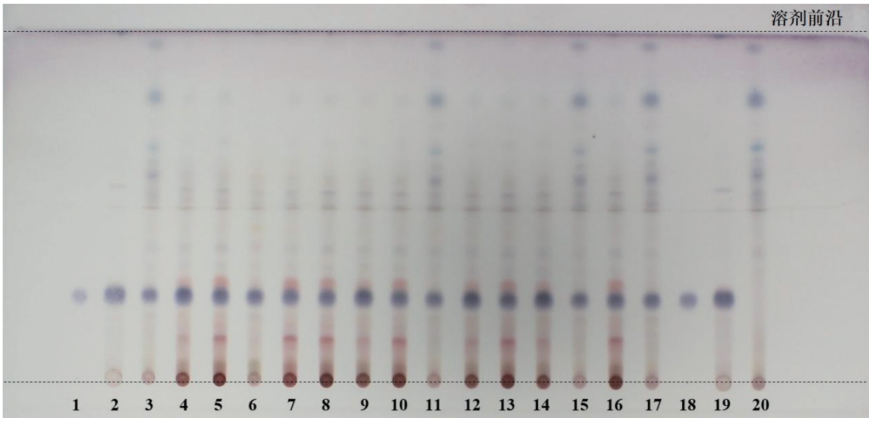
结果判定：供试品色谱在对照药材及对照品相同位置呈现特征性蓝紫色斑点，阴性对照无对应显色（图3）。实验温度（23±1）℃，相对湿度（52±5）%。

**2.1.4** 生姜 供试品溶液制备：称取物质基准粉末2 g，加入15 mL乙酸乙酯超声提取（30 min），滤过，




注：1.桂皮醛对照品；2.桂枝对照药材；3.样品220301；4.样品220302；5.样品220303；6.样品220304；7.样品220305；8.样品220306；9.样品220307；10.样品220308；11.样品220309；12.样品220310；13.样品220311；14.样品220312；15.样品220313；16.样品220314；17.样品220315；18.桂皮醛对照品；19.桂枝对照药材；20.桂枝阴性对照

**图2 桂枝薄层色谱图**




注：1.芍药苷对照品；2.白芍对照药材；3.样品220301；4.样品220302；5.样品220303；6.样品220304；7.样品220305；8.样品220306；9.样品220307；10.样品220308；11.样品220309；12.样品220310；13.样品220311；14.样品220312；15.样品220313；16.样品220314；17.样品220315；18.芍药苷对照品；19.白芍对照药材；20.白芍阴性对照。

**图3 白芍薄层色谱图**

滤液低温浓缩至干，残渣以0.5 mL乙酸乙酯复溶。阴性对照溶液制备：取生姜阴性样品2 g，同法操作制备。对照品溶液制备：精密称取6-姜辣素对照品，加甲醇配制0.5 mg·mL$^{-1}$溶液。

薄层色谱分析：按2020年版中国药典四部通则0502操作，在硅胶G薄层板点注对照品溶液1 μL、供试品与阴性对照溶液各10 μL，用石油醚（60 ℃~90 ℃）-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸（4∶3∶2∶0.05，*v/v/v/v*）展开，均匀喷洒香草醛-硫酸溶液，105 ℃加热至显色完全，日光下观察。

结果判定：供试品与对照品在相同位置呈现一致的斑点，阴性对照无对应显色（图4）。实验温度（22±1）℃，相对湿度（48±5）%。

因生姜为鲜品，其主要成分不稳定，在制备对照药材的过程中易损失变质，故参照2020年版中国药典，以6-姜辣素为对照品，进行薄层色谱鉴别。

**2.2** 含量测定

**2.2.1** 色谱条件　采用高效液相色谱进行定量分析，系统配置如下：Thermo Hypersil GOLD $C_{18}$反相柱（内径4.6 mm，柱长250 mm，填料粒径5 μm）；乙腈-0.1%磷酸溶液（14∶86，*v/v*），紫外检测器波长230 nm，柱温箱控温25 ℃，自动进样器进样量10 μL，泵流速1.0 mL·min$^{-1}$；以芍药苷色谱峰计算理论塔板数≥2 000。

**2.2.2** 对照品溶液的制备　精密称取芍药苷对照品，加甲醇制成60 μg·mL$^{-1}$的溶液，临用前经0.22 μm微孔滤膜过滤。

**2.2.3** 供试品溶液的制备　使用万分之一天平精密称取物质基准0.5 g，置具塞锥形瓶，同时用移液管精密加入50 mL稀乙醇，密塞后称重，采用功率250 W、频率40 kHz的超声波清洗器提取30 min，冷却至室温，再次称重后用稀乙醇补足重量，摇匀后过滤。用移液管精密量取续滤液25 mL，置水浴锅浓缩至近干无醇味，用流动相复溶并转移至25 mL容量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀后经0.22 μm微孔滤膜过滤，取续滤液作为供试品溶液。

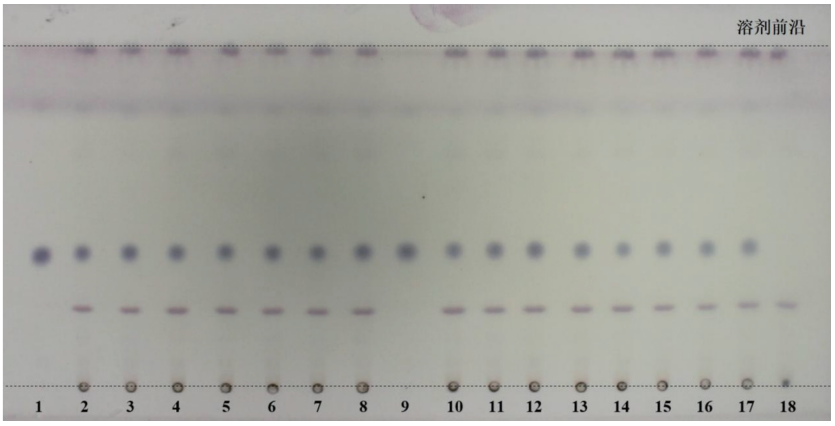
**2.2.4** 阴性溶液的制备　取白芍阴性样品，按“2.2.3”方法制备，即得。

**2.2.5** 专属性试验　取上述3种溶液，按“2.2.1”项下色谱条件测定，对照品溶液与供试品溶液中芍药苷峰的保留时间一致，且与杂质峰分离度较大，阴性溶液在芍药苷峰处无干扰。见图5。

**2.2.6** 线性关系试验　精密称取芍药苷对照品（批号：110736-220315）置于25 mL容量瓶中，加甲醇超声溶解并定容，制得5.920 mg·mL$^{-1}$储备液。采用逐级稀释法，精密量取储备液0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 mL，分别置于10 mL容量瓶中，用50%甲醇定容，制得浓度为148.00、296.00、592.00、1 184.00、2 368.00 μg·mL$^{-1}$的系列对照品溶液。按“2.2.1”色谱条件进样，以峰面积（*Y*）对浓度（*X*）进行线性拟合，得回归方程*Y*=0.025 3*X*+0.312 7（*r*=0.999 9），表明在148.00~2 368.00 μg·mL$^{-1}$范围内线性关系符合要求。

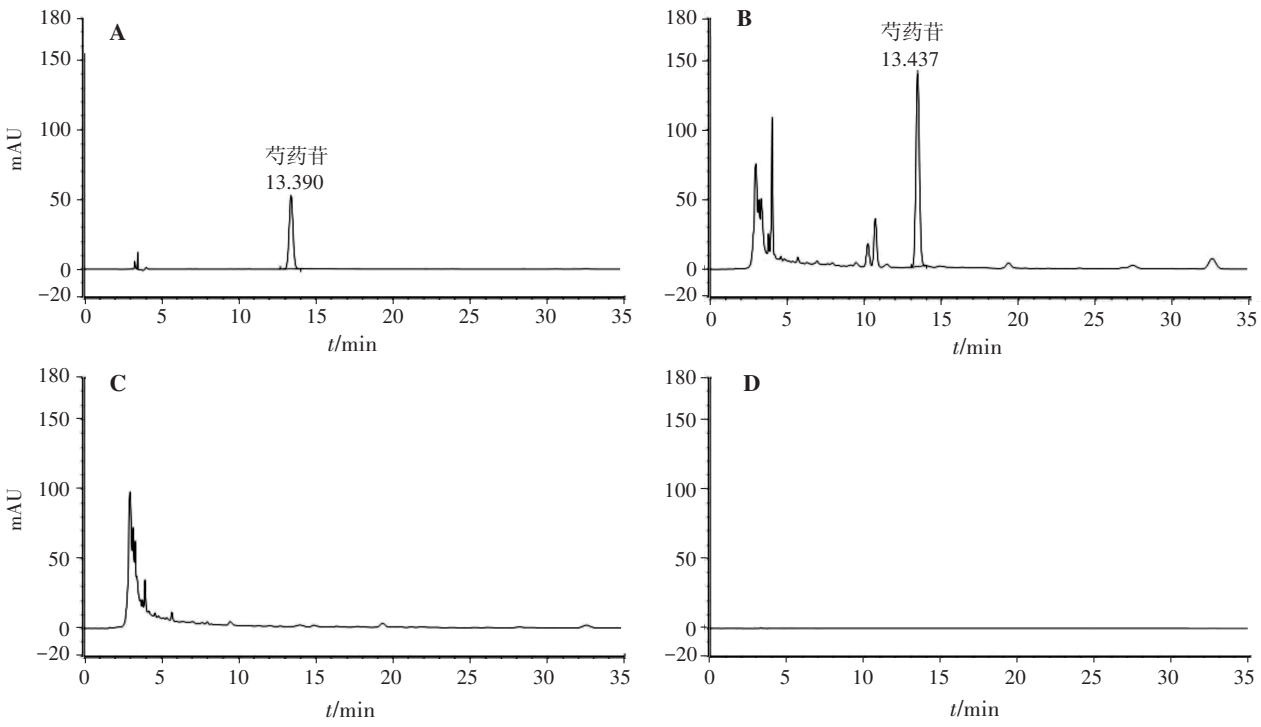
**2.2.7** 精密度试验　采用6次重复进样法，取对照品溶液，按“2.2.1”色谱条件连续进样6次，记录芍药苷峰面积。经统计，峰面积*RSD*为0.13%（*n*=6），满足精密度的要求（*RSD*≤2.0%），表明仪器精密度良好。

**2.2.8** 稳定性试验　取同一供试品溶液，分别于制备后0、2、4、8、12、24 h进样分析，记录峰面积并计




注：1.6-姜辣素对照品；2.样品220301；3.样品220302；4.样品220303；5.样品220304；6.样品220305；7.样品220306；8.样品220307；9.6-姜辣素对照品；10.样品220308；11.样品220309；12.样品220310；13.样品220311；14.样品220312；15.样品220313；16.样品220314；17.样品220315；18.生姜阴性对照。

**图4　生姜薄层色谱图**




注：A.芍药苷对照品；B.黄芪桂枝五物汤物质基准样品；C.白芍阴性对照样品；D.空白溶剂。

**图5　高效液相色谱图**

算，结果显示*RSD*为0.37%（$n$=6）。表明供试品溶液在24 h内稳定性符合分析要求。

**2.2.9**　重复性试验　采用平行实验设计：取同一批物质基准样品（批号：220314），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液并测定芍药苷含量，结果如下，平均含量为16.26 mg·g$^{-1}$，*RSD*为1.07%（$n$=6）。满足分析方法重复性的要求（*RSD*≤2.0%），表明该方法重复性良好。

**2.2.10**　加样回收试验　精密称取物质基准样品（批号：220314）约0.25 g，共6份，置具塞锥形瓶中，分别精密加入已知浓度的芍药苷对照品溶液，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，进样测定并计算回收率。结果显示平均加样回收率为98.48%，*RSD*为0.95%，表明方法准确性符合要求。见表1。

**2.2.11**　样品含量测定　取15批物质基准样品，分别精密称定后，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，并依照“2.2.1”项下色谱条件进行含量测定，结果见表2。经分析，15批样品中芍药苷平均含量为19.509 7 mg·g$^{-1}$。

## 3　讨论

通过文献研究发现，黄芪的有效成分为黄芪甲苷，具有抗氧化应激[5-7]、减轻炎症反应[8]和调节血糖[9]的作用；桂皮醛是桂枝的重要活性成分，有较好的抗菌[10]作用；芍药苷可改善小鼠急性肝损伤[11]，同时能够镇痛[12]、抗抑郁[13]；6-姜辣素对人多发性骨髓瘤细胞有抑制作用[14]。

经典名方黄芪桂枝五物汤药味较多，化学成分较复杂。本研究对黄芪桂枝五物汤物质基准中的黄芪、桂枝、白芍、生姜进行薄层色谱定性研究，对

**表1　加样回收试验结果**

| 成分 | 取样量/g | 样品含量/mg | 加入量/mg | 测得量/mg | 回收率/% | 平均回收率/% | *RSD*/% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 芍药苷 | 0.247 8 | 1.793 7 | 1.712 1 | 3.475 4 | 98.22 | 98.48 | 0.95 |
| | 0.249 6 | 1.806 8 | 1.712 1 | 3.488 6 | 98.23 | | |
| | 0.248 2 | 1.796 6 | 1.712 1 | 3.481 0 | 98.38 | | |
| | 0.248 6 | 1.799 5 | 1.712 1 | 3.477 2 | 97.99 | | |
| | 0.249 3 | 1.804 6 | 1.712 1 | 3.522 3 | 100.32 | | |
| | 0.248 8 | 1.801 0 | 1.712 1 | 3.474 0 | 97.72 | | |

**表2　芍药苷含量测定结果**（mg·g$^{-1}$）

| 批号 | 芍药苷 | 批号 | 芍药苷 |
|---|---|---|---|
| 220301 | 20.345 9 | 220309 | 26.911 4 |
| 220302 | 18.565 5 | 220310 | 16.677 9 |
| 220303 | 22.293 1 | 220311 | 21.641 6 |
| 220304 | 16.891 2 | 220312 | 18.306 3 |
| 220305 | 20.225 1 | 220313 | 19.672 8 |
| 220306 | 19.205 3 | 220314 | 15.339 5 |
| 220307 | 18.286 1 | 220315 | 15.510 0 |
| 220308 | 22.774 0 | | |

芍药苷进行定量研究。研究结果显示，薄层色谱方法简便可靠，能对方中4味药材进行鉴别，涵盖君药、臣药、佐药、使药。高效液相色谱法定量分析芍药苷含量，通过对15批物质基准的芍药苷转移率进行分析，发现各批次的转移率都在均值的70%~130%之间，说明芍药苷在多批次物质基准中稳定性良好，为黄芪桂枝五物汤物质基准的质量标准建立、量值传递和全过程质量控制提供了坚实基础。

利益冲突声明：本文所有作者均声明不存在利益冲突。

**参考文献**


[1] Zhang K H, Peng P, Huang J H, *et al*. Integrating plasma metabolomics and gut microbiome to reveal the mechanisms of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction intervene diabetic peripheral neuropathy [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 3): 117301.

[2] 李冲，王钰，张文静，等. 黄芪桂枝五物汤治疗糖尿病周围神经病变的研究进展[J]. 中草药，2024，55(12)：4235-4247.

[3] 姜帆，李慧敏，林婉娜，等. 基于网络药理学探究黄芪桂枝五物汤治疗类风湿性关节炎的机制[J]. 广东药科大学学报，2023，39(4)：49-58.

[4] 林婉娜，苏慧琳，李慧敏，等. 黄芪桂枝五物汤抗类风湿性关节炎的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(9)：9-15.

[5] 陈艳，高入春，广可颜，等. 黄芪甲苷抗高糖受损内皮祖细胞氧化应激损伤的机制研究[J]. 中医药导报，2025，31(1)：8-12.

[6] 李艳玲，陆展辉，张燕燕，等. 基于网络药理学和实验验证黄芪甲苷和三七总皂苷配伍调控血管生成抗脑缺血作用机制[J]. 中国中药杂志，2024，49(4)：1017-1027.

[7] 秦合伟，孙孟艳，王梦楠，等. 黄芪甲苷控Nrf2/HO-1/GPX4通路抑制铁死亡改善ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化的机制研究[J]. 中国中药杂志，2024，49(13)：3619-3626.

[8] 戴鸿志，安祯祥，黄丹，等. 黄芪甲苷对肝纤维化模型大鼠的改善作用机制研究[J]. 中国现代应用药学，2022，39(10)：1268-1274.

[9] 尤良震，林逸轩，方朝晖，等. 黄芪甲苷治疗糖尿病及其并发症药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志，2017，42(24)：4700-4706.

[10] 邓洁华，王佳，祁晓明，等. 桂皮醛抗念珠菌的敏感性及对细胞壁的影响[J]. 河北工业科技，2022，39(2)：123-128.

[11] 李聪，周威. 芍药苷对伴刀豆球蛋白诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志，2022，38(5)：427-431.

[12] 吴丽，王丽丽，费文婷，等. 芍药苷和芍药内酯苷对小鼠疼痛模型的镇痛作用及对β-EP、PGE2的影响[J]. 中华中医药杂志，2018，33(3)：915-918.

[13] 李萍，李艺杰，薛玲，等. 芍药苷对Bayk8644诱导大鼠抑郁焦虑样行为的改善作用及机制研究[J]. 实验动物与比较医学，2020，40(6)：489-495.

[14] 孔春芳，李安娜，柯波，等. 6-姜辣素对人多发性骨髓瘤细胞的抑制作用及分子机制[J]. 实用医学杂志，2024，40(23)：3291-3297.


（收稿日期：2025-06-03；在线出版日期：2026-01-22）