黄芪中5种黄酮类成分的含量测定及其指纹图谱研究

牟佳佳,陈 芳,陈党辉,邓雁如* 天津中医药大学中药学院,天津 301617

摘 要:目的 建立同时测定黄芪中 5 种黄酮类成分含量的高效液相色谱(HPLC)分析方法并进行黄芪的指纹图谱研究。方法 采用 HPLC-DAD,Waters SymmetryShieldTM RP₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m),乙腈(A)-水(0.05%磷酸)(B)为流动相梯度洗脱,体积流量 1.0 mL/min,检测波长 246、206 nm,柱温 25 °C,进样量 20 μ L,对黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮进行含量测定。结果 方法学考察结果显示,黄芪中 5 种黄酮类成分线性范围,相关系数良好(r = 0.999 8 \sim 0.999 9,n = 9),各色谱峰间分离度均达到定量要求。精密度(RSD < 1.86%),稳定性(RSD < 2.01%),重复性(RSD < 1.97%),加样回收率(RSD < 2.90%,n = 9)等参数均达到定量分析要求。建立了黄芪的 HPLC 指纹图谱,标定了 27 个共有峰,样品相似度在 0.808 \sim 0.971,存在一定差异。结论 本实验建立的方法准确、简便、重复性好,可为黄芪药材的质量控制提供参考。

关键词: 黄芪; 黄酮类成分; 含量测定; 指纹图谱

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 05-0900-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.05.016

Study on the components determination of five flavonoids and HPLC fingerprints of *Radix Astragali*

MOU Jiajia, CHEN Fang, CHEN Danghui, DENG Yanru

School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To establish a method to determine the components of five flavonoids in *Radix Astragali* and built fingerprint of *Radix Astragali* by HPLC. **Methods** HPLC-DAD method was used to determine five flavonoids simultaneously, including calycosin-7-glucoside, ononin, (6a*R*, 11a*R*) - 9, 10-dimethoxypterocarpan-3 - O - β - D-glucoside, calycosin and 7-hydroxyl-4'-methoxyisoflavone. The separation was carried on a Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile (A)-water (0.05% phosphoric acid) (B) by using gradient elution. The flow rate was 1.0 mL. min⁻¹ and the detection wavelengths were at 246 and 206 nm. The column temperature was set at 25°C and the injection volume was 20 μL. **Results** Methodology examination showed that the five flavonoids showed a good linear relationship (r = 0.999 8—0.999 9, n = 9), precision (RSD < 1.86%), stability (RSD < 2.01%) and repeatability (RSD < 1.97%) conformed to requirements. The fingerprint of *Radix Astragali* was built. 27 mutual peaks were labeled and the similarity was more than 0.808. **Conclusion** The established method is accurate, simple and reproducible, which can provide reference for quality control of *Radix Astragali*.

Key words: Radix Astragali; flavonoids; component determination; fingerprint

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 Astrsgalus membranaceus (Fisch.) Bge. var. mongholicus (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 Astrsgalus membranaceus (Fisch.) Bge. 的干燥根。其味甘,微温,归肺、脾经,具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血、行滞通痹、

托毒排脓、敛疮生肌的功效,用于气虚乏力、食少便 溏、中气下陷、久泻脱肛、便血崩漏、表虚自汗、气虚 水肿、内热消渴、血虚萎黄、半身不遂、痹痛麻木、痈 疽难溃、久溃不敛等^[1],是历史悠久的传统中药,常 与其他中药组成方剂,用来发挥抗病毒、抗肿瘤、抗

收稿日期: 2019-02-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21502142)

第一作者: 牟佳佳(1981一),讲师,主要从事药物化学及天然药物化学研究工作。Tel:(022)59596221 E-mail:moujiajia66@163.com

^{*}通信作者: 邓雁如(1963—),教授,主要从事中药化学研究工作。Tel:(022)59596221 E-mail:dyanru@sina.com

氧化、抗衰老、抗辐射损伤、心血管保护、免疫调节、肝肾保护、调节血糖、降血脂、降压、利尿等作用[2-5]。 其化学成分主要为皂苷类、黄酮类、多糖和氨基酸^[6-7]。2015版《中国药典》黄芪含量测定项只列出了黄芪甲苷及毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量测定方法,已经不能满足黄芪药材及含黄芪中药制剂的质量控制要求。

本研究选择黄芪中含量较大的5种黄酮类成分为研究对象,采用HPLC法同时测定其含量,并进行黄芪指纹图谱研究,辅以主成分分析及聚类分析等统计学分析方法,以期为黄芪药材质量标准建立及相关制剂的质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Aglient 1200 高效液相色谱仪(四元泵、在线脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器,美国 Aglient 公司), Sartorius LE225D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司), KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮均为本实验室自制,质量分数均大于98%。黄芪药材(批号08070801、10120303、 11041804、 11062601、 Y1001005、Y1110236、 Y1202048、 Y1202050、 Y1210219、Y1210227)由天津市中新药业提供,经天津中医药大学马琳教授鉴定为黄芪药材 Radix Astragali。 乙腈为色谱纯(美国 Sigma-aldrich 公司);甲醇为色谱纯(天津市康科德试剂公司);水为纯净水(娃哈哈)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters SymmetryShield[™] RP₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相为: 乙腈(A)-水(0.05% 磷酸)(B),线性梯度洗脱程序设定见表1;体积流量1.0 mL/min;检测波长246、206 nm;柱温25 °C;进样体积20 μ L。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷 6.65 mg、芒 柄花苷 4.25 mg、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀 烷-3-O-β-D-葡萄糖苷 4.28 mg、毛蕊异黄酮 5.28 mg、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮 5.57 mg,置 10 mL 棕色量 瓶中,甲醇溶解,定容至刻度得各标准品母液。分

表1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Mobile phase gradient elution process

t/min	A/%	B/%
0	5	95
15	15	85
40	38	62
53	47	53
60	68	32
70	80	20
85	90	10

别移取毛蕊异黄酮葡萄糖苷母液 5.220 mL、芒柄花苷母液 2.740 mL、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷母液 5.040 mL、毛蕊异黄酮母液 3.870 mL、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮母液 2.160 mL于同一50 mL棕色量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,制成毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮质量浓度分别为 69.43、23.29、43.14、40.87、24.06 μg/mL的混合对照品储备液,备用。按"2.1色谱条件"测定,其色谱图见图 1(A),由图可见各化合物分离效果良好。

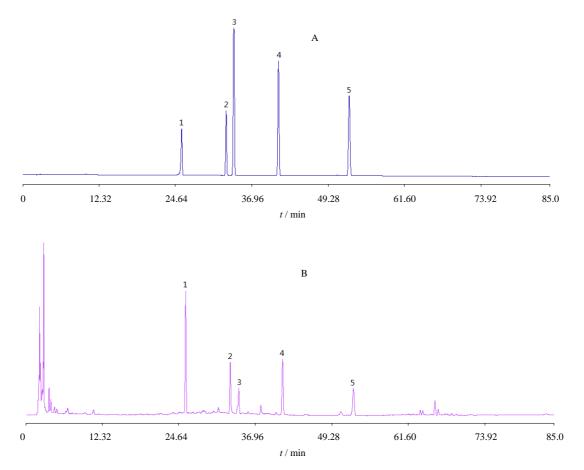
2.3 供试品溶液的制备

黄芪药材60°C干燥2h,粉碎,过60目筛,混合均匀,称取样品约3g,精密称定,置于圆底烧瓶中,精密加入甲醇150 mL,称定质量,加热回流4h,放冷至室温,再称定质量,用甲醇补足减失量,摇匀,过滤,精密量取续滤液100 mL,回收溶剂至干,残渣加80%甲醇溶解,转移至50 mL棕色量瓶中,加80%甲醇至刻度,摇匀,即得。按"2.1色谱条件"进样分析,以毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮对照品确定色谱峰的归属,外标一点法定量,其色谱图见图1(B),由图可见黄芪中5种黄酮类成分得到了很好的分离。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密量取混合对照品溶液 0.2、0.5、1、2、3、4、5、8、10 mL,分别置于 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得系列对照品溶液,按"2.1色谱条件"测定峰面积。以对照品的浓度为横坐标(X),以峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,5种成分的标准曲线见表2,线性关系良好。

2.4.2 精密度试验 称取同一批黄芪粉末3g,精密称定,按"2.3"项下制备黄芪的供试品溶液,并



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 2-芒柄花苷; 3-(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷; 4-毛蕊异黄酮; 5-7-羟基-4'-甲氧基异黄酮

1- Calycosin-7-glucoside; 2- Ononin; 3- (6a*R*, 11a*R*)-9, 10-Dimethoxypterocarpan-3- *O*-β-*D*-glucoside; 4- Calycosin; 5- 7-Hydroxyl-4'-methoxyisoflavone

图1 混合对照品(A)和黄芪(B)的HPLC图

Fig.1 HPLC chromatography of mixed reference substances and Radix Astragali sample solution

表 2 各对照品的回归方程及线性范围
Table 2 Regression equations of five references

对照品	回归方程	r	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	Y=63 334X+8.869 5	0.999 8	1.389~69.43
芒柄花苷	<i>Y</i> =77 060 <i>X</i> +1.690 5	0.999 9	$0.465~8{\sim}23.29$
(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷	<i>Y</i> =5 992 <i>X</i> +0.971 3	0.9998	0.862 8~43.14
毛蕊异黄酮	<i>Y</i> =104 560 <i>X</i> -1.796 0	0.999 9	0.817 3~40.87
7-羟基-4'-甲氧基异黄酮	<i>Y</i> =104 339 <i>X</i> +4.718 7	0.999 8	0.481 2~24.06

在"2.1"项下色谱条件,连续重复进样6次,测定峰面积,计算毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮峰面积的相对标准偏差(RSD),分别为0.53%、0.90%、1.86%、1.04%、0.96%,结果表明,仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 精密称取同一批粉末 3 g, 按"2.3"项下制备黄芪的供试品溶液,并在"2.1"项

下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、16、20、24 h 进样,测定峰面积, 计算毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮峰面积的 RSD 值,分别为 0.94%、1.19%、2.01%、1.40%、1.05%。结果表明, 黄芪供试品溶液在 24 h 内稳定。 2.4.4 重复性试验 称取同一批次黄芪粉末 6 份,各 3 g,精密称定,按"2.3"项下制备黄芪的供试品溶

液,并在"2.1"项下色谱条件进样,测定峰面积,计算毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- β -D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮含量的RSD值,分别为1.19%、1.47%、1.97%、1.36%、0.89%。结果表明,本方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率 称取已知含量的黄芪粉末9份,各1.5g,加入各对照品的量相当于黄芪中各对照品量的80%、100%、120%。按"2.3"项下制备黄芪的供试品溶液,并在"2.1"项下色谱条件进行测定,以外标法计算各成分的含量,计算回收率,测得5种黄酮类成分的平均回收率及RSD值,结果5种黄酮

类成分平均回收率在97.9%~100.2%,RSD都小于2.90%。结果表明,本方法加样回收率符合要求。

2.5 含量测定

取不同批次黄芪粉末各3g,精密称定,按"2.3"项下制备黄芪的供试品溶液,并在"2.1"项下色谱条件进行测定,10批黄芪药材5种黄酮类成分含量测定结果见表3。不同批次黄芪药材黄酮含量有很大差异,RSD值在49.90~77.86%。总黄酮含量的RSD值为34.03%。毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量与总黄酮的含量成正相关,故2015版《中国药典》将毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量作为质量评价指标能反映出总黄酮的含量。

表3 10批黄芪药材5种黄酮类成分含量测定结果(n=3)

Table 3 The components determination results of five flavonoids in ten batches of Radix Astragali

			质量分数/(mg.g ⁻¹)				
批次	毛蕊异黄酮葡	芒柄花苷	(6aR, 11aR)-9,10-二甲氧基	毛蕊异黄酮	7-羟基-4'-甲氧	总黄酮	
	萄糖苷		紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷		基异黄酮		
S1(08070801)	0.057	0.028	0.273	0.371	0.262	0.991	
S2(10120303)	0.416	0.103	0.443	0.453	0.179	1.594	
S3(11041804)	0.195	0.050	0.207	0.178	0.104	0.734	
S4(11062601)	1.047	0.339	0.669	0.142	0.087	2.284	
S5(Y1001005)	0.166	0.056	0.130	0.618	0.387	1.357	
S6(Y1110236)	0.407	0.160	0.274	0.218	0.133	1.192	
S7(Y1202048)	0.706	0.168	0.610	0.170	0.044	1.698	
S8(Y1202050)	0.644	0.167	0.639	0.319	0.083	1.852	
S9(Y1210219)	0.829	0.383	0.779	0.230	0.098	2.319	
S10(Y1210227)	0.327	0.090	0.199	0.474	0.213	1.303	
RSD/%	66.43	77.86	55.63	49.90	65.47	34.03	

2.6 主成分分析

为了更仔细地观察各批次之间的差异,分别对10批药材的5种黄酮类成分的含量,采用SPSS 18.0软件进行了主成分分析,即将其投影至低维空间来观察各批次黄芪药材之间的细微差别。

由表 4、图 2 得知,从特征值大小来看, λ_1 =3.888, λ_2 =0.780;从贡献率来看, λ_1 的贡献率为 77.755%, λ_2 的贡献率为 15.596%,其他均小于 10%;从累计贡献率来看,前 2 个特征值的累计贡献率为 93.351%。故取前 2 个为主成分。

按照主成分得分公式计算得分 Y_1 、 Y_2 以及综合得分 Y_c ,如表 5,即用综合得分 Y_c 代表所有黄芪中 5种黄酮类成分的含量信息,其大小代表了 5种黄酮类成分的含量高低,因此根据 Y_c 的数值大小排列顺序,得到各批次黄芪药材在化学成分方面的品质优

表 4 黄芪特征值表

Table 4 Characteristic values of Radix Astragali

八.缶		初始特征		提取平方和载入				
成分	合计	方差%	累积%	合计	方差的%	累积%		
1	3.888	77.755	77.755	3.888	77.755	77.755		
2	0.780	15.596	93.351	0.780	15.596	93.351		
3	0.204	4.080	97.431					
4	0.087	1.735	99.166					
5	0.042	0.834	100.000					

劣情况: S4> S9> S7> S8> S6> S2> S3> S10> S1> S5。不同批次的黄芪药材中5种黄酮类成分含量差异较大,这可能是由于产地不同、采收季节不同等原因造成的。

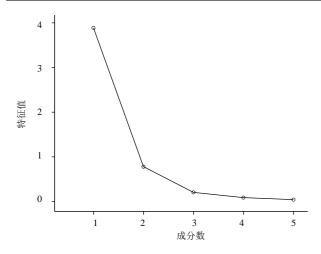


图 2 黄芪公共因子碎石图

Fig. 2 Common factor gravel plot of Radix Astragali

2.7 黄芪指纹图谱研究

2.7.1 黄芪指纹图谱建立 运用中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版,对10批黄芪药材进行了指纹图谱相似度分析和匹配分析研究,归纳出206 nm下10批样品的HPLC指纹图谱具有48个共有的特征指纹峰,其中27个共有指纹峰的总面积占

表5 主成分得分和综合得分

Table 5 Principal component scores and synthesis score

编号	Y_1	Y_2	$Y_{\rm c}$	顺序
S1	-0.999 18	-0.381 77	-4.182 59	9
S2	-0.343 36	0.475 29	-0.964 26	6
S3	-0.330 80	-1.954 69	-2.810 81	7
S4	1.408 08	0.528 71	5.887 01	1
S5	-1.594 38	1.435 37	-5.079 36	10
S6	-0.008 38	-0.854 66	-0.699 22	5
S7	0.822 24	-0.713 06	2.640 68	3
S8	0.526 05	0.136 08	2.151 42	4
S9	1.299 49	1.069 05	5.886 28	2
S10	-0.779 76	0.259 68	-2.829 16	8

总峰面积的90%以上并被依次标定,其中7号峰为毛蕊异黄酮葡萄糖苷、12号峰为芒柄花苷、13号峰为(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、16号峰为毛蕊异黄酮、19号峰为7-羟基-4′-甲氧基异黄酮,如图3、图4所示。27个共有指纹峰保留时间RSD均小于0.76%,具有代表性,峰面积RSD均大于19.69%,说明不同批次药材存在较大差异。

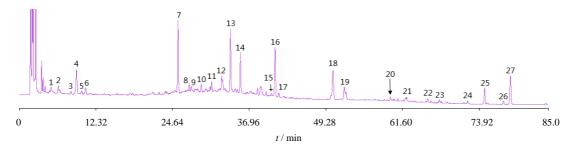


图 3 黄芪共有指纹峰的标定图

Fig. 3 The calibration chart of shared fingerprint peaks of Radix Astragali

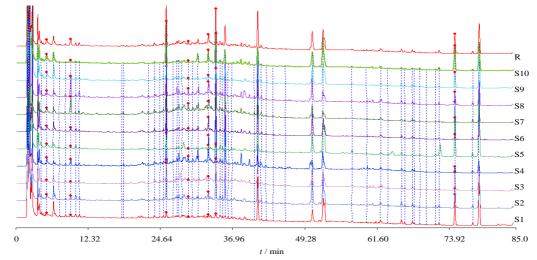


图 4 10 批黄芪药材匹配分析图

Fig. 4 Match analysis chart of ten batches of Radix Astragali

2.7.2 相似度评价 运用中药色谱指纹图谱相似 度评价系统 2004A 版对 10 批黄芪药材的指纹图谱 进行相似度分析,以中位数法生成 10 批药材的对照

指纹图,结果见表 6。10 批黄芪药材的相似度在 0.808~0.971, 不同批次药材相似度存在明显 差异。

	Table 0 Calculated similarity results of Radix Astragan										
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000	0.886	0.887	0.593	0.921	0.850	0.659	0.763	0.755	0.771	0.881
S2	0.886	1.000	0.892	0.782	0.867	0.913	0.817	0.882	0.784	0.831	0.948
S3	0.887	0.892	1.000	0.772	0.807	0.934	0.760	0.878	0.802	0.843	0.955
S4	0.593	0.782	0.772	1.000	0.547	0.854	0.901	0.882	0.602	0.725	0.858
S5	0.921	0.867	0.807	0.547	1.000	0.770	0.586	0.723	0.711	0.719	0.821
S6	0.850	0.913	0.934	0.854	0.770	1.000	0.838	0.922	0.764	0.816	0.971
S7	0.659	0.817	0.760	0.901	0.586	0.838	1.000	0.909	0.612	0.693	0.847
S8	0.763	0.882	0.878	0.882	0.723	0.922	0.909	1.000	0.734	0.786	0.932
S9	0.755	0.784	0.802	0.602	0.711	0.764	0.612	0.734	1.000	0.951	0.808
S10	0.771	0.831	0.843	0.725	0.719	0.816	0.693	0.786	0.951	1.000	0.873
R	0.881	0.948	0.955	0.858	0.821	0.971	0.847	0.932	0.808	0.873	1.000

表 6 黄芪相似度计算结果
Table 6 Calculated similarity results of Radix Astrogali

2.7.3 聚类分析 为了消除不同批次药材含水量和取样量不同对色谱峰面积的影响,将所有批次的峰面积换算成每克干燥品的峰面积。运用 SPSS 18.0 软件对其进行系统聚类分析,以27个共有峰为指标,采用离差平方和法(Ward Method),利用欧氏距离(Euclidean distance)作为样品的测度,对数据进行 Z 得分标准化处理,即把每批样品的峰面积数据标准化为均值为0、标准差为1的数值,聚类图见树状图5,10批黄芪药材可以分为两大类。样品1、2、3、5、6、9、10可为一大类,样品4、7、8可为一大类。分析原因,可能是10批黄芪药材种属不同造成的差异。

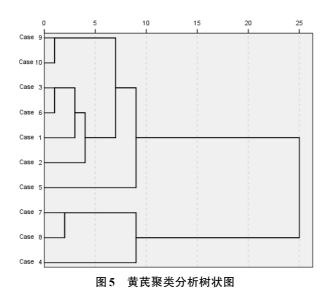


Fig. 5 Cluster analysis tree of Radix Astragali

3 讨论

3.1 流动相的选择

3.2 检测波长的选择

通过三维图谱提取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮的光谱。从色谱图看,以246 nm为检测波长时,基线平稳,各峰分离度较好;以206 nm及222 nm为检测波长时,基线波动较大,但峰数目较多。综合考虑各种因素,测定5种黄酮类成分的含量选用246 nm为检测波长,建立黄芪的指纹图谱时选择206 nm为检测波长。

3.3 提取方法的选择

实验中对水、乙醇、甲醇及不同浓度的甲醇-水作为提取溶剂进行了考察^[13-16],结果表明80%甲醇作为提取溶剂提取效果最好。并对提取方式(回流、超声)、提取次数及提取时间进行了考察,结果表明回流提取效果较好。在此基础上对提取次数及提取时间进行了考察,结果表明回流提取1次4h即可将黄芪中的黄酮类成分提取完全。

3.4 检测温度的选择

试验中分别考察了20、25、30、35℃为检测温度

对分离效果的影响,最终选择25℃下检测时各色谱 峰峰型及分离效果最好。

3.5 含量测定和指纹图谱

用建立的方法对10批黄芪药材5种黄酮含量进行测定发现,不同批次的药材中5种黄酮类成分含量有明显差异。但毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量与总黄酮的含量成正相关,可作为黄芪总黄酮含量的质量评价指标。指纹图谱研究发现10批黄芪药材黄酮含量存在一定差异,聚类分析将10批药材分成两大类,这种差异可能是药材种属不同造成的。

本研究从多方面对黄芪药材进行质量评价,为 黄芪药材的质量控制提供了参考。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [2] 陈建真, 吕圭源, 叶磊, 等. 黄芪黄酮的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 医药导报, 2009, 28(10): 1314-1316.
- [3] 陈国辉, 黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(17): 1482-1485.
- [4] 李亮,杨萍,蒋俊,等.黄芪化学成分及对神经系统作用的研究概况[J].湖南中医药大学学报,2012,32(5):79-81
- [5] 邱勇波, 刘锦, 武飞. 黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国疗养医学, 2011, 20(5): 435-436.
- [6] 李延勋, 栗章彭, 颜世利, 等. 膜荚黄芪化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(13): 2601-2607.

- [7] 吴 娇, 王 聪. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 新乡医学院学报, 2018(9): 755-760.
- [9] 程海燕, 陈晓辉, 李清, 等. RP-HPLC 法同时测定黄芪 药材中 6 个黄酮类成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(7): 1115-1118.

- [12] 王亚丽, 田 曼, 李 江, 等. HPLC-DAD-ELSD法同时测定黄芪中10个成分的含量 [J]. 中南药学, 2018, 16(9): 1268-1271.
- [13] 王 洋, 陈 涛, 李 进, 等. 黄芪中黄酮类成分指纹图谱方 法的建立 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(4): 789-790.
- [14] 张秋红, 王志刚. 黄芪中黄酮类成分 HPLC 指纹图谱及聚类分析 [J]. 临床医学工程, 2016,19(6): 975-977.
- [15] 王知斌, 马振平, 刘 秀, 等. HPLC 法同时测定黄芪饮片中4个异黄酮类成分的含量 [J]. 中国药学报, 2014, 42 (5): 58-61.
- [16] 刘小花,崔方,张梦婷,等. HPLC 法同时测定黄芪中的5中黄酮类成分的含量[J]. 实验技术与管理, 2016, 33 (2): 24-27.