

## 复方丹参浸膏中低聚糖成分的分离与结构鉴定

张学敏<sup>1,2</sup>, 王卫国<sup>1</sup>, 牛涛<sup>1,2\*</sup>, 徐波<sup>1,2</sup>, 陈红<sup>1,2</sup>

1. 天津天士力现代中药资源有限公司, 天津 300402

2. 天津市现代中药资源研究企业重点实验室, 天津 300402

**摘要:** 目的 研究复方丹参浸膏中的低聚糖化学成分。方法 采用固相萃取、聚丙烯酰胺凝胶色谱、亲水作用色谱(HILIC)-高效液相色谱(HPLC)-蒸发光散射检测器(ELSD)等技术,对复方丹参浸膏中的低聚糖成分进行分离纯化,并根据理化性质和波谱学手段进行结构鉴定。结果 通过方法优化,成功分离得到了5个低聚糖成分,通过波谱分析鉴定,5个低聚糖成分分别为 $\alpha$ -D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-呋喃果糖(1)、 $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-呋喃果糖-(1 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖(2)、蔗糖(3)、果糖(4)和葡萄糖(5)。结论 化合物1、2为首次在复方丹参浸膏中分离得到。

**关键词:** 复方丹参浸膏; 低聚糖; 聚丙烯酰胺凝胶;  $\alpha$ -D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-呋喃果糖;  $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-呋喃果糖-(1 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖; 蔗糖; 果糖; 葡萄糖

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)08-1622-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.08.021

## Isolation and structure identification of chemical constituents of oligosaccharide in compound Danshen extractum

ZHANG Xuemin<sup>1,2</sup>, WANG Weiguo<sup>1</sup>, NIU Tao<sup>1,2</sup>, XU Bo<sup>1,2</sup>, CHEN Hong<sup>1,2</sup>

1. Tianjin Tasly Modern TCM Resources Co., Ltd., Tianjin 300402, China

2. Tianjin Key Laboratory of Modern TCM Resources Enterprises, Tianjin 300402, China

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents of oligosaccharide from compound Danshen extractum. **Methods** The compounds were isolated and purified by SPE, HPGCP, and HILIC-HPLC. Their structures were elucidated by means of chemical evidences and spectral analyses (MS, <sup>1</sup>H-NMR, and <sup>13</sup>C-NMR). **Results** Five compounds were isolated and identified as  $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-6)- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-6)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-fructofuranoside (1),  $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-fructofuranoside-(1-1)- $\alpha$ -D-galactopyranosyl (2), sucrose(3), fructose (4) and glucose (5). **Conclusion** Compounds 1 and 2 are isolated from compound Danshen extractum for the first time.

**Key words:** compound Danshen extractum; oligosaccharides; polyacrylamide gel;  $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-6)- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-6)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-fructofuranoside;  $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-fructofuranoside-(1-1)- $\alpha$ -D-galactopyranosyl; sucrose; fructose; glucose

复方丹参浸膏为复方丹参滴丸的制剂中间体。其制法为:取丹参、三七,加水适量(加水倍数涉及中药保护品种,药典未公开)煎煮,煎液浓缩,加入乙醇,静置使沉淀,取上清液,回收乙醇并浓缩成稠膏,即得<sup>[1]</sup>。目前,复方丹参浸膏中丹酚酸类、皂苷类等功效成分的含量以及结构的研究都很完善。然而,糖类成分的研究尚未深入。糖类是多种中草药中广泛存在的成分,具有良好的生理功能<sup>[2]</sup>,且在

复方丹参浸膏中占较大的比重。糖类成分的研究可为其药理研究等提供物质基础数据,也为复方丹参浸膏质量标准的完善提供依据。

本研究首先采用高效凝胶色谱法测定复方丹参浸膏中糖类成分的相对分子量,结果显示,其相对分子量均在2 000以下,属于低聚糖<sup>[3]</sup>。然后采用固相萃取结合聚丙烯酰胺凝胶技术<sup>[4]</sup>,对复方丹参浸膏中的低聚糖成分进行分离纯化,确定了复

收稿日期: 2022-03-09

第一作者: 张学敏,女,本科,高级工程师,研究方向为中药提取工艺与质量研究。Tel:(022)26735066 E-mail:zhangxm@tasly.com

\*通信作者: 牛涛 Tel:13072220980 E-mail:nthomas@163.com

方丹参浸膏中的主要糖类成分的组成及化学结构,提高物质基础认识水平。

## 1 材料

### 1.1 仪器

AKTA prime 蛋白质纯化系统(美国通用电气公司GE医疗集团);高压水冷夹层色谱柱(100 cm×2.6 cm,上海楚柏实验室设备有限公司);Waters 2695 高效液相色谱仪、Waters 2420 ELSD 检测器、Waters Q-TOF Micro™ 质谱仪(美国 Waters 公司);BRUKER AV-500 型核磁共振仪(德国 BRUKER 公司);Milli-Q Academic 超纯水处理系统(美国 Millipore 公司);恒温水浴锅(宁波天恒仪器厂)。

### 1.2 药物及主要试剂

复方丹参浸膏(批号 20090604,天津天士力现代中药资源有限公司);无水葡萄糖(批号 110833200802)、果糖(批号 100231200801)、蔗糖(批号 111507200701)3种标准品均购自中国食品药品研究院;DMSO- $d_6$ (德国 BRUKER 公司);Bio-Gel P-2 聚丙烯酰胺凝胶(美国 Bio-Red 公司);固相萃取柱(Cleanert PS-SPE,博纳艾杰尔科技有限公司);实验用水为超纯水;乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 总糖提取物的制备

精密称取 0.4 g 复方丹参浸膏,加 10 mL 水,超声使其完全溶解。上已处理好的固相萃取柱(Cleanert PS-SPE, 83.33 mg·kg<sup>-1</sup>, 6 mL),体积流量约 1 mL·min<sup>-1</sup>,再用水分次洗涤,合并上样液和洗涤流出液,蒸干。共得到 0.2 g 的总糖提取物。

### 2.2 低聚糖单体分离

将处理好的 Bio-Gel P2 聚丙烯酰胺凝胶真空脱气,用自动沉降法装柱到需要的高度。再用 2~3 倍床体积的超纯水以恒定的体积流量平衡色谱柱。总糖提取物 0.2 g 加超纯水 0.5 mL 溶解上样,色谱柱温度要始终保持在 40 °C。用超纯水以 0.2 mL·min<sup>-1</sup> 的体积流量进行洗脱,每 10 分钟收集 1 管洗脱液,共收集 230 管。通过亲水作用色谱(HILIC)-高效液相色谱(HPLC)-蒸发光散射检测器(ELSD)法对洗脱液进行检视,合并各低聚糖流分。

**2.2.1 流分检视方法** 色谱条件 采用 Prevail™ Carbohydrate ES 色谱柱,以乙腈为流动相 A,水为流动相 B,梯度设置见表 1。体积流量为 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C;采用 WATERS 2420 ELSD 检测器,参数设置为增益 10,气压 172.37 kPa,漂移管 60 °C, Nebheater 为 60%<sup>[5-6]</sup>。

表 1 流动相梯度设置

Table 1 Program of mobile phase in experiment

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	75	25
20	75	25
23	60	40
30	60	40
33	75	25
38	75	25

将检视结果与总糖提取物色谱图(图 1)对照可知,流分中共含有 5 个色谱峰。通过与对照品比对,前 3 个色谱峰分别与果糖、葡萄糖和蔗糖保留时间一致。

**2.2.2 绘制洗脱曲线** 以洗脱时间(瓶号按时间先后顺序放置)为横坐标,洗脱液的响应值为纵坐标,绘制洗脱曲线,见图 2。用以考察样品管数与响应值的关系。

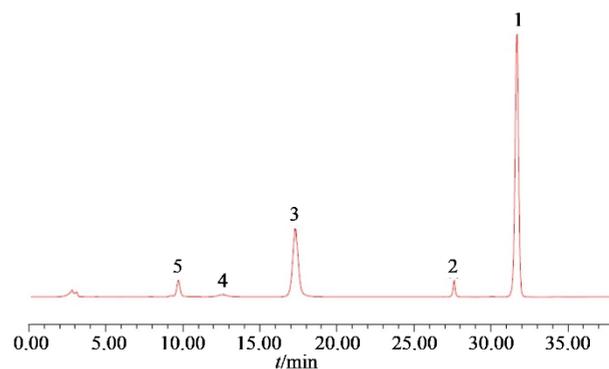


图 1 复方丹参总糖提取物 HILIC-HPLC-ELSD 色谱图  
Fig. 1 Chromatogram of HILIC-HPLC-ELSD for compound Danshen total sugar extract

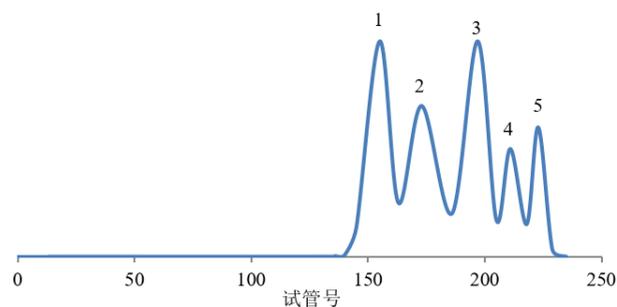


图 2 样品管数与 ELSD 响应值的关系

Fig. 2 Relationships between sample tube number and response value of ELSD

根据凝胶色谱排阻原理,组分的洗脱顺序按相对分子质量由大到小,相对分子质量大的组分先流出,相对分子质量小的后流出。

**2.2.3 组分的收集** 根据检视结果,分别合并含有

5个低聚糖成分的流分,蒸干,共得到19.6 mg成分1,6.7 mg成分2,11.6 mg成分3,2.7 mg成分4和3.2 mg成分5。

### 2.3 结构鉴定

对分离得到的5种化学成分分别进行了理化鉴别、高分辨质谱分析及一维、二维核磁共振谱的综合解析,确定了5种化合物的化学结构。通过溶解度实验、Molish反应、Fehling试剂和Tollen试剂反应确认3个单糖化合物是否为糖类及糖的类型。采用Waters Q-TOF Micro™质谱仪进行高分辨质谱测定,离子化方式为ESI<sup>+</sup>,溶剂:甲醇-水(1:1),通过相对分子质量及碎片信息确定化合物分子式。采用BRUKER AV-500型核磁共振仪进行了核磁共振谱测定,溶剂为DMSO-*d*<sub>6</sub>,测定温度29.85 °C。通过综合分析化合物的氢谱、碳谱、DEPT、H-HCOSY、HSQC、HMBC谱,确认化合物1、2的化学结构及构型<sup>[7-8]</sup>。

**2.3.1 化合物1** 为白色粉末,易溶于水、稀醇、乙醇,Molish反应呈阳性,说明该化合物可能是糖类。ESI-MS(*m/z*):689.211 8[M+Na]<sup>+</sup>、684.255 5[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,推断该化合物的化学式C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>21</sub>;核磁共振测得本品在DMSO-*d*<sub>6</sub>溶液中氢谱、碳谱、DEPT、H-HCOSY、HSQC、HMBC,证明本品为四糖结构。 $\delta$  4.69、4.66、5.19等3个端基氢和 $\delta$  98.94、98.79、91.66、104.03等4个端基碳代表了4个糖的类型。结合文献报道<sup>[7]</sup>可以判断: $\delta$  98.94和 $\delta$  98.79这2个峰非常接近,代表了*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl和*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl。综合分析核磁谱图数据,将碳氢信号全部归属(表2),与文献报道<sup>[7]</sup>基本一致。因此确定待测化合物为*\alpha*-D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)-*\alpha*-D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)-*\alpha*-D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)-*\alpha*-D-呋喃果糖 [*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -D-fructofuranoside],其化学结构见图3。

**2.3.2 化合物2** 为白色粉末,易溶于水、稀醇、乙醇,Molish反应呈阳性,说明该化合物可能是糖类。ESI-MS(*m/z*):527.158 3 [M+Na]<sup>+</sup>,522.202 4 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,推断该化合物的化学式为C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub>;核磁共振测试得到本品在DMSO-*d*<sub>6</sub>溶液中的<sup>1</sup>D-NMR(<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR)和<sup>2</sup>D-NMR(H-H COSY、TOCSY、HSQC、HMBC)谱图。<sup>13</sup>C-NMR中 $\delta$  103.81为呋喃果糖端基的碳信号(Fru-C-2), $\delta$  98.50为吡喃半乳糖端基的碳信号(Gal-C-1), $\delta$  92.06为吡喃葡萄糖端基的碳信号(Glc-C-1)。<sup>1</sup>H-NMR中 $\delta$  4.90为吡

表2 化合物1 <sup>1</sup>H-NMR与<sup>13</sup>C-NMR数据汇总

Table 2 <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR data of compound 1

	编号	$\delta_H/(\times 10^{-6})$	<i>J</i> /Hz	$\delta_C/(\times 10^{-6})$
末端半乳糖	1	4.69	<i>J</i> <sub>1,2</sub> =4	100.71
	2	3.54	<i>J</i> <sub>2,3</sub> =10	70.95
	3	3.63	<i>J</i> <sub>3,4</sub> =3	72.17
	4	3.74	<i>J</i> <sub>4,5</sub> =1	71.90
	5	3.86	<i>J</i> <sub>5,6a</sub> =7, <i>J</i> <sub>5,6b</sub> =7	73.61
	6	3.57,3.57	<i>J</i> <sub>6a,6b</sub> =13	63.79
内部半乳糖	1	4.66	<i>J</i> <sub>1,2</sub> =4	101.04
	2	3.57	<i>J</i> <sub>2,3</sub> =10	71.09
	3	3.53	<i>J</i> <sub>3,4</sub> =3	72.00
	4	3.60	<i>J</i> <sub>4,5</sub> =1	72.01
	5	3.71	<i>J</i> <sub>5,6a</sub> =5, <i>J</i> <sub>5,6b</sub> =8	71.47
	6	3.44,3.51	<i>J</i> <sub>6a,6b</sub> =11	69.16
葡萄糖	1	5.19	<i>J</i> <sub>1,2</sub> =4	94.76
	2	3.22	<i>J</i> <sub>2,3</sub> =10	73.64
	3	3.83	<i>J</i> <sub>3,4</sub> =9	75.39
	4	3.17	<i>J</i> <sub>4,5</sub> =10	72.04
	5	3.48	<i>J</i> <sub>5,6a</sub> =9, <i>J</i> <sub>5,6b</sub> =4	73.94
	6	3.76,3.42	<i>J</i> <sub>6a,6b</sub> =13	68.56
果糖	1	3.41,3.41	/	64.13
	2	/	/	106.46
	3	4.02	<i>J</i> <sub>3,4</sub> =9	79.07
	4	3.88	<i>J</i> <sub>4,5</sub> =9	76.69
	5	3.58	<i>J</i> <sub>5,6a</sub> =7, <i>J</i> <sub>5,6b</sub> =4	84.00
	6	3.57,3.63	<i>J</i> <sub>6a,6b</sub> =12	65.11

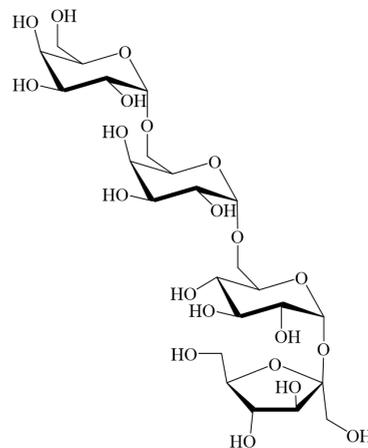


图3 化合物1的化学结构

Fig. 3 Chemical space structure of compound 1

喃半乳糖端基的氢信号(Gal-H-1), $\delta$  5.33为吡喃葡萄糖端基的碳信号(Glc-H-1),半乳糖基和葡萄糖基端基氢信号的*J*<sub>1,2</sub>值分别为3.6 Hz和3.7 Hz,由经验可推断糖苷键的相对构型均为 $\alpha$ ,参考文献报道<sup>[1]</sup>的核磁数据可知果糖基的糖苷键构型为 $\beta$ 。通过HMBC谱中 $\delta$  5.33 (Glc-H-1)与 $\delta$  103.81 (Fru-C-2), $\delta$  3.60 (Fru-H-1a)和3.94 (Fru-H-1b)与 $\delta$  98.50 (Gal-C-1)的相关信号可以将3个糖单元连接起来。综合分析核磁谱图数据,将碳氢信号全部归属(表3),与

文献报道<sup>[8]</sup>基本一致。因此确定该化合物为 $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-呋喃果糖-(1 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖,其化学结构见图4。

表3 化合物2 <sup>1</sup>H-NMR与<sup>13</sup>C-NMR数据汇总  
Table 3 <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR data of compound 2

编号	$\delta_{\text{H}}/(\times 10^{-6})$	J/Hz	$\delta_{\text{C}}/(\times 10^{-6})$	
葡萄糖	1	5.19	$J_{1,2}=4$	91.63
	2	3.65	$J_{2,3}=10$	70.88
	3	3.58	$J_{3,4}=9$	72.82
	4	3.69	$J_{4,5}=10$	69.43
	5	3.86	$J_{5,6a}=9, J_{5,6b}=4$	71.48
	6	3.51	$J_{6a,6b}=13$	60.44
果糖	1	3.47, 3.72	$J_{1a,1b}=12$	66.68
	2	/	/	104.04
	3	3.87	$J_{3,4}=9$	77.14
	4	3.85	$J_{4,5}=9$	74.28
	5	3.57	$J_{5,6a}=7, J_{5,6b}=4$	82.37
	6	3.53	$J_{6a,6b}=12$	62.23
半乳糖	1	4.66	$J_{1,2}=4$	99.06
	2	3.58	$J_{2,3}=10$	68.55
	3	3.73	$J_{3,4}=3$	68.69
	4	3.68	$J_{4,5}=3$	70.26
	5	3.65	$J_{5,6a}=7, J_{5,6b}=7$	71.20
	6	3.56	$J_{6a,6b}=13$	62.23

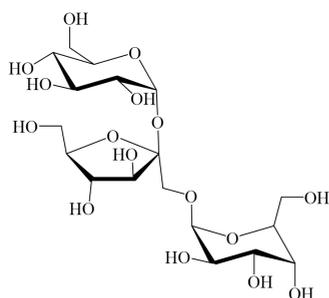


图4 化合物2的化学结构

Fig. 4 Chemical space structure of compound 2

**2.3.3 化合物3** 为白色结晶,易溶于水,溶于热甲醇,微溶于乙醇,难溶于醋酸乙酯和氯仿。Molisch反应呈阳性,与Fehling试剂和Tollen试剂反应呈阴性。ESI-MS( $m/z$ ):365.1  $[M+Na]^+$ ,推断该化合物的化学式为 $C_{12}H_{22}O_{11}$ 。因此推断化合物3为一个非还原性双糖。采用HILIC-HPLC-ELSD方法进样,色谱图显示化合物3的保留时间与蔗糖标准品完全一致。化合物3的<sup>13</sup>C-NMR(500 MHz, DMSO)数据与蔗糖标准品完全一致,由此认定化合物3为蔗糖。

**2.3.4 化合物4** 为白色结晶,易溶于水,溶于热甲醇,微溶于乙醇,难溶于醋酸乙酯和氯仿。Molisch反应呈阳性,与Fehling试剂和Tollen试剂呈阴性反应。ESI-MS( $m/z$ ):203.0  $[M+Na]^+$ ,推断该化合物的化学式 $C_6H_{12}O_6$ 。因此推断化合物4为还原性单

糖。采用HILIC-HPLC-ELSD方法进样,色谱图显示化合物4的保留时间与葡萄糖标准品完全一致。同时化合物4的<sup>13</sup>C-NMR(500 MHz, DMSO)数据与葡萄糖标准品完全一致,由此认定化合物4为葡萄糖。

**2.3.5 化合物5** 为白色结晶,易溶于水,溶于热甲醇,微溶于乙醇,难溶于醋酸乙酯和氯仿。Molisch反应呈阳性,与Fehling试剂和Tollen试剂呈阴性反应。ESI-MS( $m/z$ ):203.0  $[M+Na]^+$ ,推断该化合物的化学式 $C_6H_{12}O_6$ 。因此推断化合物5为还原性单糖。采用HILIC-HPLC-ELSD方法进样,色谱图显示化合物5的保留时间与果糖标准品完全一致。同时化合物5的<sup>13</sup>C-NMR(500 MHz, DMSO)数据与葡萄糖标准品完全一致,由此认定化合物5为果糖。

### 3 讨论

#### 3.1 通过物质基础研究提高产品质量控制水平

复方中药的化学成分十分复杂,各种成分又在炮制、提取浓缩等过程中存在着动态变化,从而影响中药质量和疗效。中药物质基础研究是控制产品质量的基础和依据,也是确定中药药效成分,提高药物临床疗效的重要基础<sup>[9]</sup>。

本研究确定了复方丹参浸膏中的主要糖类成分的组成及化学结构,提高了物质基础认识水平。并以此为基础建立了含量测定方法。该方法采用PrevailTM Carbohydrate ES色谱柱,以乙腈:水为流动相梯度洗脱,采用ELSD检测器,同时测定葡萄糖、果糖等前述5种低聚糖成分。经测定复方丹参浸膏中葡萄糖、果糖、蔗糖、 $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-呋喃果糖-(1 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖和 $\alpha$ -D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-呋喃果糖的平均质量分数分别为3.14%、2.71%、8.22%、2.95%、22.52%,合计约为40%<sup>[10]</sup>。该方法作为内部质量评价标准的一部分,大大提高了复方丹参浸膏的可测定成分比例,从而提高了产品的质量,可以进一步保证产品的质量稳定和临床用药安全。

#### 3.2 聚丙烯酰胺凝胶分离效果的影响因素

为了获得聚丙烯酰胺凝胶分离复方丹参浸膏低聚糖成分的最佳条件,分别考查了色谱柱温度和洗脱速率对分离效果的影响。

色谱柱温度影响:其他条件固定,分别采用20、30和40℃的色谱柱温度进行样品分离,并绘制洗脱曲线,考察洗脱速度对分离效果的影响。结果显示40℃时分离度最为理想。因为适当提

高柱温,可以降低料液的黏度,从而提高柱色谱分离度。

其他条件固定,分别选择0.20、0.25、0.30 mL·min<sup>-1</sup> 3种不同洗脱速率进行样品分离,绘制洗脱曲线,考察洗脱速率对分离效果的影响。结果显示洗脱速率为0.20 mL·min<sup>-1</sup>时分离效果较好。根据Van Deemer方程,洗脱速率会影响塔板高度。速度太快难以有效分离,速率太慢产生扩散也会降低分离效果。

### 3.3 分离纯化方法选择

本实验采用固相萃取柱对复方丹参浸膏进行预纯化处理,去除酚酸、皂苷等低极性成分,得到粗糖提取物,降低了后续分离工作的难度,且操作简单,可以自由调节上样量,非常适合作为糖类成分的预纯化方法。

### 3.4 色谱分离条件选择

本实验采用了HILIC结合ELSD检测器进行成分洗脱液的监测方法,取得了低聚糖成分的良好分离效果,葡萄糖、果糖和蔗糖的分离度均大于3。HILIC作为一种分离极性化合物的液相色谱模式,近年来越来越受到关注和重视。中药中含有多糖、寡糖、强极性糖苷、强极性生物碱、有机酸等大量强极性组分,这些可能的活性组分难以在反相液相色谱上获得充分保留。随着HILIC分离机制和分离方法研究的深入,HILIC越来越多地被用于中药分离分析和分离制备,显示出了很大的应用潜力<sup>[11]</sup>。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] 中国药典[S].一部.2015:1219-1220.  
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2015: 1219-1220.

[2] 瞿明仁.寡糖研究进展[J].中国饲料,2004(1):10-12.  
Qu M R. Research progress of oligosaccharides [J]. China Feed, 2004(1): 10-12.

[3] 魏远安,方积年.高效凝胶渗透色谱法测定多糖纯度及分子量[J].药学学报,1989,24(7):532-536.  
Wei Y A, Fang J N. Determination of purity and molecular weight of polysaccharides by high performance gel permeation chromatography [J]. Acta Pharm Sin, 1989, 24(7): 532-536.

[4] 王涛,黄广君,魏远安,等.聚丙烯酰胺凝胶柱分离制

备低聚果糖单组分[J].广西大学学报:自然科学版,2010,35(3):502-507.

Wang T, Huang G J, Wei Y A, et al. Preparative separation of oligosaccharides monocomponent by polyacrylamide gel column [J]. J Guangxi Univ Nat Sci Ed, 2010, 35(3): 502-507.

[5] 马晓刚,杨磊.示差折光检测-固相萃取和高效液相色谱法测定水果中的糖[J].光谱实验室,2003,20(6):927-929.

Ma X G, Yang L. Determination of sugars in fruits by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. Chin J Spectrosc Lab, 2003, 20(6): 927-929.

[6] 方积年,魏远安.高效液相色谱在生物医药研究中的应用:第四讲 高效液相色谱法在糖类研究中的应用[J].色谱,1991(2):103-107.

Fang J N, Wei Y A. Application of high performance liquid chromatography in sugar research [J]. Chin J Chromatogr, 1991(2): 103-107.

[7] MyIntyre D D, Vogel H J. Complete assignment of the <sup>1</sup>H-NMR spectrum of stachyose by two-dimensional NMR spectroscopy [J]. J Nat Prod, 1989, 52(5): 1008-1014.

[8] Vanhaecke M, Dyubankova N, Lescrinier E, et al. Metabolism of galactosyl-oligosaccharides in *Stellaria media*: Discovery of stellariose synthase, a novel type of galactosyltransferase [J]. Phytochemistry, 2010, 71(10): 1095-1103.

[9] 屠鹏飞,史社坡,姜勇.中药物质基础研究思路与方法[J].中草药,2012,43(2):209-215.

Tu P F, Shi S P, Jiang Y. Strategies and approaches on exploring material basis of Chinese materia medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2012, 43(2): 209-215.

[10] 牛涛,陈红,徐波,等.SPE-HPLC-ELSD法测定复方丹参浸膏中五种低聚糖成分的方法研究[J].现代中药研究与实践,2015,29(4):59-61,65.

Niu T, Chen H, Xu B, et al. Determination of five oligosaccharide in compound Danshen extract by SPE-HPLC-ELSD [J]. Res Pract Chin Med, 2015, 29(4): 59-61,65.

[11] 郭志谋,张秀莉,徐青,等.亲水作用色谱固定相及其在中药分离中的应用[J].色谱,2009,27(5):675-681.

Guo Z M, Zhang X L, Xu Q, et al. Stationary phases for hydrophilic interaction liquid chromatography and their applications in separation of traditional Chinese medicines [J]. Chin J Chromatogr, 2009, 27(5): 675-681.

[责任编辑 兰新新]