

肿、赤白带下。棉花肾中含有黄酮苷、酚类、氨基酸、有机酸等成分。但其药理作用方面的研究尚未见报道。临床肾炎患者蛋白阳性，常加棉花肾、苡仁各9g治疗。用本品30~60g合猪蹄一只同煮，食汤及蹄，治腰肌劳损，本品常与肖梵天花 *U. lobata* L. 混用。

1.7 花麦肾：为蓼科植物野荞麦 *Fagopyrum cymosum* (Trev.) Meisn. 的干燥全草，由于野荞麦和花麦形似，温州民间将荞麦称花麦，故名。其味甘、涩、微苦，性凉。清热解毒、排脓消肿、益肾。用于肺脓疡、盗汗、急性扁桃体炎、肾虚腰痛、疖痛、毒蛇咬伤。花麦肾主要药效成分为野荞麦苷、双聚原矢车菊素等。现代药理学研究表明，其具有抗癌、抗菌、解热、镇咳等作用。民间治盗汗，常取其鲜嫩顶7~10个，切细同鸡蛋炒食；或加雀麦（禾本科）30g，红枣10枚，糯米一小把同煮服，对阴虚潮热盗汗更为适用。

2 验方“七肾汤”

2.1 组成：红对叶肾、白对叶肾、龙芽肾、菜头肾、荔枝肾、棉花肾、花麦肾各15g，水煎服。

2.2 功能主治：本方补肾健脾，通络止痛。用于肾虚所致的腰背酸痛、腰部扭伤、腰肌劳损、遗精盗汗、冲任不固等。

2.3 辨证配伍：七肾汤中各肾草常常因病情不同而用药有所侧重，如男性腰背酸痛、阳痿重用白对叶肾；女性腰背酸痛、小腹隐痛、带下量多，重用荔枝肾；脾肾阳虚的慢性腹泻、五更泻，重用红对叶肾、棉花肾；骨蒸劳热、阴虚盗汗，重用花麦肾；肝肾阴虚、慢性肾炎腰痛，重用菜头肾；月经过多，重用龙芽肾等。

3 结语

肾草中的菜头肾是温州独特的草药，随着市场需求加大，药源渐见匮乏，极有必要进行全国资源调查，引种栽培。

七肾汤一般可用全方，但亦可随症选用数味成“六肾汤”、“五肾汤”或“四肾汤”等。如温州医学院附一院就用红对叶肾、白对叶肾、棉花肾、荔枝肾、龙芽肾、花麦肾等“六肾汤”制成“肾药合剂”治疗骨质疏松症，对于腰痛病症，总有效率90.1%，疗效显著^[2]。

参考文献：

- [1] 林 泉. 浙南药用植物中的一新种——菜头肾 [J]. 植物分类学报, 1975, 13(3): 93.
- [2] 吴春雷. 肾药合剂治疗骨质疏松症的临床观察 [J]. 浙南新医药, 2002, 1(2): 19.

HPLC-ELSD 在中药糖类分析中的应用

陈琴鸣¹, 刘文英²

(1. 丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000; 2. 中国药科大学 药物分析教研室, 江苏 南京 210009)

高效液相色谱(HPLC)是20世纪60年代后期发展起来的分离分析技术,是现代分离测定的重要手段。HPLC可与多种检测器联用对样品进行测定。蒸发光散射检测器(evaporative light-scattering detector, ELSD)是一种通用型质量检测器,由于其具有可测定无紫外吸收的化合物、可进行梯度洗脱等特点,弥补了紫外检测器(UVD)和示差折光检测器(RID)的不足,在分析领域应用十分广泛。在我国自2001年首次在黄芪注射液质量标准中应用以后,其在药品质量控制及药物分析中的应用得到了快速的发展。《中国药典》2005年版“附录VD 高效液相色谱法”检测器中收录了ELSD,更促进了其在药物分析中的应用。糖类特别是多糖由于其结构的特殊性,对其结构分析、质量控制一直是个难题,ELSD的应用无疑给糖类的分析开辟了新的思路。本文就HPLC-ELSD在中药糖类分析中的应用作一简要介绍。

1 单糖、低聚糖的测定

近年来,国内有不少HPLC-ELSD法测定中药材及其提取物中单糖的报道,具体方法及测定条件见表1^[1~9]。高效液相色谱法分析糖类化合物所用流动相一般为水和乙腈的二元混合溶液,流动相比视分离组分的多少、相对分子质量

范围、结构组成等不同而定,如测定成分较多,采用梯度洗脱可改善分离、缩短分析时间。但无论流动相比如何变化,采用反相化学键合相色谱体系分析单糖、低聚糖,其出峰顺序取决于它们相对分子质量的大小,且相对分子质量相同的酮糖较醛糖保留时间短。

色谱柱是HPLC的心脏,常用的色谱柱填料有硅胶和化学键合硅胶;离子交换剂作为填料,用于离子交换色谱;凝胶或玻璃微球等作为填料,用于分子排阻色谱等。由于糖类的强极性,能在氨基键合相柱中保留,氨基键合相柱对糖类的分离能力极强,因而得到广泛应用。但氨基键合相柱的化学降解导致了其耐用性差,用一段时间后就就会出现保留能力降低、峰形差等柱效降低甚至损坏的情况。在使用ELSD检测器时,此问题更为明显,因为这些检测器对非挥发性键合相的损失,导致基线噪音或基线漂移。此外,许多氨基键合相柱需升高柱温,否则对一些还原糖还会形成很差的峰形并产生双峰。

离子交换色谱柱和分子排阻色谱柱也常用于糖类的分离。离子交换色谱柱必须采用水为流动相,且不能进行梯度洗脱,一般来说要求提高柱温和降低体积流量才能进行分离测定。同时色谱柱易受样品中金属的污染。固定相为树脂的

表1 HPLC-ELSD 在中药单糖类物质测定分析中的应用

Table 1 Application of HPLC-ELSD in analyzing monosaccharides from Chinese materia medica

样品名称	分析对象	色谱条件		检测条件				参考文献
		色谱柱	流动相	体积流量/ (mL·min ⁻¹)	柱温/℃	氮气/ (L·min ⁻¹)	漂移管 温度/℃	
甘草浸膏	蔗糖	Kromasil NH	乙腈-水(70:30)	1.2	25	2.5		1
四物汤	果糖、葡萄糖、蔗糖	Zorbax Carbohydrate 柱	乙腈-水(75:25)	1		2.4	100	2
甘草	果糖、蔗糖	CHROMATOREX NH2	乙腈-水(85:15)	1	30	2.5	84	3
肉苁蓉	半乳糖醇	Prevail Carbohydrate ES 聚合凝胶柱	乙腈-水(77:23)	0.7	25	240 kPa	40	4
熟地黄	果糖、葡萄糖	ZorbaxRX-SIL	乙腈-水(95:5)	1	25	2.5	105	5
麦冬提取物	果糖	Inertsil-NH ₂	乙腈-水(78:22)	1	30	2.2	85	6
刺五加	葡萄糖、蔗糖	CHROMATOREX NH	乙腈-水(84.5:15.5)	1	30	2.5	100	7
旋甘口服液	木糖	Phenomenex LICHROSORB 5 NH ₂	乙腈-水(85:15)			0.2 MPa	40	8
蜂蜜	果糖、葡萄糖、蔗糖 和麦芽糖	HypersilNH ₂	乙腈-水(80:20)	1	25	2.5	100	9

分子排阻色谱柱则受到其对低聚糖的溶解能力低的限制,产生的峰形十分差。

相比之下,Carbohydrate 柱在分析糖类中效果较好。Alltech 公司在其网站公布了用 Prevail Carbohydrate ES 柱梯度洗脱分析葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖等10多种糖类物质,并与氨基键合相柱进行了比较^[10]。同时,还提供了用 Prevail Carbohydrate ES 柱,ELSD 检测分析蔬菜果汁中果糖、葡萄糖、蔗糖、糖酒中赤藓醇、木糖醇、甘露醇、麦芽糖醇,以及其他食品中的糖或醇类的 HPLC-ELSD 图谱,均为乙腈-水梯度洗脱,分离效果良好。

亲水作用色谱(hydrophilic interaction chromatography, HILIC)是一种采用极性固定相(如硅胶或衍生硅胶)及含高浓度极性有机溶剂和低浓度水溶液为流动相的色谱模式。它与传统正相色谱相似,流动相的有机部分是弱溶剂,水溶液是强溶剂。亲水性强的化合物先流出。但其所用的溶剂又与反相色谱相似,采用与水互溶的极性有机溶剂(如乙腈、甲醇),而不用传统正相色谱中所用溶剂(如正己烷、三氯甲烷),且含水量较大,通常为5%或更高。HILIC 在单糖、二糖和低聚糖的应用也不少,Karlsson 等^[11]用 HILIC-ELSD 对葡萄糖、甘露糖、半乳糖、海藻糖、N-乙酰-D-半乳糖胺、N-乙酰神经氨酸、D-葡萄糖醛酸、N-乙酰葡萄糖胺进行了分离测定,检测限为0.3~0.5 μg。

刘振等^[12]建立了 HILIC-ELSD 法用于1-脱氧野尻霉素、葡萄糖和葡萄糖胺的杂质分析。该方法以乙腈-水酸性系统为流动相体系,色谱柱采用 Waters Atlantis HILIC Silica,采用主成分自身对照法用于杂质限量的控制。

杨蕾等^[13]对国外参考标准品传递测定和新建的两种检测器测定方法进行对比,通过 C₁₈ 色谱柱反相分离,ELSD 检测分别测定阿卡波糖及其相关物质的量,给对照品的标定提供了一种新的途径。

值得注意的是,在用 HPLC 测定单糖时,由于易发生单糖的转化,柱温对测定结果有较大的影响。Slimestad^[10]采用 HPLC-ELSD 法对几种单糖进行测定,发现在45℃时葡萄糖

的量较20℃时减少了41%,而70℃时仅为20℃时的2%,而各单糖的总量保持不变。其他几种单糖的变化则各有不同。提示在单糖测定时控制温度极其重要,一般控制在20~30℃为宜。

由于缺乏发色基团,HPLC 法测定糖类时对检测器的要求很严格,过去多采用 RID 或低波长的 UV 检测器(195~205 nm)。RID 的低灵敏度 and 不能进行梯度洗脱使得其在糖类测定中不甚理想,而低波长 UV 检测器灵敏度也不高,因而对流动相的要求也十分严格。由于这两种技术均基于溶剂的光学特殊变化,因此常会遇到基线漂移,并需长时间的平衡。ELSD 的工作原理是流动相在检测前蒸发,对流动相光学特征和组成的改变不受影响,因而克服了 RID 和 UVD 检测器的上述缺点,其对蔗糖的检测灵敏度(1 μg)比 RID 的灵敏度要高5~10倍。

2 多糖中单糖组分分析及相对分子质量分布测定

HPLC 在多糖分析中,主要用于纯度分析、相对分子质量分布、单糖组成及多糖的测定。

张喆等^[14]采用高效凝胶过滤色谱(HPGFC)对云芝肽糖中的单糖组成及其摩尔比进行了分析,以 Licrospher 100 NH₂ 为色谱柱,柱温20℃,蒸发温度90℃,乙腈-水梯度洗脱,ELSD 为检测器。结果表明,云芝糖肽中含有葡萄糖、L-岩藻糖、D-甘露糖、半乳糖、木糖。采用峰高定量,得云芝糖肽中各种单糖的摩尔比。采用峰高进行定量原因:(1)用梯度洗脱时所产生的基线漂移给积分带来误差;(2)甘露糖、葡萄糖和半乳糖均为六碳糖,其分子结构中只因羟基位置不同而产生的保留行为差异不足使他们达到基线分离;(3)峰面积定量的进样精密度没有峰高定量的良好。金鑫等^[15]用 HPLC-ELSD 法测定了仙人掌多糖的单糖组成及比例。

HPLC-ELSD 在多糖纯度分析中,主要看峰是否单一或各峰是否分开,峰形是否好,从而得出是单一多糖或几个分离的多糖峰。此法常与多糖相对分子质量测定相结合。

徐从立等^[16]采用 HPGFC-ELSD 法对商陆多糖的重均相对分子质量进行了测定。该法简便实用,结果满意。笔者曾采

用HPLC-ELSD法在灵芝多糖的分离、纯化和相对分子质量测定以及单糖组成中进行了研究,结果十分理想。

3 结语与展望

ELSD给糖类研究和质量控制带来了新的研究方法和思路。特别是随着HPLC色谱柱的不断改进和开发,用ELSD测定单糖的方法已较成熟,且比常用的RID有较大的优点。但在实际检测标准中使用不多,《中国药典》2005版首次在液相色谱法项下收录了ELSD,并在多种药品中采用ELSD分析测定无紫外吸收成分,而糖类或碳水化合物(乳果糖口服液、β-环糊精)测定仍采用RID测定。在实际检验工作中,ELSD的使用比RID要多,据了解,在基层检验机构,近年配置ELSD检测器的较多,而配置有RID的极少,在标准及实际应用中ELSD的应用还有不断增加的趋势。因此,能否通过研究,在新版标准中将单糖测定中增加使用ELSD检测器的方法,或以ELSD替代RID(两者在流动相要求上也有差异),以适应基层检测机构仪器配备的实际。

如何控制多糖的质量一直是困惑药物分析工作者的难题之一,除了多糖本身结构的特殊性外,分析手段的缺乏也是原因之一。目前多糖研究中同一多糖不同的研究者、不同的仪器设备得到的多糖结果可能都不一样。在现有质量标准中,多糖进行质量控制的很少,且多糖量的测定多以葡萄糖等作为对照品,通过紫外分光光度法测定,这种方法最大的缺点就是无法保证是否掺杂葡萄糖等单糖或是其他多糖(如淀粉)。Heron等^[17]通过测定结构相似的化合物的标准曲线的斜率及截距,从而达到定量被测成分的目的,针对多糖缺乏对照品,采用此法进行质量控制也是一种可行的方法。

参考文献:

- [1] 陶虹,陈冬云,马晓康. HPLC-ELSD法测定甘草浸膏中的蔗糖含量[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(1): 71-71.
- [2] 梁乾德,马百平,王升. 液相色谱/蒸发光散射测定四物汤煎液中单糖和双糖的含量[J]. 中草药, 2004, (4): 395-397.
- [3] 郑春英,李庆勇,祖元刚. HPLC-ELSD法测定甘草中单糖的含量[J]. 东北林业大学学报, 2006, 34(2): 109-110.
- [4] 鲍忠,蔡鸿,姜勇,等. HPLC-ELSD法测定肉苁蓉药材中半乳糖醇含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(7): 1004-1006.
- [5] 嵇文亚,周利艳,孟江. HPLC-ELSD法同时测定熟地黄中果糖、葡萄糖含量[J]. 齐鲁药事, 2007, 26(6): 338-340.
- [6] 王志斌,陈有根,李慧. HPLC-ELSD法测定麦冬药材及其提取物中果糖的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(2): 47-48.
- [7] 郑春英,平文祥,刘松梅. HPLC-ELSD法在刺五加药材糖类成分分析中的应用[J]. 植物研究, 2007, 27(3): 376-379.
- [8] 邬国庆,张小茜. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定旋甘口服液木糖的含量[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(2): 145-146.
- [9] 余娟,莫海涛,武金良. HPLC-ELSD法测定蜂蜜中的糖分[J]. 广西轻工业, 2006, 11(6): 97-98.
- [10] Slimstad R, Vagen I M. Thermal stability of glucose and other sugar aldehydes in normal phase high performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2006, (1118): 281-284.
- [11] Karlsson G, Winge S, Sandberg H. Separation of mono-saccharides by hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection[J]. J Chromatogr A, 2005, (1092): 246-249.
- [12] 刘振,尹国寅,龚佑祥,等. HPLC-ELSD在1-脱氧野尻霉素、葡萄糖和葡萄糖胺的杂质分析中的应用[J]. 分析试验室, 2007, 26(7): 83-86.
- [13] 杨蕾,郭志渊,张悦杨,等. HPLC-ELSD/DAD测定阿卡波糖工作对照品的含量[J]. 华西药理学杂志, 2006, 21(4): 392-393.
- [14] 张吉,邹巧根,宋喆,等. 灵芝糖肽的单糖组成分析[J]. 中国药科大学学报, 2001, 23(2): 137-140.
- [15] 金鑫,赖凤英. GPC法测定仙人掌多糖的相对分子质量以及HPLC-ELSD法测定其单糖组成[J]. 中草药, 2007, 38(1): 23-25.
- [16] 徐从立,陈海生,谭兴起,等. HPGFC-ELSD法测定商陆多糖的重均相对分子质量[J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(1): 116-117.
- [17] Heron S, Maloumbi M G, Dreux M, et al. Method development for a quantitative analysis performed without any standard using an evaporative light-scattering detector[J]. J Chromatogr A, 2007(1161): 152-156.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975年、1976年、1979年、1985-1994年(80元/年)、1995-1997年(110元/年)、1998年(120元/年)、1999年(135元/年)、2000年(180元/年)、2001-2003年(200元/年)、2004年(220元/年)、2005年(260元/年)、2006年(280元/年)、2007年(280元/年)。1996年增刊(50元)、1997年增刊(45元)、1998年增刊(55元)、1999年增刊(70元)、2000年增刊(70元)、2001年增刊(70元)、2002年增刊(65元)、2003年增刊(65元)、2004年增刊(65元)、2005年增刊(65元)、2006年增刊(65元)、2007年增刊(65元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。

电话:(022) 27474913 23006821

传真:(022) 23006821 E-mail:zcyzjb@sina.com

HPLC-ELSD在中药糖类分析中的应用

作者：[陈琴鸣](#)，[刘文英](#)
作者单位：[陈琴鸣\(丽水市食品药品检验所, 浙江, 丽水, 323000\)](#)，[刘文英\(中国药科大学, 药物分析教研室, 江苏, 南京, 210009\)](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(6)
被引用次数：4次

参考文献(17条)

1. [陶虹;陈冬云;马晓康](#) [HPLC-ELSD法测定甘草浸膏中的蔗糖含量](#)[期刊论文]-[新疆医科大学学报](#) 2006(01)
2. [梁乾德;马百平;王升](#) [液相色谱/蒸发光散射测定四物汤煎液中单糖和双糖的含量](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2004(04)
3. [郑春英;李庆勇;祖元刚](#) [HPLC-ELSD法测定甘草中单糖的含量](#)[期刊论文]-[东北林业大学学报](#) 2006(02)
4. [鲍忠;蔡鸿;姜勇](#) [HPLC-ELSD法测定肉苁蓉药材中半乳糖醇含量](#)[期刊论文]-[药物分析杂志](#) 2007(07)
5. [嵇文亚;周利艳;孟江](#) [HPLC-ELSD法同时测定熟地黄中果糖、葡萄糖含量](#)[期刊论文]-[齐鲁药事](#) 2007(06)
6. [王志斌;陈有根;李慧](#) [HPLC-ELSD法测定麦冬药材及其提取物中果糖的含量](#)[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#) 2007(02)
7. [郑春英;平文祥;刘松梅](#) [HPLC-ELSD法在刺五加药材糖类成分分析中的应用](#)[期刊论文]-[植物研究](#) 2007(03)
8. [郭国庆;张小茜](#) [高效液相色谱. 蒸发光散射检测器法测定旋甘口服液中心糖的含量](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2004(02)
9. [余娟;莫海涛;武金良](#) [HPLC-ELSD法测定蜂蜜中的糖分](#)[期刊论文]-[广西轻工业](#) 2006(06)
10. [Slimestad R;Vagen I M](#) [Thermal stability of glucose and other sugar aldoses in normal phase high performance liquid chromatography](#)[外文期刊] 2006(1118)
11. [Karlsson G;Winge S;Sandberg H](#) [Separation of monosaccharides by hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection](#)[外文期刊] 2005(1092)
12. [刘振;尹国寅;龚佑祥](#) [HPLC-ELSD在1-脱氧野尻霉素, 葡萄糖和葡萄糖胺的杂质分析中的应用](#)[期刊论文]-[分析试验室](#) 2007(07)
13. [杨蕾;郭志渊;张悦杨](#) [HPLC-ELSD/DAD测定阿卡波糖工作参照品的含量](#)[期刊论文]-[华西药学杂志](#) 2006(04)
14. [张吉;邹巧根;宋喆](#) [灵芝糖肽的单糖组成分析](#)[期刊论文]-[中国药科大学学报](#) 2001(02)
15. [金鑫;赖凤英](#) [GPC法测定仙人掌多糖的相对分子质量以及HPLC-ELSD法测定其单糖组成](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2007(01)
16. [徐从立;陈海生;谭兴起](#) [HPGFC-ELSD法测定商陆多糖的重均相对分子质量](#)[期刊论文]-[第二军医大学学报](#) 2004(01)
17. [Heron S;Maloumbi M G;Dreux M](#) [Method development for a quantitative analysis performed without any standard using an evaporative light-scattering detector](#)[外文期刊] 2007(1161)

本文读者也读过(5条)

1. [许译升. 郑枫. 刘红霞. XU Yi-sheng. ZHENG Feng. LIU Hong-xia](#) [高效液相色谱法测定健康人尿液中苯乙基异硫氰酸酯乙酸半胱氨酸缀合物的浓度](#)[期刊论文]-[中国临床药理学杂志](#)2011, 27(9)
2. [陈俊. 黄玉凤. 王彬](#) [HPLC-ELSD在中药分析及指纹图谱中的应用](#)[期刊论文]-[药学实践杂志](#)2009, 27(4)
3. [臧恒昌. 孙春晓](#) [近红外光谱分析技术用于糖胺聚糖分析的展望](#)[会议论文]-2008

4. [郭健](#) [色谱技术分离和分析透明质酸](#)[会议论文]-
5. [刘畅](#), [张中湖](#), [柳艳](#), [陆峰](#), [LIU Chang](#), [ZHANG ZhongHu](#), [LIU Yan](#), [LU Feng](#) [拉曼光谱-区段相似度法用于降糖类药物的快速检测](#)[期刊论文]-[药学服务与研究](#)2011, 11(3)

引证文献(4条)

1. [潘坤](#), [何秀全](#), [王文泉](#), [卢诚](#) [HPLC-ELSD法分析木薯韧皮部汁液主要糖成分](#)[期刊论文]-[广西植物](#) 2012(6)
2. [邱建国](#), [张汝学](#), [贾正平](#), [李茂星](#), [樊鹏程](#), [王娟](#), [张红果](#) [地黄中寡糖含量的HPLC法测定](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2009(8)
3. [陈琴鸣](#), [刘斌](#), [陈卫平](#) [HPSEC-ELSD法测定固元胶囊中多糖的分子量及其分布](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2011(1)
4. [多糖的制备技术及分析方法的研究现状](#)[期刊论文]-[中国药师](#) 2009(8)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806051.aspx