

毛细管区带电泳法测定不同虫草菌粉制剂中多糖的单糖组成

张 建^{1,2}, 卢 凯^{1,2}, 刘艳萍^{1,2}, 荣雨晨¹, 郭怀忠^{1,2,3*}

1. 河北大学药学院, 河北 保定 071002
2. 河北省药物质量分析控制重点实验室, 河北 保定 071002
3. 药物化学与分子诊断教育部重点实验室, 河北 保定 071002

摘要: **目的** 采用毛细管区带电泳法(CZE)测定不同虫草菌粉制剂中多糖的单糖组成。**方法** 设计正交试验优化制剂中所提取多糖的全降解条件;以1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)为衍生试剂,采用CZE法测定其单糖组成;电泳条件:未涂层弹性石英毛细管柱(70 cm×50 μm,有效长度61 cm);运行缓冲液为40 mmol/L 硼砂缓冲液(pH 10.1);检测波长245 nm;运行电压13 kV;重力进样(10 cm×8 s)。**结果** 多糖全降解的最优条件为硫酸浓度1.0 mol/L,温度100 ℃,时间5 h;心肝宝胶囊、百令胶囊、至灵菌丝胶囊和金水宝胶囊的多糖中均含有木糖、葡萄糖、甘露糖和半乳糖4种单糖,但含量各有差异;4种制剂中多糖的单糖组成与冬虫夏草多糖中的单糖组成基本一致,且检测出了冬虫夏草中未见报道的木糖、鼠李糖和葡萄糖醛酸等单糖。对所建立的CZE法进行方法学验证,结果显示各单糖在0.01~0.20 mg/mL线性关系良好,检测限0.205~0.397 μg/mL,定量限0.684~1.323 μg/mL,精密度RSD为0.8%~3.6%,重复性RSD为2.7%~4.7%,稳定性RSD为2.8%~4.7%。葡萄糖和半乳糖的平均回收率分别为96.1%~99.8%和95.1%~99.6%,其RSD分别为1.0%~2.0%和1.5%~1.9%。**结论** 该方法快速高效,为虫草菌粉制剂质量标准的完善和虫草菌粉替代冬虫夏草的深入研究提供参考。

关键词: 虫草菌粉制剂; 虫草多糖; 单糖组成; 毛细管区带电泳法; 质量控制

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)01-0090-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.01.015

Determination of monosaccharide composition of polysaccharides in different *Cordyceps* powder preparations by capillary zone electrophoresis

ZHANG Jian^{1,2}, LU Kai^{1,2}, LIU Yan-ping^{1,2}, RONG Yu-chen¹, GUO Huai-zhong^{1,2,3}

1. College of Pharmacy, Hebei University, Baoding 071002, China
2. Key Laboratory of Pharmaceutical Quality Control of Hebei Province, Baoding 071002, China
3. Key Laboratory of Medicinal Chemistry and Molecular Diagnosis, Ministry of Education, Baoding 071002, China

Abstract: Objective To determine the monosaccharide composition of polysaccharides in different *Cordyceps* powder preparations by capillary zone electrophoresis (CZE). **Methods** The orthogonal experiment was used to optimize the total degradation conditions of the extracted polysaccharides; The monosaccharide composition was determined by CZE method using 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) as a derivatizing reagent. The electrophoresis conditions were as follows: uncoated fused silica capillary column (70 cm × 50 μm i.d., effective length was 61 cm); 40 mmol/L borax solution (pH 10.1) was used as the running buffer; The detection wavelength was set at 245 nm; The operation voltage was 13 kV; Hydrodynamic pressure injection was employed (10 cm × 8 s). **Results** The optimum hydrolysis conditions were as follows: 1.0 mol/L sulfuric acid solution, hydrolysis temperature 100 ℃, and hydrolysis time 5 h. The common monosaccharides of polysaccharides in Xinganbao Capsule, Bailing Capsule, Zhiling Junsu Capsule, and Jinshuibao Capsule were xylose, glucose, mannose, and galactose, but the content was different. The monosaccharide components contained in the polysaccharides of the four preparations were basically the same as those of the *Cordyceps sinensis*, and monosaccharides included xylose, rhamnose and glucuronic acid which were not reported in *Cordyceps*

收稿日期: 2018-09-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21575033); 河北省自然科学基金资助项目(H2016201221); 河北省自然科学基金资助项目(B2018201270); 河北省高等学校科学技术研究项目(ZD2015036); 河北大学精品实验项目(2017-BZ-JPSY25)

作者简介: 张 建, 男, 在读硕士, 主要从事中药多糖质量控制研究。Tel: (0312)5971107 E-mail: 1105942197@qq.com

*通信作者 郭怀忠, 男, 博士, 教授, 主要从事中药质量控制及其药效学研究。Tel: (0312)5971107 E-mail: ghuaizh@aliyun.com

sinensis were detected. Each monosaccharide had a good linear relationship with the concentration range of 0.01 to 0.20 mg/mL, the limits of detection (LOD, $S/N = 3$) and the limits of quantification (LOQ, $S/N = 10$) ranged from 0.205 to 0.397 $\mu\text{g/mL}$ and 0.684 to 1.323 $\mu\text{g/mL}$, respectively. RSDs of the precision test were 0.8%—3.6%, RSDs of the repeatability test were 2.7%—4.7%, and 2.8%—4.7% in the stability test. The recovery rate of the method showed that the mean recoveries of glucose and galactose ranged from 96.1% to 99.8% and 95.1% to 99.6% respectively, and RSD values fell within 1.0%—2.0% and 1.5%—1.9%, respectively.

Conclusion The method is fast and efficient, and provides a reference for the improvement of quality standard of *Cordyceps* powder preparations and the intensive study on the substitution of *Cordyceps* powder for *Cordyceps sinensis*.

Key words: *Cordyceps* powder preparation; *Cordyceps* polysaccharides; monosaccharide composition; capillary zone electrophoresis; quality control

“虫草”在生物学上泛指真菌寄生于昆虫幼虫上形成的子座及幼虫尸体的复合体^[1], 种类较多, 不少“虫草”为传统用药, 其中以冬虫夏草最为著名, 特指由麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上形成的“虫草”, 具有补肾益肺、止血化痰的功能^[2]。冬虫夏草子实体、发酵液或发酵菌丝体中含有的虫草多糖, 具有抗菌、抗肿瘤、降血糖和增强免疫力等功效^[3-4]。由于冬虫夏草产于高原且数量有限, 为解决药源紧张问题, 国内研究者通过分离天然虫草菌株进行深层发酵得到发酵虫草菌粉, 并将其制为胶囊等多种产品^[5]。研究证实, 发酵虫草菌粉有与冬虫夏草相似的化学成分及药理作用^[6-7]。心肝宝胶囊、百令胶囊、至灵菌丝胶囊和金水宝胶囊均为人工虫草菌粉制剂, 其主要组成分别为人工虫草菌丝发酵粉、发酵冬虫夏草菌粉 (Cs-C-Q80)、虫草被孢菌粉和发酵虫草菌粉 (Cs-4), 临床广泛用于治疗心、肝、肺、肾等方面的疾病^[8-12]。因此, 虫草多糖的单糖组成分析对虫草菌粉制剂的质量控制具有重要意义。

关于冬虫夏草及其子实体、菌丝体中虫草多糖的单糖组成和含量测定方法多有报道。如采用气相色谱法 (GC)^[13]、高效阴离子交换-脉冲安培检测色谱法 (HPLC-PAAD)^[14]、气相色谱-质谱法 (GC-MS)^[15]、薄层色谱法 (TLC)^[1]和柱前衍生化高效液相色谱法^[16]等对虫草多糖进行单糖组成分析, 一般主要含有阿拉伯糖 (Ara)、葡萄糖 (Glu)、甘露糖 (Man)、半乳糖 (Gal)、半乳糖醛酸 (GalA) 等单糖。而虫草多糖的含量测定目前多采用比色法, 陈丽华等^[17]和崔立勋等^[18]采用硫酸-苯酚法测定虫草多糖含量; 王建壮等^[19]采用地衣酚比色法于 660 nm 处测定蛹虫草子实体中多糖的含量; 葛新等^[20]采用硫酸-蒽酮法在 630 nm 处测定人工虫草中多糖的含量。虫草菌粉制剂是由冬虫夏草中提取分离的

菌株通过发酵而得到的, 在虫草菌粉制剂的单糖组成研究中, 目前仅见朱卫丰等^[21]采用柱前衍生-HPLC 法测定金水宝胶囊中多糖的单糖组成, 尚未见其他虫草菌粉及其制剂中单糖组成测定的报道。

毛细管电泳法具有分辨率高、分析速度快、实验成本低、消耗少以及环境友好等优点, 本实验采用毛细管区带电泳法 (CZE)^[22], 结合正交试验设计, 优化了心肝宝胶囊等制剂中所提取多糖的降解条件, 并对其单糖组成进行分析, 为虫草菌粉胶囊药效物质的研究及其质量标准的完善提供参考。

1 仪器、试剂和材料

1.1 仪器

CL1020 型高效毛细管电泳仪、高压电源、紫外检测器及 HW-2000 色谱工作站, 北京彩陆科学仪器有限公司; 未涂层弹性石英毛细管柱, 河北永年锐沅色谱器件有限公司; BT25S 型电子分析天平, $d=0.01$ mg, 赛多利斯科学仪器有限公司; PHS-3C 型酸度计, 上海理达仪器厂; L500 型低速自动平衡离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; TG16-W 型台式微量高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; QL-901 型涡旋混合器, 江苏海门市麒麟医用仪器厂; HH-601 型超级恒温水浴锅, 山东聊城华鲁电热仪器有限公司。

1.2 试剂与材料

对照品 *D*-半乳糖 (Gal, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 D8310)、*D*-甘露糖 (Man, 质量分数 $\geq 99.5\%$, 批号 20090108)、*D*-阿拉伯糖 (Ara, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 D8120)、*D*-核糖 (Rib, 质量分数 $\geq 98.0\%$, 批号 50691) 为北京索莱宝科技有限公司产品; 对照品 *L*-鼠李糖 (Rha, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 20081020) 购于合肥博美生物科技有限责任公司; 对照品 *D*-木糖 (Xyl, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 20070908) 由保定市化工二厂提供; 对照品 *D*-葡萄糖醛酸 (GluA, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 20091203)、

D-半乳糖醛酸 (GalA, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 20091203) 为美国 Sigma 公司产品; 对照品 *D*-葡萄糖 (Glu, 质量分数 $\geq 99.0\%$, 批号 20110114) 购自天津市福晨化学试剂厂。

四硼酸钠 (硼砂), 分析纯, 购于河北省保定化学试剂厂; 硫脲, 分析纯, 购于天津市福晨化学试剂厂; 氢氧化钠, 分析纯, 购于天津市风船化学科技有限公司; 硫酸, 分析纯, 购于天津市翔宇化工工贸有限责任公司; 乙醇, 医用级, 购于石家庄新宇三阳实业有限公司; 正丁醇、三氯甲烷, 分析纯, 购于天津市科密化学试剂有限公司; 水为纯化水, 由 DZG-303A 型纯水机制备; 其他试剂为分析纯。

心肝宝胶囊, 河北长天药业有限公司, 规格 0.25 g, 批号分别为 18150601、18160605、18171006; 百令胶囊, 杭州中美华东制药有限公司, 规格 0.5 g, 批号分别为 130911、1711301、1806316; 至灵菌丝胶囊, 河北瑞森药业有限公司, 规格 0.25 g, 批号分别为 022180103、022170102、022170604; 金水宝胶囊, 江西济民可信金水宝制药有限公司, 规格 0.33 g, 批号分别为 171248、171154、171211。

2 方法与结果

2.1 电泳条件

色谱柱: 未涂层弹性石英毛细管柱 (70 cm \times 50 μm , 有效长度 61 cm); 运行缓冲液: 40 mmol/L 硼砂缓冲液 (以 10 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 10.1); 检测波长 245 nm; 运行电压 13 kV; 重力进样 10 cm \times 8 s; 柱温为室温。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 将心肝宝胶囊 (批号 18171006) 中的人工虫草菌粉取出, 混匀, 精密称取人工虫草菌粉 2.0 g, 加水 16.0 mL, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 1 h。放冷, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液; 将残渣重复提取 2 次, 合并 3 次提取的上清液, 得到虫草多糖提取液。向虫草多糖提取液中加入一定量的乙醇使含醇量为 80%, 静置过夜。4 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 所得沉淀用 80% 乙醇溶液 (约 2 mL) 洗涤 3 次, 得虫草粗多糖。

将上述虫草粗多糖用 20 mL 热水复溶, 向多糖溶液中加入 1/5 体积的 Sevage 试剂 (三氯甲烷-正丁醇 4 : 1^[22]), 剧烈振摇后, 4 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液, 除去水层和氯仿之间变性的蛋白。重复上述步骤, 直至中间层无蛋白为止, 得虫草粗多糖溶液约 20 mL, 计算以实际测量值为依据。精密

量取虫草粗多糖溶液 2 mL, 加入 2 mL 一定浓度的硫酸溶液, 密封, 水浴一定时间, 放冷, 用 10 mol/L NaOH 溶液中和, 然后转移至 5 mL 量瓶中, 加入 0.3 mL 的 5 mg/mL 硫脲溶液作为内标, 水定容, 摇匀, 即得虫草多糖全降解液。

精密量取多糖全降解液 0.2 mL 置于 1.5 mL 离心管中, 依次加入 0.3 mol/L NaOH 溶液 0.1 mL 和 0.5 mol/L PMP (1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮) 甲醇溶液 (衍生试剂) 0.1 mL, 涡旋混匀, 置于 70 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中反应 0.5 h 进行衍生, 冷却至室温后加入 0.3 mol/L 盐酸 0.1 mL 中和, 再加入三氯甲烷 1 mL, 涡旋混匀, 4 000 r/min 离心 3 min, 取上清液, 12 000 r/min 离心 3 min, 得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 Xyl、Ara、Glu、Rib、Rha、Man、Gal、GluA 和 GalA 对照品各 0.05 g, 置 50 mL 量瓶中, 水溶解并定容, 摇匀, 制得 1 mg/mL 的 9 种单糖混合对照品溶液。精密量取 2 mL 含有 9 种单糖的混合对照品溶液置于 5 mL 量瓶中, 加入 0.3 mL 的 5 mg/mL 硫脲溶液, 水定容, 摇匀。精密量取上述已加入内标的单糖混合对照品溶液 0.2 mL 置于 1.5 mL 离心管中, 按照“2.2.1”项下方法进行衍生, 即得对照品溶液。

2.3 测定

将上述供试品溶液和对照品溶液按照“2.1”项的电泳条件进行 CZE 测定。

2.4 虫草多糖的全降解条件优化

对虫草多糖全降解影响较大的因素包括硫酸浓度 (A)、降解温度 (B) 和降解时间 (C), 通过单因素考察确定它们的最优水平, 并连同其前后水平共选取 3 水平, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 正交试验因素及其水平见表 1。采用 CZE 测定全降解产物, 以虫草多糖中总单糖峰面积与内标峰面积的比值 (Y) 为指标进行评价。

由正交试验结果 (表 1) 及其方差分析结果 (表 2) 可知, 影响虫草多糖全降解效果的因素顺序为降解温度 $>$ 硫酸浓度 $>$ 降解时间, 最优全降解条件的组合为 $A_3B_3C_3$, 即硫酸浓度 1.0 mol/L, 温度 100 $^{\circ}\text{C}$, 时间 5 h。方差分析结果显示, 硫酸浓度、降解温度对虫草多糖全降解效果的影响显著, 而降解时间对其影响不显著。同样条件下, 考察了 3 个因素对百令胶囊中虫草多糖全降解的影响, 结果相同。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系、检测限和定量限 精密量取各单

表 1 虫草菌粉多糖降解正交试验设计与结果

Table 1 Orthogonal experiment results of degradation of Cordyceps powder polysaccharide

试验号	A/(mol·L ⁻¹)	B/°C	C/h	D(误差)	Y
1	0.50 (1)	80 (1)	3 (1)	(1)	4.69
2	0.50 (1)	90 (2)	4 (2)	(2)	6.75
3	0.50 (1)	100 (3)	5 (3)	(3)	10.40
4	0.75 (2)	80 (1)	4 (2)	(3)	6.39
5	0.75 (2)	90 (2)	5 (3)	(1)	8.42
6	0.75 (2)	100 (3)	3 (1)	(2)	10.39
7	1.00 (3)	80 (1)	5 (3)	(2)	7.62
8	1.00 (3)	90 (2)	3 (1)	(3)	8.66
9	1.00 (3)	100 (3)	4 (2)	(1)	11.13
K ₁	21.84	18.70	23.74	24.24	
K ₂	25.20	23.83	24.27	24.76	
K ₃	27.41	31.92	26.44	25.45	
R	5.57	13.22	2.70	1.21	

表 2 正交试验方差分析结果

Table 2 Results of orthogonal experiment variance analysis

误差来源	平方和	自由度	F 值	显著性
A	5.244 3	2	21.351 0	P<0.05
B	29.614 8	2	120.570 6	P<0.01
C	1.364 4	2	5.555 0	
D(误差)	0.245 6	2		

F_{0.05(2, 2)}=19.0 F_{0.01(2, 2)}=99.0

表 3 8 种单糖的线性回归方程、相关系数 (r)、LOD 和 LOQ

Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients (r), LOD, and LOQ of eight monosaccharides

单糖	线性回归方程	r	LOD/(μg·mL ⁻¹)	LOQ/(μg·mL ⁻¹)
Xyl	Y=0.021 X+0.110	0.999 5	0.234	0.779
Ara	Y=0.023 X+0.131	0.999 4	0.205	0.684
Glu	Y=0.012 X+0.106	0.999 0	0.374	1.245
Rha	Y=0.015 X+0.096	0.998 5	0.397	1.323
Man	Y=0.019 X+0.111	0.999 5	0.288	0.959
Gal	Y=0.023 X+0.114	0.999 5	0.247	0.822
GluA	Y=0.020 X+0.093	0.999 5	0.330	1.101
GalA	Y=0.023 X+0.094	0.998 9	0.329	1.096

测。计算各单糖峰面积与内标峰面积比值的 RSD 值为 2.8%~4.7%，说明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.5.3 加样回收率试验 将金水宝胶囊（批号 171211）中人工虫草菌丝粉取出混匀，精密称取 2.0 g 进行提取。精密量取提取液 1 mL 按上述优化条件降解，转移至 5 mL 量瓶中，加入 5 mg/mL 硫脲溶

糖质量浓度为 1 mg/mL 的单糖混合对照品溶液 0.10、0.20、0.50、1.00、1.50、2.00 mL，分别置于 10 mL 量瓶中，精密加入 0.3 mL 内标溶液，水定容，摇匀，取 0.2 mL 进行衍生及测定。以单糖峰面积与内标峰面积之比 (Y) 对单糖对照品的质量浓度 (X) 进行线性回归。根据 3 倍和 10 倍信噪比所对应的单糖质量浓度确定方法的检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ)，结果见表 3。可以看出，8 种单糖在 0.01~0.20 mg/mL 线性关系良好。

2.5.2 精密度、重复性和稳定性试验 取“2.5.1”项下浓度为 100 μg/mL 的单糖混合对照品溶液衍生后连续进样 5 次，计算各单糖的峰面积与内标峰面积比值的 RSD，其中 Xyl 为 1.4%、Ara 为 2.0%、Glu 为 2.5%、Rha 为 2.3%、Man 为 1.7%、Gal 为 0.8%、GluA 为 2.9%、GalA 为 3.6%，说明此方法具有良好的精密度。

将金水宝胶囊（批号 171211）中人工虫草菌粉取出混匀，分别精密称取 5 份各 2.0 g 进行提取，在优化条件下进行全降解，衍生后分别进行 CZE 分析测定。计算 Xyl、Ara、Glu、Rha、Man、Gal、GluA、GalA 的峰面积与内标峰面积比值的 RSD 分别为 4.4%、2.7%、2.8%、2.7%、4.5%、4.7%、3.2%、3.4%，可见该方法重复性良好。

精密量取上述样品溶液 2 mL，经全降解、衍生得到供试品溶液，分别在 0、2、4、6、8 h 进样检

液 0.3 mL，水定容，摇匀，衍生得到供试品溶液。以含量适中的 Glu 和 Gal 为代表进行高、中、低 3 水平回收率测定。Glu 的平均回收率为 96.1%~99.8%，RSD 为 1.0%~2.0%。Gal 的平均回收率为 95.1%~99.6%，RSD 为 1.5%~1.9%。方法的准确度良好。

2.6 虫草菌粉胶囊的测定

分别将心肝宝胶囊、百令胶囊、至灵菌丝胶囊和金水宝胶囊制剂中人工虫草菌粉取出混匀，再各自称取 2.0 g，按照上述步骤进行 CZE 测定。单糖对照品溶液及供试品溶液的 CZE 谱图见图 1。可见心肝宝胶囊中虫草多糖的单糖组成为 Xyl、Ara、Glu、Man、Gal 和 GalA；百令胶囊中虫草多糖的单糖组成为 Xyl、Glu、Rha、Man 和 Gal；至灵菌丝胶囊中虫草多糖的单糖组成为 Xyl、Ara、Glu、Rha、Man、Gal、GluA 和 GalA；金水宝胶囊中虫草多糖

的单糖组成为 Xyl、Ara、Glu、Rha、Man、Gal、GluA 和 GalA。

对不同批次虫草菌粉胶囊中单糖的含量进行了测定，结果见表 4。

3 讨论

本实验建立了针对不同虫草菌粉制剂中多糖单糖组成分析的 CZE 法，操作简单，快速高效，准确度高，并对所提取多糖的全降解条件进行了优化。采用此方法检测到金水宝胶囊中的单糖成分虽与有关文献报道^[23]基本一致，但并未测到氨基葡萄糖和

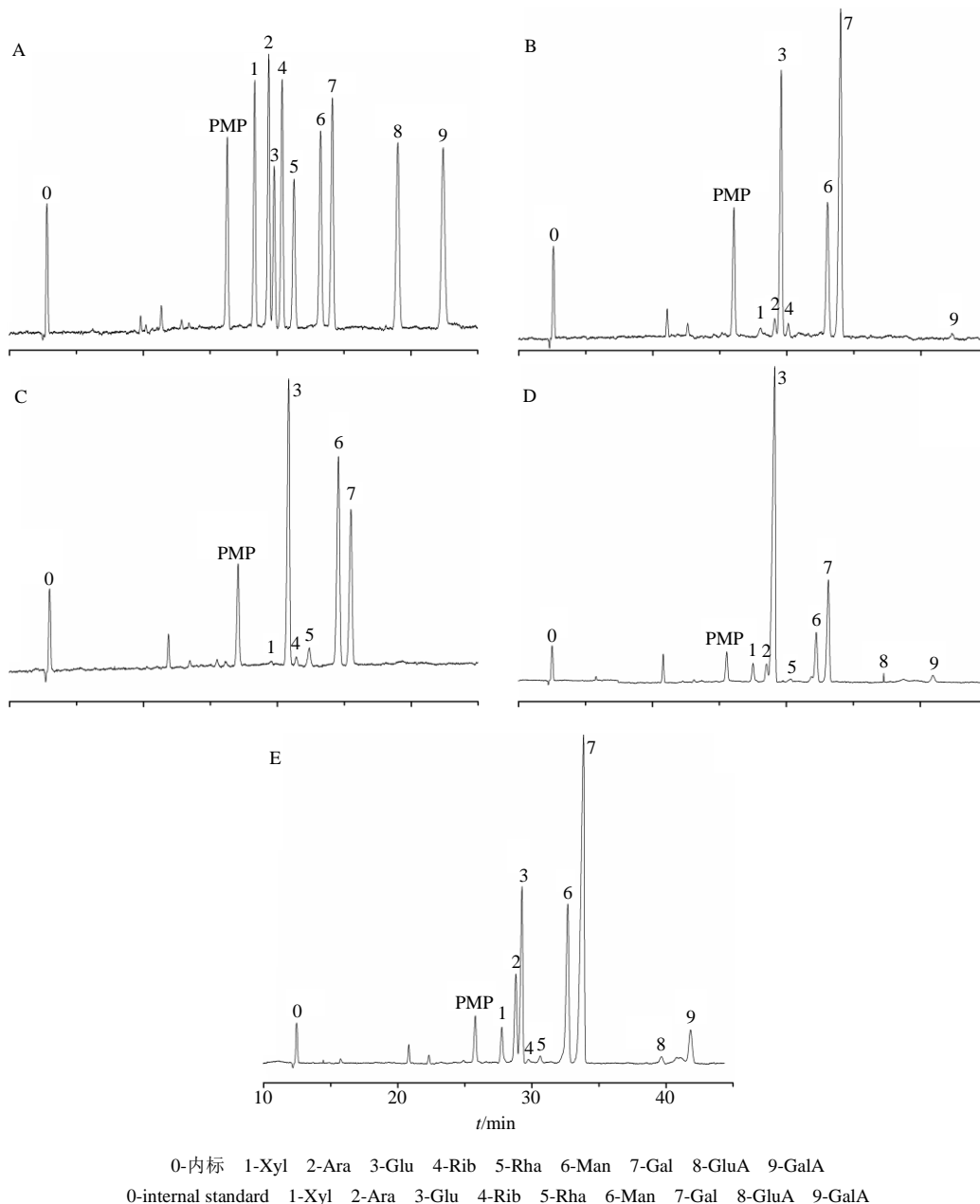


图 1 单糖对照品溶液 (A)、心肝宝胶囊 (B)、百令胶囊 (C)、至灵菌丝胶囊 (D) 及金水宝胶囊 (E) 的 CZE 谱图
 Fig. 1 CZE spectra of monosaccharides standard derivatization solution (A), Xinganbao Capsule (B), Bailing Capsule (C), Zhiling Junsi Capsule (D), and Jinshuibao Capsule (E)

表 4 不同虫草菌粉制剂中多糖的单糖组成及含量

Table 4 Monosaccharide composition and content of polysaccharides in different *Cordyceps* powder preparations

制剂 (批号)	单糖组成/(mg·粒 ⁻¹)							
	Xyl	Ara	Glu	Rha	Man	Gal	GluA	GalA
心肝宝胶囊 (18150601)	*	0.24	3.92	—	0.68	3.38	—	*
心肝宝胶囊 (18160605)	*	0.15	4.53	—	0.76	3.36	—	*
心肝宝胶囊 (18171006)	*	0.22	4.46	—	0.77	4.07	—	*
百令胶囊 (130911)	0.15	—	9.63	0.23	2.65	3.04	—	—
百令胶囊 (1711301)	0.10	—	11.00	0.23	2.91	4.61	—	—
百令胶囊 (1806316)	0.11	—	9.10	0.13	3.19	3.77	—	—
至灵菌丝胶囊 (022180103)	0.43	0.31	20.30	*	1.03	2.73	*	*
至灵菌丝胶囊 (022170102)	0.28	0.38	18.55	*	1.21	2.39	*	*
至灵菌丝胶囊 (022170604)	0.25	0.36	21.10	*	2.23	2.92	*	*
金水宝胶囊 (171248)	1.14	1.16	7.50	0.16	2.53	11.00	0.14	0.35
金水宝胶囊 (171154)	0.62	1.51	6.11	0.29	3.24	8.98	0.29	0.87
金水宝胶囊 (171211)	0.78	1.77	7.81	0.31	3.04	9.90	0.28	1.23

*表示该单糖可检测到,但不能用于定量;—表示未检测到

* monosaccharide can be detected but can't be used for quantitation; — not detected

岩藻糖,可能因产品批次不同所致,且文献中显示该 2 种成分含量极微。从 4 种胶囊中多糖的单糖组成可以看出,虫草菌粉制剂与冬虫夏草中所含单糖成分基本一致,但 4 种制剂中还均检测出了 Xyl,百令胶囊、至灵菌丝胶囊和金水宝胶囊中检测出了 Rha,至灵菌丝胶囊和金水宝胶囊中检测出了 GluA,这都是冬虫夏草多糖中尚未见报道的。本结果为虫草菌粉作为天然冬虫夏草替代品的研究以及虫草菌粉制剂的质量控制提供一定参考。

根据得出的单糖组成,可以看出这 4 种制剂中共同含有的单糖为 Xyl、Glu、Man 和 Gal,其中 Glu 和 Gal 的含量均较高。4 种胶囊中多糖的单糖组分和含量存在一定差异,可能和人工虫草菌粉的发酵工艺及虫草菌粉种类有关。同时,在心肝宝胶囊、百令胶囊和金水宝胶囊中还检测出 Rib 的存在,但 Rib 主要存在于 RNA 中,是组成生物体内遗传物质核糖核酸的重要成分^[24],推测应该不是虫草菌粉多糖中所含单糖,因此本实验未对 Rib 进行进一步分析,有关问题尚待更深入地探讨。

参考文献

[1] 邓勇,张杰良,王兰英,等.薄层色谱法分析不同虫草多糖的单糖组成[J].药物分析杂志,2018,38(1):13-21.
 [2] 中国药典[S].一部.2015.
 [3] Yan J K, Wang W Q, Wu J Y. Recent advances in

Cordyceps sinensis polysaccharides: Mycelial fermentation, isolation, structure, and bioactivities: A review [J]. *J Funct Foods*, 2014, 6(1): 33-47.

[4] Li S P, Zhao K J, Ji Z N, et al. A polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis*, a traditional Chinese medicine, protects PC12 cells against hydrogen peroxide-induced injury [J]. *Life Sci*, 2003, 73(19): 2503-2513.
 [5] 黄慧莲,杨敏娟,管咏梅,等.近 5 年发酵虫草菌粉的化学成分和临床应用研究进展[J].世界科学技术—中医药现代化,2014,16(10):2242-2245.
 [6] 张薇薇,龚韬,韩东河,等.人工虫草与冬虫夏草成分的比较研究[J].北京中医药,2016,35(1):87-91.
 [7] 邹秦文,肖新月,林瑞超.冬虫夏草液体深层发酵菌丝体相关制剂的研究现状[J].药物分析杂志,2009,29(4):680-687.
 [8] 邱霞.心肝宝胶囊治疗肺心病的临床疗效[J].中国实用医药,2013,8(36):173-174.
 [9] 许慧娟,李时悦.百令胶囊的药理作用及其在肺部疾病的研究进展[J].中国中药杂志,2010,35(20):2777-2781.
 [10] 刘燕霞.至灵胶囊联合缬沙坦分散片治疗早期糖尿病肾病临床效果分析[J].内蒙古中医药,2017,36(10):7-8.
 [11] 李兴高,陈奇,黄梦雨,等.金水宝胶囊药理研究进展[J].江西中医学院学报,2000,12(3):143-144.
 [12] 马淑梅,余伯成,唐亮,等.虫草素制剂对百草枯致大鼠肺纤维化的作用研究[J].药物评价研究,2016,

- 39(5): 753-757.
- [13] 李 蓉, 孙书娟, 江晓路. 虫草多糖的分离纯化及结构鉴定 [J]. 中国药师, 2015, 18(3): 407-419.
- [14] 杨 威, 殷 茵, 宋丽艳, 等. 高效阴离子交换-脉冲安培检测色谱法测定人工培养蛹虫草多糖的单糖组成 [J]. 中草药, 2008, 39(4): 531-535.
- [15] 郭思维. 虫草多糖脱色脱蛋白工艺研究及抗 NCI-H446 肿瘤细胞活性检测 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2014.
- [16] 宗雯雯, 沈照鹏, 卜义明, 等. 蛹虫草多糖单糖组成的方法学研究 [J]. 菌物学报, 37(3): 395-404.
- [17] 陈丽华, 张清华, 欧阳胜, 等. 虫草发酵液多糖含量的测定 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(12): 2880-2882.
- [18] 崔立勋, 张爱华, 孙守英. 虫草多糖的分离纯化及含量测定 [J]. 中国医药科学, 2012, 2(21): 95-96.
- [19] 王建壮, 安 洁, 吕华冲. 蛹虫草子实体中多糖含量测定方法的研究 [J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(15): 19-20.
- [20] 葛 新, 李云兰, 白小红, 等. 比色法测定人工虫草菌丝体多糖含量 [J]. 山西医科大学学报, 2001, 32(5): 418-419.
- [21] 朱卫丰, 赵加茜, 刘小林, 等. 金水宝胶囊中发酵虫草菌粉多糖的指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3322-3326.
- [22] 张利沙, 孙玮玮, 徐自慧, 等. 复方南板蓝根颗粒中多糖的含量测定及单糖组成分析 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(10): 1845-1850.
- [23] 张 颖, 曾 艳, 张丽姣, 等. 蛹虫草菌糠多糖的分离纯化及结构组成分析 [J]. 食品科学, 2014, 35(13): 54-58.
- [24] 彭彦峰, 吴兆亮, 李英杰. 分光光度法测定微生物发酵液中 *D*-核糖浓度及其机理 [J]. 分析化学, 2002, 30(8): 975-977.