• 综　述 •

中药多糖结构表征及质量评价研究进展

赵　宁[1, 3]，韩　著[1, 3]，简颖琳[1, 3]，庞　哲[1, 3]，王　露[1, 3]，邸多隆[1, 2]，刘建飞[1, 2*]，邵　晶[1, 3, 4, 5*]

1. 甘肃中医药大学药学院，甘肃 兰州　730000
2. 中国科学院兰州化学物理研究所，甘肃 兰州　730000
3. 国家中医药管理局三级实验室（中药化学重点实验室），甘肃 兰州　730000
4. 西北中藏药省部共建协同创新中心，甘肃 兰州　730000
5. 甘肃省高校中（藏）药化学与质量研究省级重点实验室，甘肃 兰州　730000

摘　要：中药多糖是中药的主要活性成分之一，具有显著的生物活性，应用前景广阔。为了确保中药多糖的有效性和安全性，对其进行质量控制和评价尤为重要。鉴于多糖的生物活性与其理化性质密切相关，进行准确且可靠的定性与定量分析是控制多糖质量的关键手段。然而由于多糖结构的复杂性，对其进行专属性强、灵敏度高的定性和定量分析仍是难点。通过对近年来中药多糖结构表征及定性和定量分析技术与方法的研究进行综述，并在此基础上提出了中药多糖质控及评价体系亟需解决的问题。为中药多糖质量控制及评价体系的建立提供参考，同时为进一步开发利用中药多糖提供理论基础。

关键词：中药多糖；单糖；结构表征；定性分析；定量分析

中图分类号：R284　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2024)21 - 7491 - 16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.21.027

Research progress on structural characterization and quality evaluation of traditional Chinese medicine polysaccharides

ZHAO Ning[1, 3], HAN Zhu[1, 3], JIAN Yinglin[1, 3], PANG Zhe[1, 3], WANG Lu[1, 3], DI Duolong[1, 2], LIU Jianfei[1, 2], SHAO Jing[1, 3, 4, 5]

1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China
2. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China
3. Tertiary Laboratory (Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Chemistry), State Administration of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China
4. Northwest Collaborative Innovation Center for Traditional Chinese and Tibetan Medicine Co-constructed by Gansu Province & Ministry of Education, Lanzhou 730000, China
5. Provincial Key Laboratory of Chemistry and Quality Research of Chinese (Tibetan) Medicines in Gansu Universities, Lanzhou 730000, China

Abstract: Traditional Chinese medicine (TCM) polysaccharide is one of the main active ingredients in TCM, and it has significant and wide range of biological activities and promising applications. To ensure the effectiveness and safety of TCM polysaccharides, quality control and evaluation are essential. Since the biological activities of polysaccharides are closely related to their physicochemical properties, qualitative and quantitative analyses are a direct and feasible method for controlling the quality of polysaccharides.

收稿日期：2024-04-22

基金项目：中国科学院青年创新促进会（2023442）；兰州市青年科技人才创新项目（2023-QN-89）；甘肃省科技计划东西协作专项（鲁甘科技协作项目）（22CX8NA068）；兰州市城关区科技计划项目（2020-2-2-2）；甘肃省科技计划自然科学基金项目（21JR11RA136）；甘肃省教育厅双一流重大科研项目（GSSYLXM-05）；甘肃省中药制药工艺工程研究中心开放课题（ZYGY202004）

作者简介：赵　宁，女，硕士研究生，研究方向为中药药效物质基础及质量标准。E-mail: 2137154349@qq.com

***通信作者：**邵　晶，女，教授，博士生导师，从事中药药效物质基础及质量控制与产品开发研究。E-mail: cn221@163.com

刘建飞，男，副研究员，硕士生导师，从事活性天然产物分子结构优化及其高值化利用研究。E-mail: jfliu@licp.cas.cn

However, due to the complex structure of polysaccharides, qualitative and quantitative analysis of polysaccharides with high specificity and sensitivity is still a difficult task. In this paper, we summarize and discuss the research progress on the structural characterization as well as qualitative and quantitative analysis techniques and methods of TCM polysaccharides at home and abroad in recent years, and on the basis of this, we put forward the problems that need to be solved in the quality control and evaluation system of TCM polysaccharides at present. It aims to provide a reference for establishing a quality control and evaluation system of TCM polysaccharides, and at the same time to provide a theoretical basis for the further development and utilization of TCM polysaccharides.

Key words: traditional Chinese medicine polysaccharide; monosaccharide; structural characterization; qualitative analysis; quantitative analysis

中药临床使用的主要剂型为水煎剂，其中多糖是主要成分。多糖是由葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖等 10 多种单糖组成的天然高分子聚合物，是通过线性或支链糖苷键聚合而成的多羟基聚合物及其衍生物。其来源非常广泛，多数动植物及微生物体内均含有多糖类成分，主要存在于菌类、藻类、根茎类、果实种子类药材中，以游离型多糖（均多糖、杂多糖）和结合型多糖（糖肽、脂多糖）形式存在[1]。传统中药富含多种多糖，一直被用作中药补充剂和药物来改善人类健康和治疗疾病。其中大多数具有补益作用的中药，尤其是益气、益阴、益血等，均含有丰富的多糖，如人参[2]、黄芪[3]、当归[4]、灵芝[5]、石斛[6]等，石斛多糖含量甚至可达总干质量的 50%以上。现代药理研究表明，中药多糖具有很强的药理活性，可调控细胞分裂和分化，还具有免疫调节[7]、抗肿瘤[8]、抗氧化[6]、抗抑郁[9]、抗病毒[10]等生物活性，因此中药多糖的研究成为了生物化学领域的研究热点之一。

中药多糖的生物活性与其理化性质、组成成分、化学结构等密切相关。如决定其活性有无的因素有多糖主链的糖单元组成、糖苷键类型等；对于影响其活性强弱的因素有支链的类型、聚合度及取代度等；一般相对分子质量较小的多糖利于跨膜发挥生物效应，但相对分子质量过小的多糖，也没有生物活性；且多糖的高级结构对其活性的影响更大。目前活性多糖一直是中药保健品和新药开发的热点。因此，对中药多糖及其相关制品的品质评价与质量控制显得尤为重要，其不仅是保证中药多糖类产品疗效和生产工艺稳定的重要前提，而且也是确保其有效性和安全性的必要条件。然而由于多糖结构的复杂性，对其进行专属性强、灵敏度高的定性、定量分析仍是一大难点。目前建立中药多糖的质量控制体系仍处于探索阶段，研究进展缓慢。因此，本文对近年来中药多糖的结构表征及定性和定量分析技术与方法的研究进行综述，为中药多糖质量控制及评价体系的建立提供参考，同时为进一步开发利用中药多糖提供理论基础及支持。

1 中药多糖的结构表征

近年来，研究者对中药多糖的结构特征和生物活性进行了系统总结和讨论。多糖的结构具有多样性和复杂性，是由具有不同糖苷键的单糖组成的聚合物，如 1→3、1→2、1→4 和 1→6 连接，具有 α 和 β 等构型。此外，多糖的链构象是多糖独特的结构特征，包括球形、螺旋链、柔性链和棒状结构。结构特征是多糖生物活性的基础，如相对分子质量、单糖组成和比例、糖苷键类型和连接方式、分支链的位置和长度及空间结构等对多糖的生物活性均有显著影响。因此，要在生物化学领域成功应用中药多糖，关键在于明确其必要的结构特征。

1.1 中药多糖的相对分子质量和链构象分析

1.1.1 相对分子质量的测定 中药多糖的相对分子质量与其活性密切相关，是表征中药多糖的重要参数。其表述方式主要包括重均相对分子质量（weight-averaged relative molecular mass，*M*w）、数均相对分子质量（number-averaged relative molecular mass，*M*n）、黏均相对分子质量（viscosity-averaged relative molecular mass，*M*v）和 Z 均相对分子质量（Z-averaged relative molecular mass，*M*z）4 种。目前文献大多报道的相对分子质量表述方式为 *M*w[11]。常用的测定中药多糖相对分子质量的方法有高效凝胶渗透色谱（high performence gel permeation chromatography，HPGPC）法、高效排阻色谱（high performance size exclusion chromatography，HPSEC）法、HPSEC 与多角度光散射（multiangle laser light scattering，MALLS）联用法、HPGPC-MALLS 法、质谱法、黏度法等。HPGPC 法作为一种应用广泛的液相色谱技术，常用于测定多糖相对分子质量分布，其工作原理是分子筛[12]。HPSEC 结合合适的色谱柱和示差折光检测器（refractive index detector，RID）也已成为测定多糖

*M*w、*M*n 和均质性的有效方法[13]。另外，SEC-MALLS 相结合是一种通过检测聚合物如何散射光来独立确定聚合物在溶液中的绝对相对分子质量的技术，被认为是研究大分子强大的技术之一。最近，SEC-MALLS-RID 用于测定枸杞纯化多糖的绝对相对分子质量[14]，其结果表明，枸杞多糖的绝对相对分子质量为 4.6×10^5，比采用葡聚糖标准的 SEC-RID 法测得的绝对相对分子质量（6.4×10^4）高出 7 倍以上。表明 SEC-MALLS-RID 具有较高的准确性。此外，对 5 个地区枸杞中不同多糖组分的相对分子质量进行 SEC-MALLS-RID 测定，发现从 5 个区域采集的枸杞多糖的 3 个馏份相对分子质量相似，分别为 1.120×10^6～3.868×10^6（第 1 峰）、1.371×10^5～5.783×10^5（第 2 峰）、5.360×10^4～3.554×10^5（第 3 峰）[15]。Ma 等[16]采用 HPGPC 体系对沙棘多糖相对分子质量进行分析，测定得到沙棘多糖的平均相对分子质量为 9 944。Liu 等[17]采用 HPSEC 法对杜仲叶多糖（*Eucommia ulmoides* polysaccharide，EUP）1～3 的均质性和相对分子质量进行分析。根据 SEC-MALLS 色谱图显示 EUP1～3 均为 1 个主峰，测定得出 EUP1～3 的平均相对分子质量分别为 1.51×10^5、3.05×10^4 和 1.17×10^5。同时，EUP1～3 的 *M*w/*M*n 系数分别为 1.24、1.40 和 1.41，结果说明 3 种多糖组分分布均匀且集中。常用的相对分子质量测定方法比较见表 1。表 2 选取了部分中药多糖总结报道了近些年应用频率较高的 HPSEC/HPGPC 及组合技术用于中药多糖相对分子质量测定的相关方法。

表 1 测定中药多糖相对分子质量的相关技术方法及特点

Table 1 Relevant technical methods and characteristics for determination of molecular weight of traditional Chinese medicine polysaccharides

方法	特点
HPGPC/HPSEC-RID、HPGPC/HPSEC-ELSD	具有速度快、分辨率高、重现性等优点，可以同时检测多糖的均一性；最常用的色谱柱有 μ-Bondagel、TSK、Sephadex、Superose 等；流动相包括水、缓冲液或有机溶剂水溶剂；探测器包括折射率折光仪、蒸发光散射仪、多角度激发散射仪等
HPGPC/HPSEC-MALLS	不需要使用参考材料进行校准，具有很高的准确度和精密度；受样品结构或相对分子质量影响较小，可提供样品在溶液中的构象信息
MALDI-TOF-MS	不仅用于多糖相对分子质量的测定，还用于结构片段的鉴定；在测量过程中，根据多糖的结构选择基质和样品浓度，以达到所需的结果
黏度法	高相对分子质量多糖溶液通常具有较高的黏度，因此可用此法测量；但在实践中，该方法存在一些不确定性，因为黏度的测定通常会受相对分子质量和分子形状等因素的影响

ELSD-蒸发光散射检测；MALDI-TOF-MS-基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱。

ELSD-evaporative light scattering detection; MALDI-TOF-MS-matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry.

1.1.2 链构象的测定　中药多糖的链构象特征是多糖独特的结构特征且与其生物活性密不可分。一般来说，多糖的链构象主要以球形、柔性链、无规则卷曲、双螺旋、三螺旋、蠕虫状、棒状、聚集体及超支化等存在（图 1），这取决于单糖的类型、糖苷键的类型、支链结构和分子间相互作用。多糖的分子作用力主要包括氢键、偶极相互作用、疏水力、静电力和其他非共价力[36]。因此，温度、pH 值、变性剂、金属离子等外界因素都会影响多糖在溶液中的构象。目前常用的表征中药多糖构象研究方法有刚果红实验、圆二色光谱法（circular dichroism spectrum，CD）、荧光光谱法、扫描电镜（scanning electron microscope，SEM）、原子力显微镜（atomic force microscope，AFM）、核磁共振（nuclear magnetic resonance，NMR）、X 射线衍射、动/静态光散射、分子动力学模拟（molecular dynamics simulation，MD）、差示扫描量热法（differential scanning calorimeter，DSC）、粒径排阻色谱法联用多种检测器的凝胶滤过色谱及黏度法等。Zhang 等[37]通过刚果红实验检测到桔梗多糖（*Platycodon grandiflorum* polysaccharide，PGP）具有三重螺旋结构。通过 SEM 观察发现，PGP 呈棒状结构，表面光滑，符合多糖的线性三螺旋结构。Zhou 等[38]为了研究生姜多糖的微观结构特征，对生姜多糖进行 SEM 分析，发现生姜多糖的主要形态是均匀致密的层状结构，碎块大而光滑，无卷曲现象，部分出现联锁现象，表明生姜多糖相对分子质量大，形态均匀，分子间作用力强。Li 等[39]利用 SEM 对热水和超声波提取的多糖进行观察，旨在评价这 2 种多糖之间的微观形态差异。结果表明，2 种多糖具有不同的结构特性，其

表 2　HPSEC/HPGPC 及组合技术用于中药多糖相对分子质量测定的相关方法

Table 2　HPSEC/HPGPC and combined techniques for molecular weight determination of traditional Chinese medicine polysaccharides

相关方法				多糖来源	文献
检测	柱色谱	标准品	流动相		
RID-10A	TSKgel G3 000 PW_{XL}	葡聚糖	0.7%硫酸钠溶液	党参多糖	18
ELSD	Cosmosil 5 Diol-300-II	Shodex P-82	pH＝3 的甲酸溶液	红枣多糖	19
ELSD	TSKgel G4 000 SW	右旋糖酐	蒸馏水	灵芝多糖	20
RID 和 UV	Ultrahydrogel 2 000 和 Ultrahydrogel 500	右旋糖酐	0.1 mol·L^{-1} 硝酸钠溶液	菊花多糖	12
RID	TSKgel G4 000 PW_{XL}	葡聚糖	去离子水	冬虫夏草多糖	21
RID	OHpak SB-G、OHpak SB-806 HQ 和 OHpak SB-804 HQ	葡聚糖	0.1 mol·L^{-1} 硝酸钠溶液和 0.02%叠氮化钠溶液	决明子多糖	22
RID	KS-802、KS-804	葡聚糖	0.2 mol·L^{-1} 氯化钠水溶液	虎杖多糖	23
RID	TSKgel G3 000 PW_{XL}	葡聚糖	蒸馏水	人参中性多糖	24
RID	TSKgel G5 000 PW_{XL}	—	0.02 mol·L^{-1} 磷酸二氢钾溶液	杜仲多糖	25
RID	TSKgel G3 000 PW_{XL} 和 TSKgel G5 000 PW_{XL}	—	0.02 mol·L^{-1} 磷酸二氢钾溶液	乌头多糖	26
RID	TSKgel G4 000 PW_{XL}	葡聚糖	0.2 mol·L^{-1} 硫酸钠溶液	延胡索多糖	27
RID	TSKgel G4 000 PW_{XL}	右旋糖酐	蒸馏水	半夏多糖	28
RID	TSKgel G4 000 PW_{XL}	右旋糖酐	蒸馏水	板蓝根多糖	29
RID-10A	串联凝胶柱（BRT105-104-102）	葡聚糖	0.05 mol·L^{-1} 氯化钠水溶液	姜黄多糖	30
RID	OHpak SB-805 和 SB-802	葡聚糖	0.1 mol·L^{-1} 氯化钠水溶液	金线莲多糖	31
RID	串联凝胶柱（BRT105-104-102）	右旋糖酐	0.05 mol·L^{-1} 氯化钠水溶液	沙棘多糖	16
RID	串联凝胶柱（BRT105-104-102）	葡聚糖	0.05 mol·L^{-1} 氯化钠水溶液	半枝莲多糖	32
ELSD	TSKgel $GMPW_{XL}$	右旋糖酐	蒸馏水	黄芪多糖	33
RID	TSKgel G3 000 PW_{XL} 和 TSKgel G5 000 PW_{XL}	葡聚糖	0.01%氯化钠水溶液	防风多糖	34
RID-MALLS	OHpak SB-806 HQ	—	0.2 mol·L^{-1} 氯化钠水溶液	木耳多糖	35

—：未提及。

—: not mentioned.

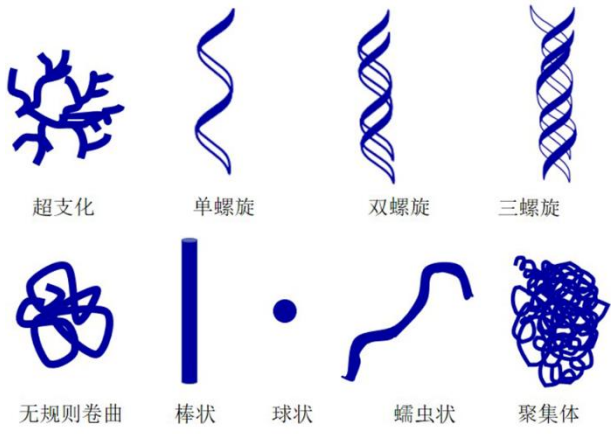


图 1　中药多糖链构象

Fig. 1　Chain conformation of traditional Chinese medicine polysaccharides

活性也存在差异。Shan 等[40]利用 X 射线衍射确定了桔梗多糖 PGPI-1-a 的结构，表明 PGPI-1-a 具有半结晶性质。Abuduwaili 等[29]研究了板蓝根多糖-II（*Folium Isatidis* polysaccharide-II，FIP-II）及其衍生物的微观结构特征，通过 SEM 分析发现 FIP-II 表现出被薄片覆盖的纤维结构的形状。放大到 5 000 倍时，观察到表面是光滑的球形结构。衍生化后，可以观察到结构的松散。FIP-II-S 呈片状结构，表面粗糙多孔，与其他 3 种多糖相比颗粒较大。FIP-II-P 显示了不同大小的粗糙表面的块状结构。FIP-II-C 由不规则、光滑的碎片组成。通过刚果红实验检测到 FIP-II 中存在三螺旋结构，利用 X 射线衍射确定了 FIP-II 及其衍生物的结构特征。FIP-II 不仅存在微晶结构，而且还存在多晶体系，FIP-II 的 3 种衍生物同时存在微晶和无定形结构。Cheng 等[41]发现桔梗多糖 PGPSt 具有三重螺旋构象。SEM 分析 PGPSt 表明其主要由凸半圆形颗粒组成，表面形貌呈规则的网状孔洞，具有致密、多孔、团聚等特点。表 3 总结了多糖构象研究方法的优缺点。目前多糖构象的测定仍然存在成本高、耗时长、准确性低等挑战。因此开发准确、快速、经济有效的方法仍然是一项重要的任务。

表 3 多糖构象研究方法的优缺点

Table 3 Advantages and disadvantages of research methods of polysaccharide conformation

方法	优点	缺点
刚果红实验	操作简单方便、不需要昂贵的仪器	准确性存在一定争议
CD	操作快捷方便、灵敏度高	如果没有特征紫外吸收结构（如中性多糖），则无法获得 CD 信号；测定时需要对多糖进行结构修饰或与刚果红结合，然后通过 CD 确定多糖的构象
黏度法	操作方便、不需要昂贵的仪器	需要其他方法辅助去进一步确定构象特征
光散射法	可确定多糖相对分子质量和构象参数	需要高纯度的样品和溶剂且需要昂贵的仪器
粒径排阻色谱法	用于测定多糖相对分子质量	通常需要与其他方法相结合，如激光光散射
AFM	生成多糖分子的二维及三维图像	需要昂贵的仪器，且样品制备较为麻烦
MD	可视化多糖大分子结构、大分子体系的构象和动力学行为	对于中药多糖模拟，专门设计的力场较为少见
X 射线衍射	可在原子水平上分析多糖的结构和构象	设备昂贵，由于有些中药多糖结晶困难，实验较不容易进行
DSC	工作温度范围宽、易建立多糖微观与宏观之间的联系	易被共存聚合物干扰
NMR	提供高分辨率的光谱、灵敏度高	需要昂贵的设备和维护，NMR 光谱的解析较为困难

溶液中多糖的链构象信息需要几个参数，如均方根回转半径（R_g）、流体力学半径（R_h）每轮廓长度的摩尔质量（M_L）、停留长度（q）、链径（d）、扩散系数（D）和特征黏度（η）。动态光散射和静态光散射结合分析得到 R_h/R_g 的值 ρ 是评价高分子链构象的关键参数。当 ρ=0.77 时，高分子在溶液为均匀的球体构象；ρ=1.0～1.1 为高支化链；ρ=1.3～1.5 为无规则卷曲构象；ρ=1.5～1.8 为线性柔顺链；ρ＞2 时则为刚性链构象。Ma 等[42]对厚质木耳（*Auricularia auricula*-judae，AAG）中提取得到的超支化 β-*D*-葡聚糖在 25 ℃、0.1 mol/L 氯化钠水溶液中的构象进行研究，通过采用动态光散射、静态光散射、尺寸排除色谱结合静态激光光散射和黏度计等方法发现在 0.1 mol/L 氯化钠水溶液中，AAG 以延伸链的形式存在。此外，在相对分子质量为 3.40×10^4～2.88×10^5 时，η 与相对分子质量的关系为 $\eta=1.22\times10^{-3}$ Mw$^{1.00}$（cm^3/g），M_L 的构象参数为 820 nm^{-1}。多糖的链构象和分支结构也可以从聚合物溶液理论得到。Meng 等[43]采用静态/动态光散射、黏度测定、AFM 和 MD 等方法研究了黑木耳 β-葡聚糖的链构象。结果表明，该链具有典型的三螺旋构象。Liu 等[14]采用 SEC-MALLS-RID 方法测定了枸杞多糖的链构象。应用聚合物溶液理论，确定了 $R_g=kM$w^v 的指数 v 值为 0.345，结果表明枸杞多糖在水溶液中以球形分子的形式存在。由静态激光散射确定的 R_g 和动态激光散射确定的 R_h 的比值计算出 ρ 值，为 1.07，进一步说明枸杞多糖是一个具有支链的空心球。目前对中药多糖链构象特征的研究还不全面。因此，需要深入研究中药多糖的构象特征，以进一步了解其构效关系。

1.2 中药多糖单糖组成分析

单糖作为多糖的重要结构元素，直接影响多糖的生物活性。形成多糖的单糖通常由戊糖、己糖、糖醛酸和葡糖胺等组成。在多糖的单糖组成中，戊糖类型主要包括核糖、阿拉伯糖和木糖。葡萄糖、半乳糖、甘露糖、果糖、鼠李糖和岩藻糖是构成多糖的常见己糖类型[44-46]。糖醛酸是单糖中的羟基氧化形成羧基的一种化合物或衍生物，其组成类型主要有葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸[47]。此外，糖胺作为一种羟基被氨基取代的单糖，也是组成多糖的重要单糖类型，主要包括氨基葡萄糖、半乳糖胺、*N*-乙酰氨基葡萄糖和 *N*-乙酰氨基半乳糖[48]。单糖组成可以影响多糖的官能团、链长、空间构象等结构特征，从而影响多糖的溶解度、流变性、稳定性等。

在多糖的单糖组成分析中多糖的解聚是第 1 步，通常通过酸水解、酸甲醇水解、物理辅助水解和酶水解进行。酸水解法是最普遍有效且经济快速的方法，通常用硫酸、盐酸和三氟乙酸单独或联合水解多糖[49]，该方法水解温和、易操作，广泛用于大多数中药多糖。酸甲醇水解对糖苷键的水解反应有效且温和。像酸水解一样，水解的第 1 步是糖苷氧原子和环氧原子的质子化，然后是糖苷键的裂解。其次再与甲醇反应，在释放的还原体末端生成相应的甲基糖苷。但是该方法样品处理时间长且不易除掉酸。通常使用一种酸一步水解是多糖的单糖组成

分析中最常用的方法。然而，由于多糖中的各种糖苷键可能具有不同的水解特性，两步酸水解已被证实对一些结构复杂的多糖是非常有效的。如含有糖醛酸的多糖，通常具有耐酸的糖苷键，在一步水解条件[50]下不能完全降解，因此两步法广泛用于富含糖醛酸的多糖的单糖组成测定。该方法可最大限度的提高糖的回收率，其操作简单、精度高、成本低。除了化学水解，物理辅助水解也用于多糖的单糖组成分析中。如微波与酸水解结合通常用于多糖的单糖组成分析中多糖的解聚，称为微波辅助酸水解，该方法热分解率低、单糖回收率高、反应时间短、易于处理。He 等[51]采用微波辅助盐酸水解结合配有脉冲电流检测器的高效阴离子交换色谱快速分析多糖的单糖组成。结果表明该法与传统的酸水解方法相比，既避免了冗长的安瓿瓶封口、水解、去酸等步骤，又几乎消除了由于直接加热和长时间水解而产生的副反应，而且只需 1/10 的时间即可完成相同的单糖组成分析。Zhang 等[52]提出了一种利用盐酸结合聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）仪水解多糖的新方法，该方法最多可同时水解 96 个多糖样品，提高了样品处理效率，且利用 PCR 仪的快速加热、精确控温和梯度加热等特性，成功确定了多糖的最佳水解条件。酶水解的水解效果与酸水解相似，略优于酸甲醇解法。其作为一种条件温和且特异性强的方法，酶水解进行多糖的单糖组成分析通常依赖于酶催化所致的糖苷键的裂解，其在温和的环境（低温和接近中性的 pH 值）中发挥作用，并对低糖浓度敏感。因此，不同的单糖组成需要不同的酸水解条件，均需要进行比较选择；否则，很容易导致释放的单糖水解不完全或降解。

由于糖类物质缺乏色素或荧光基团，通常采用衍生化的方法来辅助对糖类物质的检测。该方法不仅可以在单糖分子中引入发色团和荧光团，而且会增加分析物的电荷，以便于多糖中单糖组成的检测分析[53]。柱前衍生是最常用的衍生方法。它具有衍生试剂选择性广、反应条件不受限制、系统配置简单等诸多优点。但也存在重现性不好、过程繁琐易产生多种衍生化产物造成色谱分离困难等缺点。常用的 3 种柱前衍生方法是迈克尔加成法、腙的形成法和还原胺化法。迈克尔加成法最常使用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑酮（1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone，PMP）作为衍生试剂，其能在温和的条件下与还原性碳水化合物发生反应，不损失唾液酸，产物没有立体异构体，紫外吸收很强[54]。但这种方法不仅需要大量的 PMP，而且用氯仿水萃取去除多余的 PMP 可能会导致衍生物在此过程中的损失。由于该反应需要醛基，糖醇不能作为 PMP 衍生物进行分析。通过含肼试剂与碳水化合物还原端反应生成腙，该法反应效率高、后处理步骤简单、反应条件温和。以 Girard's T 和 Girard's P 为代表的肼试剂含有易电离的季铵基团，已被广泛用于单糖、寡糖和 *N*-聚糖的衍生[55]。基于腙形成的 2,4-二硝基苯肼（2,4-dinitrophenylhydrazone，DNPH）的衍生化法不仅限于还原糖，而且可以用于各种羰基化合物。由于反应在室温条件下可快速进行，且在反相条件下进行分离，因此 DNPH 衍生化是一种快速且易于应用的水样分离方法[56]。还原胺化法使用蚁酸或 2-氨基苯甲酰胺在碳水化合物的还原末端引入一个基团。该法通常需要在无水反应的条件下进行，并且需要在色谱分离前进行额外的纯化以去除多余的衍生试剂[57]。近期，基于肟形成的还原胺化反应备受关注。在水溶液条件下，含有羰基的醛、酮类化合物与羟胺作用可高效生成肟键[58]。随后，肟中间体被还原成单一的 *N*、*O*-取代氧胺产物。在还原阶段，通常会使用 2-甲基吡啶硼烷这种毒性小且稳定的还原剂。该法不仅可以生成稳定的衍生物，而且通常无需额外的纯化即可进行色谱分离[59]。使用基于肟形成的还原胺化的柱前衍生方法已成功用于高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）对 5 种标准单糖进行定性和定量分析[58]。Wang 等[60]提出了一种使用 H/D 标记的羟胺试剂的配对衍生化方法，可对 12 种单糖进行精准且高灵敏度的定量。大多数气相色谱（gas phase chromatography，GC）、HPLC 和毛细管电泳（capillary electrophoresis，CE）技术测定单糖组成时往往需要衍生化，但这一过程可能会导致单糖的损失。因此开发新的衍生化程序或新的检测方法来避免衍生化，可以大大提高多糖的单糖组成分析。乙酸乙腈法已广泛用于单糖组成分析的 GC/GC-MS 和 LC-MS/MS 方法中。该衍生过程对醛糖产生独特的峰，且氰基官能团非常稳定，易于形成，适用于单糖的定量分析；但并不适合分析酮[61]。至今，研究者一直在研究最佳衍生方法来检测不同的糖。其目的主要有以下几个方面：（1）简化衍生化过程；（2）提高回收率；（3）稳定衍生品；（4）减少有机试剂的使用。

目前已经发展了多种分析方法来确定多糖的单

糖组成，包括比色法、CE 结合多检测器分析及不同的色谱方法结合水解等。比色法可以在不进行水解的情况下快速获得总糖和糖醛酸含量的信息，但不能确定具体的单糖组成。而不同的色谱方法结合水解如薄层色谱、HPLC、高效阴离子交换色谱、GC 等结合各种检测器，如折射率（refractive index，RI）、紫外、脉冲电流检测（pulsed-amperometric detection，PAD）、二极管阵列检测器（diode-array detector，DAD）、质谱、荧光等检测器、ELSD 及带电气溶胶检测器也被广泛用于多糖的单糖组成分析。其中由于 HPLC 具有较高的灵敏度、选择性和多功能性，已成为多糖单糖成分分析中最主要的技术之一。其通过固定相和检测模式的结合，可同时测定中性、酸性和碱性多糖。当该仪器与 ELSD 和 RID 相结合时，可以在没有衍生化的情况下对单糖进行分析，但其检测灵敏度和分离效率较差。对于复杂的多糖，使用 PMP 柱前衍生化的 HPLC-MS 方法是一个很好的选择。近年来，HPAEC-PAD 直接用于单糖的检测，不需要衍生化，但检测时间较长，需要更加严格的条件。Zhao 等[61]研究了 16 种醛糖、酮糖、糖醇、氨基糖和糖醛酸对苯酚硫酸、咔唑硫酸和间羟基联苯等不同比色方法的影响并比较了高效薄层色谱（high performance thin layer chromatography，HPTLC）、HPLC-DAD 和 GC-MS 对不同单糖的适用性、操作时间、检测灵敏度和定量准确度，最后探讨了各方法的优缺点。结果表明，不同单糖显色能力对显色方法的检测精度有影响，以果糖和半乳糖醛为对照品时，结果更为准确和稳定。HPTLC 可以同时对多个样品进行直观分析，更适合单糖组成的初步测定和水解条件的优化。HPLC-DAD 结合 PMP 衍生化可以检测醛糖、氨基糖和糖醛酸，但不能检测果糖。所选的衍生方法结合 GC-MS 可以很好地分离醛糖、酮糖和糖醇，但不能测定糖醛酸和氨基糖。因此，要了解不同的单糖组成对不同方法检测结果的影响，对于更准确地探索中药多糖的结构具有重要意义。表 4 总结了不同的多糖单糖组成分析方法及其优缺点，各样品测定方法的选择应综合考虑。

1.3 中药多糖的糖苷键分析

中药多糖以其结构的多样性和复杂性而闻名，研究多糖结构-功效是赋予多糖多样结构的单一因素，如单糖组成、糖苷键、分支程度和相对分子质量等。在这些因素中，糖苷键（链上糖单元之间的连接类型）是决定多糖链局部构象的关键，进而影响其空间形态和生物活性。它们是由具有各种糖苷键 1→3、1→2、1→4 和 1→6 单糖组成的聚合物，

表 4 测定多糖单糖组成的方法及优缺点

Table 4 Methods for determining monosaccharide composition of polysaccharides and their advantages and disadvantages

分析方法	优缺点	文献	分析方法	优缺点	文献
HPLC-UV	简单、灵敏度较高	62	HPAEC-PAD	精度高、价格便宜、缓冲液相对安全，但系统平衡时间较长	72
HPLC-ELSD	无梯度洗脱作用，线性范围不理想	63			
HPLC-RI	经济、操作简单、不损坏样品，但检测灵敏度和分离效率较差	64	GC-MS	特异性强、分离效率高、灵敏度优异，但衍生过程较为复杂	73
HPLC-CAD	线性范围宽、分析速度快、无需求导，线性范围不理想	65	GLC-FID	分离效率高、灵敏度高，但样品会损失	74
			CE-UV	分辨率高、需样本量少，但衍生化较为耗时	75
HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS	可敏锐的识别和定量，设备要求高、程序复杂	66	CE-DAD	样品预处理步骤少、试剂消耗少，但需专用电子及毛细管	76
HPLC-FL	高灵敏度和选择性，限制使用范围，不可避免的副反应引起干扰	67	CE-LIF	工艺方便、线性好，但有衍生化的要求	77
			CE-ED/AD	速度快、灵敏度高、重现性好，但仅用于电活性分析物，需要有特殊电子和毛细管修饰	78
UPLC-MS/MS	分离效率高，仪器昂贵	68			
UHPLC-QTOF-MS	样本量小、运行时间短、灵敏度和选择性高，仪器昂贵	69	TLC	简单、经济，可用于定性分析，但重复性和准确性不理想，显影时间长，分辨率差	79
HPLC-PDA	程序繁琐，反应时间较长	70	HPTLC	操作方便、重现性好，但分析物会潜在氧化	80
GC-FID	普遍对有机物有反应，但样品制备费力	71	NMR	简便、准确的方法，但需用试剂较为昂贵	81

GLC-气-液色谱法；FL-荧光检测法；FID-氢火焰离子化检测器；DAD-二极管阵列检测器；LIF-激光诱导荧光检测器；ED-电化学检测器；AD-安培检测器。

GLC-gas-liquid chromatography; FL-fluorescent detection; FID-flame ionization detector; DAD-diode array detector; LIF-laser induced fluorescence detector; ED-electrochemical detector; AD-amperometric detector.

及 α 和 β 的不同构型。如 1,4-α-*D*-半乳糖醛酸连接对枸杞多糖促进巨噬细胞功能的作用有影响[82]。糖苷键的分析方法分为物理分析和化学分析 2 类[83]，化学分析常用于鉴定糖苷键的类型和比例、糖苷键位置及支链多糖的分支数目，如甲基化反应、Smith 降解法、酸水解法和高碘酸氧化法等。而物理分析不仅适用于确定中药多糖糖苷键类型和构型，还能确认多糖链上的取代基类型、连接顺序和重复单元等，如红外光谱、NMR 光谱、HPLC、GC 和质谱等。常用化学方法联合物理分析方法来分析鉴定糖苷键如部分酸水解后用电喷雾电离质谱法分析、甲基化后进行 GC-MS 分析、甲基化结合 PMP 衍生化后进行超高压液相色谱/三重四极杆质谱分析。其中，甲基化后的 GC-MS 分析被认为是多糖结构表征最有效的方法之一[84]。通常，多糖依次被甲基化、水解、还原和乙酰化以产生部分甲基化的醋酸糖醇，然后用 GC-MS 分析部分甲基化的糖醇乙酸酯。该方法已被广泛用于测定枸杞多糖的骨架结构，结果发现其主要由 1,3-β-*D*-吡喃半乳糖基残基、1,4-β-*D*-吡喃半乳糖基残基、1,6-β-*D*-吡喃半乳糖基残基、1,4-α-*D*-吡喃半乳糖醛酸残基和 1,5-α-*L*-阿拉伯呋喃糖基残基组成。虽然甲基化结合衍生化被广泛用于糖苷键分析，但它不能提供有关组成单糖的序列和糖苷键的异头构型的信息。

NMR 是一种强有力的多糖结构表征技术，已被广泛用于研究多糖的分子结构和构象，包括糖苷键的结构（α-或 β-）、模式和序列。结合一维光谱及同核和异核 2D NMR 光谱中的化学位移和耦合常数能够推断糖残基的连接和序列[85]。其原理是原子核在外磁场中将电磁波从一个自旋能级吸收到另一个自旋能级后所产生的吸收光谱。这种吸收光谱代表单个原子核及其周围环境的结构信息，以此来检测和分析化学位移和自旋耦合。此外，NMR 还应用于多糖的构象分析、定量分析、降解分析、多糖混合物相互作用分析及碳水化合物杂质分析。这是一种快速、可靠且无损的技术[86]。检测分析时，样品制备这一过程对于溶液态 NMR 研究多糖是至关重要的，建议使用纯多糖进行测定[87]。多糖中的质子通常需要在重水（D_2O）或二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）中通过增溶/冻干循环 3 次交换成氘原子。然后将其溶解在 D_2O 或 DMSO 中，并在分析之前转移到 NMR 管中。H_2O 和 HOD 的溶剂残留峰质子化学位移约为 4.79×10^{-6}，DMSO 质子和碳的化学位移分别为 2.56×10^{-6}、39.52×10^{-6}[88]。多糖结构的 NMR 分析通常包括 1D NMR 和 2D NMR 分析。1D NMR（^{1}H 和 ^{13}C-NMR）通常只能解析简单的多糖。糖残基中端基质子（H1）和端基碳（C1）的 α-或 β-构型在 ^{1}H 和 ^{13}C-NMR 光谱中都可以被识别。在大多数情况下，α-构型的头端区出现在 δ_H5.1～5.8（端基质子）和 δ_C98～103（端基碳），而 β-构型相对对应于 δ_H4.3～4.8 和 δ_C103～106 的端基区。但是，以上规律不适用于某些含有类似质子偶联常数的单糖，如甘露糖和鼠李糖[89]。在 ^{13}C-NMR 光谱中，多糖的化学位移从 0～1.8×10^{-4}，其范围更广。C-2～C-6 的化学位移为 5.7×10^{-5}～8.7×10^{-5}[90]。由于 ^{1}H-NMR 谱的局限性和 ^{13}C-NMR 谱信号较弱，2D NMR 技术在多糖结构分析中具有重要作用。2D NMR 可使多糖的 H 和 C 得以更准确的归属。该方法中重要的化学位移相关谱可得出远程异核耦合的关系，从而判断出碳氢之间的相互关系。其中，含自旋耦合的同核化学位移 ^{1}H-^{1}H 相关光谱反映了糖残基中相邻质子的相关性。全相关谱利用自旋锁定过程中的各向同性混合条件，使完整耦合自旋链上的所有氢原子核间产生交叉峰，从而进行结构鉴定[89]。为了确定多糖中糖残基的序列，首选远程 ^{1}H-^{1}H 相关核欧佛豪瑟效应频谱（nuclear overhauser effect spectroscopy，NOESY）或 ^{1}H 和 ^{13}C 相关的异核多碳相关谱（heteronuclear multiple bond correlation，HMBC）。NOSEY 揭示的是质子与质子间在空间的相互接近关系[88]，HMBC 图谱可用于确定相邻糖残基之间的连接关系，反映质子与碳之间 2 或 3 个键距离的远程偶合。然而，HMBC 需要更多的扫描时间和样品浓度。随着 2D NMR 的快速发展，其不仅提高了谱峰的分辨率，而且可以提供多糖结构中单糖残基的类型、各糖残基中 C、H 化学位移归属及各糖残基间的连接位置和连接顺序等诸多信息，甚至还可提供某些多糖结构的全部信息。Lv 等[91]通过 NMR 探究了茯苓水溶性多糖的骨架结构，结果表明该多糖是具由 1,3-β-*D*-Glc 和 1,6-β-*D*-Glc 为主的葡聚糖和以 1,6-α-*D*-Gal 为主的异半乳糖骨架。然而，结构复杂和高黏度的多糖仍然是 NMR 分析的巨大障碍。为了最大限度地提高结构解析能力，NMR 技术需要提高分辨率和灵敏度。并且 NMR 分析仍具有局限性，其数据通常需要甲基化等结果的支持。因此，后期应建立多糖（或糖残基）结构的 NMR 数据库将有助于对未知化合物的鉴定。

2 中药多糖质量评价

近些年，由于中药多糖具有很强的生物活性，因此多糖类大分子的开发和研究受到研究者广泛关注的同时也备受消费者青睐。鉴于多糖的生物学活性与其结构特征息息相关，且中药多糖的质量控制对确保其有效性和安全性至关重要，因此对中药多糖及其相关制品的质量控制及品质评价是十分必要的。目前中药多糖的研究层次与水平还远远落后于蛋白质和核酸及其他小分子化合物，所以对中药多糖的定性和定量分析仍是亟需解决的问题。

2.1 中药多糖定量分析

中药多糖的定量分析主要集中在对总碳水化合物和糖醛酸的定量。目前其分析方法主要分为多糖的直接含量测定和水解后单糖的含量测定。前者是指以单糖或多糖为对照品直接测出多糖的含量，常用的方法主要有紫外-可见分光光度法、高效凝胶渗透色谱法、近红外光谱法和碘量法。而后者通过将多糖水解后，检测多糖水解后单糖的含量，以单糖含量之和作为多糖含量，常用的方法主要有 HPLC 法、GC 法和离子色谱法。多糖的直接含量测定中显色反应后的紫外-可见分光光度法为最常用的定量分析方法，包括咔唑硫酸法、间羟基联苯法、3,5-二硝基水杨酸-硫酸测定法、地衣酚-盐酸法、苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法[92]。咔唑硫酸法和间羟基联苯法主要是针对糖醛酸的定量，因为前者在测定糖醛酸含量时，受中性多糖的干扰严重，所以后者是糖醛酸定量最常用的方法。地衣酚-盐酸法主要用于含戊聚糖的中药，二硝基水杨酸测定法主要用于含有还原糖的中药。蒽酮-硫酸法可测定还原糖和总糖含量，并通过总糖减去还原糖，可获得多糖含量。该法简便、快速，适用于大量样品的测定，但其稳定性较差。而苯酚-硫酸法可测定甲基化的糖、戊糖和多聚糖，具有操作简单、快速、重复性好，显色后稳定性较好等优点，是最常用的一种方法[93]。然而，由于中药多糖的单糖成分复杂，各种单糖对比色的响应度不同，当以葡萄糖作为单一参考标准时，苯酚-硫酸法的准确性受到众多研究者的质疑。Cheong 等[94]开发了一种不需要对照品和标准曲线就可以定量多糖的方法，采用高效尺寸排阻色谱法与多角度激光散射和折射率检测器结合使用对特定多糖进行分析，利用高效尺寸排阻色谱对多糖进行分离，凭借多角度激光散射仪测定不同馏份的相对分子质量，最后利用多糖对示差折射率检测器的浓度响应及多糖比折光指数增量对其进行量化。该研究通过对人参、三七和西洋参总多糖（淀粉和特异性多糖）、特异性多糖（淀粉酶处理）及其不同组分进行定量分析，结果得出，HPSEC-MALLS-RID 方法不仅可以得到特定多糖的相对分子质量，而且可以得到其不同多糖的含量 *M*w 馏份，是比色法如苯酚硫酸法和咔唑硫酸法无法实现的。该方法不仅能够保证人参属中特定多糖的质量，而且对其功能性食品的质量控制也具有重要作用。

水解后单糖的含量测定是将中药多糖通过水解后得到各种单糖，再经过衍生化后，通过 HPLC 法或 GC 法对相应的单糖进行定量，从而间接反映多糖含量。该方法中最重要的环节在于多糖水解和衍生化条件。水解方法有酸水解、酶解法、氧化降解法、超声降解法和辐射降解法等，其中前二者为常用方法。衍生化试剂有 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮、2-氨基吡啶、对氨基苯甲酸酯、8-萘胺-1,3,6-三磺酸和苯甲酰氯。因 PMP 衍生可同时测定酸性、中性和碱性多糖，所以为最常用的衍生化试剂。刘宇等[95]采用外标一点法结合 PMP 柱前衍生化 HPLC 法，测定了酸枣仁汤多糖水解后所得的 4 种单糖 2 种糖醛酸的含量。孙莲等[96]采用三氟乙酸水解多糖，水解产物用盐酸羟胺、吡啶和醋酸酐衍生化，GC 法测定桑枝单糖组成及含量。结果表明该多糖是由鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖等组成的。得到了该方法简便、灵敏、准确可靠的结论。GC 测定需要衍生化处理，检测干扰少、灵敏度高、重现性好，但需注意载气的体积流量对各色谱峰分离度的影响，以确保结果的准确性。在以上方法的基础上也逐渐出现了许多改进的方法，如不需要 PMP 衍生，水解后直接测定单糖的高效液相联合蒸发光检测器或离子色谱法。颉东妹等[97]构建了一种微波消解-离子色谱法测定枸杞多糖的含量及组成的方法，大大缩短了多糖水解的时间，并且具有良好的精密度和重现性。NMR 因其残留物中的信号峰面积与共振核的数量成正比，所以可以量化多糖中糖残基的相对含量。根据内部标准，它可用于定量分析，无需校准或复杂的样品制备条件。Schievano 等[98]利用 NMR 定量了蜂蜜中常见的 22 种糖，其中包含了 4 种单糖、11 种双糖及 7 种三糖，最终得出该方法可以有效替代传统的碳水化合物鉴定和定量方法。NMR 在定量分析中提供了更高的光谱处理速度和更少的操作误差。多糖普遍存在于中药中，是中药有效

成分之一，其生物活性与其相对分子质量和含量密切相关。因此，准确定量中药多糖及其不同组分的含量对提高中药多糖的质量控制具有重要意义。

2.2 中药多糖定性分析

控制中药多糖质量必不可少的一步是识别和进一步表征其结构。迄今为止，对中药多糖的表征主要集中在纯度、相对分子质量、组成单糖和糖苷键的特征上。为了确定目标多糖片段，对其进行完整的结构表征是非常必要的。但由于以上方法操作复杂、所需时间较长、重复性差及检测成本昂贵等因素，导致将上述指标作为中药多糖常规质量控制策略显然是不现实的。目前除根据中药自身的性状和显微特征进行的定性鉴别外，中药指纹图谱及糖图谱是中药及其提取物质量控制的主要手段[99]。该方法是通过多批次中药多糖分析而获取的共性信息建立的图谱，目前主要以多糖整体结构特征和单糖组成为依据建立。该方法因其模糊性及整体性而受到各地学者的一致认可。Wang 等[100]于 2013 年第一次将多元指纹图谱应用于中药多糖的质控评价。因为绝大多数多糖的单糖组成类型及含量不同，因此，用多糖水解后的单糖指纹图谱作为中药多糖质量控制的手段是一条行之有效的方法。黄春跃等[101]建立了淫羊藿多糖酸水解的柱前衍生化单糖 HPLC 指纹图谱方法。该研究通过采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2012 年版，建立了 40 批淫羊藿样品的共有指纹图谱，确立了 10 个共有峰，通过与对照品比对，指认了 8 个共有峰，分别为 *D*-甘露糖、*D*-葡萄糖醛酸、鼠李糖等。通过相似度结合正交偏最小二乘法，对 7 批巫山淫羊藿进行分析。结果表明相似度小于 0.9，并得到 4 个差异单糖成分。该研究建立的指纹图谱方法简单、易操作，为淫羊藿药材的质量评价提供参考。高莹等[102]也通过以上方法建立了人参多糖成分的 HPLC 指纹图谱，并用于其多糖成分的质量控制。表 5 总结了近年来用于建立中药多糖指纹图谱的相关技术方法及其特点，各中药多糖样品测定方法的选择应综合考虑。

表 5 建立中药多糖指纹图谱的相关技术方法及其特点

Table 5 Relevant technical methods and their characteristics for establishing fingerprints of polysaccharides in traditional Chinese medicine

分析方法	特点	多糖来源	文献
HPSEC-MALLs、HPESC-ELSD、HPSEC-RID	呈现出的多糖谱图过于简单，无法体现多糖之间的细微差别	枸杞、灵芝、地黄多糖	14,103-104
PMP-HPLC 结合化学计量学	绝大多数多糖的单糖组成类型及含量不同，用多糖水解后的单糖指纹图谱作为中药多糖质量控制的手段是一条行之有效的方法	灵芝多糖	99
HPLC-MS/MS	将多糖降解为寡糖，对寡糖进行鉴定与表征，再将其作为标记物进行母多糖的质量检测与控制；其特异性更高、可信度更强，可反映完整多糖组分的差异	铁皮石斛多糖	105
HILIC-ESI-MS	灵敏度高，适用于中药多糖的质量控制，但多糖酸水解会导致部分糖链信息丢失	五味子多糖	106
HPLC-QTOF-MS	一种温和的氧化降解方法，用于多糖解聚获取完整寡糖片段，可通过将鉴定的寡糖与标准多糖产生的寡糖标记物数据库进行比对来实现多糖的快速鉴定	南瓜多糖	107
DART-MS	一种基于机械化学提取和实时直接分析质谱的简单、快速、高通量中药多糖分析方法，可对不同中药及相同中药不同药用部位多糖进行精准识别	植物多糖	108
PACE&HPTLC	稳定性高、重复性好、分辨率好，并且可多个样品同时分析	三七、当归、黄芪、枸杞多糖	109
MALDI-TOF MS	根据质谱中存在的显著差异标记 *m*/*z* 值，可以识别杂多糖中存在的不同多糖类别	植物多糖	110
CE	与紫外光谱、红外光谱、HPLC 相比，CE 具有柱效高、峰容量大、样品前处理简单等优点	复方板蓝根颗粒多糖	111
基于色谱和光谱技术的多糖多重指纹分析	多种指纹图谱与模式识别分析相结合，不仅可以用于中药多糖的结构解析，而且可以从生物多糖的角度进行中药的质量分析和种类区分	木耳多糖	35
NMR	具有灵敏度、通用性和无损性，可用于快速筛选药用植物中的多糖	黄芪多糖	112
HILIC-ELSD/ESI-TOF/MS	HILIC 包含极性固定相，可以在等压洗脱或梯度洗脱模式下与 ELSD 偶联，无需使用其他添加剂和衍生化，该方法灵敏度高并可使用简单的洗脱相	灵芝多糖	113

DART-MS-实时直接分析质谱；PACE&HPTLC-碳水化合物凝胶电泳分析法和高效薄层色谱分析；HILIC-ELSD/ESI-TOF/MS-亲水色谱-蒸发光散射检测器/电喷雾飞行时间质谱。

DART-MS-direct analysis in real-time mass spectrometry; PACE&HPTLC-polysaccharide analysis using carbohydrate gel electrophoresis & high performance thin layer chromatography; HILIC-ELSD/ESI-TOF/MS-hydrophilic interaction chromatography-evaporative light scattering detector/electrospray ionization-time of flight tandem mass spectrometry.

3 结语与展望

多糖普遍存在于中药中，是中药有效成分之一。其化学结构十分复杂，易受多种因素的影响，如糖苷键连接方式、单糖的类型及异头碳构型等。由于中药多糖显著广泛的生物活性及巨大的健康益处，研究者对其研究不断深入的同时，对多糖质控标准的要求也在不断提高。其质量控制及评价体系的建立不仅是保证中药多糖类产品疗效和生产工艺稳定的重要前提而且也是确保其有效性和安全性的必要条件。中药多糖的结构鉴定及定量定性分析对其质量控制具有重要意义且是其早日进入临床应用的关键科学问题之一。近年来，国内外学者研究出了多种关于中药多糖的结构表征方法和定性定量分析技术（图 2）。虽然目前少部分

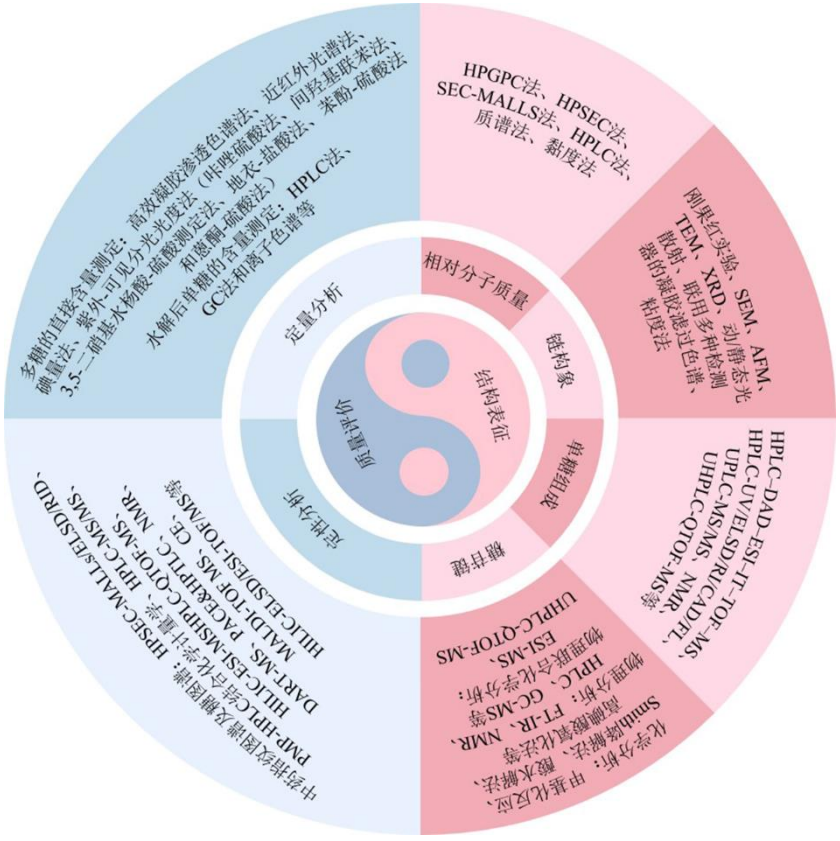


图 2 中药多糖结构表征及质量评价示意图

Fig. 2 Schematic diagram of structural characterization and quality evaluation of traditional Chinese medicine polysaccharides

中药多糖的结构特征得到了较广泛的研究，但是仍有很多中药多糖因组分较多、结构复杂，研究尚不充分，尤其在其高级结构和精准定性定量分析方面依旧困难重重。主要表现在以下几个方面：（1）中药多糖活性部位或组分的精准制造技术尚未开发；（2）中药多糖特征成分（糖苷键、寡糖片段等）精细结构及构效关系尚未明晰；（3）基于药理作用的中药多糖质量控制与产区溯源体系尚未完善；（4）目前中药多糖质量控制及评价方法多存在专属性和准确性不佳的情况。因此，基于以上不足，可以采取以下改进措施：（1）开发新的分析技术以提高多糖结构的解析效率和准确性；（2）进一步加强探究对中药多糖高级结构解析的相关技术；（3）可以联用多种分析方法以提高多糖结构表征的准确性和专属性，如计算机辅助液态核磁图谱解析技术；（4）可使用计算化学对中药多糖及其衍生物的结构进行分析。通过计算机模拟和计算，可以准确地知道多糖的结构，并根据结构知道多糖的性质；（5）建立多糖结构数据库，为多糖结构解析提供参考和借鉴；（6）对中药多糖构效关系的研究不应该只集中在相对分子质量、取代官能团和单糖组成上，未来应对多糖活性片段进行深入研究；（7）应建立完善的中药多糖质量评价体系，制定统一的中药多糖质量评价标准和规范。因此，开展中药多糖的结构表征、活性挖掘、质量控制等方面的研究仍然迫在眉睫。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 方积年, 丁侃. 天然药物: 多糖的主要生物活性及分离纯化方法 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 338-347.

[2] 郑怡菲, 李涛, 赵余庆. 人参有效成分抗疲劳作用机制的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(11): 2496-2504.

[3] 舍雅莉, 刘永琦, 孙少伯, 等. 黄芪多糖对甲醛染毒人骨髓间充质干细胞 DNA 损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2928-2933.

[4] 王江侠, 杨丽霞, 米登海, 等. 当归多糖对糖尿病肾病 KK-Ay 小鼠肾脏 AMPK 信号通路及线粒体自噬的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3189-3196.

[5] 潘云霞, 焦卓亚, 彭灿, 等. 灵芝多糖调控抗氧化因子表达抑制乳腺癌恶性表型研究 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7440-7448.

[6] 王皓南, 范晶, 余坤子, 等. 霍山石斛多糖的结构分析、生物活性研究进展及与不同种间多糖成分差异性分析 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 5044-5056.

[7] 黄文琪, 郑剑斌, 王睿, 等. 银耳多糖对益生菌发酵驼乳改善小鼠免疫和肠道黏膜屏障功能的影响 [J]. 食品科学, 2024, 45(12): 157-164.

[8] 王迪, 李钧, 侯兵乔, 等. 中药多糖对肿瘤微环境中免疫细胞调节作用研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(13): 4346-4358.

[9] 张瑛毓, 刘雨培, 孙晶, 等. 植物多糖抗抑郁作用机制和构效关系的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(6): 1517-1524.

[10] 李咸慰, 宋沁洁, 杨新荣, 等. 板蓝根多糖抗病毒作用及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6227-6233.

[11] Kang Q Z, Chen S S, Li S F, *et al*. Comparison on characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* by ultrasound and conventional extraction [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 124: 1137-1144.

[12] Zheng C P, Dong Q, Chen H J, *et al*. Structural characterization of a polysaccharide from *Chrysanthemum morifolium* flowers and its antioxidant activity [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 130: 113-121.

[13] Zhang Y, Chen Z H, Huang Z, *et al*. A comparative study on the structures of *Grifola frondosa* polysaccharides obtained by different decolourization methods and their *in vitro* antioxidant activities [J]. *Food Funct*, 2019, 10(10): 6720-6731.

[14] Liu W, Liu Y M, Zhu R, *et al*. Structure characterization, chemical and enzymatic degradation, and chain conformation of an acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* L [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 147: 114-124.

[15] Wu D T, Lam S C, Cheong K L, *et al*. Simultaneous determination of molecular weights and contents of water-soluble polysaccharides and their fractions from *Lycium barbarum* collected in China [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 129: 210-218.

[16] Ma Z Y, Sun Q Y, Chang L L, *et al*. A natural anti-obesity reagent derived from sea buckthorn polysaccharides: Structure characterization and anti-obesity evaluation *in vivo* [J]. *Food Chem*, 2022, 375: 131884.

[17] Liu M P, Wang Y, Wang R, *et al*. Structural characterization, physicochemical property, and antioxidant activity of polysaccharide components from *Eucommia ulmoides* leaves [J]. *Chem Biol Technol Agric*, 2023, 10(1): 122.

[18] Sun Y X, Liu J C. Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the roots of *Codonopsis pilosula* and its immunity activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2008, 43(3): 279-282.

[19] Chang S C, Hsu B Y, Chen B H. Structural characterization of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* and evaluation of antioxidant activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 47(4): 445-453.

[20] Han X Q, Chan B C L, Yu H, *et al*. Structural characterization and immuno-modulating activities of a polysaccharide from *Ganoderma sinense* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51(4): 597-603.

[21] Zhu Z Y, Liu X C, Fang X N, *et al*. Structural characterization and anti-tumor activity of polysaccharide produced by *Hirsutella sinensis* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 82: 959-966.

[22] Feng L, Yin J Y, Nie S P, *et al*. Enzymatic purification and structure characterization of glucuronoxylan from water extract of *Cassia obtusifolia* seeds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 107(Pt B): 1438-1446.

[23] Zhang Q, Xu Y, Lv J J, *et al*. Structure characterization of two functional polysaccharides from *Polygonum multiflorum* and its immunomodulatory [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 113: 195-204.

[24] Li B, Zhang N, Feng Q S, *et al*. The core structure characterization and of ginseng neutral polysaccharide with the immune-enhancing activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 713-722.

[25] He P, Dong Z, Wang Q, *et al*. Structural characterization and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Eurycoma longifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(2): 169-176.

[26] Yang X Q, Wu Y H, Zhang C, *et al*. Extraction, structural characterization, and immunoregulatory effect of a

polysaccharide fraction from *Radix Aconiti Lateralis Preparata* (Fuzi) [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 143: 314-324.

[27] He Y F, Xu W Z, Qin Y M. Structural characterization and neuroprotective effect of a polysaccharide from *Corydalis yanhusuo* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 157: 759-768.

[28] Tian W T, Zhang X W, Liu H P, *et al*. Structural characterization of an acid polysaccharide from *Pinellia ternata* and its induction effect on apoptosis of HepG2 cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153: 451-460.

[29] Abuduwaili A, Nuerxiati R, Mutailifu P, *et al*. Isolation, structural modification, characterization, and bioactivity of polysaccharides from *Folium Isatidis* [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 176: 114319.

[30] Dairi N, Ferfera-Harrar H, Ramos M, *et al*. Cellulose acetate/AgNPs-organoclay and/or thymol nano-biocomposite films with combined antimicrobial/ antioxidant properties for active food packaging use [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 508-523.

[31] Wu Y B, Liu C, Jiang Y Q, *et al*. Structural characterization and hepatoprotective effects of polysaccharides from *Anoectochilus zhejiangensis* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 198: 111-118.

[32] Su W W, Wu L L, Liang Q C, *et al*. Extraction optimization, structural characterization, and anti-hepatoma activity of acidic polysaccharides from *Scutellaria barbata* D. Don [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 827782.

[33] Li K, Cao Y X, Jiao S M, *et al*. Structural characterization and immune activity screening of polysaccharides with different molecular weights from *Astragali Radix* [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 582091.

[34] Fan H T, Sun M, Li J, *et al*. Structure characterization and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Saposhnikoviae Radix* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 233: 123502.

[35] Shao S Y, Si X L, Zhang Y T, *et al*. Multiple fingerprint and pattern recognition analysis on polysaccharides of four edible mushrooms [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 259(Pt 2): 129236.

[36] 丁侃. 中药多糖结构与功能及其机制 [M]. 北京: 科学出版社, 2016: 42.

[37] Zhang J J, Li Y, Li Y J, *et al*. Structure, selenization modification, and antitumor activity of a glucomannan from *Platycodon* grandiflorum [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 220: 1345-1355.

[38] Zhou S Y, Wang X Q, Jiang W M, *et al*. Preparation, structural characterization and *in vitro* activity of ginger polysaccharide [J]. *Chem Biol Technol Agric*, 2023, 10(1): 126.

[39] Li W, Zhang Y Q, Zhao X T, *et al*. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of *Platycodon* grandiflorum polysaccharides and evaluation of its structural, antioxidant and hypoglycemic activity [J]. *Ultrason Sonochem*, 2023, 100: 106635.

[40] Shan S, Xiong Y, Guo J G, *et al*. Effect of an inulin-type fructan from *Platycodon* grandiflorum on the intestinal microbiota in rats exposed to $PM_{2.5}$ [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 283: 119147.

[41] Cheng G D, Zhang S J, Lv M Y, *et al*. The surface morphology of *Platycodon grandiflorus* polysaccharide and its anti-apoptotic effect by targeting autophagy [J]. *Phytomedicine*, 2022, 103: 154212.

[42] Ma Z C, Wang J G, Zhang L N. Structure and chain conformation of beta-glucan isolated from *Auricularia auricula*-judae [J]. *Biopolymers*, 2008, 89(7): 614-622.

[43] Meng Y, Shi X D, Cai L Q, *et al*. Triple-*Helix* conformation of a polysaccharide determined with light scattering, AFM, and molecular dynamics simulation [J]. *Macromolecules*, 2018, 51(24): 10150-10159.

[44] Akbari-Alavijeh S, Soleimanian-Zad S, Sheikh-Zeinoddin M, *et al*. Pistachio hull water-soluble polysaccharides as a novel prebiotic agent [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 107(Pt A): 808-816.

[45] Wang Z C, Liu X Y, Bao Y R, *et al*. Characterization and anti-inflammation of a polysaccharide produced by *Chaetomium globosum* CGMCC 6882 on LPS-induced RAW264.7 cells [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 251: 117129.

[46] Yu C X, Ahmadi S, Shen S H, *et al*. Structure and fermentation characteristics of five polysaccharides sequentially extracted from sugar beet pulp by different methods [J]. *Food Hydrocoll*, 2022, 126: 107462.

[47] Wang Q, Zhou X Y, Gou H Q, *et al*. Antibacterial activity of a polysaccharide isolated from *Artemisia argyi* leaf against *Staphylococcus aureus* and mechanism investigation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 253(Pt 1): 126636.

[48] Gao Z X, Wu C C, Wu J R, *et al*. Antioxidant and anti-inflammatory properties of an aminoglycan-rich exopolysaccharide from the submerged fermentation of *Bacillus thuringiensis* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 220: 1010-1020.

[49] Shi H F, Wan Y J, Li O Y, *et al*. Two-step hydrolysis method for monosaccharide composition analysis of natural polysaccharides rich in uronic acids [J]. *Food Hydrocoll*, 2020, 101: 105524.

[50] De Ruiter G A, Schols H A, Voragen A G, *et al*. Carbohydrate analysis of water-soluble uronic acid-containing polysaccharides with high-performance anion-exchange chromatography using methanolysis combined with TFA hydrolysis is superior to four other methods [J]. *Anal Biochem*, 1992, 207(1): 176-185.

[51] He Y L, Zhang M, Shan M, *et al*. Optimizing microwave-assisted hydrolysis conditions for monosaccharide composition analyses of different polysaccharides [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118(Pt A): 327-332.

[52] Zhang M, Zhang Y R, Ma X X, *et al*. Using a PCR instrument to hydrolyze polysaccharides for monosaccharide composition analyses [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 240: 116338.

[53] Fang J J, Qin G C, Ma J, *et al*. Quantification of plant cell wall monosaccharides by reversed-phase liquid chromatography with 2-aminobenzamide pre-column derivatization and a non-toxic reducing reagent 2-picoline borane [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1414: 122-128.

[54] Bai W D, Fang X D, Zhao W H, *et al*. Determination of oligosaccharides and monosaccharides in *Hakka* rice wine by precolumnderivation high-performance liquid chromatography [J]. *J Food Drug Anal*, 2015, 23(4): 645-651.

[55] Zhang H, Shi X D, Vu N Q, *et al*. On-tissue derivatization with girard's reagent P enhances *N*-glycan signals for formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections in MALDI mass spectrometry imaging [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(19): 13361-13368.

[56] Haas M, Lamour S, Trapp O. Development of an advanced derivatization protocol for the unambiguous identification of monosaccharides in complex mixtures by gas and liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1568: 160-167.

[57] Stepan H, Staudacher E. Optimization of monosaccharide determination using anthranilic acid and 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone for gastropod analysis [J]. *Anal Biochem*, 2011, 418(1): 24-29.

[58] Ding M M, Guan Z B, Cai H W, *et al*. Reductive oxyamination: A method for the qualitative and quantitative analysis of monosaccharides with a new aminooxy reagent using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(1): 79-89.

[59] Sato S, Sakamoto T, Miyazawa E, *et al*. One-pot reductive amination of aldehydes and ketones with α-picoline-borane in methanol, in water, and in neat conditions [J]. *Tetrahedron*, 2004, 60(36): 7899-7906.

[60] Wang S L, Wang Y, Wu L, *et al*. Paired derivatization approach with H/D-labeled hydroxylamine reagents for sensitive and accurate analysis of monosaccharides by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2022, 94(8): 3590-3599.

[61] Zhao M J, Kuang F Y, Zhang Y Y, *et al*. Effects of hydrolysis condition and detection method on the monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources [J]. *Separations*, 2023, 11(1): 2.

[62] Zhang F, Zhang X, Guo S, *et al*. An acidic heteropolysaccharide from *Lycii fructus*: Purification, characterization, neurotrophic and neuroprotective activities *in vitro* [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 249: 116894.

[63] Wu S W, Fu X, You L J, *et al*. Antioxidant, antitumor and immunomodulatory activities of water-soluble polysaccharides in *Abrus* cantoniensis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 89: 707-716.

[64] Kazemi M, Khodaiyan F, Labbafi M, *et al*. Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties [J]. *Food Chem*, 2019, 271: 663-672.

[65] Yan J, Shi S S, Wang H W, *et al*. Neutral monosaccharide composition analysis of plant-derived oligo- and polysaccharides by high performance liquid chromatography [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 136: 1273-1280.

[66] Guo N, Bai Z L, Jia W J, *et al*. Quantitative analysis of polysaccharide composition in *Polyporus umbellatus* by HPLC-ESI-TOF-MS [J]. *Molecules*, 2019, 24(14): 2526.

[67] Zhang S J, Li C L, Zhou G Y, *et al*. Determination of the carbohydrates from *Notopterygium forbesii* Boiss by HPLC with fluorescence detection [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 97(2): 794-799.

[68] Gao Y Y, Jiang Y, Chen G C, *et al*. A sensitive and rapid UPLC-MS/MS method for determination of monosaccharides and anti-allergic effect of the polysaccharides extracted from *Saposhnikoviae radix* [J]. *Molecules*, 2018, 23(8): 1924.

[69] Liao J Z, Li C Y, Huang J, *et al*. Structure characterization of honey-processed *Astragalus* polysaccharides and its anti-inflammatory activity *in vitro* [J]. *Molecules*, 2018, 23(1): 168.

[70] Liu J, Shang F N, Yang Z M, *et al*. Structural analysis of a homogeneous polysaccharide from *Achatina fulica* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 98: 786-792.

[71] Gu J Y, Zhang H H, Zhang J X, *et al*. Preparation, characterization and bioactivity of polysaccharide

fractions from *Sagittaria sagittifolia* L [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 229: 115355.

[72] Yin J Y, Ma L Y, Xie M Y, *et al*. Molecular properties and gut health benefits of enzyme-hydrolyzed konjac glucomannans [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 237: 116117.

[73] Dammak M I, Salem Y B, Belaid A, *et al*. Partial characterization and antitumor activity of a polysaccharide isolated from watermelon rinds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 136: 632-641.

[74] Makarova E N, Shakhmatov E G. Characterization of pectin-xylan-glucan-arabinogalactan proteins complex from Siberian fir *Abies sibirica* Ledeb [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 260: 117825.

[75] Guo H Z, Liu F L, Jia G Y, *et al*. Extraction optimization and analysis of monosaccharide composition of fucoidan from *Saccharina japonica* by capillary zone electrophoresis [J]. *J Appl Phycol*, 2013, 25(6): 1903-1908.

[76] You J M, Sheng X, Ding C X, *et al*. Detection of carbohydrates using new labeling reagent 1-(2-naphthyl)-3-methyl-5-pyrazolone by capillary zone electrophoresis with absorbance (UV) [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 609(1): 66-75.

[77] Ruiz-Calero V, Puignou L, Galceran M T. Determination of glycosaminoglycan monosaccharides by capillary electrophoresis using laser-induced fluorescence detection [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 791(1/2): 193-202.

[78] Wang Q J, Yu H, Zong J, *et al*. Determination of the composition of Chinese ligustrum lucidum polysaccharide by capillary zone electrophoresis with amperometric detection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 31(3): 473-480.

[79] Bayar N, Friji M, Kammoun R. Optimization of enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus* indica cladodes after mucilage removal [J]. *Food Chem*, 2018, 241: 127-134.

[80] Deng Y, Han B X, Hu D J, *et al*. Qualitation and quantification of water soluble non-starch polysaccharides from *Pseudostellaria heterophylla* in China using saccharide mapping and multiple chromatographic methods [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 199: 619-627.

[81] de Souza A C, Rietkerk T, Selin C G M, *et al*. A robust and universal NMR method for the compositional analysis of polysaccharides [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 95(2): 657-663.

[82] Lim S J, Wan Aida W M, Maskat M Y, *et al*. Characterisation of fucoidan extracted from Malaysian *Sargassum binderi* [J]. *Food Chem*, 2016, 209: 267-273.

[83] 田华, 张义明. 多糖的结构测定及应用 [J]. 中国食品添加剂, 2012(2): 177-181.

[84] Yang L Q, Zhang L M. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources [J]. *Carbohydr Polym*, 2009, 76(3): 349-361.

[85] Yao H Y Y, Wang J Q, Yin J Y, *et al*. A review of NMR analysis in polysaccharide structure and conformation: Progress, challenge and perspective [J]. *Food Res Int*, 2021, 143: 110290.

[86] Foster H M, Nilsson M, Adams R W, *et al*. Universally quantitative band-selective pure shift nmr spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 2024, 96(23): 9601-9609.

[87] Wang Y X, Yin J Y, Zhang T, *et al*. Utilizing relative ordered structure theory to guide polysaccharide purification for structural characterization [J]. *Food Hydrocoll*, 2021, 115: 106603.

[88] Rodríguez Sánchez R A, Matulewicz M C, Ciancia M. NMR spectroscopy for structural elucidation of sulfated polysaccharides from red seaweeds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 199: 386-400.

[89] Agrawal P K. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(10): 3307-3330.

[90] Agrawal P K, Jain D C, Gupta R K, *et al*. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(11): 2479-2496.

[91] Lv Y Z, Yang Y J, Chen Y, *et al*. Structural characterization and immunomodulatory activity of a water-soluble polysaccharide from *Poria cocos* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 261(Pt 2): 129878.

[92] 王莹, 金红宇, 丁侃, 等. 中药多糖质量控制体系初探 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41(10): 1670-1680.

[93] 刘晓涵, 陈永刚, 林励, 等. 蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定枸杞子中多糖含量的比较 [J]. 食品科技, 2009, 34(9): 270-272.

[94] Cheong K L, Wu D T, Zhao J, *et al*. A rapid and accurate method for the quantitative estimation of natural polysaccharides and their fractions using high performance size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering and refractive index detector [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1400: 98-106.

[95] 刘宇, 娄燕, 张耀文, 等. 柱前衍生 HPLC 分析酸枣仁汤中多糖的单糖组成 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 121-126.

[96] 孙莲, 孟磊, 阿布都许库尔·吐尔逊. 气相色谱法测定新疆桑枝多糖中单糖组成及含量 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(19): 6207-6208.

[97] 颉东妹, 王宁丽, 刘笑笑, 等. 微波消解-离子色谱法测

定枸杞多糖的含量及组成 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1065-1072.

[98] Schievano E, Tonoli M, Rastrelli F. NMR quantification of carbohydrates in complex mixtures. A challenge on honey [J]. *Anal Chem*, 2017, 89(24): 13405-13414.

[99] Sun X M, Wang H H, Han X F, *et al*. Fingerprint analysis of polysaccharides from different *Ganoderma* by HPLC combined with chemometrics methods [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 114: 432-439.

[100] Wang Y F, Xian J H, Xi X G, *et al*. Multi-fingerprint and quality control analysis of tea polysaccharides [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(1): 583-590.

[101] 黄春跃, 杨子璇, 孙宜春,等. 基于 PMP 柱前衍生化-HPLC 法的淫羊藿多糖的单糖指纹图谱研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2024, 55(1): 81-88.

[102] 高莹, 王本伟, 逯海燕, 等. 人参多糖成分的含量和指纹图谱研究 [J]. 食品与药品, 2023, 25(5): 403-408.

[103] Xie J, Zhao J, Hu D J, *et al*. Comparison of polysaccharides from two species of *Ganoderma* [J]. *Molecules*, 2012, 17(1): 740-752.

[104] 张丽先, 宁二娟, 李智宁, 等. 地黄炮制过程中 HPLC-RID 指纹图谱及模式识别研究 [J]. 湖北农业科学, 2022, 61(23): 93-96.

[105] Ma H Y, Zhang K K, Jiang Q, *et al*. Characterization of plant polysaccharides from *Dendrobium officinale* by multiple chromatographic and mass spectrometric techniques [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1547: 29-36.

[106] Li X, Liang J, Zhang D Y, *et al*. Low-polymerization compositional fingerprinting for characterization of *Schisandra* polysaccharides by hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 185: 983-996.

[107] Nandita E, Bacalzo N P Jr, Ranque C L, *et al*. Polysaccharide identification through oligosaccharide fingerprinting [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 257: 117570.

[108] Ma H Y, Jiang Q, Dai D Y, *et al*. Direct analysis in real time mass spectrometry for characterization of large saccharides [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(5): 3628-3636.

[109] Wu D T, Cheong K L, Deng Y, *et al*. Characterization and comparison of polysaccharides from *Lycium barbarum* in China using saccharide mapping based on PACE and HPTLC [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 134: 12-19.

[110] Pandeirada C O, Hageman J A, Janssen H G, *et al*. Identification of plant polysaccharides by MALDI-TOF MS fingerprinting after periodate oxidation and thermal hydrolysis [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 292: 119685.

[111] Liu D, Liu J B, Li X K, *et al*. Establishment and application of characteristic degradation fingerprint for the quality control of Compound Banlangen Granules polysaccharides [J]. *J Sep Sci*, 2023, 46(19): e2300314.

[112] Cao L, Zhao J P, Wang M, *et al*. Rapid preparation and proton NMR fingerprinting of polysaccharides from *Radix Astragali* [J]. *Carbohydr Res*, 2024, 536: 109053.

[113] Zhao H Q, Lai C J S, Yu Y, *et al*. Acidic hydrolysate fingerprints based on HILIC-ELSD/MS combined with multivariate analysis for investigating the quality of *Ganoderma lucidum* polysaccharides [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 163: 476-484.

[责任编辑 赵慧亮]