

· 综述 ·

液相色谱质谱联用技术在中药多糖类
成分分析中的应用[△]

范晶, 刘芃汐, 姚令文, 簪珂, 王莹*, 金红宇, 马双成*

中国食品药品检定研究院, 北京 102629

[摘要] 综述了液相色谱-质谱法(LC-MS)在中药多糖一级结构分析中的研究进展, 主要介绍了LC-MS在单糖组成、相对分子质量测定、糖连接位置及糖谱方面的应用。在此基础上初步归纳了质谱应用于多糖测定的优势及局限性, 以期为进一步探索LC-MS在中药多糖中的分析中的应用提供参考。

[关键词] 中药; 多糖; 液相色谱-质谱法; 结构分析

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)01-0210-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220221001

**Application of Liquid Chromatography-mass Spectrometry in Analysis of Polysaccharides in
Chinese Herbal Medicine**

FAN Jing, LIU Yuan-xi, YAO Ling-wen, ZAN Ke, WANG Ying*, JIN Hong-yu, MA Shuang-cheng*

National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China

[Abstract] This paper reviewed the recent studies about the application of liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) in analyzing the primary structure of polysaccharides from Chinese herbal medicine. Specifically, it introduced the application of LC-MS in identifying monosaccharide composition, measuring molecular weight, and determining sugar linkage manner and sugar spectrum. On this basis, the advantages and limitations of MS in the determination of polysaccharides were summarized. This review aims to provide reference for further applying LC-MS in the study of polysaccharides in Chinese herbal medicine.

[Keywords] Chinese herbal medicine; polysaccharide; LC-MS; structural analysis

多糖广泛存在于中药中, 人参、灵芝、黄芪、枸杞子、香菇、刺五加等中药都含有大量的多糖成分, 多糖亦是中药发挥功效的重要活性成分。现代药理学研究表明, 中药多糖具有抗肿瘤、促进免疫、抗氧化、抗炎、抗病毒、保护神经、降血糖、调血脂、调节肠道菌群等活性^[1-2]。随着中药多糖研究的不断深入, 多糖成分已成为中药的重要质量控制指标。《中华人民共和国药典》2020年版收录的铁皮石斛、枸杞子、灵芝、昆布等9个中药将多糖作为质量控制指标之一, 对其中的多糖或总糖含量进行测定^[3]。已有学者提出将多糖作为中药的质量标志物^[4]。

多糖结构的研究是多糖产品开发及质量控制的基础与关键。然而, 多糖结构的复杂性使得现有技术还未能对其进行全方位解析。多糖包括四级结构, 一级结构即初级结构, 二、三、四级结构属于高级结构^[5]。高级结构较为复杂, 测定难度较大, 目前大部分研究主要聚焦于多糖一级结构的测定^[6]。多糖的一级结构研究包含相对分子质量大小及分布、单糖组成及摩尔比、糖苷键连接方式、重复结构单元和分支度等^[7]。多糖结构的复杂性使得在对其进行结构分析时, 不能只依靠单一的方法, 需要多种方法联合使用^[8]。同时, 采用新技术获取更多和更准确的多糖结构信息是亟待开展的工作。

[△] **[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81973476)

* **[通信作者]** 王莹, 副研究员, 研究方向: 中药质量控制及安全检测; Tel: 010-53852484, E-mail: wayi_1986@163.com
马双成, 研究员, 研究方向: 中药质量控制及安全检测; Tel: 010-53852076, Email: masc@nifdc.org.cn

近年来,随着质谱技术的发展,如电喷雾离子源(ESI)、基质辅助激光解吸电离源(MALDI)及快原子轰击电离源等新型离子源的出现,加快了质谱与各种分离技术的联用,进而为化合物结构分析提供了新的技术手段^[9]。多糖类成分作为一种多羟基化合物,极性较大,故多认为其离子化效率不高,采用液相色谱-质谱法(LC-MS)对其进行分析难度较大。但近年来,部分学者通过衍生化、酶解等手段结合不同的离子源探索了质谱技术在中药糖类分析中的应用,取得了一定进展。本文总结了近10年LC-MS在中药多糖结构分析中的应用,以期为进一步探索LC-MS在中药多糖分析中的应用提供参考。

1 在单糖组成方面的应用

传统单糖组成的测定方法有薄层色谱法(TLC)、气相色谱法(GC)^[10]、高效液相色谱法(HPLC)、高效阴离子交换色谱安培检测法、毛细管电泳法等^[11]。但进行色谱分析时,由于存在立体异构体(如葡萄糖与半乳糖均为六碳糖,分子式均为 $C_6H_{12}O_6$;木糖与阿拉伯糖均为五碳糖,分子式均为 $C_5H_{10}O_5$)或其他化合物的共洗脱问题,通常会使得分离难度较大。相比于色谱分析,采用LC-MS检测降低了色谱分离的难度,且由于其高灵敏度、稳定性、可选择性和易操作性,在单糖组成上的应用越来越广泛。

在采用LC-MS测定单糖组成时,为使其易于离子化,提高检测灵敏度,常对其进行柱前衍生^[12]。现有报道中多采用1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)进行柱前衍生。例如,Xia等^[13]采用LC-MS分析麻黄多糖的单糖组成,首先将麻黄多糖经特异性酶水解后用PMP衍生,通过超高效液相色谱(UPLC)-ESI-三重四级杆线性离子阱质谱法同时分析其中的21个糖成分,此方法有效区分了麻黄不同部位的多糖成分。张亚丽等^[14]将黄连多糖经三氟乙酸水解、PMP衍生化后,采用HPLC-线性离子阱串联静电轨道场高分辨质谱法(LTQ-Orbitrap)对其单糖组成进行测定。结果得出黄连多糖中含有甘露糖、核糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、岩藻糖,其中核糖、岩藻糖为首次在黄连多糖中报道的单糖成分。张维冰等^[15]将仙草多糖经三氟乙酸水解、PMP衍生后,采用UPLC-ESI-MS/MS测定其单糖组成及含量。结果表明,仙

草多糖由甘露糖、鼠李糖、核糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和木糖8个单糖组成,其摩尔百分比分别为7.4%、5.7%、4.2%、0.9%、28.4%、26.5%、16.4%和10.6%。徐瑾^[16]采用HPLC-ESI-离子阱质谱技术分析了芦荟多糖的单糖组成。芦荟多糖经三氟乙酸水解、PMP衍生后对其进行测定,该衍生化产物在ESI-MS上响应值较高。最后通过与单糖标准品数据库比较得出:芦荟多糖主要由甘露糖和葡萄糖组成。Xu等^[17]采用UPLC-ESI-三重四级杆线性离子阱质谱测定了枸杞多糖的单糖组成,通过盐酸水解、PMP衍生后,上样分析得出枸杞多糖主要由7个单糖组成,分别为半乳糖、阿拉伯糖、甘露糖、鼠李糖、木糖、核糖、葡萄糖。不同于上述其他文献报道,该研究使用盐酸代替三氟乙酸水解多糖样本,水解时间由12 h缩短为2 h。Zhang等^[18]将岩藻多糖经盐酸水解、PMP衍生后,采用HPLC-串联四级杆飞行时间质谱法(QTOF-MS)技术对其单糖组成进行分析,结果表明岩藻多糖由岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、*N*-乙酰葡萄糖胺和木糖组成,其摩尔比为0.45:1.00:0.12:0.04:0.02。

除了采用PMP衍生化结合质谱技术分析单糖组成外,也有研究采用乙酰化衍生方法,如Li等^[19]利用UPLC-ESI-MS/MS测定4种中药多糖的单糖组成。将水解后的多糖进行醋酸酐糖脎衍生化(AND),随后进行检测。该研究将AND与盐酸甲醇反应相结合,提高了糖醛酸检测的灵敏度,同时利用多反应监测模式消除了AND副产物对检测的干扰。该方法可同时测定植物多糖中的醛糖、酮糖、醛醇、氨基糖和糖醛酸,并成功应用于川芎、何首乌、山茱萸、石菖蒲芽多糖的单糖组成分析。Li等^[20]采用UPLC-ESI-MS/MS结合单标记方法测定麻黄多糖的单糖组成及含量。将麻黄多糖经三氟乙酸水解、乙酰化后进行检测,最终得出麻黄多糖由阿拉伯糖、木糖、果糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖和半乳糖醛酸组成,其摩尔比为1.000:0.130:0.960:0.690:0.290:1.000:0.034:19.240。该研究将乙酰化衍生方法结合质谱法来测定单糖组成,通过优化反应条件,可达到同时测定酸性和中性糖的目的。

上述方法均是先对多糖水解后进行衍生化,进而进行LC-MS分析,但亦有研究采用直接水解测定的方法。例如,Zhao等^[21]采用亲水色谱结合ESI-

QTOF-MS对灵芝多糖酸降解产物的单糖组成进行分析,将灵芝多糖经三氟乙酸降解后进行检测,在正、负离子模式下与标准品的保留时间和相对分子质量进行比较,由此鉴定出灵芝多糖酸水解产物中共包括14种单糖和寡糖。该方法无需衍生化,易于操作,同时可以在等度洗脱条件下实现与蒸发光散射检测器的联合使用。梁军等^[22]采用直接水解法结合UPLC-ESI-四级杆复合线性离子阱(QTRAP)分析了麻黄根多糖的单糖组成,最终得出麻黄根多糖的单糖组成为鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、半乳糖醛酸。

2 在相对分子质量测定方面的应用

相对分子质量是研究多糖结构特征的基础,也是质量控制的重要指标之一^[23]。目前常用的相对分子质量测定方法有高效凝胶渗透色谱法、动静态激光散射法、多角度激光散射法、黏度法及质谱法等^[7,11]。其中MALDI-飞行时间质谱法是一种相对分子质量测定方法,具有灵敏、快速、成本低、无需对照品、对杂质的包容性强、能产生稳定的分子离子等优势^[23]。基质的作用为稀释样品、吸收激光能量和解离样品。MALDI-QTOF-MS分析多糖时,常用的基质为2,5-二羟基苯甲酸(DHB)^[24]。胡坪等^[25]以DHB为基质,采用MALDI-QTOF-MS技术分析了麦冬多糖的相对分子质量,最终得出麦冬多糖的重均相对分子质量为 $721\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$,分散度为1.49。王莹等^[26]以DHB为基质,采用MALDI-QTOF-MS对注射用黄芪多糖相对分子质量进行测定,结果显示,样品在 $18\,940$ 、 $155\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ 附近出现较强信号峰。

3 在糖连接位置分析方面的应用

在糖连接位置方面传统的分析方法包括红外光谱法、高碘酸氧化和Smith降解、GC-MS、核磁共振波谱法及质谱法等^[11]。近年来,LC-MS逐渐应用于糖连接位置的分析,其主要是对纯化后的多糖进行酶解或酸解,得到的产物采用LC-MS进行分析,结合碎片离子裂解规律及质谱数据库推断糖的连接位置。采用LC-MS分析糖连接位置不仅灵敏度高,而且通过结合计算软件可缩短质谱结果分析时间,提高糖链结构解析的效率^[11]。喻思淼^[27]采用UPLC-ESI-MS/MS对黄芪多糖的酸水解产物进行分析,通过与二糖和多糖

标准品的断裂碎片比较,得出黄芪多糖共有24个多糖聚体,其主要结构为线性 $\rightarrow^6\text{Hex}^1\rightarrow^6\text{Hex}^1\rightarrow$ 连接,并结合单糖组成实验结果得出,主要的己糖共聚物可能都是葡萄糖基低聚糖。高涛^[28]采用LC-ESI-MS/MS对川明参多糖的酶解产物进行分析,首先采用LC-ESI-MS/MS对均一化川明参多糖的 α -淀粉酶解产物进行分析,最后结合酶解特性、甲基化及核磁分析结果得出,川明参多糖主要成分(CVPs-1-G)主要由 α -1,4葡萄糖苷键构成,并含有一定量的 α -1,6葡萄糖苷键,支链通过 $\rightarrow 4$)- α -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 与 $\rightarrow 3$,6)- α -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 的O-3位或O-6位相连。石丽霞等^[29]采用UPLC-ESI-QTOF-MS对由三氟乙酸水解得到的黄芪寡糖进行分析,通过结合相关文献及葡聚糖标准品质谱图,得出黄芪寡糖含有主链1 $\rightarrow$ 4连接的六碳醛聚糖结构。该课题组前期研究发现,黄芪多糖APS-II的主要单糖组成为半乳糖和葡萄糖,其中葡萄糖含量是半乳糖的2.5倍,二级质谱数据与该结果相呼应。

此外,有报道采用HPLC-ESI-QTOF-MS对人参、夏枯草、冬虫夏草3种中药中寡糖的糖苷键的连接位点进行分析^[30-31]。多糖样品经部分酸水解后,在负离子模式下进行一级和二级质谱分析,依据标准品的MS/MS裂解规律得出,人参多糖中主要为1,4-吡喃己糖链,并含有1,6-吡喃己糖链;夏枯草中含有1,4-戊糖链和1,4-吡喃己糖链;冬虫夏草中含有1,4-吡喃己糖链和1,6-吡喃己糖链,并可能含有 $^4\text{Hex}^1\rightarrow^6\text{Hex}^1\rightarrow$ 单位结构的己糖链。该法无需样品衍生、灵敏度高、准确度高、样品需求量少。Xie等^[32]采用高效阴离子交换色谱结合ESI-QTOF-MS分析猴头菌子实体 β -葡聚糖的糖连接位置,用内切-1,6- β -D-葡聚糖酶消化 β -葡聚糖后使用仪器检测,根据质谱数据得出该葡聚糖为具有1 $\rightarrow$ 3和1 $\rightarrow$ 6连接的 β -葡聚糖且1 $\rightarrow$ 3和1 $\rightarrow$ 6连接的Glc残基的比例为1:6。梁图等^[33]采用HPLC-ESI-QTRAP-MS/MS分析黄芪多糖的糖连接位置。首先用三氟乙酸将黄芪多糖水解,得到特征性的寡糖片段,然后使用亲水作用色谱-离子阱质谱法对黄芪寡糖进行分离和结构表征,最终根据正离子模式下一级和二级质谱数据得出黄芪多糖主要为1 $\rightarrow$ 4连接线性葡聚糖。

随着质谱技术的发展,有研究者将第二代“三合一”质谱仪应用于糖连接位置的分析,该质谱仪将3种质量分析器(四级杆、静电场轨道阱、线性

离子阱)集为一体,具有高灵敏度和超高分辨率。相关研究采用HPLC结合该质谱对由盐酸水解得到的铁皮石斛寡糖进行分离和鉴定,根据准确的质量值和碎片离子推测出铁皮石斛寡糖的糖连接位置^[34-35]。Li等^[36]采用亲水作用色谱结合该质谱对五味子和南五味子多糖水解产物的糖苷键连接方式进行分析,将多糖用微波辅助弱酸水解后进行检测,利用¹⁸O标记的参考二糖总结出裂解途径,以确定不同的糖苷键,最终得出在五味子中,中性 $\rightarrow(^4\text{Hex}^1)_n\rightarrow$ 的数量大于酸性 $\rightarrow(^4\text{HexA}^1)_n\rightarrow$,而在南五味子中,酸性 $\rightarrow(^4\text{HexA}^1)_n\rightarrow$ 的数量似乎大于中性 $\rightarrow(^4\text{Hex}^1)_n\rightarrow$ 的结论,进而实现了五味子和南五味子的快速鉴别。Xia等^[37]采用亲水作用色谱结合该技术分析天麻根皮多糖(AER-A3)的糖连接位置,将多糖用微波辅助弱酸水解后进行检测,最终根据质谱数据和裂解规律预测AER-A3是1种果胶型多糖,其骨架由毛状区($\rightarrow^4\text{GalA}^1\rightarrow^3\text{Rha}^1\rightarrow$, RG-I)和光滑区($\rightarrow^4\text{GalA}^1\rightarrow^4\text{GalA}^1\rightarrow$, HG)组成。

4 在指纹图谱和糖谱方面的应用

对多糖结构的表征,除了常用的传统分析方法外,近年来有学者提出多元指纹图谱和糖谱法的概念。所谓多元指纹图谱是指利用多种分析手段获得反映不同理化特征的指纹图谱^[6]。糖谱法是指通过系列定位酶切技术联用各种色谱分析,结合多糖活性评价,可实现基于活性结构特征的多糖定性、定量分析^[38],并已成功应用于多种中药多糖及其产品的质量控制中^[39]。糖谱法多采用TLC、电泳、HPLC等分析手段,对糖片段进行检测。近年来,有研究采用LC-MS对中药多糖的指纹图谱及糖谱进行研究,如Yu等^[40]建立了基于葡聚糖酶酶切的猴头菇多糖(HEP)指纹图谱。采用UPLC-Orbitrap-MS对HEP的酶解产物进行分析,推断了主要糖连接方式,发现HEP的主要结构骨架为 $\rightarrow^6(\text{Hex})^1\rightarrow$,并有多种可能的取代基:末端GalA、Fuc、乙酰基、 $\rightarrow^4\text{Hex}^1\rightarrow$ 和 $\rightarrow^3\text{Hex}^1\rightarrow$ 等。同时采用UPLC-ESI-MS/MS结合多离子监测模式建立了HEP的指纹图谱,并用于区分5个不同品种食用菌中的多糖成分。Xia等^[41]采用HPLC-ESI-QTOF-MS得到黑木耳多糖的寡糖指纹图谱,结合主成分分析可以有效地区分野生和培养的黑木耳多糖。此外,有研究采用HPLC-ESI-QTOF-MS对人参、夏枯草、冬虫夏草3种中药多糖部分酸水解

产物进行分析,获得不同产地和等级中药中多糖成分的特征糖谱,并结合化学计量学方法分析糖谱信息^[30-31],该方法可靠,具有一定的准确性和适用性。

5 结语

多糖的结构与其功能活性密切相关,故深入研究多糖的结构对于其产品开发和质量控制有重要的意义。然而,中药多糖结构复杂,目前尚未有单一技术能全面地对其结构进行表征,并且缺乏可以对大部分多糖进行结构解析的普遍适用的方法,很难实现对多糖结构的快速准确解析^[19]。LC-MS作为一种重要的分析技术,近年来逐渐应用于多糖的结构分析。相比于传统的分析方法,LC-MS在多糖结构测定方面具备一定的优势,在单糖组成测定中通过衍生化后采用LC-MS进行分析,具有较好的准确度和灵敏度。且相比于常规方法,可以在一定程度上避免立体异构体的干扰;在糖连接位置分析方面,LC-MS样品预处理简单,采用高分辨质谱所得到的二级质谱数据可以获得糖片段的质量数,通过二级质谱数据可以推断糖链的线性结构,糖链结构的解析则需要采集多级质谱数据^[42-44]。在这个过程中,碎片离子的解析及与其他分析技术数据的整合是推断糖链结构的关键步骤,除了依靠文献报道、裂解规律外,也有研究结合质谱数据库对连接位置进行分析^[45]。LC-MS已逐渐应用于多糖分析,作为多糖结构解析的重要补充,但此技术还存在部分局限性,尤其在高级结构解析方面^[11],如何提高LC-MS结构解析的自动化及高通量化还需要进一步探索。相信随着离子源及质谱联用技术的不断发展、谱库的进一步完善,LC-MS将在多糖结构研究方面发挥更大的作用。

参考文献

- [1] DU Y, WAN H T, HUANG P, et al. A critical review of *Astragalus* polysaccharides: From therapeutic mechanisms to pharmaceuticals [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 147: 1-15.
- [2] LUAN F, JI Y F, PENG L X, et al. Extraction, purification, structural characteristics and biological properties of the polysaccharides from *Codonopsis pilosula*: A review [J]. Carbohydr Polym, 2021, 261: 1-24.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 195, 218, 260, 295.

- [4] 戴瑜婷,张雪燕,王艺璇,等. 黄芪的现代研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志,2022,47(7):1754-1764.
- [5] 周鹏,谢明勇,傅博强. 多糖的结构研究[J]. 南昌大学学报(理科版),2001,25(2):197-204.
- [6] 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.
- [7] 景永帅,马云凤,李明松,等. 植物多糖结构解析方法研究进展[J]. 食品工业科技,2022,43(3):411-421.
- [8] 方积年. 多糖体的结构分析[J]. 国外医学(药学分册),1981,8(4):222-228.
- [9] 刘芳,赵声兰,陈朝银. 质谱解析多糖结构的方法学进展[J]. 药物分析杂志,2011,31(8):1612-1617.
- [10] SUN Q L, LI Y X, CUI Y S, et al. Structural characterization of three polysaccharides from the roots of *Codonopsis pilosula* and their immunomodulatory effects on RAW264.7 macrophages [J]. Int J Biol Macromol,2019,130:556-563.
- [11] 李雪琴,李科,秦雪梅,等. 多糖的结构解析方法研究进展[J]. 山西医科大学学报,2021,52(3):380-387.
- [12] 张璐瑶,赵峡,陈欢欢. 糖类化合物PMP衍生分析进展[J]. 分析测试学报,2016,35(3):367-372.
- [13] XIA Y G, WANG T L, SUN L M, et al. A new UPLC-MS/MS method for the characterization and discrimination of polysaccharides from genus *Ephedra* based on enzymatic digestions [J]. Molecules, 2017, 22(11):1-12.
- [14] 张亚丽,高简,苗祥贞,等. 黄连多糖中单糖组成的HPLC-MS"法快速识别[J]. 世界中医药,2017,12(11):2775-2778.
- [15] 张维冰,王智聪,张凌怡,等. 柱前衍生超高效液相色谱-串联四极杆质谱法测定仙草多糖组成及其含量[J]. 分析测试学报,2013,32(2):143-149.
- [16] 徐瑾. 高效凝胶渗透色谱及高效液相色谱和电喷雾-离子阱质谱法联用测定构成芦荟多糖的单糖[J]. 理化检验(化学分册),2008,44(12):1133-1136.
- [17] XU J, WANG R, LIU J L, et al. Determination of monosaccharides in *Lycium barbarum* fruit polysaccharide by an efficient UHPLC-QTRAP-MS/MS method [J]. Phytochem Anal,2021,32(5):785-793.
- [18] 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: 1-7.
- [19] LI Y, LIANG J, GAO J N, et al. A novel LC-MS/MS method for complete composition analysis of polysaccharides by aldononitrile acetate and multiple reaction monitoring [J]. Carbohydr Polym,2021,272:1-15.
- [20] LI Y, LIANG J, SHEN Y, et al. A new application of acetylation for analysis of acidic heteropolysaccharides by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. Carbohydr Polym,2020,245:1-9.
- [21] ZHAO H Q, LAI C J, 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.
- [22] 梁军,孙黎明,夏永刚,等. 亲水作用色谱-质谱法测定麻黄根多糖单糖的组成[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):73-78.
- [23] 赵克力,黄纯翠,武红梅,等. 基于质谱技术的糖链结构解析研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展,2017,44(10):848-856.
- [24] 王红敏,张萍,黄琳娟,等. 基质辅助激光解吸电离质谱分析糖类物质[J]. 化学进展,2009,21(6):1335-1343.
- [25] 胡坪,乔晚芳,王楠,等. 麦冬多糖相对分子质量测定方法的研究[J]. 中成药,2013,35(12):2684-2689.
- [26] 王莹,许玮仪,李丽满,等. 注射用黄芪多糖相对分子质量测定方法的比较及研究[J]. 药科学报,2019,54(2):348-353.
- [27] 喻思森. 基于中药多糖结构指纹图谱技术的两种法定基源黄芪多糖鉴别研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2020.
- [28] 高涛. 川明参多糖的结构解析及对消化酶活性的影响[D]. 重庆:重庆三峡学院,2021.
- [29] 石丽霞,李科,焦思明,等. 黄芪活性多糖APS-II的酸降解及其降解寡糖的结构和免疫活性研究[J]. 药科学报,2021,56(8):2266-2275.
- [30] 廖俊昭. 基于液相色谱-飞行时间质谱对三种中草药多糖的糖谱研究[D]. 南昌:南昌大学,2015.
- [31] 廖俊昭,王远兴,陈熠敏. 人参多糖部分酸水解物的HPLC-ESI-QTOF-MS分析[J]. 分析科学学报,2015,31(3):339-344.
- [32] XIE B Y, YI L, ZHU Y T, et al. Structural elucidation of a branch-on-branch β -glucan from *Hericium erinaceus* with a HPAEC-PAD-MS system [J]. Carbohydr Polym, 2021, 251:117080.
- [33] 梁图,傅青,辛华夏,等. 基于部分酸水解-亲水作用色谱-质谱的黄芪多糖结构表征[J]. 色谱,2014,32(12):1306-1312.
- [34] 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.
- [35] 马会英. 植物多糖的液相色谱质谱分析及快速指纹图谱研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2018.
- [36] 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.
- [37] XIA Y G, ZHU R J, SHEN Y, et al. A high methyl ester pectin polysaccharide from the root bark of *Aralia elata*: Structural identification and biological activity[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 159: 1206-1217.
- [38] 李绍平, 吴定涛, 赵静. 糖谱及其在中药多糖质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3505-3513.
- [39] GUAN J, LI S P. Discrimination of polysaccharides from traditional Chinese medicines using saccharide mapping: Enzymatic digestion followed by chromatographic analysis[J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 51(3): 590-598.
- [40] YU L S, LIANG J, ZHANG Y, et al. Enzymatic-fingerprinting workflow of polysaccharides in *Hericium erinaceus* fruiting bodies: From HILIC-ESI: MS screening to targeted MIM profiling [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 173: 491-503.
- [41] XIA Y G, YU L S, LIANG J, et al. Chromatography and mass spectrometry-based approaches for perception of polysaccharides in wild and cultured fruit bodies of *Auricularia auricular-judae* [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 137: 1232-1244.
- [42] ASHLIN D, SINGH S, HANNEMAN A, et al. Congruent strategies for carbohydrate sequencing. 1. Mining structural details by MSⁿ [J]. Anal Chem, 2005, 77(19): 6250-6262.
- [43] ZHANG H L, SINGH S, REINHOLD V N. Congruent strategies for carbohydrate sequencing. 2. FragLib: An MSⁿ spectral library [J]. Anal Chem, 2005, 77(19): 6263-6270.
- [44] LAPADULA A J, HATCHER P J, HANNEMAN A J, et al. Congruent strategies for carbohydrate sequencing. 3. OSCAR: An algorithm for assigning oligosaccharide topology from MSⁿ data [J]. Anal Chem, 2005, 77(19): 6271-6279.
- [45] 李翁坤, 王艳鸽, 曾丽珊, 等. UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS法分析5种紫金牛属植物的黄酮类成分[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(1): 91-96.

(收稿日期: 2022-02-21 编辑: 王笑辉)