

综述专论

中草药寡糖的提取分离、结构鉴定及分析方法研究进展*

郭鸿¹, 么蕊¹, 范晶¹, 郭晓晗¹, 陈佳¹, 段宝忠², 王莹^{1**}, 杨建波^{1**}, 蔡伟³,
荆文光¹, 程显隆¹, 魏锋¹

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 大理大学药学院, 大理 671000; 3. 湖南医药学院, 怀化 418000)

摘要: 寡糖是中草药中来源丰富的一类活性成分, 具有抗抑郁, 抗阿尔茨海默病等临床功效以及降血糖、润肠通便、增强免疫等多种药理活性。寡糖的活性与结构密切相关, 但由于糖苷键构型、单糖组成、连接方式的多样性, 常规分析手段难以得到准确结构, 建立快速、可靠的分析方法仍是糖类物质研究的重点和难点。目前, 对于寡糖的研究报道日益增加, 但缺乏对于中草药寡糖结构和分析方法的全面总结, 本文通过查阅国内外文献, 对近 10 年来中草药中寡糖的提取分离、结构鉴定、分析方法等方面进行系统的综述, 有助于建立基于寡糖类成分的中药评价方法, 为寡糖在中药质量控制中的应用提供参考。

关键词: 中草药; 寡糖; 提取分离; 结构鉴定; 分析方法; 质量控制

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2025) 03-0361-31

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-1061

Research progress on extraction, isolation, structural identification and analytical methods of oligosaccharides from Chinese herbal medicine*

GUO Hong¹, YAO Rui¹, FAN Jing¹, GUO Xiao-han¹, CHEN Jia¹,
DUAN Bao-zhong², WANG Ying^{1**}, YANG Jian-bo^{1**}, CAI Wei³,
JING Wen-guang¹, CHENG Xian-long¹, WEI Feng¹

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. College of Pharmaceutical Science, Dali University, Dali 671000, China; 3. Hunan University of Medicine, Huaihua 418000, China)

Abstract: Oligosaccharides are a class of bioactive components abundantly found in Chinese herbal medicine. They have clinical effects such as antidepressant and anti-Alzheimer's disease activities, as well as pharmacological activities such as hypoglycemic, laxative, and immune-enhancing effects. The bioactivity of oligosaccharides is closely related to their structure. However, due to the diversity of glycosidic bond configurations, monosaccharide

* 国家自然科学基金青年资助项目 (82204617); 中国食品药品检定研究院学科带头人培养基金课题 (2023x8)

** 通信作者 王莹 Tel:(010)53852484; E-mail: wangying17@nifdc.org.cn

杨建波 Tel:(010)53852101; E-mail: yangjianbo@nifdc.org.cn

第一作者 Tel: 18308251993; E-mail: guohong0012@163.com

compositions and linkage patterns, it is difficult to accurately determine their structures by conventional analytical methods. Establishing rapid and reliable analytical methods remains a key challenge in carbohydrate research. Although studies on oligosaccharides are increasing, there is a lack of comprehensive reviews on the structure and analytical methods of oligosaccharides in Chinese herbal medicine. This paper systematically reviewed the research progress over the past decade on extraction, separation, structure identification and analytical methods of oligosaccharides in Chinese herbal medicine by consulting domestic and foreign literatures. This review aims to contribute to the development of evaluation method of traditional Chinese medicine based on oligosaccharide components, and provide reference for their application in the quality control of traditional Chinese medicine.

Keywords: Chinese herbal medicine; oligosaccharides; extraction and separation; structure identification; analytical methods; quality control

寡糖又名低聚糖,是由 2~10 个单糖通过糖苷键连接而成的直链或者支链聚糖,在自然界中分布广泛,且参与生物体的各种生理过程。随着对中药作用模式的深入探索,研究表明中药寡糖具有降血糖^[1],润肠通便^[2],免疫调节^[3],抗骨质疏松^[4],调节肠道菌群^[5]等药理活性。目前临床上一些治疗疾病的药物存在着不良反应严重的问题^[6],来源于天然的糖类成分相比其他活性物质安全性更高^[7],具有稳定,无毒副作用等优点,已成为药物开发的重点,有望给人类疾病的研究和治疗带来新的突破。铁皮石斛中的寡糖是发挥抗结肠癌活性的物质基础,对应的核心化学结构为 β -D-Manp-(1 \rightarrow 4)- β -D-Glcp^[8]。熟地黄寡糖能够降低高脂饮食大鼠的血糖和血脂水平,改善糖脂代谢以及应激引起的下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)功能受损^[9]。

质量控制是保证中药寡糖安全性和有效性的关键,巴戟天寡糖胶囊作为我国具有自主知识产权的中药五类抗抑郁症新药,由北京同仁堂股份有限公司与军事医学科学院等机构共同研制,已被批准用于临床治疗轻中度抑郁症(肾阳虚证),2020年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)也以特征性的四糖耐斯糖作为巴戟天的含量测定物^[10],可靠的分析手段对于建立基于结构特征的中药寡糖质量控制方法至关重要。中药寡糖的研究包括制备、分离纯化、结构鉴定等一系列工作,由于寡糖本身没有紫外吸收,加上复杂的异构体和支链结构,使得寡糖的分析相比其他成分更加困难,传统的分析方法包括化学法、核磁共振波谱法、红外吸收光谱法、色谱法、质谱法。但当下少有对中草药寡糖研究方法系统性的概括,也缺乏来源于中草药寡糖的化学成分总结,基于此,本文检索了中国知网、PubMed、Scopus、

SciFinder、Wiley Online Library 等中英文数据库,总结了中草药寡糖的提取分离、结构鉴定方法,期望为中草药寡糖的开发和利用提供参考。

1 寡糖提取分离

提取分离是研究寡糖结构、成分、药理活性的基础,从中草药里获得寡糖的主要方式有天然原料中提取(醇提、水提、超声提取、微波提取法)和多糖降解(不同酶或酸、过氧化氢),得到总寡糖后,再结合色谱法、膜分离等多种方法得到纯化的单一寡糖。

1.1 寡糖的提取

醇提法能够减少多糖等大分子的提出,但乙醇消耗量较大,不适合寡糖的大规模制备;水提法操作简单,成本低,且与中草药临床上煎煮使用的特性相一致;微波和超声波辅助提取能够缩短时间,提高提取效率;酶法降解可以切断特定的糖苷键,条件温和,但酶的来源受限,价格较为昂贵,且未知结构的多糖难以选择相应的酶;多糖在酸性溶液中糖苷键易断裂分解成聚合度不同的寡糖,酸降解方法会受酸种类、酸浓度、底物浓度、水解时间和温度等条件影响^[11]。

采用不同制备方法得到的中草药寡糖可能有一定的差异,需要考虑中草药提取量、药材性质,结合实验室设备进行选择。Xiong 等^[12]对比了热水、超声辅助、酶解和微波辅助提取 4 种方法对吴茱萸寡糖的理化性质、结构特征、抗氧化和抗肿瘤活性的影响,发现酶解法的寡糖得率最高,微波辅助提取的寡糖有相对更强的抗氧化和抗肿瘤活性。

1.2 寡糖的分离纯化

中草药成分复杂,糖类物质极性较高,导致纯化相对困难^[13],只采用一步分离往往达不到很高的纯度,需根据寡糖分子量大小,是否带电荷,结合后续研究需求,选用多种分离方法。粗寡糖的获取常常

采用水提醇沉法,加入一定量乙醇使终浓度为 60%~80%^[14-15],常用的分离方法还有葡聚糖凝胶层析、石墨化碳柱色谱、高效毛细管电泳、活性炭柱、纤维柱、硅胶柱、离子交换色谱等^[16],凝胶色谱法利用分子筛作用,根据待分离寡糖的大小不同进行分离^[17],操作条件温和,应用广泛。离子交换色谱灵敏度高,重复性好,选择性好,分析速度快,常与 PAD 联用。大孔吸附树脂选择性好,吸附速度快,解吸条件温和,常用于中草药寡糖的纯化脱色。活性炭柱层析常用于寡糖的初步分离和大量制备。毛细管电泳法以高压直流电场为驱动力,对样品的制备要求低,但对复杂混合物的分辨率较差。

各种分离方法中,色谱法分离效果明显,操作简单,获得了广泛应用。葡聚糖凝胶 Sephadex G25 可用于脱盐、分离相对分子质量在 1 000~5 000 的糖类; Sephadex LH20 可分离相对分子质量 150~4 000 的糖类物质, Sephadex G15 和羟丙基葡聚糖凝胶 Bio-Gel P2 能有效分离相对分子质量在 150~1 800 的寡糖^[18]。

膜分离技术利用膜的选择透过性,对寡糖进行分离、分级、提纯和富集^[19],具有高效节能的特点,不同孔径的膜可用于分离不同分子量范围的寡糖,能够应用于大规模工业化的分离。微滤膜的孔径在 0.05~10 μm 范围,一般用于寡糖分离纯化的前处理过程,最常用的膜材料有聚醚砜(PES)、聚偏二氟乙烯(PVDF)。超滤的膜孔径在 0.01~0.1 μm,可除去蛋白质、多糖等大分子,常用于寡糖的分级、浓缩。纳滤膜的孔径在 1 nm 左右,能够截留相对分子质量 150~2 000 的小分子,适用于不同聚合度寡糖的分离^[20]。张蕙竹^[11]使用超滤膜分离酶解后的西洋参寡糖,得到相对分子质量为 1 361 且分布均一的寡糖。

需注意的是,不同分离方法获得的寡糖种类可能存在一定差异,邱建国等^[21]分别用阴、阳离子交换树脂与活性炭联用及单独用活性炭分离地黄寡糖,前者用 10% 乙醇洗脱,主要成分为水苏糖;而活性炭分离出的主要成分为甘露三糖。文献报道的一些寡糖分离方法总结见表 1。

表 1 不同中草药寡糖的分离方法

Tab. 1 Separation methods of oligosaccharides from different Chinese herbal medicines

寡糖品种 (types of oligosaccharide)	分离方法 (separation method)	参考文献 (reference)
葡萄籽寡糖 (grape seed oligosaccharide)	正己烷萃取脱脂、固相萃取、Bio-Gel P-6、Bio-Gel P-2 (extraction and defatting with <i>n</i> -hexane, solid-phase extraction, Bio Gel P-6, Bio Gel P-2)	[22]
枸杞寡糖 (Fructus Lycii oligosaccharide)	AB-8 型大孔树脂、离子交换树脂 (AB-8 macroporous resin, ion exchange resin)	[23]
铁皮石斛寡糖 (<i>Dendrobium officinale</i> oligosaccharide)	石墨化碳-硅藻土柱层析、固相萃取 (graphitized carbon-diatomaceous earth column chromatography, solid-phase extraction)	[15]
甘草地上部分寡糖 (<i>Glycyrrhiza uralensis</i> oligosaccharide)	AB-8 型大孔树脂、DEAE-52 纤维素树脂、Sephadex LH-20 树脂 (AB-8 macroporous resin, DEAE-52 cellulose resin, Sephadex LH-20 resin)	[24]
桑叶寡糖 (mulberry leaf oligosaccharide)	DEAE-52 纤维素树脂、Sephadex G-25 (DEAE-52 cellulose resin, Sephadex G-25)	[25]
沙蓬寡糖 (agiophyllum oligosaccharide)	D 101 大孔树脂、活性炭脱色 (D 101 macroporous resin, activated carbon decolorization)	[26]
地黄寡糖 (<i>Rehmannia glutinosa</i> oligosaccharide)	MCI gel CHP20P 脱色、Bio-Gel P2 (decolorization, Bio-Gel P2)	[18]
苍术寡糖 (<i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC. oligosaccharide)	D101 大孔树脂、Bio-Gel P-2 (D101 macroporous resin, Bio Gel P-2)	[27]
地黄寡糖 (<i>Rehmannia glutinosa</i> oligosaccharides)	超滤平板膜、纳滤卷式膜 (ultrafiltration flat membrane, nanofiltration spiral-wound membrane)	[28]

2 寡糖结构鉴定

中草药寡糖的生物活性与其结构密切相关,确定活性寡糖的组成和结构是寡糖药效研究中不可缺少的一部分,也是糖类物质研究的热点和难点^[29]。技术难点主要是由于糖类化合物中存在着大量的位置异构体和差向异构体,相对于 DNA 和氨基酸的直链型序列,寡糖的支链结构使得解析难度大大增加^[30]。

Laine^[31]曾计算出,仅六糖可能的直链和支链异构体数量,已超过 1.05×10^{12} 种。目前结构鉴定主要针对于中草药寡糖的一级结构,包括分子量、单糖组成、糖苷键连接方式及构型。

2.1 分子量测定

2.1.1 高效凝胶渗透色谱法 高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 常配备示差折光检测器 (RID),用于寡糖

的纯度分析和分子量测定,由于不同分子量寡糖的洗脱保留时间有一定差异,选取与样品结构相似的对照品寡糖(通常为葡聚糖系列标准品)制成标准曲线为参考,获得校正曲线来估计分子量。Bai等^[31]在配备有TSKPWxl-2500凝胶柱和Agilent 1260折光率检测器的HPGPC上,测定了党参寡糖的平均分子量为318,对应聚合度为2。

2.1.2 高分辨质谱 质谱能够为复杂的中草药样品提供精确分子量等信息,是目前寡糖分子量测定常用的方法。Bai等^[32]采用ESI-MS/MS,在负离子模式下检测到了党参中聚合度为3~9的寡糖。Hu等^[33]借助LC-Q TOF MS/MS,分析了太子参中的8种寡糖,聚合度为2~7。He等^[34]采用MALDI-TOF MS对黄精寡糖进行了相对分子质量测定,2种寡糖的 m/z 分别为1 029.440(钾和水的加合物)、1 663.766(钠和水的加合物),聚合度分别为6、10。

2.2 单糖组成

2.2.1 Seliwanoff试剂 Seliwanoff试剂是间二苯酚的盐酸溶液,可用于定性检测样品中是否含有果糖(己酮糖)。寡糖水解后,己酮糖进一步脱水生成羟甲基糠醛,与间二苯酚反应变红,以不同浓度的果糖对照品作标准曲线,通过测定吸收度,还可得到寡糖中果糖的含量。

2.2.2 PMP衍生化分析 寡糖在酸性热条件下水解为单糖,可通过氮吹或者旋蒸除去多余的有机酸。水解后的还原糖能够与PMP(1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮)溶液反应,生成“糖-PMP衍生物”,在248 nm附近有紫外吸收信号。通过比较寡糖样品与衍生化的单糖标准品,可确定单糖的组成和比例。Wang等^[35]采用响应面法优化并比较了葡萄糖、麦芽糖、山梨醇等16种糖类物质与PMP试剂反应的最佳温度、时间,推测果糖不能反应的原因可能是羰基更稳定以及羟甲基的空间位阻。Zhu等^[36]通过PMP衍生化,确定茯苓寡糖水解后的单糖主要有半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖和甘露糖。

2.3 糖苷键连接方式及构型

2.3.1 高碘酸氧化-Smith降解反应 糖类是多羟基物质,高碘酸可以特异性地断裂连有邻二羟基的C-C键,反应比为1:1,糖苷键连接位点处的键不会受影响,不同连接方式可能生成糖醛、甲醛或甲酸。高碘酸氧化产物经硼氢化钠(NaBH_4)等硼氢化合物还原,生成多羟基化合物,加酸水解糖苷键,可能生成甘油、赤藓醇、乙二醇等物质,如表2所示。因此,通过检测高碘酸消耗量及Smith降解生成的产物,可以判断糖苷键的连接位置、聚合度、分支数等信息^[37]。

表2 不同方式连接的葡萄糖基经高碘酸氧化-Smith降解后的产物

Tab. 2 Products of glucosyl linkages in different types after periodate oxidation-Smith degradation

连接方式(linkage types)	高碘酸氧化(periodate oxidation)	Smith降解(Smith degradation)
1→2位连接(1,2-glycosidic bonds)	消耗一分子高碘酸,且不生成甲酸(consuming one molecule of periodic acid without generating formic acid)	生成甘油(generating glycerol)
1→3位连接(1,3-glycosidic bonds)	无邻二羟基,不会被高碘酸氧化(no adjacent hydroxyl groups, and will not be oxidized by periodic acid)	仍为原来的糖(remains the original sugar)
1→4位连接(1,4-glycosidic bonds)	消耗一分子高碘酸,且不生成甲酸(consuming one molecule of periodic acid without generating formic acid)	生成赤藓醇(generating erythritol)
1→6位连接(1,6-glycosidic bonds)	消耗两分子高碘酸,生成一分子甲酸(consuming two molecules of periodic acid to generate one molecule of formic acid)	生成甘油(generating glycerol)

2.3.2 红外光谱法 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)法常用于检测寡糖的糖苷键构型,表征官能团,确定醛糖、酮糖中的吡喃或呋喃环。由于寡糖中含有大量羟基,各分子间形成氢键彼此相连,因此在3 500~3 200 cm^{-1} 处有1个强而宽的吸收峰,归属为O-H的伸缩振动;3 000~2 850 cm^{-1} 处的谱带是C-H的拉伸振动;1 740 cm^{-1} 附近是糖醛酸的特征吸收,存在吸收带表明寡糖结构中有酸性寡糖^[34]。不同构型的糖苷键在800~950 cm^{-1} 处有1个或者几个弱的吸收信号,

(844 ± 8) cm^{-1} 处的峰对应 α 构型,(891 ± 7) cm^{-1} 处的峰对应 β 构型。此外,1 100~1 010 cm^{-1} 处的峰可以判断吡喃糖和呋喃糖,吡喃糖基在该区域有3个吸收峰,而呋喃糖只有2个吸收峰。

Zhu等^[36]用红外光谱法对茯苓寡糖进行了结构鉴定,1 158.77、1 073.65和1 027.97 cm^{-1} 处的吸收带表明吡喃糖的存在。党参寡糖800~1 000 cm^{-1} 处的吸收峰值表明存在呋喃环,923.8、867.6和818.6 cm^{-1} 处的吸收归因于寡糖的 β 构型^[3]。田家屹等^[38]用傅里

叶变换衰减全反射红外光谱 (ATR-FTIR), 在 4 000~400 cm^{-1} 范围内采集鲜地黄、生地黄与熟地黄的红外光谱, 根据样品与糖类标准品糖区特征峰的不同范围与形状, 计算了二阶导数红外光谱, 鲜地黄炮制过程中多糖发生水解生成寡糖及单糖。ATR-FTIR 法相较于一般红外光谱法, 制样更为简洁, 无需压片, 拓展了红外光谱的应用范围^[39]。

2.3.3 核磁共振波谱 核磁共振波谱 (NMR) 常用于确定寡糖链的连接顺序和位置、糖苷键构型、糖残基种类及数目等。寡糖结构中含 C、H、O 原子, 一维核磁共振波谱 (1D-NMR) 主要用于糖苷键构型和单糖数量的分析, 1D- ^1H 谱可初步得到不同糖残基数目比, 1D- ^{13}C 谱可得到异头碳原子信号、构型构象、取代基位置等信息^[40], DEPT 谱可以区分寡糖中的仲碳、叔碳、季碳。但寡糖类物质的 1D-NMR 图重叠较为严重, 需要借助二维核磁共振波谱 (2D-NMR) 技术来提供更多信息, ^1H - ^1H COSY 谱可提供相邻碳上的氢原子信息; HMQC 与 HSQC 可以给出直接相连的 C-H 之间的信息。HMBC 能提供相隔 2 根或 3 根化学键的碳原子和氢原子之间的信息, 可以用于区分异头碳与非异头碳信号; ^1H - ^1H TOCSY、DQF-COSY 可有效确定糖残基种类; ^1H - ^1H NOESY 和 ^1H - ^{13}C

HMBC 谱可以确定糖残基之间的连接顺序^[41]。

Zhu 等^[36] 采用一维和二维核磁技术对茯苓中的低聚糖进行结构测定, ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱化学位移分别集中在 δ 3.0~ δ 5.4 和 δ 60~ δ 120, 分布较窄, 具有典型的糖类特征, ^{13}C NMR 光谱中糖醛酸的特征信号在 δ 170 处, δ 92~ δ 102.55 范围内的异头碳信号说明 α - (δ 90~ δ 100) 和 β - (δ 100~ δ 110) 糖苷构型的同时存在, 结合 HSQC、HMBC、 ^1H - ^1H COSY 谱图, 推测茯苓低聚糖的糖残基主要包括 (1 \rightarrow 2)- β -D-Glcp, (1 \rightarrow 2)- α -D-Glcp 和 (1 \rightarrow 4)- α -D-Glcp。Xing 等^[42] 利用 1D 和 2D NMR 分析从奇亚籽中纯化得到的三糖, 对采集的一系列 2D-NMR 图 (COSY、TOCSY、ROESY、HSQC、HMBC) 进行完整分配, 识别了残基 α -D-Glcp-(1 \rightarrow 、 α -D-Galp-(1 \rightarrow 、 \rightarrow 6)- β -D-Fruf-(2 \rightarrow 以及单糖的序列, 鉴定该寡糖为车前三糖。

2.3.4 气相色谱法 气相色谱结合质谱联用技术 (GC-MS) 广泛应用于寡糖的糖残基连接位置分析。由于寡糖为难挥发物质, 需先进行衍生化处理降低极性, 常用的衍生化方法有甲基化、三甲基硅烷 (TMS)、酰基化等。寡糖样品经甲基化衍生、水解、还原、乙酰化后, 结合 GC-MS 分析, 可以推断寡糖样品的单糖组成和大致的连接位点, 其原理及流程如图 1 所示。

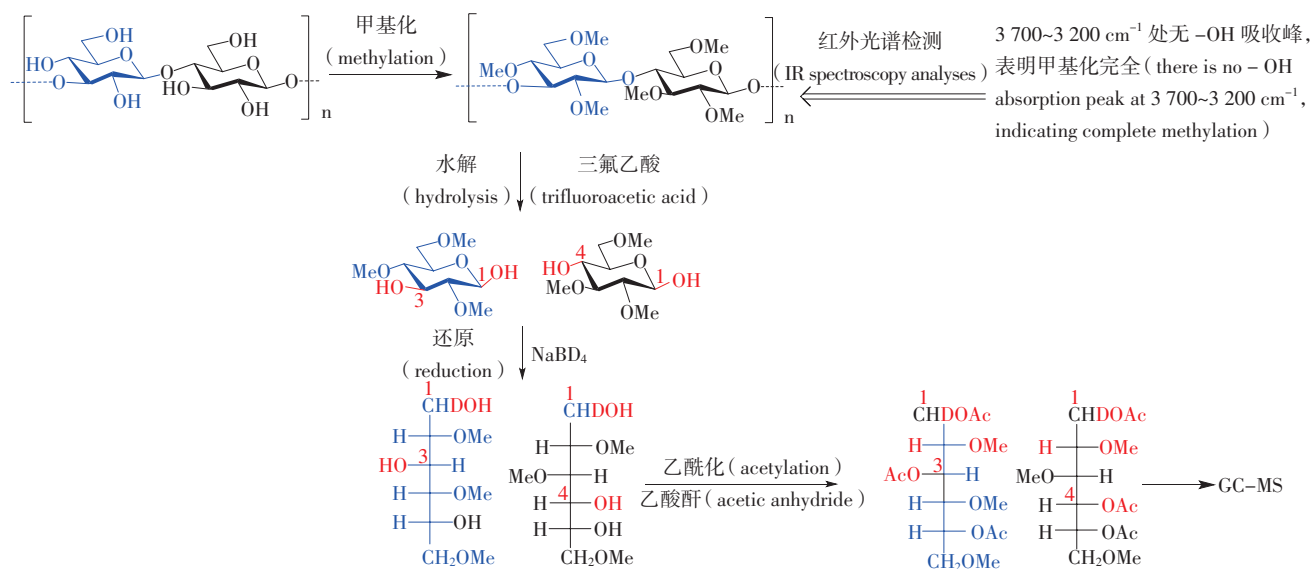


图 1 GC-MS 甲基化衍生过程

Fig. 1 GC-MS methylation derivatization process

Gao 等^[43] 从猴头菇中分离纯化出 1 个寡糖组分 Hep-2, 通过柱前衍生化方法分析单糖组成, 葡萄糖和半乳糖比例为 1 : 0.35, 是多个直链寡糖的混合物, 可

能存在 \rightarrow 1)-Galp、(1 \rightarrow 4)-Glc 及 (1 \rightarrow 6)-Galp 连接。Bai 等^[3] 采用三甲基硅烷柱前衍生结合 GC-MS 分析从党参中提取的寡糖, 单糖组成为葡萄糖和果糖。

2.3.5 质谱法 不同连接位点的寡糖有不同的跨环裂解方式和途径,结合二级质谱特征碎片,可以判断寡糖的连接位点。1→1 连接时,由于异头碳上的羟基成键,形成的非还原环不易断裂,难以产生环内裂解碎片^[44]。1→2 连接的寡糖中性丢失 120 的碎片,1→3 连接的寡糖丢失 90 的碎片,1→4 连接丢失 60、78、120 的碎片,1→6 连接丢失 60、90、120 的碎片^[45-46],刘宇冲等^[47]通过 ESI-Q Exactive-MS 在正离

子模式下分析了黄芪中聚合度 2~9 和 10~14 的寡糖,10~14 糖中均有 1→4 和 1→6 连接方式,推测这 2 种连接方式共存是黄芪寡糖发挥免疫活性的关键。

2.4 源自中草药的寡糖化合物

人参、地黄、巴戟天等药材寡糖含量丰富,相关研究较多。表 3 总结了从中药里分离鉴定出的寡糖结构,来源于植物的寡糖主要由葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖 4 种六碳糖组成。

表 3 中草药寡糖类化合物及结构

Tab. 3 Oligosaccharides from Chinese herbal medicine and their structures

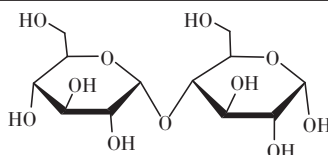
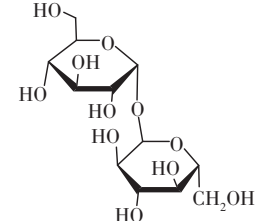
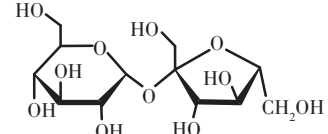
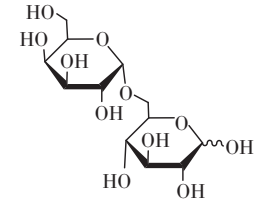
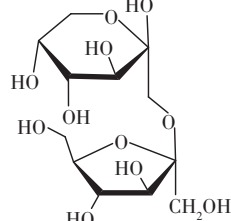
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
1	麦芽糖 (maltose)	2	葡萄籽 (<i>Vitis vinifera</i> L. semen)		[22]
2	海藻糖 (trehalose)	2	葡萄籽 (<i>Vitis vinifera</i> L. semen)		[22]
3	蔗糖 (sucrose)	2	巴戟天 (<i>Morinda Officinalis Radix</i>)		[48]
4	蜜二糖 (melibiose)	2	酸枣仁 (<i>Ziziphi Spinosae Semen</i>)		[49]
5	果果二糖 (inulobiose)	2	升麻 (<i>Cimicifugae Rhizoma</i>)		[50]

表 3(续)

编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
6	巴戟甲素 (bajjiasu)	2	巴戟天 (Morinda Officinalis Radix)		[51]
7	龙胆二糖 (gentiobiose)	2	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[52]
8	blastose	2	糖槭树液 (Acer saccharum Marshall syrup)		[53]
9	蔗果三糖 (kestose)	3	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]
10	α -D-Manp- (1→6)- α -D- Glc p-(1→2)- α -D-Fruf	3	莲子 (Nelumbinis Semen)		[54]
11	α -D-Manp- (1→6)- α -D- Manp-(1→6)- α / β -D-Glc p	3	莲子 (Nelumbinis Semen)		[54]

表 3(续)

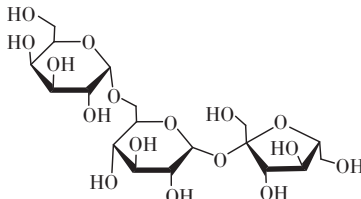
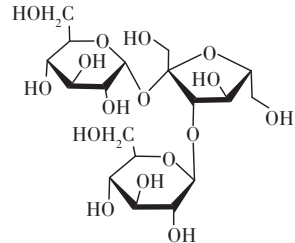
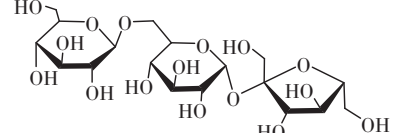
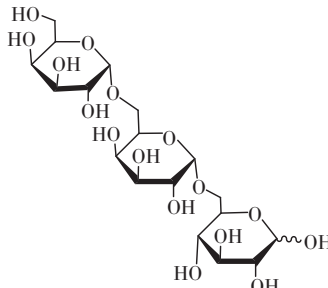
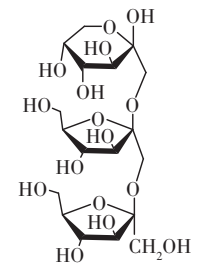
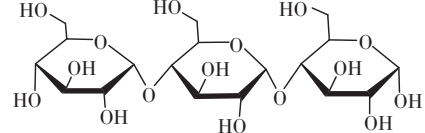
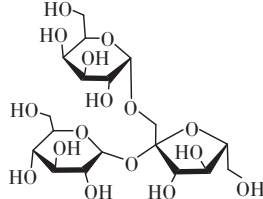
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
12	棉子糖 (raffinose)	3	葡萄籽 (<i>Vitis vinifera</i> L. semen)		[22]
13	松三糖 (melezitose)	3	葡萄籽 (<i>Vitis vinifera</i> L. semen)		[22]
14	龙胆糖 (gentianose)	3	葡萄籽 (<i>Vitis vinifera</i> L. semen)		[22]
15	甘露三糖 (manninotriose)	3	酸枣仁 (<i>Ziziphi Spinosae</i> Semen)		[49]
16	果果三糖 (inulotriose)	3	升麻 (<i>Cimicifugae Rhizoma</i>)		[50]
17	麦芽三糖 (maltotriose)	3	北五味子 (<i>Schisandrae Chinensis</i> Fructus)		[55]
18	α -Glc _p -(1→6)- α -Glc _p -(1→2)- β -Fru _f (6→2)- β -Fru _f	3	太子参 (<i>Pseudostellariae Radix</i>)		[33]

表 3(续)

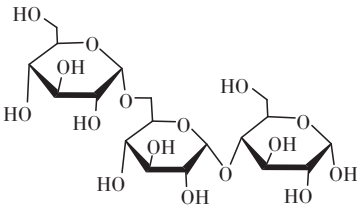
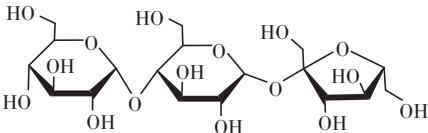
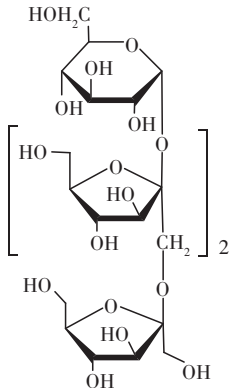
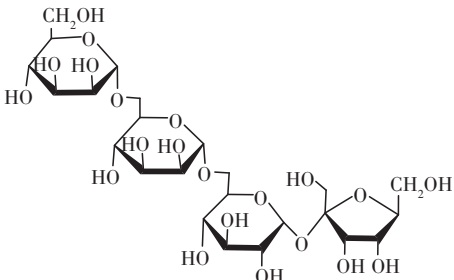
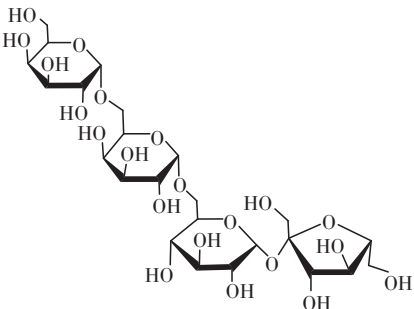
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
19	α -Glc _p -(1→6)- α -Glc _p -(1→4)- α -Glc _p	3	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[52]
20	吡喃葡萄糖基蔗糖 (erlose)	3	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[56]
21	耐斯糖 (nystose)	4	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]
22	α -D-Man _p -(1→ 6)- α -D-Man _p - (1→6)- α -D- Glc _p -(1→2)- α -D-Fruf	4	莲子 (Nelumbinis Semen)		[54]
23	水苏糖 (stachyose)	4	地笋 (<i>Lycopus lucidus</i> Turcz radix)		[57]

表 3(续)

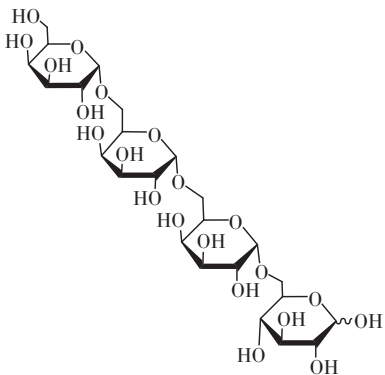
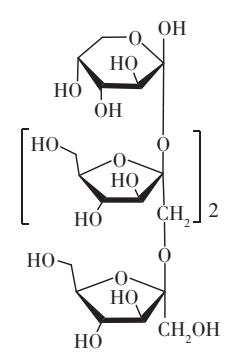
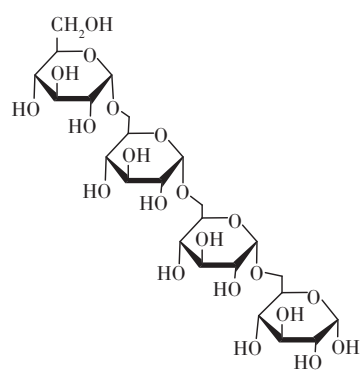
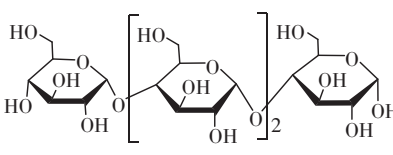
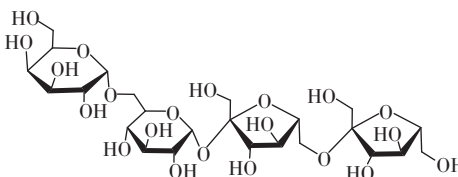
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
24	毛蕊花四糖 (verbascotetraose)	4	酸枣仁 (Ziziphi Spinosae Semen)		[49]
25	果果四糖 (inulotetraose)	4	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]
26	异麦芽四糖 (isomaltotetraose)	4	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[58]
28	麦芽四糖 (maltotetraose)	4	北五味子 (Schisandrae Chinensis Fructus)		[55]
29	α -Galp-(1 \rightarrow 6)- α -Glc-(1 \rightarrow 2)- β -Fru f (6 \rightarrow 2)- β -Fru f	4	太子参 (Pseudostellariae Radix)		[33]

表 3(续)

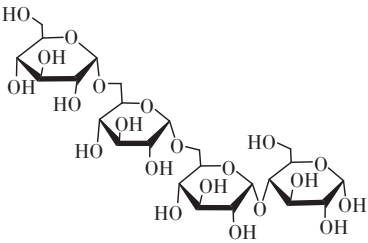
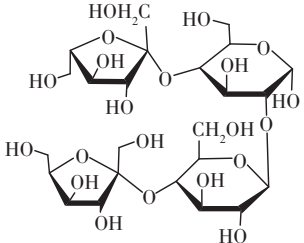
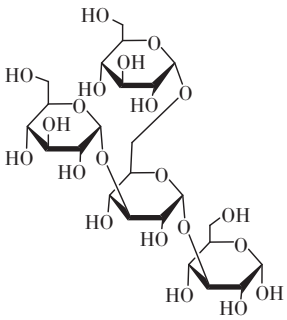
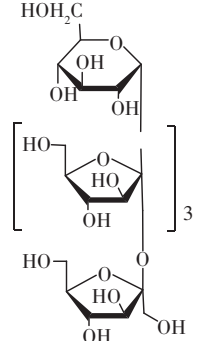
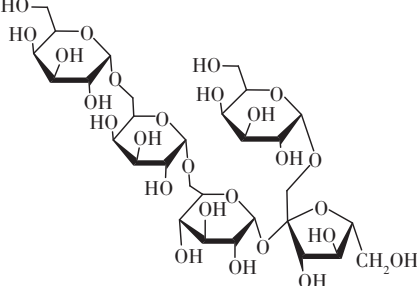
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
30	α -Glc _p -(1→6)- α -Glc _p -(1→6)- α -Glc _p (1→4)- α -Glc _p	4	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[52]
31	α -Fru _f -(2→4)- β -Glc _p -(1→2)- α -Glc _p -(4→2)- Fru _f	4	枸杞 (Lycii Fructus)		[59]
32	(1→3, 1→6) α -D-葡萄糖四糖	4	罂粟 (Papaver somniferum pollen)		[60]
33	蔗果五糖 (1F-fructo- furanosylmystose)	5	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]
34	rehmaglupent- asaccharide A (1)	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]

表 3(续)

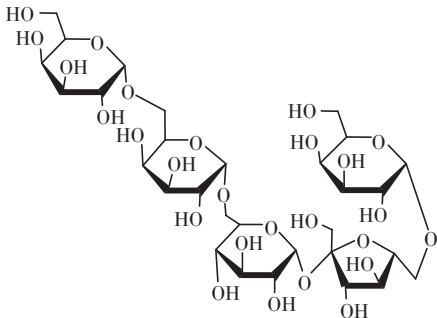
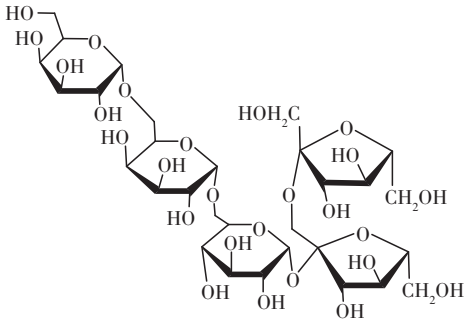
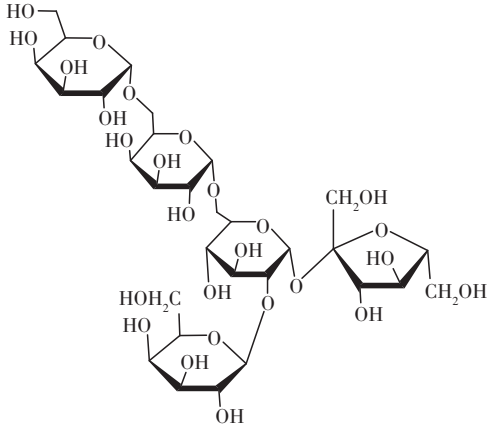
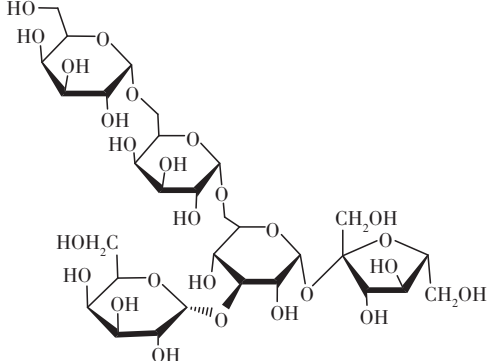
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
35	rehmaglupent- asaccharide B	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]
36	rehmaglupent- asaccharide C	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]
37	rehmaglupent- asaccharide D	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]
38	rehmaglupent- asaccharide E	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]

表 3(续)

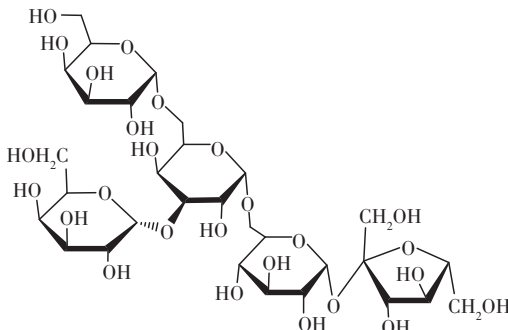
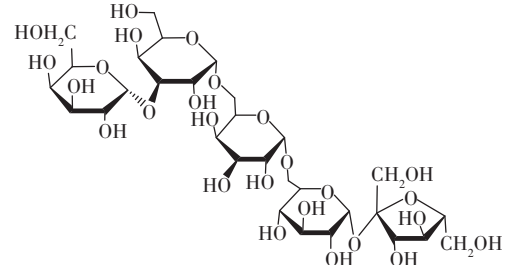
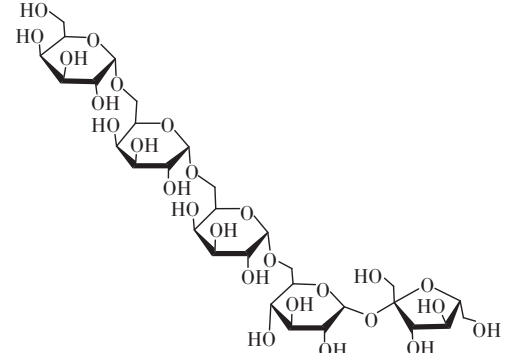
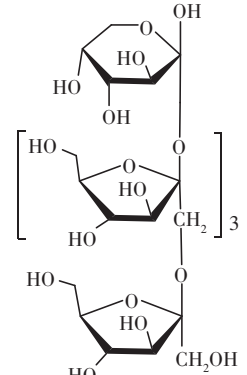
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
39	rehmaglupent- asaccharide F	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]
40	rehmaglupent- asaccharide G	5	地黄 (Rehmanniae Radix)		[61]
41	毛蕊花糖 (verbascose)	5	地参 (<i>Lycopus lucidus</i> Turcz radix)		[57]
42	果果五糖 (inulopentaose)	5	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]

表 3(续)

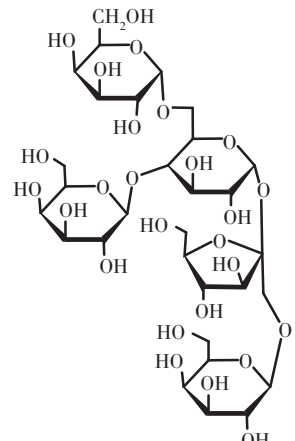
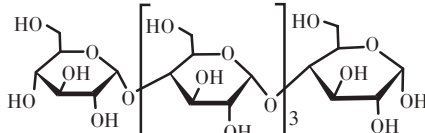
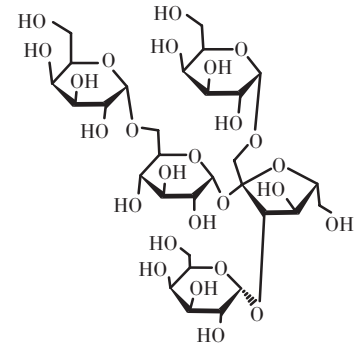
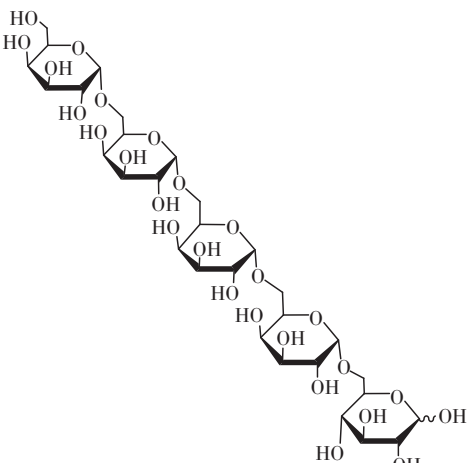
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
43	stellariose	5	繁缕 (<i>Stellaria media</i> radix)		[62]
44	麦芽五糖 (maltopentaose)	5	北五味子 (<i>Schisandrae Chinensis</i> Fructus)		[55]
45	DP5	5	太子参 (<i>Pseudostellariae Radix</i>)		[33]
46	马缨丹糖 A (lantana A)	5	马缨丹根 (<i>Lantana camara</i> radix)		[63]

表 3(续)

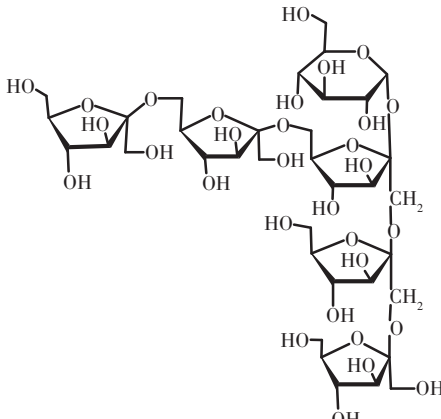
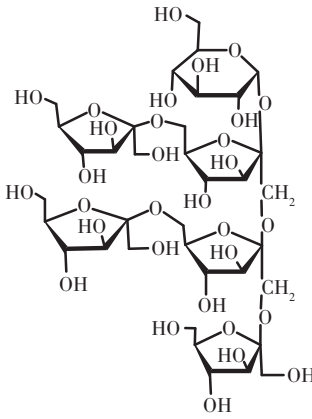
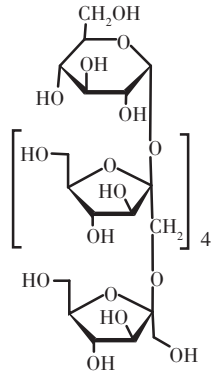
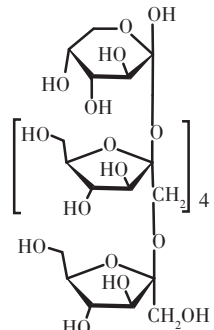
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
47	PFOS-1	6	黄精 (Polygonati Rhizoma)		[34]
48	PFOS-1	6	黄精 (Polygonati Rhizoma)		[34]
49	蔗果六糖 (GF5)	6	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]
50	果果六糖 (inulohexaose)	6	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]

表 3(续)

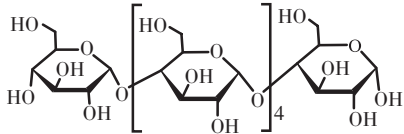
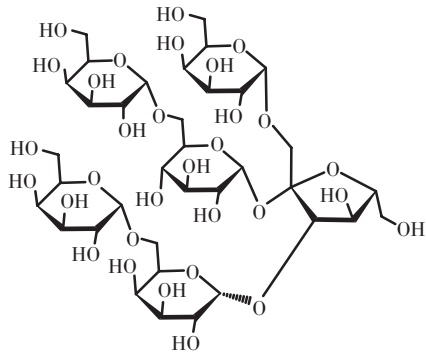
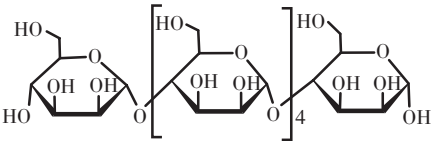
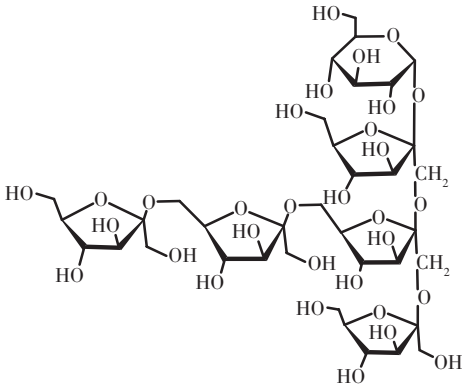
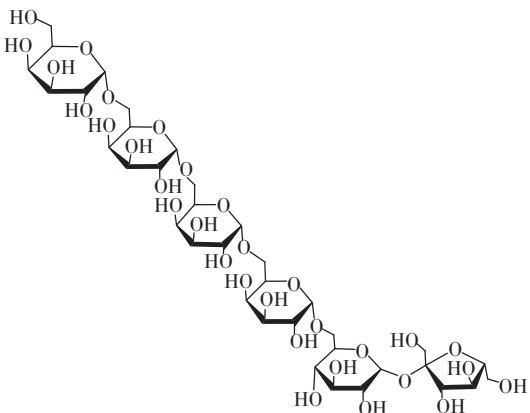
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
51	麦芽六糖 (maltohexaose)	6	北五味子 (<i>Schisandrae Chinensis Fructus</i>)		[55]
52	DP6	6	太子参 (<i>Pseudostellariae Radix</i>)		[33]
53	甘露六糖 (mannohexaose)	6	铁皮石斛 (<i>Dendrobii Officinalis Caulis</i>)		[15]
54	ABW90-1	6	牛膝 (<i>Achyranthis Bidentatae Radix</i>)		[64]
55	筋骨草糖 (ajugose)	6	马缨丹根 (<i>Lantana camara radix</i>)		[63]

表 3(续)

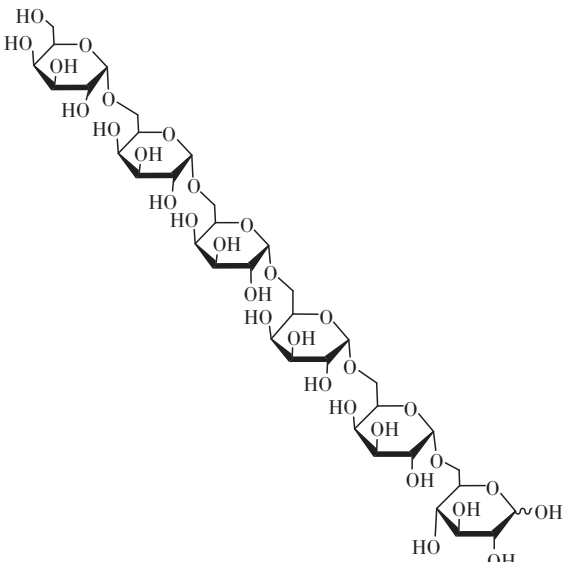
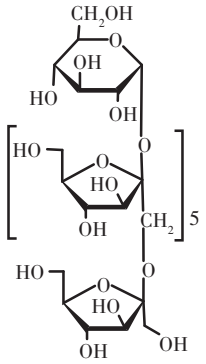
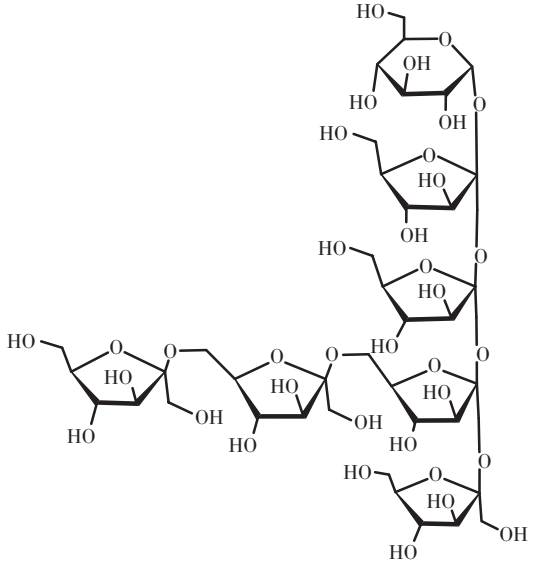
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
56	马缨丹糖 B (lantana B)	6	马缨丹根 (<i>Lantana camara</i> radix)		[63]
57	蔗果七糖 (GF6)	7	苍术 (<i>Atractylodis Rhizoma</i>)		[27]
58	ABW50-1	7	牛膝 (<i>Achyranthis Bidentatae</i> Radix)		[65]

表 3(续)

编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
59	果果七糖 (inuloheptaose)	7	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]
60	麦芽七糖 (maltoheptaose)	7	北五味子 (Schisandrae Chinensis Fructus)		[55]
61	DP7	7	太子参 (Pseudostellariae Radix)		[33]
62	CT70-1A	7	昆仑菊花 (<i>Coreopsis tinctoria</i> Nutt. flos)		[66]

表 3(续)

编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
63	蔗果八糖 (GF7)	8	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]
64	果果八糖 (inuloctaose)	8	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]
65	GLO	8	灵芝 (Ganoderma)		[67]
66	麦芽八糖 (maltoctaose)	8	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[52]
67	蔗果九糖 (GF8)	9	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]

表 3(续)

编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
68	果果九糖 (inulononaose)	9	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]
69	麦芽九糖 (maltononaose)	9	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[52]
70	CT70-1B	9	昆仑菊花 (<i>Coreopsis tinctoria</i> Nutt. flos)		[66]
71	CT70-2	6	昆仑菊花 (<i>Coreopsis tinctoria</i> Nutt. flos)		[66]

表 3(续)

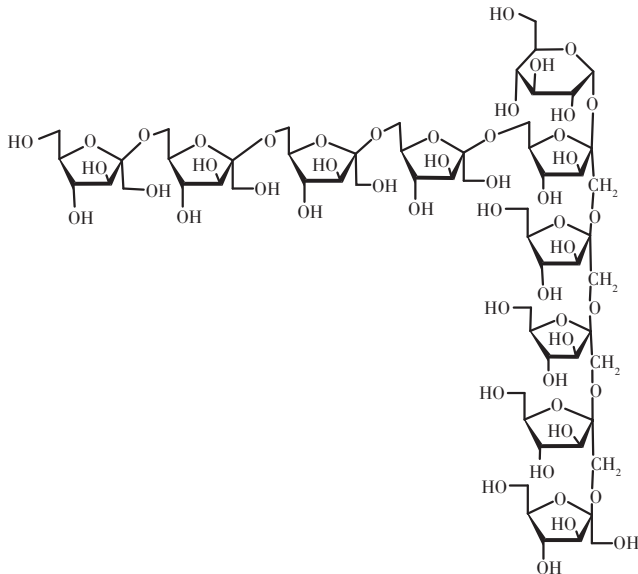
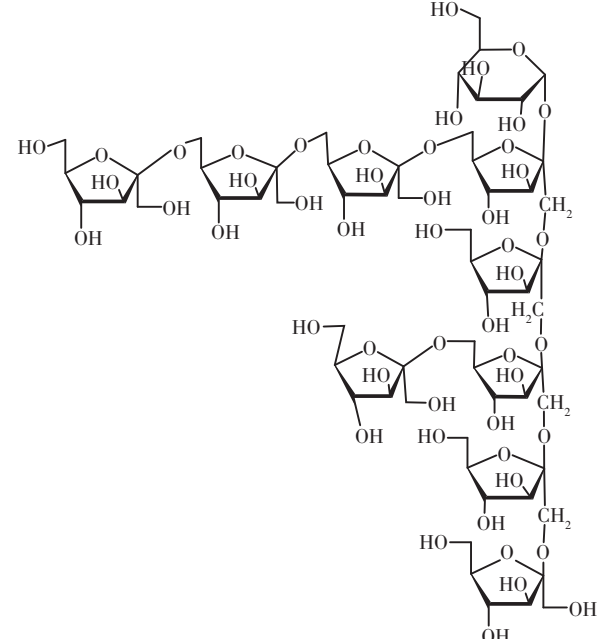
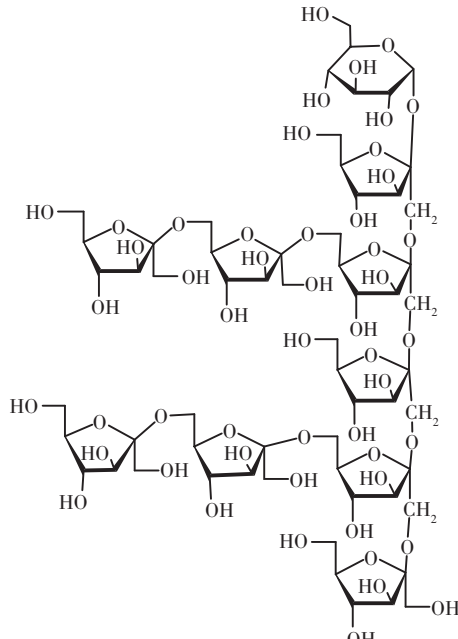
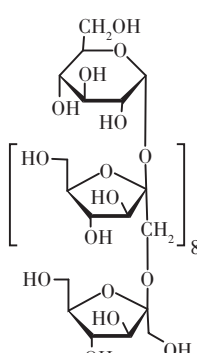
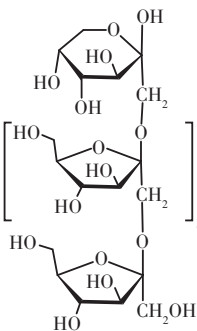
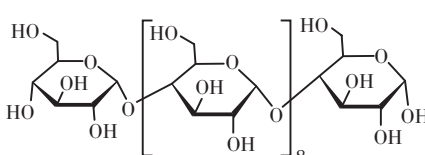
编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
72	PFOS-2	10	黄精 (Polygonati Rhizoma)		[34]
73	PFOS-2	10	黄精 (Polygonati Rhizoma)		[34]

表 3(续)

编号 (number)	名称 (name)	聚合度 (degree of polymerization)	来源 (source)	化学结构 (chemical structure)	参考文献 (reference)
74	PFOS-2	10	黄精 (Polygonati Rhizoma)		[34]
75	蔗果十糖 (GF9)	10	苍术 (Atractylodis Rhizoma)		[27]
76	果果十糖 (inulodecaose)	10	升麻 (Cimicifugae Rhizoma)		[50]
77	麦芽十糖 (maltodecaose)	10	人参 (Ginseng Radix et Rhizoma)		[52]

3 寡糖分析方法

目前中草药寡糖的分析方法主要有薄层色谱法、液相色谱法、质谱法等。对于中草药糖类的定性定量方法已有学者进行综述^[68],但大都集中在单糖及多糖,缺乏对寡糖的系统性总结。

3.1 薄层色谱法

薄层色谱(TLC)法能够通过比移值定性纯化出的寡糖,是一种成本低,耗时短的鉴定方法。通过对斑点颜色的检测,还可以用于定量分析,所需样品量少,但重现性较差。刘桂馨等^[69]借助TLC检测不同酸降解条件下茯苓多糖的3种单糖及部分寡糖的变化,并结合TLC扫描仪对展开的斑点进行定量检测。陈芷馨等^[70]采用高效薄层色谱(HPTLC)法对4种发酵虫草菌粉胶囊的寡糖进行快速分析,宁心宝胶囊中主要寡糖为 α -1,4-葡聚寡糖。Singh等^[71]开发了1种基于HPTIC测定菊粉水解产物中低聚果糖含量的方法,使用丁醇-乙醇-水(60:24:16)等度洗脱,具有良好的准确性。

3.2 气相色谱法

GC-MS广泛应用于可溶性糖组分的定性和定量分析研究^[72],Daniela等^[22]从葡萄籽中提取分离出寡糖,将三糖部分乙酰化,以硼氢化钠为还原剂,乙酸酐和1-甲基咪唑为催化剂进行乙酰化反应,后进行GC-qMS分析,首次从葡萄籽中鉴定出龙胆糖。Soledad等^[73]结合硅烷化和GC-MS/MS,对橄榄茎、叶、果实中的蔗糖、麦芽三糖、棉子糖、水苏糖及单糖进行了定性和定量分析。

3.3 液相色谱法

液相色谱法分析速度快,结果准确,是糖类定量测定和定性鉴别最有效的方法之一^[74]。表4总结了不同文献采用液相色谱法分析中草药寡糖的流动相条件等。

RID是一种传统的检测器,在糖类物质鉴别中应用较多,线性和稳定性良好,常与体积排阻色谱法等分离技术联用,其主要缺点是不能进行梯度洗脱,检测结果受流动相、温度、流速等条件的影响较大^[75-76]。蒸发光散射检测器(ELSD)是寡糖研究中最常用的检测器,可以进行梯度洗脱,但灵敏度和稳定性欠佳。电喷雾式检测器(CAD)的响应不依赖于待分析物结构的强发色团,定量限、灵敏度、重现性和线性

优于ELSD和RID,故而成为目前寡糖测定的有力工具^[15,77],已被用于对党参^[78]、太子参^[79]、铁皮石斛^[80]等中的系列寡糖进行分析。马百平等^[81]建立了一种UHPLC-CAD方法,考察了色谱柱、流动相、洗脱条件、流速和色谱柱温度对于分离效果的影响,最终以乙腈为有机相,流速 $0.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,分析了9种中性寡糖对照品,并将该方法成功应用于巴戟天、酸枣仁、薄荷、野菊花、山楂、鸭跖草6种中药中的寡糖检测。

脉冲安培检测器是1种电化学检测器,糖类物质在pH 12~14时呈现轻微的酸性,羟基在碱性条件下转化为含氧阴离子,通过高效阴离子交换柱实现选择性分离。在寡糖分析中,脉冲安培检测器常与高效阴离子交换色谱(HPAEC-PAD)结合,用于糖醛酸和中性糖类的检测^[82],Cui等^[50]运用HPACE-PAD,结合MALDI-TOF MS,确定了从升麻中分离出的26种低聚糖的分子量与聚合度,并进行了定量测定,检测限和定量限分别在 $0.002\text{ }8\text{--}0.012\text{ }5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.008\text{ }3\text{--}0.062\text{ }5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

亲水作用色谱(HILIC)采用极性的固定相和流动相,在分析未经衍生化的寡糖等水溶性极性化合物方面发挥着重要作用。常以氨基或酰胺柱作为固定相,酰胺柱重复性好、pH范围广^[83],且不会与还原糖发生反应。乙腈是最为常用的有机相,它截止吸收波长低、不提供或接受质子、也不会与固定相发生氢键作用^[84]。水相比例一般在3%~30%,水相比例过高,糖类在色谱柱上保留减弱,过低则固定相表面无法形成水膜进行液液分配。

3.4 液质联用技术

液质联用(LC-MS)技术结合了LC的高分离能力以及MS独特的选择性、灵敏度^[90],能够实现中草药寡糖的快速分析,LC-MS在中草药分析中的应用见表5。常用的MS离子源有电喷雾电离源(ESI)和基质辅助激光解吸电离(MALDI)。ESI是目前最软的电离方式之一,可以提供寡糖的分子量信息。MALDI-MS的灵敏度、分辨率高,对盐和缓冲液的耐受性高,是目前寡糖分析强大而广泛的一种工具^[91]。离子迁移质谱(IM-MS)是1种新型的二维质谱分析技术,能够根据离子的质量、电荷、大小和形状进行分离,近年来广泛用于糖类的结构和活性研究。

表 4 LC 在中草药寡糖分析中的应用

Tab. 4 Application of LC in the analysis of oligosaccharides in Chinese herbal medicine

样品来源 (sample source)	检测器 (detector)	检测寡糖 (detected oligosaccharides)	色谱柱 (chromatographic column)	流动相 (mobile phase)	参考文献 (reference)
苍术 (<i>Atractylodis</i> rhizome)	HPLC-ELSD	蔗糖五糖 (GF4)	Waters XBridge Amide column (250 mm × 4.6 mm, 3.5 μm)	水(A)-乙腈(B) [water(A)-acetonitrile(B)] 0~6 min, 75%B→68%B; 6~21 min, 68%B→50%B; 21~25 min, 50%B→75%B; 25~30 min, 75%B	[85]
铁皮石斛 (<i>Dendrobii</i> Officinalis Caulis)	HPLC-CAD	蔗糖、麦芽糖~麦芽七糖 (sucrose, maltose- maltoheptaose)	Waters XBridge BEH Amide (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	乙腈(A)-0.1% 三乙胺水溶液(B) [acetonitrile(A)-0.1% triethylamine aqueous solution(B)] 0~18 min, 12%B; 18~25 min, 12%B→20%B; 25~40 min, 20%B→35%B; 40~65 min, 35%B	[80]
巴戟天 (<i>Morinda</i> <i>officinalis</i> How)	HPLC-ELSD	蔗糖、蔗果三糖~蔗果七糖 (sucrose, kestose-GF6)	ZORBAX NH ₂ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	0.1% 醋酸水(A)-乙腈(B) [0.1% acetic acid aqueous solution(A)- acetonitrile(B)] 0~35 min, 30%B→33%B	[86]
苍术 (<i>Atractylodis</i> Rhizoma)	UPLC-ELSD	蔗糖、蔗果三糖~蔗果十糖 (sucrose, kestose-GF10)	ACQUITY UPLC BEH Amide (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)	0.1% 氨水乙腈溶液(A)-0.1% 氨水溶 液(B) [0.1% ammonia acetonitrile solution(A)- 0.1% ammonia aqueous solution(B)] 0~1 min, 2%B→25%B; 1~7 min, 25%B→30%B; 7~18 min, 30%B→45%B; 18~23 min, 45%B; 23~23.5 min, 45%B→2%B; 23.5~28 min, 2%B	[87]
地黄 (<i>Radix</i> <i>Rehmanniae</i>)	HPLC-ELSD	蔗糖、蜜二糖、棉子糖、甘露 三糖、水苏糖 (sucrose, melibiose, raffinose, manninotriose, stachyose)	XBridge BEH Amide (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	30% 乙腈水 +0.1% 氨水(A)-90% 乙腈 水 +0.1% 氨水(B) [30% acetonitrile aqueous solution +0.1% ammonia aqueous solution(A)- 90% acetonitrile aqueous solution +0.1% ammonia aqueous solution(B)] 0~22 min, 85%B 流速(flow rate) 0.6 mL·min ⁻¹ 22~64 min, 85%B→60%B 流速(flow rate) 1.0 mL·min ⁻¹	[83]
党参 (<i>Codonopsis</i> Radix)	HPLC-CAD	蔗糖、蔗果三糖~蔗果六糖 (sucrose, kestose-GF5)	Waters XBridge™ Amide column (250 mm × 4.6mm, 3.5 μm)	乙腈(A)-0.1% 三乙胺水溶液(B) [acetonitrile(A)-0.1% triethylamine aqueous solution(B)] 0~30 min, 20%B→35%B; 30~45 min, 35%B	[88]
牛膝 (<i>Achyranthis</i> <i>Bidentatae</i> Radix)	HPLC-CAD	蔗糖、蔗果三糖 (sucrose, kestose)	Asahipak NH2P-50 4E (250 mm × 4.6 mm, 3.5 μm)	乙腈(A)-水(B) [acetonitrile(A)-water(B)] 0~8 min, 75%A; 8~10 min, 75%A→71%A; 10~15 min, 71%A; 15~20 min, 71%A→69%A	[89]

表 5 LC-MS 在中草药寡糖分析中的应用

Tab. 5 Application of LC-MS in the analysis of oligosaccharides in Chinese herbal medicine

样品来源 (sample source)	检测寡糖 (detected oligosaccharide)	方法 (method)	液相条件 (liquid phase conditions)	质谱条件 (mass spectrometry conditions)	参考文献 (reference)
巴戟天、盐巴戟天 (<i>Morindae Officinalis</i> <i>Radix</i> , <i>Morindae</i> <i>Officinalis Radix</i> processed with salt)	蔗糖、蔗果三糖~蔗果 十糖 (sucrose, kestose- GF9)	定性 (qualitative): UPLC-Q TOF MS	以 0.1% 氨水乙腈 (A)-0.1% 氨水 (B) 为流动相, 梯度洗脱 [using 0.1% ammonia acetonitrile (A)-0.1% ammonia aqueous solution (B) as the mobile phase, gradient elution] 柱温 30 °C (column temperature 30 °C)	ESI 源, 负离子模式 (ESI source, negative ion mode); 电离源温度 120 °C, 脱溶剂温 度 450 °C (ionization source temperature 120 °C, desolvation temperature 450 °C)	[92]
人参 (<i>Panax ginseng</i>)	麦芽糖~麦芽九糖、 蔗糖、蔗果三糖、耐斯 糖, erlose (maltose- maltononaose, sucrose, kestose, nystose, erlose)	定性 (qualitative): UHPLC-Q Orbitrap MS	以 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 [using 0.1% formic acid aqueous solution (A)-acetonitrile (B) as the mobile phase] 柱温 30 °C (column temperature 30 °C)	ESI 源, 正离子模式 (ESI source, positive ion mode); 毛细管温度 333 °C, 辅助 气温度 317 °C (capillary temperature 333 °C and aux gas heater temperature 317 °C)	[56]
黄精 (<i>Polygonati</i> <i>Rhizoma</i>)	蔗糖、蔗果三糖~蔗果 八糖 (sucrose, kestose- GF7)	定性 (qualitative): UHPLC-Q TOF MS	以乙腈 (A)-8 mmol·L ⁻¹ 甲酸铵水溶 液 (B) 为流动相, 梯度洗脱 [using acetonitrile (A)-8 mmol·L ⁻¹ ammonium formate aqueous solution (B) as the mobile phase, gradient elution] 柱温 55 °C (column temperature 55 °C)	ESI 源, 负离子模式 (ESI source, negative ion mode); 离子源温度 120 °C, 脱溶剂 气温度 350 °C (ion source temperature 120 °C, desolvation gas temperature 350 °C)	[93]
熟地黄 (<i>Rehmanniae</i> <i>Radix Praeparata</i>)	蜜二糖、甘露三糖 (melibiose, manninotriose)	定性 (qualitative): LC-MS	以 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 [using 0.1% formic acid aqueous solution (A)-acetonitrile (B) as the mobile phase] 柱温 30 °C (column temperature 30 °C)	ESI 源, 正离子模式; 毛细 管温度 350 °C (ESI source, positive ion mode, capillary temperature 350 °C)	[94]
大豆 (legumes)	棉子糖、水苏糖、毛蕊花 糖 (raffinose, stachyose, verbasose)	定量 (quantitative): LC-QQQ MS/MS, MRM mode	以 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸乙腈 (40:60) 为流动相, 等度洗脱 (0.1% formic acid aqueous solution-0.1% formic acid acetonitrile (40:60) as the mobile phase, isocratic elution)	ESI 源, 正离子模式 (ESI source, positive ion mode); 鞘气温度 350 °C, 干燥气 温度 340 °C (sheath gas temperature 350 °C, drying gas temperature 340 °C)	[95]
北五味子 (<i>Schisandra</i> <i>chinensis</i>)	麦芽糖~麦芽七糖、蔗 糖、蔗果三糖、耐斯糖 (maltose-maltoheptaose, sucrose, kestose, nystose)	定量 (quantitative): UPLC-QQQ MS, MRM mode	以 0.1% 甲酸溶液 (A)-0.1% 甲酸 乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 [0.1% formic acid aqueous solution (A)-0.1% formic acid acetonitrile (B) as the mobile phase, gradient elution]	ESI 源, 正离子模式 (ESI source, positive ion mode); 毛细管温度 340 °C (capillary temperature 340 °C)	[55]
人参 (ginseng)	蔗糖、麦芽糖~麦芽四 糖、异麦芽糖~异麦芽 四糖、蔗果三糖、耐斯糖 (sucros, maltose- maltotetraose, isomaltose -isomaltotetraose, kestose, nystose)	定量 (quantitative): LC-MS/MS, MRM mode	以 0.02% 氨水溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 [0.02% ammonia aqueous solution (A)-acetonitrile (B) as the mobile phase, gradient elution] 柱温 40 °C (column temperature 40 °C)	ESI 源, 正离子模式, 雾化 温度 350 °C (ESI source, positive ion mode, atomization temperature 350 °C)	[96]
当归 (<i>Angelica</i>)	蔗糖 (sucros)	定量 (quantify): UPLC-Q TOF MS	以水 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度 洗脱 [water (A)-acetonitrile (B) as the mobile phase, gradient elution] 柱温 40 °C (column temperature 40 °C)	ESI 源, 负离子模式 (ESI source, negative ion mode)	[97]

表 5(续)

样品来源 (sample source)	检测寡糖 (detected oligosaccharide)	方法 (method)	液相条件 (liquid phase conditions)	质谱条件 (mass spectrometry conditions)	参考文献 (reference)
地黄 (<i>Rehmannia</i>)	蔗糖、蜜二糖、棉子糖、甘露三糖、水苏糖 (sucros, melibiose, raffinose, manninotriose, stachyose)	定量(quantify): UPLC-Q TOF MS	以 67% 甲醇与 1.25% 氢氧化铵混合溶液(A)-乙腈与 1.25% 氢氧化铵混合溶液(B)为流动相,梯度洗脱 [67% methanol and 1.25% ammonium hydroxide mixed solution (A)-acetonitrile and 1.25% ammonium hydroxide mixed solution (B) as the mobile phase, gradient elution] 柱温 60 °C (column temperature 30 °C)	ESI 源,负离子模式; (ESI source, negative ion mode)	[97]

唐湘华等^[98]利用 MALDI-TOF MS 对膜分离后的魔芋寡糖进行成分分析,从一级质谱图中可以检测到聚合度 2~20 的糖,其中,三糖的比例最高,达 21.5%。研究者们开发了激光解吸/电离质谱(LDI-MS),用碳纳米材料、硅纳米材料、金属有机框架(MOFs)、量子点等无机纳米材料代替有机基质^[99],解决 MALDI-MS 分析小分子寡糖的电离干扰问题^[100]。Luo 等^[101]用钡纳米颗粒修饰了硫醇功能化金属有机骨架纳米复合材料,作为 LDI-MS 的基质,成功用于 3 批亚洲人参和西洋参中蔗糖、麦芽糖的鉴别和定量。

清华大学欧阳证教授团队^[102]提出了 1 种超高场离子云扫描技术,对海藻糖、麦芽糖、纤维二糖、乳糖 4 种二糖异构体进行了结构分析,并成功分离了串联质谱中碎裂模式相同的乳糖和纤维二糖混合物。邵思梦^[96]通过建立 16 种单糖及寡糖标准品的离子迁移率色谱图,鉴定了不同人参中的寡糖成分,结合 PMP 衍生和 IM-MS/MS 分析,推测了 5 种未知寡糖的可能结构。

敞开式离子化质谱(AI-MS)可以避免复杂的样品前处理,进行实时直接分析,简便快速,环保,灵敏度高,且能与各种质谱仪器联用^[103]。刘晓宁等^[104]用 MALDI-MS 分析桑叶中的寡糖等小分子成分在组织中的空间分布,发现单糖(m/z 219.02)和二糖(m/z 381.07)主要分布在桑叶叶脉中。

4 寡糖在中药质量控制方面的应用

基于糖类成分的研究一直以来都是药物领域的重要方向,在中药质量控制方面,2020 年版《中国药典》中共有 11 种药材以多糖含量作为质量评价指标,包括云芝、玉竹、石斛、百合、灵芝、昆布、金樱子、枸杞子、铁皮石斛、海藻、黄精,采用无水葡萄糖、甘露糖或岩藻糖对照品,对总糖含量进行测定,但该种方法存在专属性和准确性不佳的问题^[105]。近年来,基

于特征降解糖谱和标记寡糖分析中药质量的研究不断发展,寡糖有着比多糖更明确的结构,分子量低,生物利用度更高^[106],且部分寡糖也呈现出与多糖相似甚至优于多糖的活性,有望开发作为评价药材质量的指标成分。Liu 等^[107]研究了分子量对于灵芝葡聚糖治疗小鼠溃疡性结肠炎的影响,发现微波降解后聚合度在 2~26 的灵芝低聚糖活性优于高分子量的灵芝多糖。Zhang 等^[27]发现从苍术中分离的聚合度 3~9 的寡糖对巨噬细胞的免疫调节作用优于 8~11 和 11~17 的组分及寡糖单体。寡糖作为巴戟天的有效成分,占药材干重的 20% 以上^[108],四糖耐斯糖也是巴戟天药材质量控制的标志物。可见,对于糖类物质含量高的药材,建立基于结构特征的中药寡糖质量控制方法存在可行性。

5 小结与展望

寡糖以其独特的活性及本身的安全性,有着巨大的潜力,从中草药制备的寡糖可进一步开发作为评价药材质量的指标成分。目前,关于中草药寡糖的全面综述较少,基于此,本文从中草药寡糖的制备、分离纯化、结构鉴定、分析方法等方面进行了系统归纳和总结,期望进一步推动中药寡糖的研究与应用。

提取分离是寡糖研究的前提,水提法成本低廉,契合中草药临床使用的方式,但多糖和蛋白质的共同提出会给后续研究带来一定困难。结构解析是研究寡糖构效关系的基础,受寡糖的组成、连接位点、异构体和支链结构多样性的限制,稳定、可靠的检测方法始终是制约其发展的瓶颈,单糖组成和序列分析依赖于衍生法、化学法,缺乏快速鉴别的技术和通用检测方法。现阶段,在对未知寡糖的结构进行测定时,常常结合 NMR、IR、HPLC、MS 等多种方法互相印证,其中,LC 和 MS 有分析速度快,灵敏度高的优点,有望进一步开发新型适用于糖类物质的分析方法。寡糖

的绝对定量需要可靠的标准品,但由于中药复杂的成分及糖链组成,大规模的制备与分离仍然存在困难。

参考文献

- [1] 刘影,刘涛,赵晓军,等.地黄寡糖对二型糖尿病大鼠糖脂代谢及肝脏超微结构的影响[J].中国现代应用药学,2014,31(11):1312
LIU Y, LIU T, ZHAO XJ, *et al.* Effect of *Rehmannia glutinosa* oligosaccharide on glucose and blood lipid metabolisms and liver ultrastructure in type 2 diabetic rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2014, 31(11):1312
- [2] 高云佳,姜勇,戴昉,等.肉苁蓉润肠通便的药效物质研究[J].中国现代中药,2015,17(4):307
GAO YJ, JIANG Y, DAI F, *et al.* Study on laxative constituents in *Cistanche deserticola* Y. C. Ma [J]. *Mod Chin Med*, 2015, 17(4):307
- [3] BAI RB, ZHANG YJ, JIA XS, *et al.* Isolation, characterization and immunomodulatory activity of oligosaccharides from *Codonopsis pilosula* [J]. *J Funct Foods*, 2020, 72: 104070
- [4] LI TY, HOU X, HUANG YH, *et al.* *In vitro* and *in silico* anti-osteoporosis activities and underlying mechanisms of a fructan, ABW90-1, from *Achyranthes bidentate* [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 276: 118730
- [5] MA XQ, ZHENG ZC, WANG Q, *et al.* The modulation effect of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds oligosaccharides with different structures on intestinal flora and action mode of growth effects on *Bifidobacterium in vivo* and *in vitro* [J]. *Food Chem*, 2023, 419: 136057
- [6] 张玄娥,周尊海.从心血管结局看降糖药物治疗的新进展[J].中国全科医学,2021,24(18):2251
ZHANG XE, ZHOU ZH. New developments in antidiabetic agents from the perspective of cardiovascular outcomes [J]. *Chin Gen Pract*, 2021, 24(18):2251
- [7] 李亚男.蜈蚣藻寡糖 G19 抑制胰腺癌细胞生长和羊栖菜多糖抑制结肠癌细胞生长的作用机制研究[D].上海:中国科学院大学(中国科学院上海药物研究所),2022
LI YN. Study on Inhibition Effect of Oligosaccharide G19 from *Grateloupia filicina* on Pancreatic Cancer and Anti-colorectal cancer Effect of Polysaccharides from *Sargassum fusiforme* [D]. Shanghai: University of Chinese Academy of Sciences (Shanghai Institute of Materia Medica), 2022
- [8] WAN ZX, ZHENG GY, ZHANG ZX, *et al.* Material basis and core chemical structure of *Dendrobium officinale* polysaccharides against colitis-associated cancer based on anti-inflammatory activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 262: 130056
- [9] ZHANG RX, ZHOU J, LI MM, *et al.* Ameliorating effect and potential mechanism of *Rehmannia glutinosa* oligosaccharides on the impaired glucose metabolism in chronic stress rats fed with high-fat diet [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(5):607
- [10] 中华人民共和国药典 2020 年版.一部[S].2020:83
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 83
- [11] 张蕙竹.西洋参低聚糖的制备、结构表征及理化性质、生物活性研究[D].长春:吉林农业大学,2023
ZHANG HZ. Preparation, Structural Characterization, Physicochemical Properties and Biological Activities of Oligosaccharides from American ginseng [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2023
- [12] XIONG F, LIANG HX, ZHANG ZJ, *et al.* Characterization, antioxidant and antitumor activities of oligosaccharides isolated from *Evodia lepta* (Spreng) Merr. by different extraction methods [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(11):1842
- [13] WONG TL, LI LF, ZHANG JX, *et al.* Oligosaccharide-marker approach for qualitative and quantitative analysis of specific polysaccharide in herb formula by ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry: *Dendrobium officinale*, a case study [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1607: 460388
- [14] MA YJ, ZHANG F, XIE YJ, *et al.* Oligosaccharides from *Asparagus cochinchinensis* for ameliorating LPS-induced acute lung injury in mice [J]. *Food Funct*, 2024, 15(5):2693
- [15] LIU RM, SHI SS, XIONG S, *et al.* Quality markers of *Dendrobium officinale* by “oligosaccharide-spectrum-effect” relationships [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 914380
- [16] 谢冰.芦笋低聚糖的分离鉴定及其功能研究[D].天津:天津大学,2010
XIE B. Isolation, Identification and Biological Function Study of Oligosaccharides in *Asparagus officinalis* [D]. Tianjin: Tianjin University, 2010
- [17] 张艳,芦晶,张书文,等.羊乳低聚糖超高效液相色谱-质谱鉴定中样品前处理方法及液相色谱条件优化[J].食品科学,2019,40(16):152
ZHANG Y, LU J, ZHANG SW, *et al.* Optimization of sample pretreatment and chromatographic separation conditions for identification of goat milk oligosaccharides by ultra performance liquid chromatography-Q-exactive focus tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2019, 40(16):152
- [18] ZONG WR, CHEONG KL, WU DT, *et al.* Preparation and purification of raffinose family oligosaccharides from *Rehmannia glutinosa* Libosch by fast protein liquid chromatography coupled with refractive index detection [J]. *Sep Purif Technol*, 2014, 138: 98
- [19] PINELO M, JONSSON G, MEYER AS. Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: Molecular and operational features affecting performance [J]. *Sep Purif Technol*, 2009, 70(1):1
- [20] 宁利敏,朱本伟,姚忠,等.膜分离技术在寡糖制备与分离中的应用[J].中国生物工程杂志,2022,42(4):102
NING LM, ZHU BW, YAO Z, *et al.* Recent research progresses of membrane separation technology used for oligosaccharides preparation and separation [J]. *China Biotechnol*, 2022, 42(4):102
- [21] 邱建国,张汝学,贾正平,等.离子交换树脂和活性炭分离提取地黄寡糖工艺探讨[J].中国医院药学杂志,2015,35(5):400
QIU JG, ZHANG RX, JIA ZP, *et al.* Investigation on separation

- and extraction of oligosaccharides from *Rehmannia glutinosa* by ion exchange resins and activated charcoal [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2015, 35 (5): 400
- [22] IMPERIO D, BORDIGA M, PASSOS CP, *et al.* Gentianose: purification and structural determination of an unknown oligosaccharide in grape seeds [J]. *Food Chem*, 2021, 344: 128588
- [23] WANG Z, ZHANG XX, LV DM, *et al.* Fructus Lycii oligosaccharide alleviates acute liver injury via PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Immunol Res*, 2023, 72 (2): 271
- [24] 于冰莉, 方永晟, 庞昕昕, 等. 甘草地上部分寡糖富集纯化及其抗衰老活性研究 [J]. *中国现代中药*, 2021, 23 (11): 1889
YU BL, FANG YS, PANG XX, *et al.* Enrichment, purification, and anti-aging activity evaluation of oligosaccharides in aerial parts of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Mod Chin Med*, 2021, 23 (11): 1889
- [25] HU TG, WU H, YU YS, *et al.* Preparation, structural characterization and prebiotic potential of mulberry leaf oligosaccharides [J]. *Food Funct*, 2022, 13 (9): 5287
- [26] 包书茵. 蒙药沙蓬粗寡糖调控糖脂代谢紊乱抑制 T2DM-NAFLD 发生发展的机制研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2022
BAO SY. Research on the Mechanism of *Mongolian agiophyllum* Oligosaccharides in Regulating Glucolipid Metabolism Disorder and Inhibiting the Occurrence and Development of T2DM-NAFLD [D]. Yanji: Yanbian University, 2022
- [27] ZHANG YY, ZHUANG D, WANG HY, *et al.* Preparation, characterization, and bioactivity evaluation of oligosaccharides from *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 277: 118854
- [28] 董艳, 高瑞昶, 潘勤, 等. 超滤和纳滤分离技术提取纯化地黄低聚糖的研究 [J]. *中草药*, 2008, 39 (3): 359
DONG Y, GAO RC, PAN Q, *et al.* Ultrafiltration and nanofiltration membrane separation technology in extracting and purifying oligosaccharides of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2008, 39 (3): 359
- [29] REN RF, YUAN MH, LI HL, *et al.* Direct identification of disaccharide structural isomers using ambient ionization tandem mass spectrometry with in situ methylation [J]. *Anal Chem*, 2023, 95 (4): 2213
- [30] 王耀君, 黄纯翠, 高枫, 等. 串联质谱寡糖结构解析方法评介 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2017, 44 (10): 830
WANG YJ, HUANG CC, GAO F, *et al.* Survey on algorithms for tandem mass spectrometry oligosaccharide identification [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2017, 44 (10): 830
- [31] LAINE RA. A calculation of all possible oligosaccharide isomers both branched and linear yields 1.05×10^{12} structures for a reducing hexasaccharide: the Isomer Barrier to development of single-method saccharide sequencing or synthesis systems [J]. *Glycobiology*, 1994, 4 (6): 759
- [32] BAI RB, WANG YP, CAO YY, *et al.* Discrimination of three varieties of *Codonopsis Radix* based on fingerprint profiles of oligosaccharides by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector combined with multivariate analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2022, 1685: 463642
- [33] HU DJ, HAN BX, CHEN CW, *et al.* Determination of seven oligosaccharides and sucrose in *Pseudostellaria heterophylla* by pressurized liquid extraction and ultra-high performance liquid chromatography with charged aerosol detector and tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1609: 460441
- [34] HE LL, YAN BX, YAO CY, *et al.* Oligosaccharides from *Polygonatum cyrtoneuma* Hua: structural characterization and treatment of LPS-induced peritonitis in mice [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 255: 117392
- [35] WANG WZ, CHEN F, WANG YQ, *et al.* Optimization of reactions between reducing sugars and 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) by response surface methodology [J]. *Food Chem*, 2018, 254: 158
- [36] ZHU L, CHEN GM, GUO YL, *et al.* Structural characterization of *Poria cocos* oligosaccharides and their effects on the hepatic metabolome in high-fat diet-fed mice [J]. *Food Funct*, 2022, 13 (12): 6813
- [37] 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
ZHOU P, XIE MY, FU BQ. A review of the study on the polysaccharide structure research structure [J]. *J Nanchang Univ (Nat Sci)*, 2001, 25 (2): 197
- [38] 田家屹, 马芳, 韩玲玉. 基于红外光谱的鲜地黄、生地黄和熟地黄成分差异分析 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2022, 42 (10): 3203
TIAN JY, MA F, HAN LY. Analysis of composition differences of fresh *Radix Rehmanniae*, crude *Radix Rehmanniae* and processed *Radix Rehmanniae* using infrared spectroscopy [J]. *Spectrosc Spectral Anal*, 2022, 42 (10): 3203
- [39] 余格, 刘惠, 樊启猛, 等. 不同花期发育时期金银花的 ATR-FTIR 结合模式识别分析 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31 (11): 2670
YU G, LIU H, FAN QM, *et al.* Analyzing *Lonicera Japonicae* Flos in different flower development stages by ATR-FTIR and mode identification methods [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2020, 31 (11): 2670
- [40] 王悦, 陈欣桐, 刘博, 等. 基于液相高分辨质谱联用与核磁共振技术的甘露特钠结构鉴定 [J]. *中国药学杂志*, 2023, 58 (18): 1657
WANG Y, CHEN XT, LIU B, *et al.* Structural identification of sodium oligomannate based on liquid high resolution mass spectrometry and nuclear magnetic resonance [J]. *Chin Pharm J*, 2023, 58 (18): 1657
- [41] 刘明, 李春霞, 辛现良. 核磁共振技术在糖类化合物化学结构研究的应用 [J]. *中国药学杂志*, 2009, 44 (5): 324
LIU M, LI CX, XIN XL. Application of nuclear magnetic resonance technology in the study of chemical structure of carbohydrates [J]. *Chin Pharm J*, 2009, 44 (5): 324
- [42] XING XH, HSIEH YSY, YAP K, *et al.* Isolation and structural elucidation by 2D NMR of planteose, a major oligosaccharide in

- the mucilage of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 175: 231
- [43] GAO Y, ZHENG W, WANG MX, *et al.* Molecular properties, structure, and antioxidant activities of the oligosaccharide Hep-2 isolated from cultured mycelium of *Hericium erinaceus* [J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(9): e12985
- [44] 刘翠平. 液相色谱—大气压电离质谱在单糖和寡糖结构分析中的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2003
LIU CP. Study on the Structure Analysis of Monosaccharides and Oligosaccharides by Liquid Chromatography Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry [D]. Nanning: GuangXi University, 2003
- [45] YANG QX, GUO YS, JIANG YM, *et al.* Structure identification of the oligosaccharides by UPLC-MS/MS [J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 139: 108558
- [46] HSU HC, LIEW CY, HUANG SP, *et al.* Simple method for de novo structural determination of underivatized glucose oligosaccharides [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5562
- [47] 刘宇冲, 李虎峰, 李科, 等. 基于高分辨质谱技术的黄芪多糖 APS-II 酶解活性寡糖特征分支位点的研究 [J]. *药学学报*, 2024, 59(7): 2108
LIU YC, LI HF, LI K, *et al.* Study on the characteristic branch sites of oligosaccharides of *Astragalus* polysaccharide APS-II enzymolysis based on high resolution mass spectrometry [J]. *Acta Pharm Sin*, 2024, 59(7): 2108
- [48] 马务超, 刘伟贤, 孙恬, 等. 利用高效阴离子交换色谱-脉冲安培电化学检测法测定不同生长年限巴戟天中 6 种寡糖类成分含量 [J]. *中国药学杂志*, 2015, 50(21): 1912
MA WT, LIU WX, SUN T, *et al.* Variation of contents of six oligosaccharides in the roots of *Morinda officinalis* How in different growing periods [J]. *Chin Pharm J*, 2015, 50(21): 1912
- [49] SONG J, LIU Y, YIN XC, *et al.* Isolation and structural elucidation of prebiotic oligosaccharides from *Ziziphi Spinosae Semen* [J]. *Carbohydr Res*, 2023, 534: 108948
- [50] CUI LN, WU J, WANG X, *et al.* Purification and identification of oligosaccharides from *Cimicifuga heracleifolia* Kom. rhizomes [J]. *Food Chem X*, 2023, 18: 100706
- [51] YUE JH, XIA WX, WANG YS, *et al.* Isolation, phytochemistry, characterization, biological activity, and application of *Morinda officinalis* How oligosaccharide: a review [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2024, 76(5): 437
- [52] WAN DB, JIAO LL, YANG HM, *et al.* Structural characterization and immunological activities of the water-soluble oligosaccharides isolated from the *Panax ginseng* roots [J]. *Planta*, 2012, 235(6): 1289
- [53] SATO K, NAGAI N, YAMAMOTO T, *et al.* Identification of a novel oligosaccharide in maple syrup as a potential alternative saccharide for diabetes mellitus patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5041
- [54] LEI Y, ZHANG YL, WANG Q, *et al.* Structural characterization and *in vitro* analysis of the prebiotic activity of oligosaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds [J]. *Food Chem*, 2022, 388: 133045
- [55] 盛艳华, 王瑞, 王一凯, 等. 不同产地北五味子中寡糖类成分含量差异性分析 [J]. *中药材*, 2022, 45(9): 2183
SHENG YH, WANG R, WANG YK, *et al.* Analysis of differences in oligosaccharides content in *Schisandra chinensis* from different regions [J]. *J Chin Med Mater*, 2022, 45(9): 2183
- [56] LI LL, MA L, GUO YL, *et al.* Analysis of oligosaccharides from *Panax ginseng* by using solid-phase permethylation method combined with ultra-high-performance liquid chromatography-Q-Orbitrap mass spectrometry [J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(6): 775
- [57] YANG XB, ZHAO Y, HE NW, *et al.* Isolation, characterization, and immunological effects of α -galacto-oligosaccharides from a new source, the herb *Lycopus lucidus* Turcz [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(14): 8253
- [58] SHAO SM, XU WY, XIE ZY, *et al.* Distinctive carbohydrate profiles of black ginseng revealed by IM-MS combined with PMP labeling and multivariate data analysis [J]. *Curr Res Food Sci*, 2022, 5: 2243
- [59] 徐鹏, 徐德平. 枸杞低聚糖的分离与结构鉴定 [J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(6): 196
XU P, XU DP. Isolation and structural determination of *Lycium barbarum* oligosaccharide [J]. *Food Ferment Ind*, 2009, 35(6): 196
- [60] 缪平, 毛望, 贺峰, 等. 罂粟花粉中一种寡糖成分的研究 [J]. *北京大学学报(自然科学版)*, 1995, 31(4): 422
LIAO P, MAO W, HE F, *et al.* Study on a oligosaccharide component in *Papaver somniferum* pollen [J]. *Acta Sci Nat Univ Pekin*, 1995, 31(4): 422
- [61] LIU YF, ZHOU J, ZHANG WQ, *et al.* Seven new pentasaccharides from the roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2024, 26(2): 280
- [62] VANHAECKE M, VAN DEW, LESCRIER E, *et al.* Isolation and characterization of a pentasaccharide from *Stellaria media* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(11): 1833
- [63] 潘文斗, 李毓敬, 麦浪天, 等. 马缨丹根的化学成分研究 [J]. *药学学报*, 1992, 27(7): 515
PAN WD, LI YJ, MAI LT, *et al.* Study on the chemical composition of *Lantana camara* root [J]. *Acta Pharm Sin*, 1992, 27(7): 515
- [64] WANG CS, ZHANG DW, ZHANG ML, *et al.* Structural characterization of a novel oligosaccharide from *Achyranthes bidentata* and its anti-osteoporosis activities [J]. *Ind Crops Prod*, 2017, 108: 458
- [65] YAN CY, ZHANG SJ, WANG CS, *et al.* A fructooligosaccharide from *Achyranthes bidentata* inhibits osteoporosis by stimulating bone formation [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 210: 110
- [66] YU Q, CHEN W, ZHONG J, *et al.* Structural elucidation of three novel oligosaccharides from Kunlun Chrysanthemum flower tea and their bioactivities [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 149: 112032

- [67] XIA QL, ZHAO Q, ZHU H, *et al.* Physicochemical characteristics of *Ganoderma lucidum* oligosaccharide and its regulatory effect on intestinal flora *in vitro* fermentation [J]. *Food Chem X*, 2022, 15: 100421
- [68] 邹越霄, 王庆仙, 齐冬梅, 等. 中药糖类提取物的定性定量方法研究进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38 (2): 710
ZOU YX, WANG QX, QI DM, *et al.* Research progress on qualitative and quantitative methods of carbohydrate extracts from traditional Chinese medicine [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38 (2): 710
- [69] 刘桂馨, 麻浩, 姚蕙, 等. 佐剂茯苓多糖 PCP- I 酸水解产物的分析 [J]. *军事医学*, 2020, 44 (12): 930
LIU GX, MA H, YAO H, *et al.* Analysis of production after acid hydrolysis of polysaccharide adjuvant PCP- I from *Poria cocos* [J]. *Mil Med Sci*, 2020, 44 (12): 930
- [70] 陈芷馨, 朱宝杰, 赵鹏, 等. 4 种市售发酵虫草菌粉胶囊寡糖成分分析 [J]. *药物分析杂志*, 2023, 43 (7): 1129
CHEN ZX, ZHU BJ, ZHAO P, *et al.* Analysis of oligosaccharide components in four kinds of commercial fermented *Cordyceps mycelia* powder capsules [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43 (7): 1129
- [71] SINGH RS, SINGH T, SINGH D, *et al.* HPTLC-densitometry quantification of fructooligosaccharides from inulin hydrolysate [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 177: 221
- [72] 梁胜婷, 耿昭, 荀琰, 等. 基于气相色谱-质谱联用技术分析测定川麦冬块根及须根中可溶性糖组分 [J]. *中国药学杂志*, 2024, 59 (13): 1201
LIANG ST, GENG Z, GOU Y, *et al.* Analysis of soluble sugars in *Ophiopohon japonicus* tuberous roots and fibrous roots by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin Pharm J*, 2024, 59 (13): 1201
- [73] GÓMEZ-GONZÁLEZ S, RUIZ-JIMÉNEZ J, PRIEGO-CAPOTE F, *et al.* Qualitative and quantitative sugar profiling in olive fruits, leaves, and stems by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) after ultrasound-assisted leaching [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58 (23): 12292
- [74] KURZYNA-SZKLAREK M, CYBULSKA J, ZDUNEK A. Analysis of the chemical composition of natural carbohydrates—an overview of methods [J]. *Food Chem*, 2022, 394: 133466
- [75] 左利民, 徐士婕, 赵婷, 等. 高效液相色谱联用高分辨质谱和电喷雾检测器定性和定量检测水苏糖提取物中寡糖成分 [J]. *环境化学*, 2023, 42 (3): 1053
ZUO LM, XU SJ, ZHAO T, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of oligosaccharides in stachyose extract by high performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry and charged aerosol detector [J]. *Environ Chem*, 2023, 42 (3): 1053
- [76] HONDA S. High-performance liquid chromatography of mono- and oligosaccharides [J]. *Anal Biochem*, 1984, 140 (1): 1
- [77] INAGAKI S, MIN JZ, TOYO'OKA T, *et al.* Direct detection method of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, 21 (4): 338
- [78] XIE Q, TIAN H, HUAN X, *et al.* Quality evaluation of *Codonopsis Radix* and processed products based on the analysis of monosaccharides and oligosaccharides by liquid chromatography coupled with charged aerosol detector [J]. *Phytochem Anal*, 2022, 33 (2): 262
- [79] HU D, HAN B, CHEN C, *et al.* Determination of seven oligosaccharides and sucrose in *Pseudostellaria heterophylla* by pressurized liquid extraction and ultra-high performance liquid chromatography with charged aerosol detector and tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1609: 460441
- [80] 徐双双, 吴思佳, 卢文旭, 等. HPLC-CAD 法同时测定铁皮石斛中单糖和寡糖类成分的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2023, 43 (8): 1302
XU SS, WU SJ, LU WX, *et al.* Simultaneous determination of monosaccharides and oligosaccharides in *Dendrobii Officinalis Caulis* by HPLC-CAD [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43 (8): 1302
- [81] LIU Y, SONG J, LIU S, *et al.* A universal method for profiling and characterization of oligosaccharides in traditional Chinese medicines [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 244: 116129
- [82] LORENZ D, ERASMY N, AKIL Y, *et al.* A new method for the quantification of monosaccharides, uronic acids and oligosaccharides in partially hydrolyzed xylans by HPAEC-UV/VIS [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 140: 181
- [83] 薛淑娟, 陈越, 陈随清, 等. HPLC-ELSD 法同时测定地黄及其不同炮制品中 8 个糖类成分的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2023, 43 (6): 939
XUE SJ, CHEN Y, CHEN SQ, *et al.* Simultaneous determination of eight saccharides contents in *Radix Rehmanniae* and its different processed products by HPLC-ELSD [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43 (6): 939
- [84] 张丹丹, 矫芮文, 米春孝, 等. 用于分离单糖与寡糖的亲水色谱材料制备及应用进展 [J]. *食品科学*, 2024, 45 (9): 261
ZHANG DD, JIAO RW, MI CX, *et al.* Research progress in the preparation and applications of hydrophilic chromatographic materials for separation of monosaccharides and oligosaccharides [J]. *Food Sci*, 2024, 45 (9): 261
- [85] ZHUANG D, QIN J, WANG HY, *et al.* Oligosaccharide-based quality evaluation of *Atractylodis Rhizome* and a strategy for simplifying its quality control [J]. *BMC Chem*, 2019, 13 (1): 1
- [86] 朱露林, 沈焱, 易晓薇, 等. 不同产地及种植年限巴戟天中 6 种寡糖类成分的定量分析 [J]. *中草药*, 2021, 52 (14): 4348
ZHU LL, SHEN Y, YI XW, *et al.* Content analysis of 6 *Morinda officinalis* How oligosaccharides from different habitats and planting years [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52 (14): 4348
- [87] 常丽坤, 张文晋, 曹也, 等. 不同产地苍术低聚糖的糖谱特征分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28 (23): 189
CHANG LK, ZHANG WJ, CAO Y, *et al.* Analysis of oligosaccharide mapping of *Atractylodis Rhizoma* from different habitats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28 (23): 189
- [88] XIE Q, TIAN HM, HUAN XH, HUAN XH, *et al.* Quality evaluation of *Codonopsis Radix* and processed products based on the analysis

- of monosaccharides and oligosaccharides by liquid chromatography coupled with charged aerosol detector[J]. *Phytochem Anal*, 2022, 33(2): 262
- [89] 丁玉卿,朱利利,王顺翔,等.基于UV-vis/HPLC-CAD法的不同地区牛膝糖含量测定及其道地性分析[J].*中华中医药学刊*, 2023, 41(12): 19
DING YQ, ZHU LL, WANG SX, *et al.* Genuineness study of Niuxi (*Achyranthis Bidentatae Radix*) based on different carbohydrate contents analysis by UV-Vis/HPLC-CAD[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2023, 41(12): 19
- [90] 侯万超,李赛男,郭力菲,等.利用液质联用技术分析人参叶中化学成分[J].*北方园艺*, 2018(4): 145
HOU WC, LI SN, GUO LF, *et al.* Application of liquid chromatography coupled with mass spectrometry for chemical constituents analysis of *Panax ginseng* leaves[J]. *North Hortic*, 2018(4): 145
- [91] JIANG K, ALOOR A, QU JY, *et al.* Rapid and sensitive MALDI MS analysis of oligosaccharides by using 2-hydrazinopyrimidine as a derivative reagent and co-matrix[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(2): 421
- [92] 余意,康利平,郝庆秀,等.饮片巴戟天、巴戟肉和盐巴戟天主要化学成分的含量差异分析[J].*中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(2): 146
YU Y, KANG LP, HAO QX, *et al.* Analysis on contents of main constituents in prepared *Morindae Officinalis Radix*, *Morindae Officinalis Radix* processed with steaming and salt[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2021, 27(2): 146
- [93] 刁卓,胡冲,杨青山,等.黄精炮制品多糖多元指纹图谱的建立及化学模式识别[J].*中草药*, 2024, 55(4): 1124
DIAO Z, HU C, YANG QS, *et al.* Establishment of polysaccharide multivariate fingerprint and chemical pattern recognition of processed *Polygonati Rhizoma*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(4): 1124
- [94] 张晓亚,徐金娣,许军,等.整合糖组与代谢组学方法比较蒸制和酒炖熟地黄化学成分[J].*中草药*, 2021, 52(6): 1591
ZHANG XY, XU JD, XU J, *et al.* Integrating glycomics and metabolomics to compare chemical profiles of steaming and wine-stewing processed *Rehmanniae Radix praeparata*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(6): 1591
- [95] PRIETO-SANTIAGO V, CAVIA MDM, BARBA FJ, *et al.* Multiple reaction monitoring for identification and quantification of oligosaccharides in legumes using a triple quadrupole mass spectrometer[J]. *Food Chem*, 2022, 368: 130761
- [96] 邵思梦.人参寡糖的质谱分析及神经保护作用的研究[D].长春:长春中医药大学, 2023
SHAO SM. Mass Spectrometry Analysis and Neuroprotective Effects of Ginseng Oligosaccharides[D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2023
- [97] HAN X, ANDO H, KUDO Y, *et al.* Development of highly sensitive method for sugar determination in herbal medicine: application of monosaccharides and oligosaccharides in Japanese *Angelica* root and *Rehmannia* root[J]. *Chem Pharm Bull*, 2022, 70(11): 796
- [98] 唐湘华,杨云娟,顾天坤,等.魔芋寡糖的膜分离及产物组成分析[J].*食品工业科技*, 2020, 41(8): 21
TANG XH, YANG YJ, GU TK, *et al.* Membrane separation and product composition analysis of *Konjac* oligosaccharides[J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(8): 21
- [99] 王闯,覃露媛,李冬梅,等.纳米材料在激光解吸电离质谱技术中的应用进展[J].*分析化学*, 2023, 51(2): 172
WANG C, QIN LY, LI DM, *et al.* Application advance of nanomaterials in laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. *Chin J Anal Chem*, 2023, 51(2): 172
- [100] WU J, OUYANG D, HE YT, *et al.* Synergistic effect of metal-organic framework/gallic acid in enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(41): 38255
- [101] LUO YQ, ZHAO XY, GAO Z, *et al.* Pd nanoparticles decorated thiol-functionalized MOF as an efficient matrix for differentiation and quantitation of oligosaccharide isomers by laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1202: 339665
- [102] ZHOU XY, WANG ZF, FAN JJ, *et al.* High-resolution separation of bioisomers using ion cloud profiling[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1535
- [103] 黄鑫,刘文龙,张勇,等.敞开式离子化质谱技术在中草药研究中的应用[J].*质谱学报*, 2017, 38(1): 1
HUANG X, LIU WL, ZHANG Y, *et al.* Application of ambient ionization mass spectrometry in Chinese herbal medicine research[J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2017, 38(1): 1
- [104] 刘晓宁,裴兴丽,龚灿,等.基于离子液体的基质辅助激光解吸电离质谱成像分析桑叶表面和叶脉切片中的小分子成分[J].*分析化学*, 2018, 46(12): 1923
LIU XN, PEI XL, GONG C, *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization-mass spectrometry imaging of small molecules in mulberry leaf using ionic liquid as matrix[J]. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46(12): 1923
- [105] 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
WANG Y, JIN HY, DING K, *et al.* Primary investigation on the quality control system in polysaccharide in traditional Chinese medicine[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2021, 41(10): 1670
- [106] 刘雪,任晨瑜,刘新,等.羊栖菜褐藻糖胶寡糖组分分析及抗凝血活性[J].*食品科学*, 2022, 43(12): 260
LIU X, REN CY, LIU X, *et al.* Structural characterization and anticoagulant activity of oligosaccharides derived from *Sargassum fusiforme* fucoïdan[J]. *Food Sci*, 2022, 43(12): 260
- [107] LIU LP, FENG J, JIANG SQ, *et al.* Anti-inflammatory and intestinal microbiota modulation properties of *Ganoderma lucidum* β -D-glucans with different molecular weight in an ulcerative colitis model[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 251: 126351
- [108] YANG ZM, HU J, ZHAO MY. Isolation and quantitative determination of inulin-type oligosaccharides in roots of *Morinda officinalis*[J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 83(4): 1997

(本文于 2024 年 8 月 20 日收到)