

刘静, 唐庆九, 张劲松, 等. 多糖指纹图谱分析及谱效关系研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 404–412. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021010244

LIU Jing, TANG Qingjiu, ZHANG Jingsong, et al. Research Progress on Fingerprint Analysis and Profile-Effect Relationship of Polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 404–412. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021010244

· 专题综述 ·

多糖指纹图谱分析及谱效关系研究进展

刘 静^{1,2}, 唐庆九¹, 张劲松¹, 冯 杰¹, 刘艳芳^{1,*}

(1.上海市农业科学院食用菌研究所, 农业部南方食用菌资源利用重点实验室,
国家食用菌工程技术研究中心, 上海市农业遗传育种重点实验室, 上海 201403;

2.上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘 要: 指纹图谱技术是一种评价复杂体系中各化学成分的综合性方法, 在中草药的鉴别和质量控制等方面发挥重要作用。多糖指纹图谱可通过色谱和光谱技术表征多糖的结构特征, 同时可结合活性评价探究多糖的谱效关系, 常作为多糖质量控制的有效方法。本文对表征多糖结构的光谱技术 (红外光谱、核磁共振图谱) 以及分析多糖分子量分布 (高效分子排阻色谱法) 和水解产物的色谱指纹图谱技术 (如高效液相色谱法、高效阴离子交换色谱、高效薄层色谱、凝胶电泳等) 进行了综述, 并对多糖的谱效关系进行了总结, 同时对其发展前景进行了探讨, 旨在为后续的多糖指纹图谱研究和多糖的质量控制提供参考依据, 从而促进多糖的开发利用。

关键词: 多糖, 水解产物, 指纹图谱, 谱效关系, 质量控制

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)04-0404-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021010244



本文网刊:

Research Progress on Fingerprint Analysis and Profile-Effect Relationship of Polysaccharides

LIU Jing^{1,2}, TANG Qingjiu¹, ZHANG Jingsong¹, FENG Jie¹, LIU Yanfang^{1,*}

(1. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture, P.R. China, National Engineering Research Centre of Edible Fungi, Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding of Shanghai, Shanghai 201403, China;

2. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Fingerprinting technique is a comprehensive method to evaluate the chemical components in complex system, and it plays an important role in the identification and quality control of Chinese herbal medicines. Polysaccharide fingerprints including chromatographic and spectroscopic technical analysis can effectively evaluate the quality of polysaccharides by characterizing the structural characteristics of polysaccharides and exploring the spectrum-effect relationship of polysaccharide combining with activity studies. In this paper, the spectroscopic fingerprints analysis (infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy) for characterizing the structure of polysaccharides and the chromatographic fingerprints analysis for analyzing the molecular weight distribution (high performance size exclusion chromatography) and the hydrolysates (high performance liquid chromatography, high performance anion exchange chromatography, high performance thin layer chromatography and carbohydrate gel electrophoresis etc.) of polysaccharides are generalized, and the studies on profile-effect relationship of polysaccharides are summarized as well. Moreover, the prospect of the polysaccharide fingerprint is discussed, aiming to provide reference for further studies on fingerprint analysis and quality control of polysaccharides, and therefore to promote the development and utilization of polysaccharides.

收稿日期: 2021-02-01

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目 (沪农科创字 (2018) 第 1-1 号); 上海市人才发展资金 (20180506)。

作者简介: 刘静 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药用真菌多糖研究, E-mail: lj15735649029@163.com。

* 通信作者: 刘艳芳 (1980-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 真菌多糖化学和药理学, E-mail: aliu-1980@163.com。

Key words: polysaccharide; hydrolysate; fingerprint; profile-effect relationship; quality control

多糖是生物体中广泛存在的生物大分子,与蛋白质、核酸、脂类并称为生命四大基础物质,对维持机体正常的生命活动起着至关重要的作用。然而鉴于多糖种类结构的复杂性,使得其研究的深度远不及蛋白质和核酸。目前已有大量研究表明多糖具有抗肿瘤^[1-3]、降血糖^[4-5]、免疫调节^[6-7]等功效。多糖作为一种活性大分子,其生物活性与它的单糖组成^[8]、分子构型^[9]、分子量^[10]及化学修饰^[11](如:硫酸化)等密切相关。然而在传统的多糖质量控制中,多以苯酚-硫酸法检测的总糖含量作为其评价指标,显然这种评价方法存在很大的局限性,既不能表征多糖的单糖组成与结构,也不能实现活性多糖的准确定量。因此,建立一种简单、有效、全面的多糖质量评价体系十分重要。

中药指纹图谱^[12-13]是目前国际公认的中药质控方法,同时为了明确中药药效的物质基础,相关学者提出了谱效关系这一新理论^[14],从而实现中草药的内在品质评价。随着多糖质控技术的发展,多糖指纹图谱成为多糖质量评价的有效手段,近年来已经用于中药多糖、食用菌多糖的图谱特征分析。此外,依据其采用的分析技术不同可分为光谱指纹图谱和色谱指纹图谱,其中光谱指纹图谱的分析技术包括红外光谱法和核磁共振谱法;而色谱指纹图谱技术则有高效薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法、凝胶电泳法、高效阴离子色谱法以及高效分子排阻色谱法。本文对近年来基于光谱、色谱技术的多糖指纹图谱和谱效关系相关研究进行了综述,旨在为多糖的质量控制提供科学依据。

1 光谱指纹图谱

光谱图一般反映的是化学成分的结构信息,有较强的定性功能,此法具有样品用量少、快速简便、破坏性小等优势,但定量的准确性较差,因此其常作为色谱指纹图谱的补充,而非单独地用其进行多糖的质量分析。在多糖的分析研究中,常用的光谱指纹图谱技术包括红外光谱和核磁共振谱。

1.1 红外光谱

红外光谱是一种能够表征化合物官能团特性的分析技术^[15],其在多糖的结构分析中主要用于判断糖苷键的构型。红外光谱具有操作简便、特征性强、高效环保、无损检测等特点^[16],可以作为多糖检测分析的辅助手段,但对于组分复杂的混合物来说,鉴别专属性差,分辨率低^[17],且所得的图谱峰常存在重叠现象。

李平凡等^[18]通过红外光谱检测了 10 批江西决明子多糖,对所得的 11 个共有吸收峰的数据进行聚类分析,结果表明未知决明子多糖聚为一类,而不同批次的江西决明子多糖则聚为另一类,从而基于多糖组分实现了江西决明子的质量控制。高新开等^[19]同

时运用红外光谱和高效液相色谱对不同批次的多糖口服液进行比较,利用相似度方法分析高效液相色谱的图谱数据发现样品间无显著差异,而通过主成分分析和聚类分析对红外光谱进行研究,发现样品 KFY16 与其它样品区分明显,该结果表明通过红外光谱的吸收峰,辅助主成分分析和聚类分析能够快速检测出异常样品。Li 等^[20]通过建立傅里叶变换红外指纹图谱来表征 18 批不同来源的草珊瑚多糖的结构信息,主成分分析结果表明图谱中的 3371 cm^{-1} (羟基基团的伸缩振动)和 1411 cm^{-1} (糖分子中羰基基团的伸缩振动)处的吸收峰对于多糖样品的产地鉴别贡献较大,该方法为草珊瑚多糖产品的质量控制提供了有效的方法。红外光谱作为一种综合的结构鉴定手段,已经在多糖指纹图谱研究中得到较为广泛的应用,同时结合不同的化学计量学方法能够实现样品的快速鉴别。

1.2 核磁共振图谱

核磁共振可提供多糖单糖类别和糖苷键构型等丰富的结构信息,其图谱中的信号强弱大致能反映混合物中各组分的相对含量,而图谱中的化学位移则可用于定性分析,其具有不破坏样品的形态、分析快速、无选择性等优点,但对样品的纯度要求较高。与红外光谱相比,核磁共振图谱反映的信息更多,重现性更好^[21]。其多糖指纹图谱的研究主要集中在核磁共振氢谱和碳谱分析两个方面,目前已经初步地应用于不同产地多糖的鉴别。

赵璇等^[22]采用核磁共振技术对比研究了南、北葶苈子的化学成分,发现南葶苈子比北葶苈子的质子峰更密且杂,揭示了两者在多糖组分方面的差异,为葶苈子的来源区分提供了有效的手段。陈艳蕊^[23]以黄芪多糖为研究对象,建立了不同产地黄芪多糖的核磁共振氢谱,直观上可以看出不同产地黄芪图谱中糖质子峰的个数和高度均不同,表明不同产地黄芪多糖的糖残基种类和连接方式存在一定的差异,可作为黄芪产地区分的辅助手段。为了从大量的数据中筛选出更有效的信息, Li 等^[24]比较分析内蒙古和甘肃两个产地黄芪多糖的核磁共振氢谱,结合主成分分析比较各样品之间的差异,结果表明图谱中半乳糖和 β -葡萄糖的异头质子信号对黄芪产地鉴别的贡献较大,为后续黄芪的质量控制提供一种新方法。核磁共振技术是近年来发展迅速的无损检测技术,它具有样品可回收、前处理步骤少等优势,但是对于组分复杂的化合物,其图谱信号重叠难以辨析,因此多糖在制备过程中需要经过脱脂、醇沉、脱蛋白等纯化处理,尽量减少杂质对图谱的干扰。

2 色谱指纹图谱

多糖色谱指纹图谱的研究主要针对分子量分布特征分析和水解产物分析两方面,其中水解产物分析

又分为单糖组成分析和寡糖片段分析, 相关研究见表 1。目前用于多糖分子量分布检测的是高效分子排阻色谱法, 单糖组成分析的方法主要包括高效液相色谱、气相色谱及高效阴离子交换色谱, 而寡糖片段分析的研究手段主要有高效薄层色谱、凝胶电泳、亲水作用色谱、高效阴离子交换色谱以及液质联用技术。

2.1 多糖的分子量分布特征分析

多糖生物活性与其分子量分布密切相关, 因此很有必要建立多糖分子量分布的指纹图谱。高效分子排阻色谱法(high performance size exclusion chromatography, HPSEC)是分析天然产物中聚合物分子量和分子量分布最常用的技术之一, 常用于检测多糖及其水解产物的分子量分布^[25-26], 目前已广泛应用于多糖分子量的检测。

吴定涛等^[27]采用色谱柱 TSK Gel G6000pxl 和 TSK Gel G3000pxl 串联, 比较分析不同产地长裙竹荪多糖的分子量分布, 通过确定特征色谱峰比较其图谱的相似度发现各样品间的指纹图谱重合度较好, 均含有 3 个相似的特征色谱峰, 表明不同产地的竹荪多糖质量较一致。Xu 等^[28]运用 HPSEC 技术建立了石斛多糖的指纹图谱, 结果表明不同批次的铁皮石斛多糖图谱一致性良好, 但铁皮石斛与其它品种的石斛分子量分布图谱差异显著, 后者主要表现为大分子量多糖色谱峰的缺失。Li 等^[29]对不同批次的滋肾育胎丸中的多糖进行了分子量分布的特征分析, 明确指出分子量 $M_w \geq 2.10 \times 10^5$ Da 可以作为控制该中成药多糖的质量参数, 说明高效分子排阻色谱指纹图谱可作为滋肾育胎丸多糖的质量控制手段。Guan 等^[30]依据多糖对不同糖苷酶的响应特性建立了 9 种中草药多糖的分子量指纹图谱, 发现不同中药多糖酶解后的分子量图谱存在明显差异, 并通过木糖酶和 1,4-半乳糖酶可实现不同种属人参多糖的鉴别。由此可见, HPSEC 是一种高效、简便的多糖指纹图谱构建方法, 可以较好地反映不同材料中多糖的分子量分布特征。随着分析技术的不断发展, HPSEC 与多

角度激光光散射检测器和示差折光检测器^[31]联用的分析系统逐渐用于多糖分子量的检测, 与传统的 HPSEC 联用示差检测器或蒸发光检测器比较, 它不仅不需要多糖标准品, 而且能同时测定多糖分子量及其含量, 故该技术的应用有助于提高多糖分子量指纹图谱的准确性。

2.2 多糖的水解产物分析

天然来源的多糖是一类理化性质极其相似的大分子混合物, 具有复杂的组分和结构。为了对多糖化合物进行有效的分离和分析, 在进行多糖图谱分析之前, 常常需要将多糖水解成寡糖或者单糖, 然后选择合适的分析方法检测水解产物。目前常用于多糖的水解方法是酸解法和酶解法, 其中酸水解又包括完全酸水解和部分酸水解。

2.2.1 单糖组成分析 常用于单糖组成检测的方法有高效液相色谱法、气相色谱法以及高效阴离子交换色谱, 通过对多糖的完全水解产物进行分析可明确其单糖种类及含量。目前不同的分析技术已经应用于灵芝多糖、枸杞多糖、茶多糖、黄芪多糖等单糖组成指纹图谱的研究。

2.2.1.1 高效液相色谱 高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)是构建单糖指纹图谱最常用的方法, 在糖谱分析中应用较多, 其最大的优势是可以与不同的检测器联用, 从而满足不同样品的测定需求。Liu 等^[32]将提取的枸杞多糖完全酸水解后再进行 HPLC 分析, 研究表明不同产地的枸杞子多糖均由 9 种单糖构成但各单糖所占摩尔比例不同, 能够有效地区分不同产地的枸杞子。Liu 等^[33]通过 HPLC 技术建立了不同产地的茯苓多糖和猪苓多糖的单糖组成指纹图谱, 对比标准图谱发现茯苓样品只有 5 种单糖, 而猪苓样品含有 8 种单糖。同时主成分分析结果表明茯苓和猪苓多糖可以区分为两类, 并且发现核糖和甘露糖可以作为区分两者的主要指标。

2.2.1.2 气相色谱 气相色谱(gas chromatography,

表 1 色谱指纹图谱在多糖中的应用

Table 1 Applications of chromatographic fingerprinting techniques on polysaccharides

研究对象	指纹图谱技术	化学计量学分析	研究内容	研究目的	参考文献
竹荪多糖	HPSEC	相似度分析	比较分子量分布	质量评价	[27]
铁皮石斛多糖	HPSEC	相似度分析	比较分子量分布	物种鉴别、质量评价	[28]
茯苓、猪苓多糖	HPLC	相似度分析、主成分分析 聚类分析、线性判别分析	比较完全水解产物的 单糖种类和含量	物种鉴别、质量评价	[33]
人参多糖	GC	聚类分析、主成分分析	分析单糖种类和含量	物种鉴别	[37]
黄芪多糖	PACE、HPTLC	偏最小二乘分析 聚类分析	表征部分酸水解的 寡糖产物	栽培方式、产地鉴别	[45]
猴头菇多糖	PACE	相似度分析	表征酶解的寡糖产物	质量评价	[48]
灵芝多糖	PACE	相似度分析	表征部分酸解的寡糖	物种鉴别、质量评价	[49]
黄芪多糖	HILIC	相似度分析	表征部分酸解的寡糖	物种鉴别	[56]
巴戟天多糖	HPAEC	相似度分析	分析寡糖组分	产地、混伪品鉴别	[57]
灵芝孢子粉多糖	HPAEC	—	分析酸-酶水解的寡糖	质量评价	[58]

GC)是一种主要用于表征和鉴定挥发性化合物的分析技术,是测定多糖单糖组成的一种有效而灵敏的方法^[34]。GC 具有灵敏度高、分离度好、分析速度快、样品用量少等优势^[35]。郝霞^[36]以细胞壁多糖为研究对象,通过气相色谱技术建立不同种属和不同生长方式的黄芪细胞壁多糖的单糖指纹图谱,采用多元统计学对数据进行处理,结果发现不同种属的黄芪区分不明显,而速生黄芪和传统黄芪明显分成两部分,该研究为鉴别速生黄芪和传统黄芪提供了科学依据。Cheong 等^[37]采用气相色谱比较分析了人参、西洋参和三七 3 种人参属植物多糖的单糖组成,发现它们均由 6 种单糖组成,但是各单糖色谱峰的强度存在差异,该结果对人参属植物特有多糖的鉴定具有一定的参考价值。

2.2.1.3 高效阴离子交换色谱 高效阴离子交换色谱 (high performance anion exchange chromatography, HPAEC) 广泛应用于单糖和大部分的寡糖的检测^[38-39],它常与脉冲安培检测器(PAD)连用,形成高特异性、高灵敏度、高分辨率的检测方法。它不仅不需要衍生化,同时对于不同糖组分(如差向异构体)的分离效果更好,灵敏度也有所提升。Wang 等^[40]采用 HPAEC 系统分析了 22 批茶多糖和 5 批其他多糖的单糖组成,离子指纹图谱表明 22 个茶多糖样品的单糖组成相似但是比例不同,而茶多糖与非茶多糖图谱的差异性较大,因此可以通过离子色谱鉴别茶多糖样品的真伪。赵丹等^[41]探究了不同产地葛根多糖完全水解产物中的单糖组成及其含量。结果发现所有样品中均含有岩藻糖、鼠李糖、葡萄糖,而只有个别样品中含有甘露糖、木糖和核糖,另外发现有 3 个葛根样品不含半乳糖,该方法为葛根多糖的质量控制提供新方法。

上述研究表明,HPLC、GC 以及 HPAEC 均可用于单糖组成分析,并且根据多糖完全水解产物的单糖种类和比例等图谱特征实现植物多糖产地和种属的鉴别。相比较而言,HPLC 需要对水解产物进行衍生化处理,或者联用灵敏度较低的示差和蒸发光散射检测器;GC 同样需要对水解产物进行衍生化,对多种单糖可以实现较好分离,但该技术不适用于糖醛酸组分的检测;高效阴离子交换色谱(HPAEC)连用脉冲电化学检测技术无需衍生化就可以直接分析水解产物,且对于各单糖和糖醛酸组分均可实现较好的分离和检测,目前 HPAEC-PAD 是构建单糖组成指纹图谱较为理想的技术。

2.2.2 寡糖或低聚糖片段分析

2.2.2.1 高效薄层色谱法 高效薄层色谱法 (high performance thin layer chromatography, HPTLC) 是寡糖组分分析的常规方法,既可用于定性分析也可用于定量分析。HPTLC 具有直观性强、溶剂消耗量少、成本低、操作简便等优点。但 HPTLC 极易受到实验人员的操作技术和环境的影响,因此其重复性

差,同时不适用聚合度较高的寡糖^[42]($DP > 15$)分离。Wu 等^[43]采用高效薄层色谱法比较研究虫草和其混伪品多糖的酶解产物,发现混伪品水解得到的寡糖片段的丰富度明显低于虫草正品,这为蛹虫草的合理使用提供依据。Deng 等^[44]通过 HPTLC 技术构建不同产地太子参多糖酶解后的寡糖指纹图谱,通过定量和定性分析发现不同产地的太子参寡糖指纹图谱较为相似(相似度值高达 0.878),说明不同产地太子参多糖具有较好的一致性,为太子参的质量控制提供新方法。王桂臻^[45]基于 HPTLC 技术对黄芪多糖部分酸水解的寡糖产物进行表征,采用偏最小二乘法分析图谱的数据,发现区分黄芪栽培方式的寡糖片段为三糖和四糖,而二糖和三糖则为辨别黄芪种属的片段,且栽培方式的差异要大于种间差异。HPTLC 技术可以作为一种有效的鉴别方法,但相关研究表明 HPTLC 仅对于聚合度较低($DP \leq 5$)寡糖分离效果较为理想,因此通常需要联用其它的技术才能实现对寡糖片段的全面分析。

2.2.2.2 凝胶电泳 凝胶电泳 (polysaccharide analysis using carbohydrate gel electrophoresis, PACE) 是利用分子本身不同的迁移速率及凝胶的分子筛作用而达到分离的目的。它具有较高的分辨率(可以分离聚合度为 40 的低聚糖)和良好的灵敏度^[46-47]。PACE 是一种经济、简单、高灵敏和高分辨率的寡糖分析技术。它不需要流动相或者展开剂以及大型的仪器设备,并且其定量的准确性较 HPTLC 有明显地改善,但需要 ANTS 衍生化,重复性差。

Wu 等^[48]以猴头菇多糖为研究对象,采用荧光辅助糖电泳技术构建了多糖酶解产物的 PACE 指纹图谱,结果发现猴头菇子实体多糖均可被选定的 5 种酶水解产生寡糖片段,而市售的猴头菇多糖不能被其中的 2 种酶所降解,因此两者的低聚糖图谱有明显差异,该方法有利于提高猴头菇多糖的质量控制水平。为了探究不同品种灵芝多糖的特征,Wu 等^[49]采用部分酸水解结合凝胶电泳(PACE)对紫芝、赤芝及其混伪品的降解产物进行比较分析,发现紫芝和赤芝多糖的 PACE 图谱极其相似,但两者与其他种属灵芝(混伪品)的指纹图谱明显不同,该研究对灵芝多糖的质量控制有一定的参考价值。王迪等^[50]用内切-1,3- β -葡聚糖酶处理蒙古黄芪多糖和膜荚黄芪多糖,通过对比分析酶解产物的电泳指纹图谱得到区分不同黄芪种属的差异性寡糖片段(五糖和六糖),有助于实现黄芪品种的区分。基于 PACE 分析的指纹图谱被证明是一种可行的方法,与 HPTLC 相比,它能够提供更多的低聚糖条带信息,然而对于单糖的分辨率不高,因此其可以和 HPTLC 技术结合使用。

2.2.2.3 亲水作用色谱法 亲水作用色谱 (hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC) 是分离极性和亲水性化合物的液相色谱。它是由学者 Alpert^[51]提出的,并逐渐被广大学者认可和应用。而

多糖作为一种亲水性的化合物,可以很好地被亲水作用色谱柱分离测定,尤其在寡糖^[52-53]分析方面已经取得了一些成果。

梁琰^[54]采用部分酸解法降解灵芝多糖,并构建其 HILIC 指纹图谱,发现不同品种灵芝多糖的 HILIC 图谱中均含有相同的 10 个糖组分(单糖和寡糖),但是其中的一些糖组分的含量差异较大,可以作为区分灵芝品种的有效手段。Xia 等^[55]通过亲水作用色谱联用蒸发光检测器技术分别对膜荚黄芪多糖和蒙古黄芪多糖的部分酸水解产物进行了分离和检测,结果显示不同品种黄芪特征指纹图谱均含有聚合度 2-11 的寡糖组分,但是各组分的含量有差异,说明该技术可用于黄芪品种的鉴别。Wang 等^[56]同样采用 HILIC-ELSD 技术对酸降解的寡糖进行分析,发现不同产地的膜荚黄芪之间存在差异,为黄芪产地的区分提供参考。综上所述,通过 HILIC 结合 ELSD 能够对寡糖进行较好的分离和检测,为低聚糖的检测提供了有效的方法。

2.2.2.4 高效阴离子交换色谱法 高效阴离子交换色谱法(high performance anion exchange chromatography, HPAEC)联合脉冲安培检测器可对多糖的水解片段直接进行分析,样品不需要衍生化,在相关领域已有较多应用。但是该方法无法准确地反映寡糖或低聚糖的聚合度信息,需要串联质谱初步判断寡糖组分的聚合度。丁平等^[57]通过高效阴离子交换色谱-脉冲安培电化学检测器(HPAEC-PAD)分析巴戟天及其常见混伪品的寡糖成分,结果表明不同产地的巴戟天 HPAEC 图谱中均含有 20 种糖成分,但是各组分含量存在一定的差异;同时对比分析了巴戟天及其常见混伪品,结果显示常见的混伪品中含有的寡糖种类较少甚至没有,为鉴别巴戟天真伪提供有效的方法。王浩豪^[58]构建了 20 批灵芝孢子粉多糖样品酸-酶水解物寡糖组分的 HPAEC 标准指纹图谱,并在寡糖图谱中确定了 5 个共有特征峰,通过与菊粉对照品进行对比分析发现它们分别为三糖、五糖、六糖、七糖和多糖,该图谱为灵芝孢子粉的质量控制提供依据。Liu 等^[59]应用 HPAEC-PAD 来表征两种不同来源的海带多糖的酶解产物,发现来自褐藻的海带多糖酶解后得到的低聚糖片段更加复杂(12 个产物峰),

同时发现各色谱峰所占的比例也有较大的差异,表明通过 HPAEC 技术辨别海带多糖具有一定的可行性。

2.2.2.5 液质联用 液质联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)技术充分地将液相的高分离效能与质谱的强大定性能力结合^[60]。其最大的特点是应用质谱提供的结构信息来推测未知化合物的结构,即使在没有标准品的情况下也可以实现对化学成分的定性分析。廖俊昭等^[61]采用高效液相色谱-电喷雾电离高分辨飞行时间质谱建立了人参多糖酸解产物的指纹图谱,研究发现不同糖苷键的二糖质谱图具有不同的断裂规律,在相同的色谱条件下建立了人参多糖的糖谱,经过对比分析后发现人参二糖中含有 1,3 糖苷键和 1,4 糖苷键,该方法为人参多糖结构的分析提供新思路。Eshani 等^[62]运用氧化法降解标准多糖和食品原液,并通过 HPLC-QTOF-MS 技术构建不同食品原料的寡糖指纹图谱,通过与标准多糖的寡糖图谱进行匹配发现椰子果肉主要由甘露聚糖和半乳甘露聚糖组成,而黄玉米粉主要由直链淀粉组成,该研究建立了一种基于多糖降解和多糖标准品产生的寡糖指纹图谱来确定食品中多糖组成的方法。LC-MS 作为一种分析糖类化合物的新型技术,不仅可以直接分析降解产物,而且还能够较为准确地表征水解产物中寡糖的聚合度,是研究多糖结构的有效手段。

3 谱效关系的研究

谱效关系被认为是一种潜在的有效的中药内在质量控制方法,它在中药领域已经得到了较广泛的应用,但是关于多糖的谱效关系研究较少。目前多糖谱效关系的研究处于初级阶段,其主要集中在单糖组成分析和多糖分子量检测两个方面^[63-64],如表 2 所示。因此,本部分主要总结多糖的谱效研究成果,期为多糖谱效关系的研究提供思路。谱效关系的研究思路^[65](如图 1)大致可以分为三部分,第一部分:选择合适的分析方法构建所测样品的指纹图谱,同时通过体内和体外实验获得药效学数据;第二部分:将色谱指纹图谱的信息与所得的药效学数据进行统计学分析,从而建立相应的谱效关系模型;第三部分:明确发挥药理活性的有效成分,并通过查阅相关资料确

表 2 多糖的谱效研究

Table 2 Research on profile-effect relationship of polysaccharide

研究对象	分析技术	分析指标	药效指标	数据处理方法	参考文献
灵芝子实体多糖	HPSEC HPLC	分子量 单糖组成	免疫活性	多元线性回归分析	[63]
红芪多糖	GC	单糖组成	抗肝损伤	灰色关联度法	[64]
党参多糖	GC	单糖组成	抗肿瘤活性	偏最小二乘法	[71]
莲藕多糖	HPSEC HPLC	分子量 单糖组成	抗氧化、抗肿瘤及免疫活性	多元线性回归分析	[72]
金针菇多糖	HPLC	单糖组成	抗肿瘤活性	多元线性回归分析	[73]
茯苓多糖	HPLC	单糖组成	免疫活性	偏最小二乘法	[74]

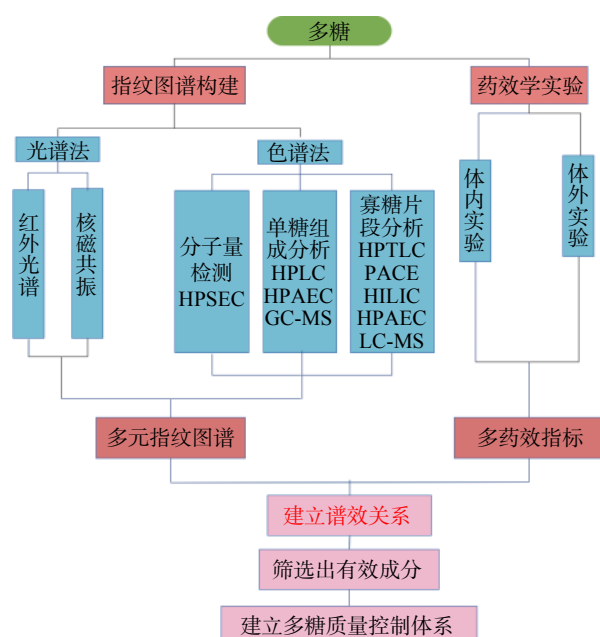


图 1 多糖谱效关系研究思路

Fig.1 Research ideas on profile-effect relationship of polysaccharide

定有效成分的结构。目前应用于谱效关系研究的数据处理方法^[66]主要有灰色关联度分析法^[67]、偏最小二乘回归分析法^[68]、主成分分析法^[69]等,每种数据分析的方法都存在优势和不足之处。

刘小花等^[70]采用灰色关联度分析法将 10 批黄芪药材水部位的 HPLC 指纹图谱的峰面积和吞噬指数数据进行关联,结果显示图谱中的 7 组共有峰都与免疫力的提高有一定的关联度,推测可能是黄芪水部位的黄芪多糖为药效物质。张培等^[71]探究了不同产地党参多糖的单糖组成与其抗病毒活性的关系,偏最小二乘法结果表明党参多糖的单糖种类与其对 HepG2 细胞的抑制率存在一定的关联性。

孙杰^[72]构建了不同部位莲藕多糖与其抗肿瘤、免疫调节活性的谱效模型,研究表明多糖中的各单糖成分(除 Glc 外)均与其活性呈现一定的正/负相关性,而与其分子量无关。Dong 等^[73]采用多元线性回归分析法研究了金针菇多糖的单糖组成与肿瘤细胞活性的关系。结果发现甘露糖与癌细胞抑制率呈正相关,而木糖、半乳糖、鼠李糖则与抑制率呈负相关。通过对谱效关系的研究,建立了一种有效评估金针菇多糖活性的方法。肖颖等^[74]运用 HPLC 技术建立了 16 批不同产地的茯苓多糖的指纹图谱,并测定其体外免疫活性,联合偏最小二乘回归分析法筛选出影响多糖活性的正负相关峰,发现其中的葡萄糖、半乳糖和甘露糖显著地影响茯苓多糖的免疫活性,该研究为茯苓多糖谱效关系的研究奠定了基础。

上述研究可以看出当前多糖的谱效研究深度不够,其主要表现为指纹图谱构建的技术和数据处理方法较为单一,不能多维度地对其进行分析。谱效关系研究成为近年来的研究热点,尤其在中药谱效研究领

域已经取得一定成果,但目前针对多糖谱效关系的研究比较薄弱,故今后可以借鉴中药谱效关系的相关研究,进一步推动多糖谱效关系的发展。

4 总结与展望

多糖的质量控制一直是多糖及其产品商业化的关键问题。指纹图谱技术是多组分质量控制的有力工具,同时结合多糖的药效学研究筛选出活性成分,从而控制多糖的内在品质。目前多糖指纹图谱的研究已经取得了一定的进展,但其研究仍处于初级阶段,今后可针对以下几方面开展深入研究: a. 加强对酶解产物特征片段的分析,建立特异性的多糖酶解指纹图谱,实现不同来源多糖的鉴别; b. 联用多种分析技术建立多糖的多维指纹图谱,从而更加全面准确地反映多糖的结构特征; c. 探究多糖的糖苷键类型、高级构象等与其生物活性的相关性,扩展多糖谱效关系的研究思路; d. 在数据处理方面,结合多种数据分析技术,从而更加全面精确地分析谱效信息。因此,随着仪器分析技术、药效学评价体系及数据分析方法的更新和完善,将进一步推动多糖指纹图谱及其谱效研究的发展,为多糖的质控开创一个准确、快速、高通量的评价策略。

参考文献

- [1] SUN Y C. Biological activities and potential health benefits of polysaccharides from *Poria cocos* and their derivatives[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 68: 131-134.
- [2] LI W W, WANG J Y, CHEN Z Q, et al. Physicochemical properties of polysaccharides from *Lentinus edodes* under high pressure cooking treatment and its enhanced anticancer effects[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 115: 994-100.
- [3] 张忠, 张劲松, 唐庆九, 等. 灵芝 β -葡聚糖磷酸化衍生物体外抑制肿瘤细胞增殖的作用[J]. 食用菌学报, 2020, 27(1): 63-68. [ZHANG Z, ZHANG J S, TANG Q J, et al. Phosphorylated derivatives of *Ganoderma lucidum* β -glucan inhibited tumor cells K562 and L1210 *in vitro* [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2020, 27(1): 63-68.]
- [4] 谭青云, 袁永俊, 王丹, 等. 不同提取方式对铁皮石斛多糖及体外降血糖的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(6): 207-211. [TAN Q Y, YUAN Y J, WANG D, et al. Effects of different extraction methods on polysaccharide from *Dendrobium candidum* and hypoglycemic effect *in vitro* [J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(6): 207-211.]
- [5] 肖瑞希, 陈华国, 周欣. 植物多糖降血糖作用及机制研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 254-260. [XIAO R X, CHEN H G, ZHOU X. Recent progress in understanding of hypoglycemic effect and underlying mechanism of plant polysaccharides[J]. *Food Science*, 2019, 40(11): 254-260.]
- [6] 高蓓蓓, 彭颖, 李晓波. 四君子汤复方多糖肠道免疫调节作用及其机制研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(2): 462-467. [GAO B B, PENG Y, LI X B. Research progress on intestinal immunoregulation and mechanism of Sijunzi Decoction polysaccharide[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, 49(2): 462-467.]
- [7] 应一君, 张劲松, 唐庆九, 等. 紫芝子实体多糖的特征分析及其体外免疫活性[J]. 食用菌学报, 2016, 23(4): 34-39. [YING Y

- J, ZHANG J S, TANG Q J, et al. Properties and *in vitro* immunological activities of polysaccharides from *Ganoderma sinense* fruit bodies[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2016, 23(4): 34–39.]
- [8] LO C T, CHANG C A, CHIU K H, et al. Correlation evaluation of antioxidant properties on the monosaccharide components and glycosyl linkages of polysaccharide with different measuring methods[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 86(1): 320–327.
- [9] 刘苏, 姜玥, 罗建平, 等. 5种食用菌多糖理化性质及免疫活性的比较研究[J]. *食品科学*, 2015(13): 252–256. [LIU S, JIANG Y, LUO J P, et al. Physicochemical properties and immunomodulating activities of polysaccharides from five species of edible mushroom[J]. *Food Science*, 2015(13): 252–256.]
- [10] 冯燕茹, 刘玮, 杨继国. 不同分子量羧甲基茯苓多糖的制备及其抗氧化活性的研究[J]. *中国食品添加剂*, 2019(3): 67–74. [FENG Y R, LIU W, YANG J G. Preparation of carboxymethylated pachyman with different molecular weight and study on its anti-oxidative activity[J]. *China Food Additives*, 2019(3): 67–74.]
- [11] 张忠, 刘艳芳, 周帅, 等. 金耳子实体多糖硫酸化修饰研究[J]. *食用菌学报*, 2018, 25(1): 67–73. [ZHANG Z, LIU Y F, ZHOU S, et al. Sulfation of polysaccharides from fruiting bodies of *Tremella aurantia*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2018, 25(1): 67–73.]
- [12] 刘东方, 赵丽娜, 李银峰, 等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J]. *中草药*, 2016, 47(22): 4085–4094. [LIU D F, ZHAO L N, LI Y F, et al. Research progress and application in fingerprint technology on Chinese materia medica[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2016, 47(22): 4085–4094.]
- [13] 刁嘉茵, 徐灿, 王淑美, 等. 中药指纹图谱与药效相关性研究进展[J]. *药学研究*, 2018(3): 165–168. [DIAO J Y, XU C, WANG S M, et al. Recent progress on correlation between fingerprints and pharmacodynamics of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2018(3): 165–168.]
- [14] 李戎, 闫智勇, 李文军, 等. 创建中药谱效关系学[J]. *中医教育*, 2002(2): 62. [LI R, YAN Z Y, LI W J, et al. Create the spectrum-effect relationship of traditional Chinese medicine[J]. *Education of Chinese Medicine*, 2002(2): 62.]
- [15] 李真, 周立红, 叶正良. 红外光谱技术在中药质量控制中的应用进展[J]. *药物评价研究*, 2016, 39(3): 463–468. [LI Z, ZHOU L H, YE Z L. Research progress on application of infrared reflectance spectroscopy in quality control of Chinese material medica[J]. *Drug Evaluation Research*, 2016, 39(3): 463–468.]
- [16] 符海邦, 张倩睿, 吴方建. 现代分析技术用于中药质量控制研究进展[J]. *中国药业*, 2019, 28(22): 96–99. [FU H T, ZHANG Q R, WU F J. Research progress of quality control of traditional Chinese medicine based on modern analytical techniques[J]. *China Pharmaceuticals*, 2019, 28(22): 96–99.]
- [17] 李超, 黄显章, 张超云, 等. 不同产地苍术红外指纹图谱研究[J]. *中药材*, 2019(1): 51–56. [LI C, HUANG X Z, ZHANG C Y, et al. Infrared fingerprint of *Atractylodes lancea* from different regions[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2019(1): 51–56.]
- [18] 李平凡, 顾宗珠. 决明子多糖的 IR 指纹图谱甄别技术[J]. *热带生物学报*, 2014, 5(2): 166–169. [LI P F, GU Z Z. Discrimination of *Cassia* seed polysaccharides by fingerprint infrared spectroscopy[J]. *Journal of Tropical Biology*, 2014, 5(2): 166–169.]
- [19] 高新开, 熊斌, 王冲, 等. 多糖 HPLC 和 IR 指纹图谱比较研究[J]. *粮食与油脂*, 2014, 27(7): 33–35. [GAO X K, XIONG B, WANG C, et al. Comparative study on HPLC and IR fingerprints of polysaccharides[J]. *Cereals & Oils*, 2014, 27(7): 33–35.]
- [20] LI H, GONG X Q, WANG Z C, et al. Multiple fingerprint profiles and chemometrics analysis of polysaccharides from *Saracandra glabra*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 957–967.
- [21] 秦海林, 赵天增. 核磁共振氢谱鉴别植物中药的研究[J]. *药学报*, 1999, 34(1): 58–62. [QING H L, ZHAO T Z. Nuclear magnetic resonance spectroscopy in the study of identify herbal medicine[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 1999, 34(1): 58–62.]
- [22] 赵璇, 李孟, 张志广, 等. 南萆荔子、北萆荔子核磁共振指纹图谱研究[J]. *中医学报*, 2017, 32(9): 1690–1704. [ZHAO X, LI M, ZHANG Z G, et al. Study on NMR fingerprint of the seeds of *Descurainia sophia* and *Lepidium apetalum*[J]. *Acta Chinese Medicine*, 2017, 32(9): 1690–1704.]
- [23] 陈艳蕊. 黄芪多糖、皂苷、黄酮、枸杞多糖和黄精多糖的闪式提取工艺及指纹图谱的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011: 32–33. [CHENG Y R. Study on the flash extraction technology fingerprint chromatograph of *Astragalus* polysaccharides, *Lycium barbarum* polysaccharides, *Polygonatum sibiricum* polysaccharides, *Astragalus* saponins and *Astragalus* flavonoid[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2011: 32–33.]
- [24] LI C Y, CHEN H Y, LIU W P, et al. Multi-fingerprint profiling combined with chemometric methods for investigating the quality of *Astragalus* polysaccharides[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 766–774.
- [25] 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]. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 2016, 129: 210–218.
- [26] 赵颖, 宋新波, 张丽娟, 等. 高效凝胶色谱法测定甘草多糖分子量及其分子量分布[J]. *天津中医药*, 2015, 32(1): 46–48. [ZHAO Y, SONG X B, ZHANG L J, et al. Determination of molecular weight and weight distribution in *Licorice* polysaccharide by HPGPC[J]. *Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 32(1): 46–48.]
- [27] 吴定涛, 巨瑶君, 陆静峰, 等. 糖谱法比较不同产地竹荪多糖结构特征[J]. *食品科学*, 2014, 35(13): 98–102. [WU D T, JU Y J, LU J F, et al. Characterization and comparison of polysaccharides from *Dictyophora indusiata* using saccharide mapping[J]. *Food Science*, 2014, 35(13): 98–102.]
- [28] XU J, LI S L, YUE R, et al. A novel and rapid HPGPC-based strategy for quality control of saccharide-dominant herbal materials: *Dendrobium officinale*, a case study[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(25): 6409–6417.
- [29] LI H, CAO J, WU X, et al. Multiple fingerprint profiling for quality evaluation of polysaccharides and related biological activity analysis of Chinese patent drugs: Zishen Yutai Pills as a case study[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 260: 1–9.

- [30] GUAN J, LI S P. Discrimination of polysaccharides from traditional Chinese medicines using saccharide mapping-enzymatic digestion followed by chromatographic analysis[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 51(3): 590–598.
- [31] 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 multiangle laser light scattering and refractive index detector[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1400: 98–106.
- [32] LIU W, XU J N, ZHU R, et al. Fingerprinting profile of polysaccharides from *Lycium barbarum* using multiplex approaches and chemometrics[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 78: 230–237.
- [33] LIU J, ZHOU J, ZHANG Q Q, et al. Monosaccharide analysis and fingerprinting identification of polysaccharides from *Poria cocos* and *Polyporus umbellatus* by HPLC combined with chemometrics methods[J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2019, 11(4): 406–411.
- [34] LV G P, HU D J, ZHAO J, et al. Quality control of sweet medicines based on gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Drug Discoveries Therapeutics*, 2015, 9(2): 94–106.
- [35] KOEK M M, JELLEMA R H, GREEF G V D, et al. Quantitative metabolomics based on gas chromatography mass spectrometry: Status and perspectives[J]. *Metabolomics*, 2011, 7(3): 307–328.
- [36] 郝霞. 基于细胞壁多糖糖谱的黄芪种质资源鉴别及阿拉伯木聚糖制备研究[D]. 太原: 山西大学, 2016. [HAO X. Identification of germplasm resources on *Astragali radix* based on saccharide mapping of polysaccharide in cell wall and the study of extraction of arabinoxylans from the residue of astragalus root[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2016.]
- [37] CHEONG K L, WU D T, DENG Y, et al. Qualitation and quantification of specific polysaccharides from *Panax* species using GC-MS, saccharide mapping and HPSEC-RID-MALLS[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 153: 47–54.
- [38] 于丽, 王婷, 周健南, 等. 超声提取-离子色谱法检测市售常见 15 种蔬菜中 7 种单糖和双糖[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 372–377. [YU L, WANG T, ZHOU J N, et al. Ultrasonic extraction-ion chromatography detection of 7 kinds of monosaccharides and disaccharides in 15 kinds of common vegetables[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2016, 7(1): 372–377.]
- [39] 柴银, 王虹, 刘雅萌, 等. 离子色谱测定多糖的单糖组成的方法学研究及其应用[J]. 药物生物技术, 2016, 23(4): 332–336. [CHAI Y, WANG H, LIU Y M, et al. Methodology study of monosaccharide composition by HPAEC-PAD and its application[J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2016, 23(4): 332–336.]
- [40] WANG Y F, XIAN J H, XI X G, et al. Multi-fingerprint and quality control analysis of tea polysaccharides[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 92(1): 583–590.
- [41] 赵丹, 聂波, 宋昆, 等. 离子色谱法测定不同产地葛根多糖中的单糖组成[J]. 分析实验室, 2017, 36(7): 745–749. [ZHAO D, NIE B, SONG K, et al. Determination of monosaccharide in *Radix puerariae* polysaccharide by ion chromatography[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2017, 36(7): 745–749.]
- [42] LI S P, WU D T, LV G P, et al. Carbohydrates analysis in herbal glycomics[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2013, 52(12): 155–169.
- [43] WU D T, CHEONG K L, WANG L Y, et al. Characterization and discrimination of polysaccharides from different species of *Cordyceps* using saccharide mapping based on PACE and HPTLC[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 103: 100–109.
- [44] DENG Y, HAN B G, 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]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 199: 619–627.
- [45] 王桂臻. 基于多糖糖谱及结构解析技术的黄芪种质资源评价[D]. 太原: 山西大学, 2017. [WANG G Z. Evaluation of germplasm resources on *Astragali radix* based on saccharide mapping of polysaccharide and structural analysis techniques[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2017.]
- [46] GOUBET F, JACKSON P, DEERY M J, et al. Polysaccharide analysis using carbohydrate gel electrophoresis: A method to study plant cell wall polysaccharides and polysaccharide hydrolases[J]. *Analytical Biochemistry*, 2002, 300(1): 53–68.
- [47] ZHAO J, DENG Y, LI S P. Advanced analysis of polysaccharides, novel functional components in food and medicine dual purposes Chinese herbs[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 96: 138–150.
- [48] WU D T, LI W Z, CHEN J, et al. An evaluation system for characterization of polysaccharides from the fruiting body of *Hericium erinaceus* and identification of its commercial product[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 124: 201–207.
- [49] WU D T, XIE J, HU D J, et al. Characterization of polysaccharides from *Ganoderma* spp. using saccharide mapping[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 97(2): 398–405.
- [50] 王迪, 刘磊, 李科, 等. 基于内切-1, 3- β -葡聚糖酶水解的黄芪糖指纹图谱的建立及不同种质资源黄芪鉴别[J]. 中草药, 2018, 49(10): 2320–2327. [WANG D, LIU L, LI K, et al. Establishment of fingerprint of *Astragali radix* polysaccharides based on endo-1, 3- β -glucanase hydrolysis and identification of *Astragali radix* of different germplasm resources[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, 49(10): 2320–2327.]
- [51] ALPERT A J. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds[J]. *Journal of Chromatography A*, 1990, 499(2): 177–196.
- [52] KIM B T, KIM S H, SUNG S H. Quantitation of α -galactosides in *Rehmannia glutinosa* by hydrophilic interaction chromatography-evaporative light scattering detector[J]. *Phytochemical Analysis*, 2012, 23(6): 607–612.
- [53] 蒲江华, 赵峡, 韩文伟, 等. 亲水作用色谱在糖类化合物分析中的应用[J]. 分析测试学报, 2017, 36(1): 145–150. [PU J H, ZHAO X, HAN W W, et al. Application of hydrophilic interaction chromatography in analysis of carbohydrates[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2017, 36(1): 145–150.]

- [54] 梁琰. 基于亲水色谱技术的灵芝、黄芪多糖特征指纹图谱研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018. [LIANG Y. Characteristic fingerprint study of *Ganoderma* and *Astragalus* polysaccharide based on HILIC technology[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2018.]
- [55] XIA Y G, YU S M, LIANG J, et al. Chemical fingerprinting techniques for the differentiation of polysaccharides from genus *Astragalus*[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2020, 178: 1–11.
- [56] WANG H, XIN H X, CAI J F, et al. Fingerprint profiling of polysaccharides based on partial acid hydrolysis-hydrophilic interaction chromatography analysis and comprehensive quality evaluation of combined with reversed-phase liquid chromatography fingerprint analysis[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(7): 726–736.
- [57] 丁平, 邵艳华, 应鸽, 等. 巴戟天药材寡糖化学成分的高效阴离子交换色谱-脉冲安培电化学检测器指纹图谱研究[J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(22): 1707–1710. [DING P, SHAO Y H, YING G, et al. Study on HPAEC-PAD fingerprint analysis of oligosaccharides from *Morinda officinalis*[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2011, 46(22): 1707–1710.]
- [58] 王浩豪. 灵芝孢子粉多糖色谱指纹图谱及其免疫活性谱效关系的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012. [WANG H H. Study on chromatographic fingerprints of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* spore and its profile-effect relationship of immunocompetence[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012.]
- [59] LIU Z H, XIONG Y J, YI L, et al. Endo-beta-1, 3-glucanase digestion combined with the HPAEC-PAD-MS/MS analysis reveals the structural differences between two *Laminarins* with different bioactivities[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 194: 339–349.
- [60] 张加余, 乔延江, 张倩, 等. 液质联用技术在天然产物结构鉴定中的应用进展[J]. 药物分析杂志, 2013(2): 349–354. [ZHANG J Y, QIAO Y J, ZHANG Q, et al. Progress on application of LC-MS technology in structural identification of the natural products[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2013(2): 349–354.]
- [61] 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(3): 339–344. [LIAO J Z, WANG Y X, CHEN Y M. Analysis of partial acid hydrolyzate of *P. ginseng* polysaccharides by HPLC-ESI-QTOF-MS[J]. Journal of Analytical Science, 2015(3): 339–344.]
- [62] ESHANI N, NIKITA P B J, CHRISTOPHER L R, et al. Polysaccharide identification through oligosaccharide fingerprinting[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 257(1): 1–10.
- [63] 杨慧. 灵芝子实体多糖的分离分析及其免疫活性与色谱指纹图谱的相关性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015. [YANG H. Isolation, characterization of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies and correlation analysis chromatographic fingerprints- immunocompetence[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.]
- [64] 李继平, 张雪梅, 师志强, 等. 对比研究 8 批红芪多糖对 CCl_4 所致小鼠肝损伤的药效[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1927–1931. [LI J P, ZHANG X M, SHI Z Q, et al. Comparative study of the efficacy of 8 batches of *Hedysarum polybotrys* polysaccharides on liver injury induced by CCl_4 in mice[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, 39(9): 1927–1931.]
- [65] ZHU C S, LIN Z J, XIAO M L, et al. The spectrum-effect relationship- a rational approach to screening effective compounds, reflecting the internal quality of Chinese herbal medicine[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2016, 14(3): 177–184.
- [66] 吕邵娃, 董书羽, 郭玉岩, 等. 数据分析技术在中药谱效关系中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 15: 226–230. [LV S W, DONG S Y, GUO Y Y, et al. Advance in application of data analysis technique in spectrum-effect relationship of traditional Chinese medicines[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2015, 15: 226–230.]
- [67] 林梦雅, 张玉萍, 李雅, 等. 基于灰色关联度分析的丹参提取物抗炎作用谱效关系研究[J]. 中草药, 2017, 48(16): 3447–3452. [LIN M Y, ZHANG Y P, LI Y, et al. Spectra-effect relationship of anti-inflammation of *Salvia miltiorrhiza* extract based on gray correlation analysis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(16): 3447–3452.]
- [68] P RISTIVOJEVIĆ, I DIMKIĆ, J TRIFKOVIĆ, et al. Antimicrobial activity of *Serbian propolis* evaluated by means of MIC, HPTLC, bioautography and chemometrics[J]. PloS One, 2016, 11(6): 1–15.
- [69] HU X Y, LIU M H, SUN Q, et al. Spectrum-effect relationship of antibacterial extracts from *Isatis radix*[J]. Chinese Traditional Herbal Drugs, 2013, 44(12): 1615–1620.
- [70] 刘小花, 梁瑾, 任远, 等. 黄芪对机体免疫力影响的谱效关系研究[J]. 中药材, 2012, 35(12): 1978–1981. [LIU X H, LIANG J, REN Y, et al. Spectrum-effect relationship in effect of improving immunity of *Astragali radix*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012, 35(12): 1978–1981.]
- [71] 张培, 郑晓萍, 马玉玲, 等. 党参多糖单糖组成与其对 HepG2 细胞毒活性的相关分析[J]. 中草药, 2016, 47(15): 2684–2692. [ZHANG P, ZHENG X P, MA Y L, et al. Monosaccharide compositions of *Codonopsis pilosula* polysaccharides and their correlation analysis on cytotoxic activities against HepG2 cells[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(15): 2684–2692.]
- [72] 孙杰. 莲藕多糖的指纹图谱及谱效关系研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2017. [SUN J. Study on fingerprints of polysaccharides from lotus root and their profile-activity relationships[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2017.]
- [73] DONG Y T, PEI F, SU A X, et al. Multiple fingerprint and fingerprint-activity relationship for quality assessment of polysaccharide from *Flammulina velutipes*[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 135: 1–8.
- [74] 肖颖, 吴梦琪, 张文清, 等. 茯苓多糖 HPLC 指纹图谱与免疫活性的相关分析[J]. 华东理工大学学报, 2020, 46: 1–8. [XIAO Y, WU M Q, ZHANG W Q, et al. Correlation analysis between HPLC fingerprint of polysaccharides from *Poria cocos* and immunological activity[J]. Journal of East China University of Science and Technology, 2020, 46: 1–8.]