



高效毛细管电泳在西北中藏药黄酮类化合物中的应用研究

The application Study of the High Performance Capillary Electrophoresis for Flavonoids of Chinese -Tibetan Medicine in Northwest

高瑞斌¹, 郭玫^{1*}, 赵亮², 董树清²

(1. 甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要 西北中藏药作为中国特有的高原植物, 具有强辐射、日照时间长, 有效成分积累高, 生物活性强等特征。然而, 目前对于此类药物的质量标准研究还很有限, 常用的技术不能保证其质量和开发研究。所以, 引用新型的分选分析技术, 即高效毛细管电泳技术 (HPCE), 利用其高效、快速、进样体积小、多模式等特点, 开展了对西北中藏药中黄酮类化合物的分析研究工作。本文综述了不同分离模式下, 电泳技术在对西北中藏药中黄酮类化合物及其它活性成分研究的文献报道。

关键词 高效毛细管电泳; 黄酮类化合物; 西北中藏药; 综述

毛细管电泳 (capillary electrophoresis, CE), 亦称高效毛细管电泳 (high performance capillary electrophoresis, HPCE), 为近十几年迅速发展起来的一种新的分离分析方法, 它包含电泳、色谱及其交叉内容, 是一类以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力, 以样品的多重特性为根据的新型液相分离技术。因此, 近几年研究西北中藏药的许多专家学者也以此为契机, 通过利用毛细管电泳的分离优势, 选取黄酮类化合物, 来分析此类化合物在这类药物中的组成, 为进一步挖掘西北中藏药的奇特功效奠定了坚实的基础。

1 不同分离模式下 CE 技术对中藏药中黄酮类化合物的分析

传统的电泳分离只适用于荷电粒子, 1984 年, Terabe 等^[1]在 CE 电解质溶液中加入离子表面活性剂, 在溶液中形成离子胶束作假固定相, 实现了中性分子的分离, 这个模式就是胶束电动色谱 (MEKC)。而后相继出现了毛细管凝胶电泳 (CGE)、毛细管等电聚焦 (IEF) 和毛细管区带电泳等新型技术。

1.1 毛细管区带电泳 (CZE) 的分析研究

Helmja^[3]等人运用 CZE 法、HPLC-MS/MS、GC-MS 技术对超声提取和超临界流体萃取蛇麻草中芸香苷、儿茶素等十种有效成分的提取效果进行了检测和比较, 确定了最佳 CZE 缓冲液条件为含 25mmol/L 的 pH=9.3 的硼砂缓冲液。其它运用 CZE 技术分析中藏药黄酮类化合物的报道见表 1。

表 1 CZE 技术分析中藏药黄酮类化合物的应用

药物名称	待测化合物	缓冲体系	检测条件
淫羊藿 ^[4]	淫羊藿苷, 朝藿定 A,B,C	50mmol/L 硼砂+22%(V/V) 乙腈; Ph=10.0	270nm
龙牙草 ^[5]	儿茶素, 金丝桃苷, 槲皮苷, 槲皮素和芦丁	60mmol/L 硼砂+120mmol/L 磷酸二氢钠; pH=8.8	ED
柚子皮 ^[6]	五种黄酮	60mmol/L 硼砂 pH=9.0	ED
马齿苋 ^[7]	山奈素, 芹菜素, 杨梅素, 槲皮素和木犀草素	50mmol/L 硼砂+100mmol/L 磷酸二氢钠; pH=8.5	ED
鸦葱 ^[8]	两种黄酮和一种内酯	20mmol/L 硼砂+10%(V/V) 甲醇 pH=10.0	254nm
飞机草 积雪草 ^[9]	山奈素, 芦丁	20mmol/L 磷酸二氢钠+磷酸氢二钠+10%(V/V) 乙腈+6%(V/V) 甲醇	220nm



		pH=8.0	
独一味 ^[10]	木犀草素-7-o-葡萄糖苷, 异鼠李素, 芹菜素, 木犀草素和槲皮素	30mmol/L 硼砂+8% (V/V) 乙腈; pH=9.0	210nm
益母草 ^[11]	山奈酚, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素, 槲皮苷	50mmol/L 硼砂+100mmol/L 磷酸二氢钠; pH=7.5	ED
珠光香青 ^[12]	银椴苷, 3-甲基槲皮素, 绣线菊酚苷, 芹菜素和槲皮素等9种黄酮	25mmol/L 硼砂+10mmol/L 磷酸二氢钠; pH=9.6	275nm
鱼腥草, 三白草 ^[13]	芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素, 槲皮苷	60mmol/L 硼砂+120mmol/L 磷酸二氢钠; pH=8.8	ED
油菜蜂花粉 ^[14]	黄酮苷元	35mmol/L 硼砂+10%乙腈 pH=8.4	270nm
知母 ^[15]	芒果苷, 新芒果苷	硼砂溶液; pH=9.18	214nm
Strawberry ^[16]	Anthocyanins	250mM monobasic sodium phosphate containing 30%(V/V)CAN pH=1.4	510nm
Carthamus tinctoriusL. ^[17]	Hydroxysafflor yellow A, safflor yellow A, safflamin C, safflamin A	30mM borate buffer(Na ₂ B ₄ O ₇ /HCl) pH=9.0	270nm
Soy ^[18]	Isoflavones: daidzin, genistin, biochanin A, formononetin, daidzein, genistein	An aqueous ammonium acetate, The range from 10 to 50mM pH=11.0	214nm
Flos Lonicerae ^[19]	Flavonoid aglycones, glycosides	80mM boric acid and 20mM phosphate acid with 15% acetonitrile(V/V)added. pH=8.1	243nm
Pueraria lobata ^[20]	isoflavonoids	30mmol/L borax buffer pH=9.29	192nm
Hypericum perforatum ^[21]	Flavonoids, phenolic acids	50mM boric acid pH=8.2 (adjusted with barium hydroxide)	254nm

1.2 胶束电动毛细管色谱(MECC)的分析研究

在运用胶束毛细管电泳时通常会使用表面活性剂, 常用的表面活性剂是十二烷基硫酸钠(SDS), Ferreres 等^[23]以 MEKC 模式在 pH=8.0 的 200mmol/L 硼砂、50mmol/L SDS、10% (V/V) 甲醇缓冲体系中分离了花蜜中的十三种黄酮, 并在同样的条件下分离鉴定了薰衣草花蜜、迷迭香花蜜、柑橘类植物花蜜和石南花蜜中的黄酮类物质。其它关于运用 MECC 技术来测定中药中的黄酮类成分的报道见表 2。



表 2 胶束电动毛细管色谱在分析中药中黄酮类物质中的应用

药物名称	待测化合物	缓冲体系	检测条件
银杏叶 ^[24]	芦丁, 槲皮素	50mmol/L 硼酸盐+35mmol/L SDS; pH=8.5	260nm
杜仲 ^[25]	桃叶珊瑚苷, 栀子苷, 栀子苷酸, 焦倍酸, 绿原酸, 原儿茶酸, 芦丁, 阿魏酸, 咖啡酸, 槲皮素, 反香豆酸	50mmol/L 硼酸 +50mmol/L SDS+4%(V/V)1-丁醇; pH=9.5	214nm
毛泡桐 ^[26]	芹菜素, diplacone, mimulone	20mmol/L 硼砂 +10mmol/L SDS+5%(V/V)甲醇; pH=10.0	280nm
枳实 ^[27]	桔皮素, 川陈皮素, 橙皮素, 柚皮素, 橙皮苷, 柚皮苷	20mmol/L 磷酸 +100mmol/L SDS+20%乙腈; pH=2.0	214nm
淫羊藿 ^[28]	淫羊藿苷 II, 2''-o-淫羊藿鼠李糖苷 I, 大花淫羊藿苷 A, 淫羊藿苷, 淫羊藿糖苷, 淫羊藿糖苷 B, 山奈素-3-o-鼠李糖	20mmol/L 磷酸 +100mmol/L SDS+20%乙腈+2%2-丙醇 (V/V); pH=2.0	254nm
娑罗子 ^[29]	三种黄酮苷	200mmol/L 硼酸 +60mmol/L SDS+15%(V/V)乙腈; pH=9.0	270nm
牧草红三叶 ^[30]	鹰嘴豆芽素 A 等四种异黄酮	30mmol/L 硼砂+20mmol/L SDS+4mg/ml HP-β-CD+5% (V/V) 乙醇	250nm

1.3 毛细管电色谱 (CEC) 的分析研究

毛细管电色谱的分离结合电泳作用力和色谱分配作用两种分离机制, 通过溶质在流动相和固定相之间的分配系数的不同和自身电泳淌度的差异实现, 具有快速、灵敏、样品和溶剂消耗少等优点。刘海兴^[31-32]等采用毛细管点色谱法测定了早莲中总黄酮的含量, 所确定的电泳条件为: 8mmol/L 磷酸二氢钠和 8mmol/L 磷酸氢二钠溶液的缓冲溶液 (pH=8.02), 运行的电压为 12kV, 检测波长为 254nm, 通过测定, 为早莲的质量控制提供了新的方法。同样是该小组, 利用毛细管电色谱法测定槐花、槐角中总黄酮的含量, 所确定的电泳条件是 8mmol/L 磷酸二氢钠、8mmol/L 磷酸氢二钠作为缓冲溶液, pH=8.02, 运行电压为 12kV, 紫外检测波长为 254nm, 通过测定其总黄酮的含量为槐花、槐角的质量控制提供了新的方法。

此外, 其它的毛细管电泳技术也会在其它不同领域有所应用, 如毛细管凝胶电泳 (capillary gel electrophoresis, CGE)、毛细管等电聚焦 (capillary isoelectric focusing, CIEF) 等电泳技术。但在中藏药对于黄酮类化合物的研究中, 上述的毛细管电泳技术最为常用。

2. HPCE 在西北中藏药中特有活性成分中的应用

一些学者在对这类药物中黄酮类化合物分析的同时, 对其它活性组分也做了一定的研究。表 3 为近年来一些学者运用 HPCE 技术分析测定藏药中特有活性成分的研究报道。

表 3 部分 HPCE 技术分析测定藏药内特有活性成分

藏药名称	待测化合物	电泳条件	检测条件
藏药蕨麻 ^[33]	多糖	仪器参数: HP-3D 毛细管电泳仪 (Agilent 公司, 美国) 毛细管: 58.5cm×50μm id(有效柱长 50cm) 缓冲: 55mmol/L 硼酸盐缓冲溶液 (pH=9.46) 检测器: 二极管阵列检测器	245nm



红景天 ^[34]	没食子酸	仪器参数: P/ACE MDQ 型毛细管电泳仪(Beckman Coulter 公司, 美国) 毛细管: 80cm×75μm id(有效长度 57cm) 缓冲: 20mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=7.5) 检测器: 二极管阵列 (PDA) 检测器	214nm
藏红花 ^[35]	单糖	仪器参数: P/ACE MDQ 型高效毛细管电泳仪 (Beckman Coulter 公司, 美国) 毛细管: 60cm×50μm (有效长度 50cm) 缓冲: 350mmol/L 硼酸电解液 (pH=10.21) 检测器: 二极管阵列 (PDA) 检测器	234nm
Shiweilongda nkeli,Gentian a rhodantha,Ge ntiana kitag ^[36]	Gentiopicrosid(GE);Swertiamar in(SW)	仪器参数: Waters Q uanta 4000H PCE(Millipore,Waters Chromatography Division of Milford,MA,USA) 毛细管: 50cm×75μm(有效长度 42.4cm) 缓冲: 70mmol/L 硼酸盐-10mmol/L 十二烷基硫酸钠 (SDS) -6%(v/v)丙醇溶液 (pH=9.0) 检测器: 紫外 (UV) 检测器	254nm
冬虫夏草 ^[37]	核苷类	仪器参数: P/ACE MDQ 型高效毛细管电泳仪 (Beckman Coulter 公司, 美国) 毛细管: 56cm×50μm (有效长度 50cm) 缓冲: 20mol/L 硼砂-磷酸缓冲液 (pH=8.9) 检测器: 二极管阵列 (PDA) 检测器	254nm

3. 结论

高效毛细管电泳 (HPCE) 已应用到分析、分离的各个方面, 虽然该技术在现阶段仍然存在线性范围窄等缺陷, 然而同时它又具有高灵敏度、高速、样品耗用量少、重现性好、自动化等优点, 与其它分析方法相比, 在对西北中藏药黄酮类化合物分离中会越发凸显其技术的优势。随着商品化仪器的不断改进, 相信 CE 技术及其联用技术将会在西北这个药材资源丰富的地区, 针对于西北中藏药活性成分的研究会得到新的发展和更为广阔的应用前景。

参考文献 (略)

不同药剂防治山茱萸炭疽病病药效试验研究

张延军*, 黄建, 张向阳, 姚敏

(南阳张仲景中药材发展有限责任公司, 河南西峡 474550)

摘要 不同药剂防治山茱萸炭疽病田间药效试验研究表明: 70%甲基硫菌灵 WP 和 80%代森锰锌 WP 防效较好, 在急需防治的情况下, 可采用最小有效剂量和交替使用。

关键词 山茱萸; 炭疽病; 药剂; 防效