

高效毛细管电泳法在中药化学成分分析中的应用

中国医学科学院
中国协和医科大学

药物研究所(北京 100050)

文志明* 张金兰 徐礼

摘 要 综述了高效毛细管电泳法用于中药生药和复方化学成分的分析应用近况,并指出该法的优缺点及发展方向。

关键词 高效毛细管电泳法 中药 化学成分分析

高效毛细管电泳法(HPCE)为近年来发展最快的一种分离分析技术,具有分离效率高、分析速度快和样品用量少等特点,尤其适用于药味较多、化学成分复杂的中药复方化学成分的分析。自1990年Kenndler等^[1]将HPCE法首次用于熊果中熊果苷等化学成分的分离与测定以来,HPCE法在中药化学成分分析中的应用得到了迅速开展^[2~8]。笔者主

要综述近几年HPCE法在中药化学成分分析中的应用概况,以供参考。

1 中药生药化学成分分析

HPCE法已日益广泛地应用于中药生药化学成分的分离和含量测定,分析成分主要包括生物碱、黄酮、苷类、酚类、有机酸、香豆素、木脂素、醌类及其它成分(表1)。

表 1 HPCE 法在生药化学成分分析中的应用

生 药	分 析 成 分	操作模式	分 离 条 件 (mmol/L)	分离柱 (cm×μm ID)	操作电压 (kV)	检测波长 (nm)	文献
白屈菜	小檗碱、白屈菜碱等 9 种生物碱	CZE	40 柠檬酸-80 Na ₂ HPO ₄ - 12.5 β-CD, pH 5.5	70×50	25	205, 270	9
吴茱萸	吴茱萸碱、吴茱萸次碱等 9 种生物碱	MEKC	9 Na ₂ B ₄ O ₇ -20 Na ₂ HPO ₄ - SDS: 乙腈(3:2), pH 7.31	70×50	25	254	10
麻 黄 长春花 新木姜	去氢吴茱萸碱	CZE	40 Na ₂ HPO ₄ -乙腈(9:1)	70×50	25	254	10
	麻黄碱、伪麻黄碱等 6 种生物碱	CZE	(NH ₄) ₂ SO ₄ -DAP, pH 10	57×50	20		11
	长春碱、长春新碱	CZE	200 NH ₄ Ac, pH 6.2	72×75	10	254	12
	lindcarpine、新木姜子碱等 9 种阿朴菲 类生物碱	MEKC	20 Na ₂ B ₄ O ₇ -30 SDS-5% 乙 腈-5 SHS, pH 9.3	66×50 59×50	30	214	13
三蕊莲桂	aromoline、小檗胺等 8 种双苄基异喹啉 类生物碱	MEKC	90 Na ₂ B ₄ O ₇ -90 Na ₂ HPO ₄ - 132 SC: 乙腈(74.2: 25.8), pH 7.58	60×50	18	207	14
巴 豆	小檗碱、异鸟苷	CZE	100 柠檬酸钠, pH 2.7	44×75	12	254	15
罂 粟	吗啡、可待因等 9 种吗啡类生物碱	MEKC	10 Na ₂ B ₄ O ₇ -10 KH ₂ PO ₄ - 50 CTAB: DMF(90: 10), pH 8.6	70×50	- 25	254	16
刺 楸	吗啡、可待因、罂粟碱	CZE	磷酸盐, pH 7.0	54.5×50	25	212	17
	小檗碱、巴马汀、非洲防己碱、药根碱	CZE	200 NH ₄ Ac-MeOH(1:1), pH 8.1	55×50	16	240	18
白毛茛	小檗碱、坎那定、北美黄连碱、北美黄连 次碱	CZE	200 NH ₄ Ac-MeOH(1:1), pH 3.1	55×50	16	240	18
淫羊藿	16 种黄酮	MEKC	20 Na ₂ B ₄ O ₇ -48 SDS-1 DAP pH 8.5	73×50	20	254	19
	11 种黄酮	MEKC	30 Na ₂ B ₄ O ₇ -12 SDS, pH 10.45	50×50	22	254	20
唇形科 植物	34 种黄酮	MEKC	200 Na ₂ B ₄ O ₇ -50 SDS-10% MeOH 100Na ₂ B ₄ O ₇ -30SDS-25% MeOH 100Na ₂ B ₄ O ₇ -50SDS-10% 乙腈	87×75	20	280	21

* Address: Wen Zhiming, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing.
文志明 男, 1988 年毕业于兰州大学化学系, 获硕士学位; 现为中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所博士生, 研究方向为中草药有效化学成分的分离与测定。

续表 1

生药	分析成分	操作模式	分离条件 (mmol/L)	分离柱 (cm×μm ID)	操作电压 (kV)	检测波长 (nm)	文献
黑茶子	15 种黄酮及酚性羧酸	CZE	100H ₃ BO ₃ -50NaH ₂ PO ₄ , pH 7	72×50		232	22
芍药	苯甲酸、没食子酸、羟基芍药苷、丹皮酚、五没食子葡萄糖芍药苷、羟基芍药苷、苯甲酰芍药苷、芍药内酯苷、丹皮酚	CZE	15Na ₂ B ₄ O ₇ , pH 9.8	90×75	25	230	23
		MEKC	15 Na ₂ B ₄ O ₇ -50 SC: MeOH (9:1), pH 9.8	90×75	25	230	23
柠檬	柠檬苦素、黄柏酮糖苷、诺米林糖苷	MEKC	12Na ₂ B ₄ O ₇ -20Na ₂ HPO ₄ - 35S DS	68×50 50×75	25	210, 214	24
甜叶菊	甜叶菊苷、steviolbioside rebaudioside A	MEKC	20Na ₂ B ₄ O ₇ -30S DS, pH 8.3	56×50	20	200	25
甜菜	甜菜苷、异甜菜苷、总甜菜苷	MEKC	10 柠檬酸-10Na ₂ HPO ₄ , pH 6.0	67×75	22	477, 538	26
番泻	番泻苷 A, A ₁ , B, C, D, D ₁	CZE	100Na ₂ B ₄ O ₇ -5% 异丙醇, pH 8.4	60×50	25	205	27
柳兰	15 种芳香族羧酸	CZE	20Na ₃ PO ₄ pH 7.0	64.5×50	25	280	28
边椽桉	21 种酚性羧酸	MEKC	6Na ₂ B ₄ O ₇ -10Na ₂ HPO ₄ - 100 SDS, pH 8.5	60×75	18	214	29
大戟属植物 乌梅	没食子酸及 6 种衍生物 柠檬酸、苹果酸	MEKC	30 磷酸盐-30SDS, pH 7.0	59.5×50	22	DAD	30
		CITP	10 HCl-0.25% HPMC-β-丙 氨酸(pH 3.3); 10 丙酸	23×500 (PTFE 管)	100~150 (电流, μA)	电导法	31
杜仲	绿原酸	CZE	Na ₃ PO ₄ , pH 7.0	58×50	20	254	32
		CZE	25Na ₂ B ₄ O ₇ -25Na ₂ HPO ₄ - 0.2CTAB-10% MeOH, pH 8.6	47.3×75	-20	214	33
藁本	原儿茶酸、咖啡酸等 9 种有机酸	CZE	8Na ₂ B ₄ O ₇ -3NaH ₂ PO ₄ -9 DTAC: 乙腈(7:3), pH 9.02	75×75	-25	210	34
天麻	parishin、parishin B, C	MEKC	20Na ₂ B ₄ O ₇ -20Na ₂ HPO ₄ - 100 SC, pH 6.5	67×75	15	222	35
独活	9 种香豆素	MEKC	15Na ₂ B ₄ O ₇ -15Na ₂ HPO ₄ - 20 SDS: 乙腈(24:1), pH 8.26	67.5×50	20	322	36
南茛蒿	7 种香豆素	CZE	200H ₃ BO ₃ -50Na ₂ B ₄ O ₇ , pH 8.5	58×50	25	280	37
厚朴	厚朴酚、和厚朴酚	CZE	10 Na ₂ B ₄ O ₇ -22.5 Na ₂ HPO ₄ , pH 9.1	57×75	15	214	38
		CZE	15Na ₂ B ₄ O ₇ -5NaH ₂ PO ₄ - 20% MeOH, pH 9.0	60.5×75	20	214	39
		CZE	10Na ₂ B ₄ O ₇ -10NaH ₂ PO ₄ , pH 11.6	60×75	20	254 185	40 41
		MEKC	25 磷酸盐-90SDS	60×75		185	41
银杏树	白果内酯、银杏内酯 A、B 七叶苷、七叶内酯	CZE	10Na ₂ B ₄ O ₇ -10Na ₂ HPO ₄ - 30% EtOH, pH 9.2	60×75	20	254	42
		MEKC	25CAPS-25SDS: 乙腈 (100:10), pH 10.96	50×50	12	500	43
大黄	大黄素、芦荟大黄素、大黄酸	MEKC	50H ₃ BO ₃ /NaOH-25SDC, pH 11	60×75	18	254	44
		MEKC	25Na ₂ B ₄ O ₇ -10SDS-10% DMF-0.2% TEG, pH 9.5	60×75	10	254	45

CZE: 毛细管区带电泳; MEKC: 胶束电动色谱, CITP: 毛细管等速电泳; SDS: 十二烷基硫酸钠; SC: 胆酸钠; SDC: 脱氧胆酸钠; CTAB: 十六烷基三甲基溴化铵; DTAC: 十二烷基三甲基氯化铵; CD: 环糊精; DAP: 1,3-氨基丙烷; SHS: 庚磺酸钠; DMF: *N,N*-二甲基甲酰胺; HPMC: 羟丙基甲基纤维素; CAPS: 3-环己氨基-1-丙烷磺酸; TEG: 四甘醇; DAD: 二级管阵列检测器

HPCE 法也可用于中药生药的鉴定。胡平等^[46]用 HPCE 法对中药菟丝子进行了生药鉴定, 实验表明同属不同种菟丝子的碱溶性或酸溶性蛋白在成分和含量上均存在显著差异, 根据其种子植物蛋白的电泳谱图, 可有效地鉴别菟丝子的来源。张朝晖等^[47]采用大孔树脂粗分后, 以 HPCE 法鉴别了 12 种海马、海龙类中药, 为动物类药材鉴定方法提供了新的选择。

2 中药复方化学成分分析

2.1 药对分析: 两味药物配伍构成药对是中药复方最基本的使用方式, 与由众多单味药组成的复方相比, 药对的化学组成相对要简单些, 从药对出发研究中药复方的化学成分, 也是进行中药现代化研究的有效途径之一。

黄芩与黄连配伍是许多清热解毒方的基本药对。黄芩主含黄酮类, 黄连主含生物碱类。Li 等^[48]采

用 MEKC 法分离黄芩-黄连药对中的黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、木蝴蝶素 A 和木蝴蝶素 A-7-O-葡萄糖苷酸等 6 种黄芩黄酮类, 以及小檗碱、巴马汀、黄连碱和表小檗碱等 4 种黄连生物碱类化合物, 并以 7-羟基香豆素为内标进行了定量测定, 方法同样适用于含黄芩、黄连中药复方制剂的分析。Lee 等^[49]分别以 CZE 和 MEKC 法测定了黄连-吴茱萸药对中的 17 种生物碱, 其中 MEKC 法用于分析吴茱萸中的 3 种吲哚喹啉类生物碱和 6 种喹诺酮类生物碱, CZE 法用于分析黄连中的 7 种原小檗碱型生物碱和吴茱萸中的去氢吴茱萸碱。

2.2 复方制剂分析: 目前以我国台湾作者的工作开展较多。Sheu 等^[50]测定了大黄及含大黄中药复方制剂八珍散、茵陈蒿汤、独活承气汤、大黄甘草汤和补阳活血汤中的大黄酸、大黄素、芦荟大黄素、番泻苷 A 和 B 等 5 种蒽醌类成分。Sheu 等^[51]还以水杨酸为内标物, 分析了由升麻、柴胡、当归、甘草、黄芩及大黄 6 味中药组成的方剂中 12 种指标性成分, 包括 4 种蒽醌、5 种黄酮、2 种有机酸和 1 种皂苷, 并与相应 HPLC 法测定结果进行了对比, 认为 HPCE 法更适用于中药复方中众多化学成分的分离测定与质量控制。

小承气汤由大黄、枳实和厚朴等多味中药组成, Shen 等^[52]分析了小承气汤中的大黄素、番泻苷 A 和 B、柚皮苷、厚朴酚及和厚朴酚等 6 种活性成分。同样分析条件也可用于由大黄、黄芩、黄连组成的三黄泻心汤中大黄素、小檗碱、巴马汀、黄芩苷、番泻苷 A 和 B 等 6 种指标性成分的测定^[53]。张国华等^[54]报道了黄连及含黄连的 6 种中成药中黄连碱、小檗碱、表小檗碱、巴马汀、非洲防己碱、小檗定碱和药根碱等 7 种原小檗碱型生物碱的分析方法, 用均匀设计法对分离条件进行了优化, 并对其中 3 种生物碱进行了定量测定。桂枝汤由桂枝、芍药、甘草、干姜和大枣组成, Huang 等^[55]测定了桂枝汤中的桂皮醛、桂皮酸、芍药苷、齐墩果酸、甘草酸和 6-姜醇等有效成分。Hsieh 等^[56]分析了柴胡及含柴胡复方制剂小柴胡汤和柴胡散中的柴胡皂苷 a, b₁, b₂, c 和 d 等柴胡皂苷类成分。

Fumihiko 等^[57]测定了防己及防己茯苓汤、防己黄芪汤、木防己汤和疏经活血汤中防己碱的含量。Wang 等^[58]分析了葛根及葛根汤中的葛根素、大豆苷、大豆素、染料木素和鹰嘴豆芽素 A 等成分。Ku 等^[59]测定了沉香天麻汤和半夏白术天麻汤中的 parishin、parishin B 和 parishin C 等水溶性、强极性

化合物。Yang 等^[60]建立了快速测定防己及 7 种含防己甲素和乙素等双苄基异喹啉类生物碱的 HPCE 法。Ku 等^[61]分析了玄参及其复方制剂百合固金汤中的钩果草苷、桂皮酸及 1 种吡喃型糖苷 SN-A。林梅等^[62, 63]选择 CZE 分离模式, 以麻黄素为内标建立了测定阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱和樟柳碱等莨菪类生物碱的分析方法, 并对颠茄酞剂和颠茄片中相应成分进行了定量测定。

方肇伦等^[64, 65]建立了流动注射(FI)与 HPCE 联用技术, 并应用于厚朴及其复方制剂中厚朴酚与和厚朴酚的分离和测定。FI-HPCE 联用技术采用连续进样方式, 提高了进样频率, 样品分析时间缩短, 精度提高。

3 结束语

HPCE 法以其高效、快速、简便且柱不易受污染而优于 HPLC 法, 但仍存在重现性较差、线性范围窄和灵敏度较低等不足。重现性差主要是 HPCE 技术发展初期仪器本身缺陷及操作人员经验不足所致。目前各商品仪器经不断改进和完善, 加上自动进样器的普遍使用, 该缺点已基本得以克服, 与常规 HPLC 法基本接近。灵敏度低主要受在柱检测方式及进样量少(1~50 nL)的限制, 往往比 HPLC 法低十到数十倍, 但可通过在柱预浓缩如场放大堆积效应, 或经浓缩预处理如固相萃取等技术加以改善。此外, HPCE 法与其它进样技术如流动注射联用, 不但可使测定精度提高, 而且能完成连续自动进样及在线分析, 适用于大批量样品的测定。采用 CE-NS、CE-NMR 及 CE-MS-MS 技术, 充分利用 HPCE 的高分离效率和 MS 或 NMR 的高灵敏度与定性鉴定能力, 可快速完成众多复杂成分的分离与结构鉴定, 在中药及其复方制剂化学成分的分析中尤为重要。近几年发展起来的毛细管电色谱法(CEC)综合了 HPCE 高效和 HPLC 高选择性的优势, 通过柱内填充固定相的选择、梯度洗脱技术以及 CEC-MS 联用技术等, 将更适用于中药复杂化学成分的分离与测定。

参考文献

- 1 Kennedler E, *et al.* J Chromatogr, 1990, 514: 383
- 2 丁黎, 等. 药学进展, 1995, 19(2): 78
- 3 Nishi H, *et al.* J Chromatogr A, 1996, 735: 3
- 4 李诗梅. 中草药, 1996, 27(8): 506
- 5 王健, 等. 中成药, 1996, 18(10): 45
- 6 魏伟, 等. 药学报, 1997, 32(6): 476
- 7 郭洪祝, 等. 国外医药-植物药分册, 1997, 12(6): 253
- 8 Issaq H J. Electrophoresis, 1997, 18(12/13): 2438
- 9 Stuppener H, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 717: 271
- 10 Lee M C, *et al.* J Chromatogr A, 1996, 755: 113
- 11 朱萱萱, 等. 中国药杂志, 1996, 21(10): 587
- 12 Chu I, *et al.* J Chromatogr A, 1996, 755: 281

13 Sun S W, *et al.* J Chromatogr A, 1997, 767: 277

14 Sun S W, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 814: 223

15 Liebich H M, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 795: 388

16 Trenerry V C, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 718: 217

17 王实强, 等. 色谱, 1997, 15(5): 438

18 Unger M, *et al.* J Chromatogr A, 1997, 791: 323

19 Liang H R, *et al.* J Chromatogr A, 1996, 746: 123

20 Liang H R, *et al.* J Chromatogr Sci, 1997, 35(3): 117

21 Gil M I, *et al.* J Liq Chromatogr A, 1995, 18(15): 3007

22 Fernandes J B, *et al.* Phytochem Anal, 1996, 7(2): 97

23 Wu H K, *et al.* J Chromatogr A, 1996, 753: 139

24 Moodley V E, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 718: 187

25 Mauri P, *et al.* Electrophoresis, 1996, 17(2): 367

26 Stuppner H, *et al.* J Chromatogr A, 1996, 735: 409

27 Stuppner H, *et al.* Chromatographia, 1996, 42(11/12): 697

28 Hiermann A, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 803: 311

29 Boyce M C, *et al.* Anal Lett, 1996, 29(10): 1805

30 Summanen J, *et al.* J Chromatogr Sci, 1995, 33(12): 704

31 沈红梅, 等. 中国药学杂志, 1995, 30(3): 133

32 张凤云, 等. 分析测试通报, 1996, 15(3): 66

33 Zhang H Y, *et al.* Anal Lett, 1997, 30(7): 1293

34 Weng W C, *et al.* Chin Pharm J, 1996, 48(3): 185

35 Ku Y R, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 805: 330

36 Chen C T, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 710: 323

37 Ochocka R J, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 709: 197

38 Chou C Y C, *et al.* J Liq Chromatogr & Relat Technol, 1996, 19(12): 1909

39 Zhang H Y, *et al.* Anal Lett, 1997, 30(13): 2327

40 Zhang Z D, *et al.* Mikrochim Acta, 1997, 127(3/4): 253

41 Oehrle S A, *et al.* J Liq Chromatogr, 1995, 18(14): 2855

42 Zhang Z, *et al.* Chromatographia, 1997, 44(3/4): 162

43 宗玉英, 等. 药学报, 1995, 30(8): 594

44 柴逸峰, 等. 中国药学杂志, 1997, 32(增刊): 80

45 Hu Z D, *et al.* J Liq Chromatogr & Relat Technol, 1997, 20(8): 1211

46 胡平, 等. 药学报, 1997, 32(7): 549

47 张朝晖, 等. 中国中药杂志, 1998, 23(5): 259

48 Li K L, *et al.* Anal Chim Acta, 1995, 313: 113

49 Lee M C, *et al.* J Liq Chromatogr & Relat Technol, 1997, 20(1): 63

50 Seu S J, *et al.* Anal Chim Acta, 1995, 309: 361

51 Seu S J, *et al.* J Chromatogr A, 1995, 704: 141

52 Seu S J, *et al.* J High Resol Chromatogr, 1995, 18(4): 269

53 Seu S J, *et al.* J High Resol Chromatogr, 1996, 19(7): 409

54 张国华, 等. 色谱, 1995, 13(4): 247

55 Huang H Y, *et al.* J Chromatogr A, 1997, 771: 267

56 Hsieh Y Z, *et al.* J Chromatogr A, 1997, 759: 193

57 Fumihiko Yoshizaki, *et al.* Shoyakugaku Zasshi, 1997, 51(6): 550

58 Wang C Y, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 802: 225

59 Ku Y R, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 805: 301

60 Yang J J, *et al.* J Chromatogr A, 1998, 811: 274

61 Ku Y R, *et al.* Chin Pharm J, 1998, 50(3): 157

62 林梅, 等. 分析化学, 1998, 26(4): 457

63 林梅, 等. 中草药, 1998, 29(8): 518

64 Fang Z L, *et al.* Anal Chim Acta, 1997, 346: 135

65 沈琦, 等. 分析实验室, 1998, 17(2): 1

(1999-06-03 收稿)

胡枝子属植物化学成分及药理活性研究进展

吉林省中医中药研究院(长春 130021)

沈阳药科大学

卫生部长春生物制品研究所

王威* 闫喜英 王永奇

吴立军

王玉光

摘要 报道了胡枝子属植物中生物碱、黄酮、萜类、甾醇和有机酸等化学成分, 综述其对肾功能不全、离体子宫的药理活性以及抗炎、抗早孕和止痛作用的研究进展, 为全面评价胡枝子属植物的药用价值提供参考。
关键词 胡枝子属 化学成分 药理活性

豆科胡枝子属 *Lespedeza Michx.* 植物约 60 余种, 分布于东亚至澳大利亚东北部及北美。我国产 26 种, 除新疆外, 广泛分布于全国各省区^[1]。对于胡枝子属植物的药用价值, 人们早有认识, 在民间广为应用^[2]。笔者拟对胡枝子属植物的化学成分和药理活性方面的研究进展作一综述, 为全面评价胡枝子属植物的药用价值提供参考。

1 化学成分

从本属植物中已分离鉴定的化学成分包括黄酮、生物碱、三萜、有机酸及甾醇类等。

1.1 生物碱类: 生物碱是从胡枝子属植物中最早分离到的一类成分, 但到目前为止仅从该属植物中分

离鉴定了 2 个生物碱类化合物。1958 年, 日本学者 Goto 等人从多花胡枝子 *L. floribunda* Bunge 中分离得到尼葛林(*N*^b, *N*^b-dimethyltryptamine), 并通过化学方法对其进行了鉴定^[3]。1965 年, Morimoto 等人从该植物中分得一个新生物碱, 利用 UV、IR、NMR 和化学方法鉴定了其结构, 命名为 lespedamine (*N*^a-methoxy-*N*^b, *N*^b-dimethyltryptamine)^[4]。

1.2 黄酮类: 已分离鉴定的黄酮类包括黄酮、异黄酮、黄酮醇、双氢黄酮、双氢异黄酮、查尔酮和花青素等 64 个化合物, 见表 1。

1.3 萜类: 日本学者 Shuji 等人从多花胡枝子叶中

* Address: Wang Wei, Jilin Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changchun