

高速逆流色谱在分离纯化木蝴蝶活性成分中的线性放大*

袁媛^{1,2}, 骆厚鼎², 陈俐娟²

(1. 四川大学化学工程学院, 四川 成都 610065; 2. 四川大学生物治疗国家重点实验室, 四川 成都 610041)

摘要 :利用高速逆流色谱分离纯化中草药木蝴蝶乙酸乙酯粗提物中的黄酮类活性成分,并将分离规模从分析型线性放大到制备型,以获得大量的活性成分,为进一步的药物筛选提供物质基础。实验在分析型高速逆流色谱上对分离参数进行了系统优化,并将优化条件放大到制备型高速逆流色谱上对 911.6 mg 木蝴蝶乙酸乙酯粗提物进行分离,得到 5 种化合物,经高效液相色谱、电喷雾电离质谱和核磁共振氢谱、碳谱分析鉴定,分别为白杨素(160.9 mg,纯度为 97.3%)、黄芩素(130.4 mg,纯度为 97.6%)、黄芩素-7-O-葡萄糖苷(314.0 mg,纯度为 98.3%)、黄芩素-7-O-双葡萄糖苷(179.1 mg,纯度为 99.2%)和一种新的白杨素双葡萄糖苷(21.7 mg,纯度为 98.8%)。该放大过程不仅将处理量提高了 53 倍,还保持了在分析型设备上的分离度和分离时间。该工作为天然产物的研究提供了一个高效的分离纯化方法。

关键词 :高速逆流色谱;线性放大;黄酮;木蝴蝶;中草药

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2008)04-0489-05 栏目类别 :研究论文

Linear scale-up of the separation of active components from *Oroxylum indicum* using high-speed counter-current chromatography

YUAN Yuan^{1,2}, LUO Houding², CHEN Lijuan²

(1. School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

2. State Key Laboratory of Biotherapy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract : High-speed counter-current chromatography was used to separate and purify flavonoids from the ethyl acetate extract of *Oroxylum indicum*. After the optimization of separation conditions on analytical instrument, including the two-phase solvent system, rotation speed, flow rate, sample volume and sample concentration, a linear scale-up procedure was performed at preparative grade. Chrysin (160.9 mg, 97.3% in purity), baicalein (130.4 mg, 97.6% in purity), baicalein-7-O-glucoside (314.0 mg, 98.3% in purity), baicalein-7-O-diglucoside (179.1 mg, 99.2% in purity), and a new chrysin-diglucoside (21.7 mg, 98.8% in purity) were obtained from 911.6 mg ethyl acetate extract of *Oroxylum indicum* by only one step. These five compounds were identified using high performance liquid chromatography, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. With the improvement of the throughput for 53 times after such a scale-up, the resolution and the separation time were kept as the same as those of the analytical grade separation. Therefore, the linear scale-up provided an efficient method for the separation of natural products.

Key words : high-speed counter-current chromatography (HSCCC); linear scale-up; flavonoid; *Oroxylum indicum*; Chinese herbal medicine

高速逆流色谱 (high-speed counter-current chromatography, HSCCC) 是一种以液体作为固定相的液相色谱技术,主要特点在于分离纯化中的绝

大多数溶剂和样品可以得到回收,适用于制备分离^[1,2],因此该技术越来越多地被用于天然产物中有效成分的提取和中药的分析鉴定^[3-5]。传统的高

收稿日期 2008-02-26

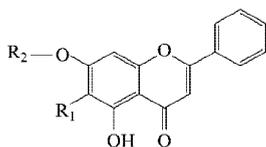
第一作者:袁媛,硕士研究生. E-mail: yuanyua1982@hotmail.com.

通讯联系人:陈俐娟,教授. Tel: (028)85164063, E-mail: lijuan_chen@yahoo.cn.

* 本文的英文电子版由 Elsevier 出版社在 ScienceDirect 上出版 (<http://www.sciencedirect.com/science/journal/18722059>).

速逆流色谱通常是在低转速和低流速下进行,分离时间往往长达几小时,体现不了真正“高速”的特点,也不便于参数放大^[1-2]。本文中采用了一种改进的行星运行式高速逆流色谱,由于它具有相当高的离心加速度(“g”值)和牢固的材料结构,使得分离时间不仅可以缩短到“分钟”级,还可以实现在分析型上优化分离条件,直接在制备型上放大的过程。此放大过程在大大提高处理量的同时,还可以保持分析型上的分离度和分离时间,故称为“线性放大”。本文以分离纯化木蝴蝶乙酸乙酯粗提物中的黄酮类活性成分为例,介绍这一有效方法。

木蝴蝶(*Oroxylum indicum*)作为传统的草药在中国和日本等东方国家得到广泛使用,具有镇痛、止咳、抗炎等功效^[6-7]。目前,与此相关的黄酮类化合物,如白杨素(chrysin)、黄芩素(baicalein)、黄芩素-7-O-葡萄糖苷(baicalein-7-O-glucoside)、白杨素-7-O-双葡萄糖苷(chrysin-7-O-diglucoside)、黄芩素-7-O-双葡萄糖苷(baicalein-7-O-diglucoside)和黄芩苷(baicalin)等已从该植物中分离得到^[8-12]。本工作在以上文献的基础上,成功完成了从分析型到制备型 HSCCC 的线性放大,对木蝴蝶中的主要黄酮类有效成分进行了分离、纯化、制备和结构鉴定,得到了白杨素、黄芩素、黄芩素-7-O-葡萄糖苷、黄芩素-7-O-双葡萄糖苷和一种新的白杨素双葡萄糖苷(chrysin-diglucoside)。除了新的白杨素双葡萄糖苷结构有待确证外,图 1 给出了从木蝴蝶乙酸乙酯粗提物中得到的其他 4 种黄酮苷类化合物的结构。



	R ₁	R ₂	M _r
Baicalein	OH	H	270
Baicalein-7-O-glucoside	OH	Glucoside	432
Baicalein-7-O-diglucoside	OH	Diglucoside	594
Chrysin	H	H	254

图 1 从木蝴蝶粗提物中得到的 4 种黄酮类化合物的结构

Fig. 1 Structures of four flavonoids from *Oroxylum indicum* extract

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

用于参数优化的高速逆流色谱仪是经改良的行星运行式分析型 Mini-DE,具有密封好、噪音小等特点,转速范围为 0~2 300 r/min(0~271 g),流速 0~2.5 mL/min,公转半径 R 值为 50 mm。它配备

了两个可拆卸替换的聚四氟乙烯(PTFE)分析柱,内径为 0.8 mm,有效柱体积分别为 4.7 mL 和 17.2 mL,β 值(螺旋管支持件的自转半径 r 与公转半径 R 的比值,即 $\beta = r/R$)为 0.68~0.79。本实验中选用 17.2 mL 柱作为分析柱。

用于线性放大的高速逆流色谱仪是同系列的制备型 Midi-DE,该设备也是 J-型行星运行式离心设备,具有低噪音的驱动装置和稳定的控温系统,可将转速和温度分别控制在 0~1 250 r/min 和 25~35 °C 之间。本实验中用两个实验室管轴同时代替两个对称的标准管轴进行实验,每一个实验室管轴中各缠绕一根内径为 4.0 mm PTFE 制备柱,柱体积分别为 459.8 和 455.7 mL。将两个制备柱串联用于线性放大实验。

以上两台逆流色谱仪都购自英国 DE 公司(Dynamic Extractions Ltd., 英国)。

Waters 高效液相色谱(HPLC)仪,包括 Waters 2695 分离模块和 Waters 2996 光电二极管阵列检测器(Waters 公司,美国);色谱柱:Sunfire C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);质谱仪: Micromass Q-TOF Premier 质谱仪(MS)(Waters 公司,美国);核磁共振仪(NMR):Unity Inova-400 WB 超导核磁共振波谱仪(Varian 公司,美国)。

粗提物制备及 HSCCC 分离所用溶剂(氯仿、甲醇等)均为分析纯(天津化学试剂三厂)。HPLC 分析所用甲醇和甲酸为色谱纯(Fisher Scientific, 英国),实验用水为二次蒸馏水(Milli-Q, 18.2 MΩ · cm, 25 °C)。

木蝴蝶药材购于成都市五块石药材市场,经四川大学华西药学院张浩教授鉴定为正品药材。

1.2 样品制备

将干燥的木蝴蝶药材粉碎,得到 9 kg 200 目的淡黄色粉末,经 50 kg 甲醇浸泡 12 h,在 40 °C 下减压蒸馏浸提液,收集浸膏并回收甲醇用于下一轮浸泡。重复以上步骤 5 次,合并所有浸膏。将 50 g 浸膏分散于 500 mL 水中,用 500 mL 正庚烷分两次等体积萃取后,再用 1 L 乙酸乙酯分 4 次萃取水层,于 30 °C 下减压蒸干乙酸乙酯层,得到 11 g 黄色固体粉末,室温干燥并保存作为乙酸乙酯粗提物。

1.3 两相溶剂系统及样品溶液的制备

HSCCC 溶剂系统为氯仿-甲醇-水(体积比为 9.5:10:5,下同)。按比例加各溶剂于分液漏斗中,剧烈振荡使其充分混合,分相平衡后分出上、下相,使用前分别超声脱气 3 min。取约 1.0 g(911.6 mg)乙酸乙酯粗提物,溶于 50 mL 氯仿-甲醇-水(9.5:10:5)的下相中,振荡使之完全溶解,以备

HSCCC 进样。

1.4 HSCCC 分离过程

将氯仿-甲醇-水(9.5:10:5)的上相(固定相)泵入 HSCCC 螺旋管。待螺旋管完全充满后,调整螺旋管至适当转速,以一定流速泵入流动相。动力学平衡后将样品注入螺旋管。分离温度 25 ℃,254 nm 紫外(UV)检测洗脱液,进样时开始记录,分段收集馏分。

1.5 分配系数的测定

根据文献[13]方法,取适量(约 1 mg)乙酸乙酯粗提物于 5 mL 试管中,加入预先达到平衡的两相溶剂系统的上下相各 1 mL,使粗提物充分溶解,待达到平衡后,取上下相各 0.5 mL,分别减压蒸干,用甲醇重新溶解,经 HPLC 检测得水相中化合物的峰面积为 A_1 ,有机相中化合物的峰面积为 A_2 ,则分配系数(K)为: $K = A_1/A_2$ 。

1.6 HPLC 条件

以甲醇-0.2% 甲酸为流动相,在 0~30 min 内甲醇的体积分数由 50% 增加到 75% 进行梯度洗脱;柱温 25 ℃,流速 1.0 mL/min,紫外 210~400 nm 全波长检测。

2 结果与讨论

2.1 木蝴蝶乙酸乙酯粗提物的 HPLC 分离

采用“1.6”节的色谱条件,对木蝴蝶乙酸乙酯粗提物进行分离,色谱图见图 2。

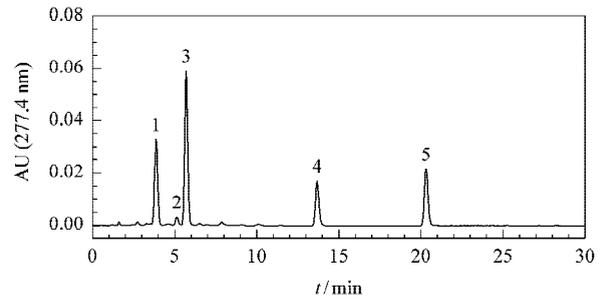


图 2 木蝴蝶粗提物的 HPLC 图谱

Fig. 2 Chromatogram for the HPLC analysis of the *Oroxyllum indicum* extract

The HPLC column was operated at 25 ℃ and the effluent monitored in the wavelength range of 210 to 400 nm. A methanol(A)-0.2% formic acid(B) aqueous system was used as the mobile phase in gradient mode—0 min(50% A) to 30 min(75% A) at a flow rate of 1.0 mL/min.

2.2 HSCCC 操作条件的优化

根据 K 值对 a)氯仿-甲醇-水, b)乙酸乙酯-正丁醇-水, c)正庚烷-乙酸乙酯-甲醇-水 3 类溶剂体系进行了筛选。由表 1 得知,乙酸乙酯-正丁醇-水使粗提物中的各组分显著地分布于有机相;正庚烷-乙酸乙酯-甲醇-水和氯仿-甲醇-水可改善这一情况,但所考察的正庚烷-乙酸乙酯-甲醇-水体系均易乳化,且不可以分离图 2 中的峰 4 和峰 5 两种化合物;而氯仿-甲醇-水(9.5:10:5)的各分配系数在正相模式下可以使各峰得到较好的分离度,故选其为 HSCCC 溶剂体系。实验结果表明,该体系的固定相保留率较高,各峰保留时间分布适当,分离效果较好。

表 1 木蝴蝶粗提物中主要黄酮类化合物在不同二相溶剂体系中的分配系数(K)

Table 1 Partition coefficients (K) of various components of *Oroxyllum indicum* flavonoids in certain solvent systems

Solvent system	Volume ratio	K values of the flavonoids from the extract of <i>Oroxyllum indicum</i>				
		1*	2*	3*	4*	5*
Ethyl acetate- <i>n</i> -butanol-water	1:4:5	0.23	0.12	0.03	0	0
	2:3:5	0.27	0.19	0.03	0	0
	3:2:5	0.46	0.24	0.05	0	0
<i>n</i> -Heptane-ethyl acetate-methanol-water	1:19:1:19	1.64	1.22	0.31	0	0
	1:6:1:6	3.11	3.03	0.60	0	0
	1:5:1:5	3.54	3.44	0.88	0	0
Chloroform-methanol-water	8:10:5	3.24	2.14	0.85	0.25	0.22
	9.5:10:5	4.22	2.51	1.48	0.52	0.23
	10:12:5	2.22	1.70	1.09	0.40	0.38

* Peaks in Fig. 2.

在恒温(25 ℃)条件下对下列参数进行了系统优化:1)流速 0.5,1.0,1.5,2.0 mL/min;2)转速 1 600,1 800,2 000 r/min;3)进样体积 0.215,0.430,0.860,1.720 mL(分别为柱体积的 1.25%,2.50%,5.00%,10.00%);4)粗提物进样浓度 1.0×10^4 , 2.0×10^4 , 3.0×10^4 , 4.0×10^4 mg/L。实验结果表明,提高流速虽会减少固定相的保留体积,但可加快分离速度,缩短分离时间,且在本实验中,当流速

低于 2.0 mL/min 时,流速的增加对分离度的影响较小,而当流速达到 2.0 mL/min 时,固定相流失严重,因此选用流速 1.5 mL/min;提高螺旋管转速可改善固定相保留体积,达到维持较好分离度效果,但 2 000 r/min 的转速使溶剂体系乳化严重,不利于分离,所以选择转速 1 800 r/min;增加粗提物进样浓度和进样体积,HSCCC 的处理量可相应提高,但随进样量增加,出现过载现象,并极大地降低固定相的

保留及其分离能力。综合各利弊因素,确定进样体积和进样浓度分别为 0.86 mL 和 2.0×10^4 mg/L。

综上所述,得到以下优化参数:氯仿-甲醇-水(9.5:10:5),正相洗脱,转速 1 800 r/min,流速 1.5 mL/min,进样体积 0.86 mL,进样浓度 2.0×10^4 mg/L,温度 25 °C。图 3-a 为木蝴蝶粗提物在上述操作条件下的 HSCCC 图谱。

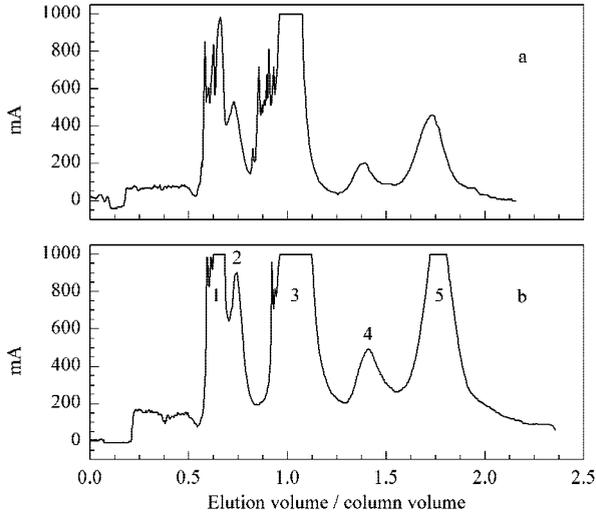


图 3 分离纯化木蝴蝶粗提物的 HSCCC 图谱

Fig. 3 Chromatograms for the separation of the *Oroxyllum indicum* extract by HSCCC

a. analytical Mini-DE (column volume: 17.2 mL). Chromatographic conditions were as follows: chloroform-methanol-water (9.5:10:5, v/v/v), normal phase mode, rotation speed was 1 800 r/min, flow rate was 1.5 mL/min, sample volume was 0.86 mL, sample concentration was 2.0×10^4 mg/L, $t = 25$ °C, $S_f = 58.45\%$, detection wavelength was 254 nm.

b. preparative Midi-DE (column volume: 915.5 mL). Chromatographic conditions were as follows: chloroform-methanol-water (9.5:10:5, v/v/v), normal phase mode, rotation speed was 1 200 r/min, flow rate was 75 mL/min, sample volume was 45.58 mL, sample concentration was 2.0×10^4 mg/L, $t = 25$ °C, $S_f = 59.23\%$, detection wavelength was 254 nm.

2.3 操作条件的线性放大

Mini-DE 和 Midi-DE 为同一系列的高速逆流色谱,具有相同的运行机制,因此 Midi-DE 在设备结构上同样具备很强的耐受性,克服了普通制备型逆流色谱低转速(低“g”值)、低流速的缺点,可以达到与分析型 Mini-DE 相同的高“g”范围,并在较高流速下保持与 Mini-DE 相似的固定相保留率(S_f ,即达到平衡时分离柱中固定相体积与柱体积的比值),在几乎相同的分离时间内将目标物质分离纯化。因此,只要将部分参数按照一定规则进行简单换算,就可以实现线性放大。

从 Mini-DE 到 Midi-DE,柱体积从 17.2 mL 放大到 915.5 mL,按照相同的比例(1:53),将进样体积由 0.86 mL 放大到 45.58 mL(保持为柱体积的 5.00%),而流速由 1.5 mL/min 放大到 75

mL/min。值得注意的是,Mini-DE 分离柱的内径和柱长分别为 Midi-DE 的 5 倍和 2 倍,所以为到达相同的洗脱时间,将 Midi-DE 的流速放大到 75 mL/min。另外,Mini-DE 在 1 800 r/min 转速下的“g”值与 Midi-DE 在 1 200 r/min 转速下的“g”值相同(均为“181 g”),故设定 Midi-DE 的转速为 1 200 r/min。其他参数保持与分析型 Mini-DE 相同。图 3-b 为将优化条件线性放大后的 HSCCC 图谱。

2.4 产物的结构鉴定

根据 HSCCC 图谱分段收集,经过 HPLC 分析后按化合物归类合并得到 5 组组分(收集部位如图 3-b 所示),组分 1~5 分别与 HPLC 图谱(见图 2)中的峰 5、峰 4、峰 3、峰 2 和峰 1 对应。将分段收集的组分 1~5 减压蒸干均得到有色固体粉末(化合物 1~5),分别为 160.9,130.4,314.0,21.7,179.1 mg,进行质谱和核磁共振分析。

化合物 1 电喷雾电离质谱(ESI-MS)数据: m/z 253 [M-H]⁻。核磁共振数据:¹H NMR(400 MHz,二甲亚砜(DMSO)) δ 7.9(2H,d,H-2',H-6'),7.5(3H,m,H-3',H-4',H-5'),6.5(1H,s,H-8),6.4(1H,s,H-3),6.1(1H,s,H-6);¹³C NMR(400 MHz,DMSO) δ 182.74(C-4),165.57(C-7),164.50(C-2),162.16(C-5),158.44(C-9),131.93(C-4'),131.43(C-1'),129.10(C-3',C-5'),126.30(C-2',C-6'),104.90(C-3),104.31(C-10),99.27(C-6),95.45(C-8)。该化合物的 HPLC 保留时间和 UV 特征光谱均与白杨素一致,且 MS 和 NMR 数据均与文献[8]报道的白杨素一致,故将化合物 1 鉴定为白杨素,HPLC 分析其纯度为 97.3%。

化合物 2 ESI-MS: m/z 269 [M-H]⁻。¹H NMR(400 MHz,DMSO) δ 7.8(2H,d,H-2',H-6'),7.3(3H,m,H-3',H-4',H-5'),6.5(1H,s,H-8),6.4(1H,s,H-3);¹³C NMR(400 MHz,DMSO) δ 184.64(C-4),165.98(C-7),155.55(C-2),152.56(C-5),148.30(C-9),133.32(C-4'),133.13(C-1'),131.15(C-6),130.61(C-3',C-5'),127.77(C-2',C-6'),106.24(C-3),105.75(C-10),95.45(C-8)。化合物 2 的 UV 特征光谱及 HPLC 保留时间与黄芩素完全吻合,且 MS 和 NMR 数据均与文献[8]中报道的黄芩素一致,故将化合物 2 鉴定为黄芩素,HPLC 分析其纯度为 97.6%。

化合物 3 ESI-MS: m/z 433 [M+H]⁺,271 [M+H-162]⁺。¹H NMR(400 MHz,DMSO) δ 6.4(1H,s,H-3),6.5(1H,s,H-8),7.5(3H,m,H-3',H-4',H-5'),7.9(2H,d,H-2',H-6'),8.5(1H,s,6-OH),12.6(1H,s,5-OH);¹³C NMR(400 MHz,DMSO) δ 60.98(C-6''),70.01(C-4''),73.50

(C-2''), 76.22(C-5''), 77.73(C-3''), 94.61(C-8), 101.22(C-1''), 105.11(C-3), 106.42(C-10), 126.71(C-2', C-6'), 129.54(C-3', C-5'), 130.93(C-1'), 131.21(C-6), 132.38(C-4'), 146.77(C-5), 149.63(C-7), 151.88(C-9), 163.81(C-2), 182.90(C-4)。对照文献[8], MS和NMR数据均与文献[8]报道的黄芩素-7-O-葡萄糖苷一致。HPLC分析其纯度为98.3%。

化合物4 ESI-MS: m/z 617 [M+K]⁺, 579 [M+H]⁺, 417 [M+H-162]⁺, 255 [M+H-324]⁺。¹H NMR(400 MHz, 10 mg溶于0.5 mL DM-SO) δ : 4.5(1H, tri, anomeric-H), 6.1(1H, s, H-6), 7.0(1H, s, H-3), 7.2(1H, s, H-8), 7.2~7.3(3H, m, H-3', 4', 5'), 7.6~8.1(2H, d, H-2', 6'), 12.6(1H, s, 5-OH); ¹³C NMR(400 MHz, DMSO) δ : 61.04(C-6'''), 69.21(C-4'''), 69.51(C-4''), 70.20(C-6''), 73.16(C-2'''), 73.46(C-2''), 75.62(C-5'''), 75.64(C-5''), 76.79(C-3'''), 77.19(C-3''), 95.25(C-8), 99.34(C-6), 100.85(C-1'''), 103.58(C-1''), 105.14(C-10), 105.66(C-3), 126.57(C-2', 6'), 129.32(C-3', 5'), 130.98(C-1'), 132.13(C-4'), 157.37(C-9), 161.47(C-5), 163.58(C-2), 163.60(C-7), 182.34(C-4)。这些数据表明该化合物的糖基部分由两个葡萄糖单元组成, 该部分的NMR数据与文献[8]中报道的黄芩素-7-O-双葡萄糖苷的糖基部分一致, 而对照苷元部分与白杨素相吻合^[8], 故推测化合物4为白杨素的一个双葡萄糖取代衍生物(一种新的白杨素双葡萄糖苷)。但是, 该化合物与文献[8]中的白杨素-7-O-双葡萄糖苷在K值(溶剂体系为氯仿-甲醇-水8:10:5)上具有较大差异, 所以化合物4是白杨素-7-O-双葡萄糖苷的一个同分异构体, 其化学结构还有待进一步确证。HPLC检测其纯度为98.8%。

化合物5 ESI-MS: m/z 595 [M+H]⁺, 433 [M+H-162]⁺, 271 [M+H-324]⁺。¹H NMR(400 MHz, DMSO) δ : 4.5(1H, tri, anomeric-H), 7.0(1H, s, H-3), 7.2(1H, s, H-8), 7.2~7.3(3H, m, H-3', 4', 5'), 7.6~8.1(2H, d, H-2', 6'), 8.5(1H, s, 6-OH), 12.6(1H, s, 5-OH); ¹³C NMR(400 MHz, DM-SO) δ : 61.07(C-6'''), 69.14(C-4'''), 69.56(C-4''), 70.16(C-6''), 73.12(C-2'''), 73.47(C-2''), 75.54(C-5'''), 75.58(C-5''), 76.77(C-3'''), 77.07(C-3''), 94.35(C-8), 100.83(C-1'''), 103.66(C-1''), 104.50(C-3), 106.04(C-10), 126.33(C-2', 6'), 129.20(C-3', 5'), 130.41(C-1'), 130.70(C-6), 131.84(C-4'), 146.30(C-5), 149.19(C-7), 151.45(C-9), 163.46(C-2), 182.50(C-4)。其MS和NMR数据与文献[8]中报道的黄芩素-7-O-双葡萄糖苷吻合。

HPLC测得其纯度为99.2%。

3 结论

本实验采用分析型HSCCC对木蝴蝶乙酸乙酯粗提物中的黄酮类化合物进行了分离纯化, 并在恒温条件下对溶剂体系、转速、流速、进样体积、进样浓度进行了系统性考察, 获得了较优条件, 并成功地将优化参数线性放大到了制备型Midi-DE上, 不仅大大提高了处理量, 还保持了与分析型Mini-DE相似的固定相保留率、分离度和分离时间, 突破了普通制备型高速逆流色谱在低“g”和低流速下运行的问题, 使分离时间缩短到“分钟”级。通过一步分离纯化911.6 mg木蝴蝶乙酸乙酯粗提物得到白杨素(160.9 mg, 纯度为97.3%)、黄芩素(130.4 mg, 纯度为97.6%)、黄芩素-7-O-葡萄糖苷(314.0 mg, 纯度为98.3%)、黄芩素-7-O-双葡萄糖苷(179.1 mg, 纯度为99.2%)和一种新的白杨素双葡萄糖苷(21.7 mg, 纯度为98.8%), 并使用HPLC, MS和NMR对其结构进行了分析验证。该线性放大方法效率高, 简单易行, 可以应用到其他的天然产物的分离纯化中, 有助于筛选更多的活性化合物和新药的开发研究。

参考文献:

- [1] Sutherland I, Hawes D, Ignatova S, et al. J Liq Chromatogr Related Technol, 2005, 28(12/13): 1877
- [2] Sutherland I A. J Chromatogr A, 2007, 1151(1/2): 6
- [3] Weisz A, Mazzola E P, Murphy C M, et al. J Chromatogr A, 2002, 966(1/2): 111
- [4] Li H B, Chen F, Zhang T Y, et al. J Chromatogr A, 2001, 905(1/2): 151
- [5] Du Q Z, Li Z H, Ito Y. J Chromatogr A, 2001, 923(1/2): 271
- [6] Jiangsu New Medical College. Dictionary of traditional Chinese medicine. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publication House (江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海科学技术出版社), 1997: 368
- [7] Tomimori T, Imoto Y, Ishida M, et al. Shoyakugaku Zasshi, 1988, 42(1): 98
- [8] Chen L J, Games D E, Jones J. J Chromatogr A, 2003, 988(1): 95
- [9] Chen L J, Song H, Lan X Q, et al. J Chromatogr A, 2005, 1063(1/2): 241
- [10] Miao J R, Yang H M, Zeng J G, et al. Chinese Traditional and Herbal Drugs (缪建荣, 杨红美, 曾建国, 等. 中草药), 2006, 37(4): 505
- [11] Chen L L, Song X K, Hou W B, et al. Chinese Traditional and Herbal Drugs (陈亮亮, 宋晓凯, 侯文彬, 等. 中草药), 2007, 38(2): 186
- [12] Sun A L, Sun Q H, Liu R M. Chinese Journal of Analytical Chemistry (孙爱玲, 孙清华, 柳仁民. 分析化学), 2006, 34(Z1): S243
- [13] Ito Y, Conway W D. High-speed counter-current chromatography. New York: John Wiley, 1996: 179