

高速逆流色谱分离天然产物的溶剂体系选择¹

张荣劲, 杨义芳

(上海医药工业研究院, 上海 200040)

摘要: 高速逆流色谱(HSCCC)是一种有效快速的分离方法。综述了近几年来关于 HSCCC 分离天然产物的研究进展, 与以往综述按分离物质的种类对溶剂体系分类阐述不同, 将按照溶剂体系的极性对其分类阐述, 并且详细的论述了常用溶剂体系适合分离物质的特征, 列举了大量的应用实例和被分离物质的结构及分配系数, 对快速选择溶剂体系起到了一定的指导作用。最后介绍了一些新型的溶剂体系, 对 HSCCC 的未来发展进行展望。

关键词: HSCCC; 溶剂体系; 分离; 天然产物

中图分类号: R 284 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253- 2670(2008) 02- 0298- 06

Selection of solvent system for high speed countercurrent chromatography in separation of natural products

ZHANG Rong-jin, YANG Yi-fang

(Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

Key words: high-speed countercurrent chromatography (HSCCC); solvent system; separation; natural products

高速逆流色谱(high-speed countercurrent chromatography, HSCCC)是一种液液分配色谱, 其优点是固定相和流动相均为液体, 所以不会产生固体载体所造成的吸附损耗等问题。因此 HSCCC 越来越广泛地应用于中药有效成分的分离。

利用 HSCCC 分离的关键就是如何快速有效地找到合适的溶剂系统使欲分离的物质在两相中的分配系数在 0.5~2。以前关于 HSCCC 的综述都是按照分离物质的种类对溶剂体系分类的, 这样分类有很大的弊端; (1) 对于同时属于多种类别的物质难以选择溶剂系统; (2) 对于难以分类的物质的溶剂系统难以选择; (3) 每类物质都包含了太多的溶剂体系, 而且每类物质间所使用的溶剂体系交叉较多。因此, 达不到一定的专一性, 也达不到指导快速选择溶剂体系的目的。在 HSCCC 的溶剂系统选择中, 由于欲分离成分的分配系数与被分离物质的极性以及溶剂体系的极性有关, 所以按照分离物质极性的大小选择溶剂体系是一种可行的方法。本文按照溶剂体系的极性分类力求对快速选择溶剂体系起到一定的指导作用。

1 常规溶剂系统按极性分类

本文把溶剂体系粗分为: 强极性溶剂系统、中极性溶剂系统、弱极性溶剂系统、极弱极性溶剂系统。又按照以组成溶剂系统的最小极性的溶剂细分为: 正丁醇体系、醋酸乙酯体系、氯仿体系、正己烷体系、石油醚体系等。

1.1 强极性体系

1.1.1 正丁醇体系: 该体系的基本两相由正丁醇和水组成, 根据需要在上下两相中加入不同体积比且极性位于正丁

醇和水之间的惰性溶剂来调节溶剂体系的极性。一般加入甲醇、乙醇、丙酮作为调节剂, 组成三元溶剂体系。该体系一般不是很常用。

1.1.2 醋酸乙酯体系: 该体系是 HSCCC 分离常用的体系之一, 基本两相由醋酸乙酯和水组成, 可根据需要在上下两相中加入不同体积比且极性位于醋酸乙酯和水之间的惰性溶剂来调节溶剂体系的极性。一般加入甲醇、乙醇、正丁醇作为极性调节剂, 组成三元或四元溶剂体系。用该类溶剂系统分离的物质基本上都属于苷类, 且大多数苷的苷元都比较简单, 多数含有多个羟基, 有的苷含有多个糖, 常用于分离黄酮苷、苯丙素苷以及一些皂苷。最常用的溶剂体系有: 醋酸乙酯-正丁醇-水、醋酸乙酯-甲醇-水、醋酸乙酯-乙醇-水、醋酸乙酯-正丁醇-乙醇-水。这些常用的体系极性相差不大, 只有醋酸乙酯-乙醇-水的极性稍微小点, 不常用于分离含有多个糖的苷。具体实例见表 1。

1.2 中极性体系

1.2.1 甲基叔丁基醚体系: 该体系的基本两相由甲基叔丁基醚和水组成, 根据需要在上下两相中加入不同体积比且极性位于甲基叔丁基醚和水之间的惰性溶剂来调节溶剂体系的极性。一般加入正丁醇、甲醇、乙醇、乙腈作为极性调节剂, 组成四元溶剂体系, 三元的甲基叔丁基醚体系不是很常见。可以用于分离含羟基不是很多的苷类和极性较大的蒽苷, 以及含有多个羟基和羧基的非苷类物质。甲基叔丁基醚体系和醋酸乙酯体系的极性相差很小。实例见表 2。

¹ 收稿日期: 2007-08-07

作者简介: 张荣劲(1982—), 女, 四川人, 上海医药工业研究院中药研究室, 在读硕士研究生, 主要从事中药创新药与中药现代化研究。
Tel: (021) 62479808-492 Fax: (021) 62473018 E-mail: zrj19821117@yahoo.com.cn

表 1 HSCCC 的醋酸乙酯溶剂体系

Table 1 Solvent systems of ethyl acetate for HSCCC

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
醋酸乙酯-正丁醇-水 20：1：20 2：1：3	何首乌 Polygonum multiforum 攀倒甍 Patrinia villosa	polygonimitin B	0.95	1
		异荛草素	0.38	2
		石碱草素	1.08	
2：7：9	板蓝根 小果 梔 子 Gardenia jasmi-	clemanstin B	0.78	3
		indigoticoside A	2.16	
		京尼平苷	0.44	4
(2：1：3), (2：1.5：3)	noides			
醋酸乙酯-甲醇-水 5：1：5 50：1：50	红花 Carthamus tinctorius 何首乌	(2S)-4', 5, 6, 7-四羟基黄酮-6-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	2.7	5
		大黄素-8-BD-葡萄糖苷	4.74	
		2, 3, 5, 4-四羟基 -2-BD-葡萄糖苷	2.26	1
醋酸乙酯-乙醇-水 5：1：5 15：1：15	仙茅 Curculigo orchioides 结香 Edgeworthia chrysantha	polygonimitin B	0.74	
		仙茅苷、仙茅苷 B	2.42, 1.34	6
		丁香苷、edgeworoside C	0.5~2	7
醋酸乙酯-正丁醇-乙醇-水 5：0.5：1：5	元宝槭 Acer truncatum 牛蒡子	槲皮素-3-O-L-鼠李糖苷		8
		牛蒡子苷	1.5	9

表 2 HSCCC 的甲基叔丁基醚溶剂体系

Table 2 Solvent systems of methyl tert-butyl ether for HSCCC

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
甲基叔丁基醚-正丁醇-乙腈-水 2：2：1：5	Laccifer lacca	紫胶酸 A	1.67	10
		紫胶酸 B	2.38	
		紫胶酸 C	0.36	
甲基叔丁基醚-正丁醇-甲醇-水 (1：2：1：5), (1：3：1：5)	苦瓜 Momordica charantia	紫胶酸 E	0.54	
		goyaglycoside-e		11
		罗汉果苷 L		
		goyaglycoside-a		
		罗汉果苷 K		

1.2.2 氯仿体系:该体系是 HSCCC 分离常用的体系之一,基本两相由氯仿和水组成,可根据需要在上下两相中加入不同体积比且极性位于氯仿和水之间的惰性溶剂来调节溶剂系统的极性。一般加入正丁醇、甲醇、乙醇作为极性调节剂,组成三元或四元溶剂体系。其中运用最多的是氯仿-甲醇-水体系。氯仿体系即可以用于分离含有糖的苷,也可以分离不含有糖且含有一些羟基的苷元。但是甲醇在溶剂体系中的比例很接近或者大于氯仿在溶剂体系中的比例时,氯仿-甲醇-水体系可以分离含有多羟基的苷类物质,其极性甚至可以达到与醋酸乙酯体系极性相似的程度。常用于分离黄酮、苯丙素、蒽醌、多酚及其苷。实例见表 3。

1.3 弱极性体系

1.3.1 正己烷体系:该体系是 HSCCC 分离常用的体系之

一,基本两相由正己烷和水组成,可根据需要在上下两相中加入不同体积比且极性位于正己烷和水之间的惰性溶剂来调节溶剂系统的极性。一般加入正丁醇、甲醇、乙醇、醋酸乙酯、乙腈、氯仿作为极性调节剂,组成三元或四元溶剂体系。其中运用最多的是正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水、正己烷-醋酸乙酯-乙醇-水、正己烷-甲醇-水、正己烷-乙醇-水、正己烷-醋酸乙酯-水。一般用正己烷体系分离小极性非苷类物质,被分离物质中极性基团很少。常用于分离黄酮、苯丙素、蒽醌和一些蒽类化合物。其中正己烷-甲醇-水、正己烷-乙醇-水分离物质的极性很小,基本不含羟基。而正己烷-醋酸乙酯-水分离的物质极性最大,可以分离含有多个羟基的物质,甚至能分离苷类。而正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水、正己烷-醋酸乙酯-乙醇-水,这两个溶剂体系的分离极性范围很广。实例见表 4。

表 3 HSCCC 的氯仿溶剂体系

Table 3 Solvent systems of chloroform for HSCCC

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
氯仿-甲醇-水 10：8：4	防风 Saposhnikovia divaricata	4'-O-BD-5-O-methylvisamminol-		12
		prim-O-glucosylcimifugin		
		epimedok or eanositide I	1.47	
4：3.5：2	朝鲜淫羊藿 Epimedium koreanum	淫羊藿苷	2.22	13
		淫羊藿次苷	3.85	
		大豆黄酮		14
4：3：2	大豆 Glycine max	黄豆黄素		
		乙酰大豆黄素苷		
		乙酰染料木苷		
氯仿-甲醇-异丙醇-水 5：6：1：4	大花红景天 Rhodiola crenulata	红景天苷		15

1.3.2 石油醚体系: 该体系的基本两相由石油醚和水组成, 可最多的是石油醚-醋酸乙酯- 甲醇-水。用该体系分离的大多数物质都不含有羟基, 很少用该体系分离苷类物质, 只有当苷元分子较复杂且极性很低时可以用于分离由该苷元组成的苷。降低石油醚的比例, 也可以分离一小部分的苷。实例见表 5。

表 4 HSCCC 的正己烷溶剂体系

Table 4 Solvent systems of n-hexane for HSCCC

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
正己烷- 甲醇- 水 (5 : 5 : 5), (5 : 7 : 3)	白芷 <i>Angelica dahurica</i>	戊烯氧呋豆素 异欧前胡素 xoypeucedanine	1. 64, 0. 31 6. 44, 0. 86 2. 13, 0. 32	16
35 : 30 : 3 正己烷- 乙醇- 水 6 : 5 : 1. 5	五味子 <i>Schisandra chinensis</i> 菠菜 <i>Spinacia oleracea</i> 和玉蜀黍 <i>Zea mays</i>	去氧五味子素、G 五味子素 叶黄素 玉米黄素	 0. 77 0. 6	17 18
正己烷- 正丁醇- 甲醇- 水 1 : 4 : 2 : 6 正己烷- 醋酸乙酯- 正丁醇- 水 1 : 1 : 8 : 10	箭叶淫羊藿 <i>Epimedium sagittatum</i> 黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	淫羊藿苷 黄芩素 汉黄芩素 木蝴蝶素	 	19 20
正己烷- 醋酸乙酯- 甲醇- 水 5 : 5 : 4. 5 : 5. 5 (5 : 5 : 4. 5 : 5. 5), (1 : 1 : 1 : 1)	补骨脂 <i>Psoralea corylifolia</i> 白芷	补骨脂素 异补骨脂素 戊烯氧呋豆素 氧化前胡内酯 白芷甲素	1. 73 3. 07 	21 22
1 : 0. 8 : 1 : 1 3 : 7 : 5 : 5	橘红 何首乌	蜜桔黄素 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲基黄酮 红橘素 5-羟基-6, 7, 8, 3, 4-五甲基黄酮 大黄素 6-OH- 大黄素 大黄酸 大黄酚	0. 48 0. 74 1. 32 3. 2 7. 34 1. 12 0. 83 14. 87	23 1
正己烷- 醋酸乙酯- 乙醇- 水 1 : 9 : 1 : 9 正己烷- 氯仿- 甲醇- 水 (5 : 6 : 3 : 2), (1. 5 : 6 : 3 : 2)	连翘 <i>Forsythia suspensa</i> 胀果甘草 <i>Glycyrrhiza inflata</i>	连翘苷 甘草查耳酮 A inflacoumarin A	0. 799 	24 25

表 5 HSCCC 的石油醚溶剂体系

Table 5 Solvent systems of light petroleum for HSCCC

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
石油醚- 甲醇- 水 5 : 6. 5 : 3. 5	云木香 <i>Aucklandia lappa</i>	广木香内酯 去氢- A 姜黄烯	1. 21 2. 23	26
石油醚- 醋酸乙酯- 水 1 : 5 : 5	虎杖 <i>Polygonum cuspidatum</i>	虎杖亭 antraglycoside B	0. 41 1. 55	27
石油醚- 醋酸乙酯- 甲醇- 水 (5 : 5 : 5 : 5), (5 : 5 : 6 : 4), (5 : 5 : 6. 5 : 3. 5)	蛇床 <i>Chidium monnieri</i>	欧芹酚甲醚、甲氧呋豆素、异虎耳草素、佛手柑脑、戊烯氧呋豆素		28
5 : 5 : 6 : 4 石油醚- 醋酸乙酯- 乙醇- 水 6 : 4 : 5 : 5	乌药 <i>Lindera aggregata</i> 轮叶沙参 <i>Adenophora tetraphylla</i>	乌药内酯、钩樟烯醇 3-O-BD- 葡萄糖-B 谷甾醇 花生酸	 1. 45 1. 22	29 30
石油醚- 乙醇- 乙醚- 水 5 : 4 : 0. 5 : 1	温郁金 <i>Curcuma wenyujin</i>	杜鹃酮 莪术二酮		31

1.4 极弱极性体系(无水体系): 现在大多数用于 HSCCC 分离的无水体系都是用乙腈代替水与小极性溶剂组成基本两相, 再根据需要在上下两相中加入不同体积比且极性位于小极性溶剂和乙腈之间的惰性溶剂来调节溶剂系统的极性。该溶剂系统可以用来分离极性非常小的物质, 这种物质一般含有较多碳, 基本上不含有极性基团。适用于分离小极性的甾体、萜类以及多碳烷烃。常见的无水体系有正己烷体系, 即基

本两相由正己烷和乙腈组成。实例见表 6。
1.5 加酸体系: 在极性相对小的溶剂体系中加入酸碱会增大溶剂体系的极性。常在溶剂体系中加入盐酸、醋酸、三氟乙酸、磷酸盐。这种加了酸碱的溶剂体系常用于分离具有酸碱性质的物质, 如生物碱、有机酸和酸性较强的黄酮类化合物。氯仿-甲醇-稀盐酸溶剂体系就常常用于分离生物碱类的物质, 可以说氯仿-甲醇-稀酸体系是分离生物碱的专用体系。实例见表 7。

表 6 HSCCC 的无水溶剂体系

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
正己烷-醋酸乙酯-乙腈 (5 : 1 : 5), (5 : 1 : 4), (5 : 2 : 5)	轮叶沙参	二十九烷-10-醇 24-亚甲基环木菠萝烷醇 A-菠菜甾醇 B-谷甾醇 羽扇豆烯酮 3-O-棕榈酰基-B-谷甾醇	$K_1 > 5, K_2 = 1.41$ $K_2 = 1.63$ $K_1 = 2.11, K_2 = 1.07$ $K_1 = 2.49, K_2 = 1.12$ $K_2 > 5, K_3 = 2.93$ $K_3 = 4.27$	30
正己烷-二氯甲烷-乙腈 10 : 3.5 : 6.5	番茄 <i>Lycopersicon esculentum</i>	番茄红素		32
正庚烷-醋酸乙酯-乙腈 5 : 1 : 5	粗提物	B-谷甾醇		33

表 7 HSCCC 的加酸溶剂体系

溶剂系统	来 源	分离物质	K	文献
正丁醇-甲醇-0.5% 醋酸 5 : 1.5 : 5	Cortex fraxinus	秦皮苷 七叶苷 秦皮素 七叶内酯	0.83 1.23 2.65 3.58	34
醋酸乙酯-正丁醇-乙腈-1% HCl 5 : 2 : 5 : 10	短葶飞蓬 <i>Erigeron breviscapus</i>	灯盏乙素	0.91	35
甲基叔丁基醚-正丁醇-乙腈-0.5% 三氟乙酸 2 : 1 : 2 : 5	葡萄渣	caftaric acids coutaric acids fertaric acids	0.2 0.5 0.9	36
氯仿-甲醇-0.2 mol/L HCl 8 : 3 : 4	黄连 <i>Coptis chinensis</i>	巴马丁、小檗碱、表小檗碱、 coptisine、药根碱、 非洲防己碱		37
氯仿-乙醇-0.2 mol/L HCl 3 : 2 : 2	浙贝母 <i>Fritillaria thunbergii</i>	贝母碱 去氢贝母碱	1.16 0.87	38
正己烷-正丁醇-甲醇-0.5% 醋酸水溶液 1 : 3 : 1 : 4	化橘红	柑桔苷 野漆树苷		39
正己烷-醋酸乙酯-正丁醇-甲醇-醋酸-水 1 : 2 : 1 : 1 : 1 : 5	黄豆	大豆黄苷、染料木苷、 6"-O-丙二酰基大豆黄苷、 6"-O-丙二酰基染料木苷		40

2 新型溶剂系统在 HSCCC 上的应用

微乳相萃取技术是近几年提出的新概念, 它突破了传统萃取中水相有机相的概念, 是利用溶液体系微相结构和特性发展起来的分离技术。微乳相萃取技术是聚合基团萃取、反胶团萃取以及双水相萃取和三相萃取等与微乳相结构有关的萃取分离技术的统称^[41]。由于是新发展的技术, 关于微乳相技术的原理还不是很清楚, 而且由于微乳相分层速度较慢易于乳化, 大大地限制了其在逆流色谱中应用的步伐。

2.1 双水相逆流色谱: 双水相是指在水中加入一种聚合物和一种盐或者加入两种聚合物后, 水形成了两个不溶的水相。最常用的聚合物有聚乙二醇、葡聚糖, 常用的盐有磷酸盐和硫酸盐^[42~44]。双水相体系一般用于分离极性很大的物质, 如酶、抗生素、基因工程药物、毒素、多糖^[45]。
2.2 三相萃取: 这里的三相萃取是指微乳相的三相萃取, 是由双水相加有机溶剂组成的三相体系。其中双水相的部分常用聚乙二醇和硫酸盐、水组成, 有机相部分由高级醇或者乙

酸丁酯组成。这种三相萃取体系曾成功地用于分离青霉素,大大的简化了青霉素的萃取过程^[41]。

如果把这种三相体系运用到逆流色谱将比普通的两相体系有更高的分离效率。Shibusawa 等^[49]曾经用正己烷-乙酸甲酯-乙腈-水(4:4:3:4)的三相体系在 70 min 内分离了 15 种物质。而这种三相色谱比一般的三相体系系列适合分离大极性的物质。

2.3 反胶团萃取:有报道用反胶团萃取分离了蛋白质。如果把反胶团运用到逆流色谱中,也可能是分离蛋白质、多糖、酶等大极性物质的最佳溶剂体系之一^[41]。

3 结语

HSCCC 溶剂系统的选择与被分离物质的极性有关,被分离物质的极性取决于物质的永久偶极矩和物质的极化率,而不能简单依据被分离物质所带有的基团而定。永久偶极矩与该物质的立体结构、对称性,以及所含原子的电负性有关;物质的极化率与该物质的折射率、介电常数和分子间的作用力(包括库仑力、诱导力、氢键)以及电子对的给与和接受能力有关^[42, 47]。

所以本文只是按照被分离物质的所带有的官能团的极性粗略的对分离物质进行了一些特征的描述。真正在选择分离体系时应该与物质色谱行为结合起来进行极性判断。

3.1 溶剂体系:分析以前关于 HSCCC 分离的文献,发现大多数文献都是使用的强极性溶剂体系,基本上是正丁醇体系、醋酸乙酯体系和小极性体系加酸;使用的中极性体系基本上是甲基叔丁基醚体系、氯仿体系;使用的弱极性体系基本上是正己烷体系、石油醚体系;使用极弱极性体系的文献不多,有的基本上是用乙腈代替水,与正己烷或正庚烷组成基本两相。同时,大多数文献都使用乙醇、甲醇、醋酸乙酯、正丁醇、乙腈作为极性调节剂。少数文献使用过四氯化碳体系、异辛烷等其他体系作为 HSCCC 的分离体系;也有少数文献选用四氢呋喃、醋酸、二氯甲烷、二乙基醚作为极性调节剂。

自然界的天然产物成千上万,极性也千差万别。而可供用于 HSCCC 分离的溶剂也很多,现在只有很小一部分被运用了。根据溶剂间极性的不同和天然产物的极性不同找出全新的更有效的分离天然产物的溶剂体系是完全可能的。

3.2 溶剂体系选择:选取一个合适的溶剂体系步骤:(1)通过 TLC 或者 HPLC 预测被分离物质的极性。(2)根据极性选择合适的分离体系。(3)如果得知与被分离物质极性相似物质的分离体系,可以借鉴。

如果要同时分离多种物质可参照如下方法:(1)通过 TLC 或 HPLC 预测被分离物质的极性。(2)如果被分离物质的极性都比较大,可以选用醋酸乙酯体系。(3)如果被分离物质一部分极性大,一部分极性中等可以选用氯仿体系。(4)如果被分离物质一部分极性中等,一部分极性较小可以选用正己烷体系。(5)如果被分离物质极性都较小可以选用石油醚体系。

3.3 展望:根据萃取原理物质在两相的分配比为 $K = X_{AS}/X_{AB}$, X_{AB} 为物质 A 在 B 项的浓度, X_{AS} 为物质 A 在 S 相的浓

度。根据平衡条件, A 在 B、S 两相的化学势应相等,即 $L_{AS} = L_{AB}$, 可以得出 $X_{AB}C_{AB} = X_{AS}C_{AS}$, C 代表活度。那么 $K = X_{AS}/X_{AB} = C_{AB}/C_{AS}$ 。但是现在人们对于物质在非极性体系活度的算法有了很好的认识,物质在极性体系活度还没有确切的算法^[48]。

今后对物质在溶剂体系间分配情况越来越深入的了解下,物质在两相间的分配常数 K 应该可以不通过实验直接算出。

HSCCC 以其没有固定相吸附、分离简单快速的优点越来越广泛地应用于物质的分离提纯上。相信在不久的将来这种技术一定会成为一种主流的分离技术。

参考文献:

- [1] Yao S, Li Y, Kong L Y. Preparative isolation and purification of chemical constituents from the root of *Polygonum multiflorum* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1115: 64-71.
- [2] Peng J Y, Fan G R, Hong Z Y, et al. Preparative separation of isovitexin and isoorientin from *Patrinia villosa* Juss by high speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1074: 111-115.
- [3] Peng J Y, Fan G R, Wu Y T. Isolation and purification of clemastanin B and indigoticoside A from *Radix isatidis* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1091: 89-93.
- [4] Zhou T T, Fan G R, Hong Z Y, et al. Large-scale and purification of geniposide from the fruit of *Gardenia jasminodes Ellis* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1100: 76-80.
- [5] Zhao M B, Ito Y, Tu P F. Isolation of a novel flavanone 6-glucoside from the flowers of *Carthamus tinctorius* (Honghua) by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1090: 193-196.
- [6] Peng J Y, Jiang Y Y, Fan G R, et al. Optimization suitable conditions for preparative isolation and separation of curculigoside and curculigoside B from *Curculigo orchoides* by high-speed counter-current chromatography [J]. *Separat Purifica Technol*, 2006(52): 22-28.
- [7] Yan J Z, Tong S Q, Chu J J, et al. Preparative isolation and purification of syringin and edgeworoside C from *Edgeworthia chrysantha* Lindl by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1043: 329-332.
- [8] Ma X F, Tian W X, Wu L H, et al. Isolation of quercetin-3-O-L-rhamnoside from *Acer truncatum* Bunge by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1070: 211-214.
- [9] Wang X, Li F W, Sun Q L, et al. Application of preparative high-speed counter-current chromatography for separation and purification of arctiin from *Fructus Arctii* [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1063: 247-251.
- [10] Okaa H, Ito Y, Yamada S, et al. Separation of lac dye components by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 813: 71-77.
- [11] Du Q Z, Yuan J. Preparation of triterpene saponins from the fruit of *Momordica charantia* L. by high speed countercurrent chromatography (HSCCC) [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2005, 28(11): 1717-1724.
- [12] Sun A L, Feng L, Liu R M. Preparative isolation and purification of prim-O-glucosyl cimifugin and 4'-O-BD-glucosyl-5-O-methyl visamminol from *Radix saponnikoviae* by high speed countercurrent chromatography [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2006, 29(5): 751-759.
- [13] Liu R M, Li A F, Sun A L, et al. Preparative isolation and purification of three flavonoids from the Chinese medical plant *Epimedium koreanum* Nakai by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1064: 53-57.

- [14] Yang F Q, Ma Y, Ito Y. Separation and purification of isoflavones from a crude soybean extract by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2001, 928: 163-170.
- [15] Han X, Zhang T Y, Wei Y, et al. Separation of salidroside from *Rhodiola crenulata* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2002, 971: 237-241.
- [16] Liu R M, Li A F, Sun A L. Preparative isolation and purification of coumarins from *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth, et Hook. f (Chinese traditional medicinal herb) by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2004, 1052: 223-227.
- [17] Huang T H, Shen P N, Shen Y J. Preparative separation and purification of deoxyschisandrin and Schisandrin from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1066: 239-242.
- [18] Aman R, Carle R, Conrad J, et al. Isolation of carotenoids from plant materials and dietary supplements by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1074: 99-105.
- [19] Du Q Z, Xia M, Ito Y. Purification of icariin from the extract of *Epimedium segittatum* using high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2002, 962: 239-241.
- [20] Li H B, Chen F. Isolation and purification of baicalin, wogonin and orxylin A from the medicinal plant *Scutellaria baicalensis* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1074: 107-110.
- [21] Liu R M, Li A F, Sun A L, et al. Preparative isolation and purification of psoralen and isopsoralen from *Psoralea corylifolia* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2004, 1057: 225-228.
- [22] Wei Y, Ito Y. Preparative isolation of imperatorin, oxypeucedanin and isoperatorin from traditional Chinese herb 'bai zhi' *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth. et Hook using multidimensional high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2006, 1115: 112-117.
- [23] Wang X, Li F W, Zhang H X, et al. Preparative isolation and purification of polymethoxylated flavones from Tangerine peel using high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1090: 188-192.
- [24] Li H B, Chen F. Preparative isolation and purification of phillyrin from the medicinal plant *Forsythia suspensa* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1083: 102-105.
- [25] Wang Q E, Lee S C, Wang X R. Isolation and purification of inflacoumarin A and licochalcone A from licorice by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2004, 1048: 51-57.
- [26] Li A F, Sun A, Liu R M. Preparative isolation and purification of costunolide and dehydrocostuslactone from *Aucklandia lappa* Decen by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1076: 193-197.
- [27] Chu X, Sun A L, Liu R M. Preparative isolation and purification of five compounds from the Chinese medicinal herb *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1097: 33-39.
- [28] Liu R M, Feng L, Sun A L, et al. Preparative isolation and purification of coumarins from *Cnidium monnieri* (L.) Cusson by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2004, 1055: 71-76.
- [29] Sun Q H, Sun A L, Liu R M. Preparative isolation and purification of linderolactone and lindenol from *Radix linderiae* by HSCCC [J]. J Liq Chromatogr Relat Technol, 2006, 29 (1): 113-121.
- [30] Yao S, Liu R M, Huang X F, et al. Preparative isolation and purification of chemical constituents from the root of *Adenophora tetraphylla* by high-speed counter-current chromatography with evaporative light scattering detection [J]. J Chromatogr A, 2007, 1139: 254-262.
- [31] Yan J Z, Chen G, Tong S Q, et al. Preparative isolation of germacrone and curdione from the essential oil of the rhizomes of *Curcuma wenyujin* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1070: 207-210.
- [32] Wei Y, Zhang T Y, Xu G Q, et al. Application of analytical and preparative high-speed counter-current chromatography for separation of lycopene from crude extract of tomato paste [J]. J Chromatogr A, 2001, 929: 169-173.
- [33] Zhou Y, Chen F M, Li Z C. Preparative separation of B-sitosterol by high speed countercurrent chromatography [J]. J Liq Chromatogr Relat Technol, 2002, 25(10 & 11): 1693-1701.
- [34] Liu R M, Sun Q H, Sun A L, et al. Isolation and purification of coumarin compounds from *Cortex fraxinus* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1072: 195-199.
- [35] Gao M, Gu M, Liu C Z. Two-step purification of scutellarin from *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz. by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr B, 2006, 838: 139-143.
- [36] Maier T, Sanzenbacher S, Kammerer D, et al. Isolation of hydroxycinnamoyltartaric acids from grape pomace by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2006, 1128: 61-67.
- [37] Yang F Q, Zhang T Y, Zhang R, et al. Application of analytical and preparative high-speed counter-current chromatography for separation of alkaloids from *Coptis chinensis* Franch [J]. J Chromatogr A, 1998, 829: 137-141.
- [38] Liu Z L, Jin Y, Shen P N, et al. Separation and purification of verticine and verticinone from *Bulbus Fritillariae Thunbergii* by high-speed counter-current chromatography coupled with evaporative light scattering detection [J]. Talanta, 2007, 71: 1873-1876.
- [39] Liang Y, Huang Z F, Chen H W, et al. Preparative isolation and purification of two closely related glycosidic flavonoids from *Exocarpium Citri Grandis* by high-speed countercurrent chromatography [J]. J Liq Chromatogr Relat Technol, 2007, 30(3): 419-430.
- [40] Du Q Z, Li Z H, Ito Y. Preparative separation of isoflavon components in soybeans using high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2001, 923: 271-274.
- [41] 刘会洲. 微乳相萃取技术及应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [42] 曹学丽. 高速逆流色谱分离技术及应用 [M]. 北京: 化工出版社, 2005.
- [43] 邓修, 吴俊生. 化学分离工程 [M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [44] 陈欢林. 新型分离技术 [M]. 北京: 化工出版社, 2005.
- [45] Chao Z M, Shibusawa Y, Shindo H, et al. Countercurrent chromatographic purification of polysaccharides from *Achyranthes bidentata* with an aqueous two-phase system using a cross-axis coil planet centrifuge [J]. J Liq Chromatogr Relat Technol, 2003, 26(12): 1895-1904.
- [46] Shibusawa Y, Yamakawa Y, Noji R, et al. Three-phase solvent systems for comprehensive separation of a wide variety of compounds by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2006, 1133: 119-125.
- [47] 张季爽, 申成. 基础结构化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2006.