

## 高速逆流色谱分离纯化天然产物中生物碱类成分的应用进展

陈小芬<sup>1,2</sup>, 黄新异<sup>1</sup>, 郑媛媛<sup>1,3</sup>, 邸多隆<sup>1,2\*</sup>

1. 中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室和甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃兰州 730000
2. 中国科学院研究生院, 北京 100039
3. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000

**摘要:** 高速逆流色谱技术(HSCCC)是一种新型的液-液分配色谱技术。介绍了HSCCC在分离纯化天然产物方面的优势以及近年来该技术在分离纯化天然产物中生物碱成分的研究进展,包括高速逆流色谱技术分离纯化已知和未知天然产物生物碱类成分、筛选生物碱活性成分;对新近发展的pH-区带精制逆流色谱、正交轴逆流色谱等新型的高速逆流色谱技术在分离纯化天然产物中生物碱成分的应用状况,高速逆流色谱与其他各种分析检测技术的联用进行了综述。

**关键词:** 高速逆流色谱; 生物碱; 分离; 纯化; 天然产物

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-1026-07

## Application of high-speed counter-current chromatography in separation and purification for alkaloids in natural products

CHEN Xiao-fen<sup>1,2</sup>, HUANG Xin-yi<sup>1</sup>, ZHENG Yuan-yuan<sup>1,3</sup>, DI Duo-long<sup>1,2</sup>

1. Key Laboratory of Chemistry for Northwestern Featured Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China
2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
3. College of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

**Key words:** high-speed counter-current chromatography (HSCCC); alkaloids; separation; purification; natural products

生物碱(alkaloids)是广泛存在于自然界植物中的一类重要天然活性物质。目前,分离纯化天然产物中生物碱类成分的传统方法主要有柱色谱、大孔吸附树脂、超临界流体萃取、膜分离、高效液相制备色谱等技术。柱色谱在分离纯化方面有全面、系统的优势,但操作繁琐、周期长;大孔吸附树脂和膜分离技术都难以分离得到高纯度的产物;而超临界流体萃取仅适于分离纯化小极性或者非极性的物质;高效液相制备色谱可以得到高纯度的产物,但其成本高,难以实现工业化。与传统的分离技术相比,高速逆流色谱(high-speed counter-current chromatography, HSCCC)具有显著的优点<sup>[1-3]</sup>:不用固体载体,无样品的不可逆吸收、降解和失活;操作简便,回收率和产品纯度高;可采用不同物化特性的溶剂系统和多样性的操作条件,具有较强的

适应性;分离效率高,样品分离量大;适宜放大,便于工业化生产等。因此,HSCCC技术非常适宜于天然产物中有效成分的分离和纯化,以及活性成分的快速筛选与制备,天然产物有效成分分离纯化被认为是HSCCC技术最有前景的应用开发领域。

### 1 HSCCC技术在分离纯化天然产物生物碱成分中的研究概况

#### 1.1 HSCCC技术分离纯化天然产物中已知生物碱成分

HSCCC技术自发明以来,以其独特的分离优势,得到了不断的推广和发展,已广泛应用于天然产物中有效成分的分离纯化研究。Sutherland等<sup>[4]</sup>报道了利用HSCCC技术分离纯化天然产物有效成分的研究概况:从108种植物中分离得到了363种化合物,其中关于分离纯化生物碱类化合物的文献

收稿日期: 2010-11-16

基金项目: 中国科学院“百人计划”择优支持项目; 国家自然科学基金面上项目(20775083)

作者简介: 陈小芬(1982—),女,湖南省娄底市人,中国科学院研究生院在读博士研究生,主要从事天然产物分离分析工作。

Tel: 15193167466 E-mail: sophia\_chen@yeah.net

\*通讯作者 邸多隆 Tel: (0931)4968248 E-mail: didl@licp.cas.cn

报道有 56 篇,所分离得到的生物碱类化合物占化合物总数的 15.4%。由此可见, HSCCC 分离纯化生物碱是其在天然产物研究中的重要应用领域。有关利

用 HSCCC 技术分离和纯化天然产物中生物碱的研究报道很多,表 1 总结了近年来 HSCCC 技术在分离纯化天然产物中生物碱成分的部分研究结果。

表 1 近年来 HSCCC 分离纯化天然产物中生物碱的部分研究结果

Table 1 Separation and purification of alkaloids from natural products by HSCCC in recent years

植 物	化合物	溶剂系统	体积流量/ (mL·min <sup>-1</sup> )	转 速/ (r·min <sup>-1</sup> )	文 献
黄花乌头	关附素 T、关附素 U	醋酸乙酯-正丁醇-甲醇-2%的醋酸水 (3.5:1.5:2:4.5)	2.0	850	5
<i>Hortia oreadica</i>	吴茱萸碱、白鲜碱	己烷-乙醇-乙腈-水 (10:8:1:1)	3.0	800	6
岩黄连	岩黄连碱	氯仿-甲醇-0.3 mol/L HCl (4:0.5:2)	2.0	800	7
辣椒	辣椒碱、二氢辣椒碱	正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水-乙酸 (20:20:20:20:2)	2.0	850	8
	二氢辣椒碱、辣椒碱、降二氢辣椒	四氯甲烷-甲醇-水 (4:3:2)	2.0	800	9
新疆一枝蒿	岩蒿碱	醋酸乙酯-甲醇-水 (8:1:7)	2.0	800	10
蓖麻	蓖麻碱	二氯甲烷-乙醇-水 (93:35:72)	3.0	850	11
浙贝母	贝母碱、去氢贝母碱	氯仿-乙醇-0.2 mol/L HCl (3:2:2)	1.2	80	12
翠雀花草	甲基牛扁亭碱	正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水 (1:1:1:2)	2.0	800	13
夏天无	原阿片碱、四氢巴马汀硫酸盐、苏玄明碱	甲基叔丁基醚-乙腈-水 (2:2:3)	2.0	800	14
美洲商陆果实	17 种甜菜红碱	正丁醇-乙腈-水 (5:1:6) 加入 0.7% 三氟乙酸作为离子对试剂	3.0	850	15
雷公藤	peritassines A、雷公藤晋碱、雷公藤次碱	正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水 (4:5:4:5)	25	1 400	16
延胡索	<i>dl</i> -四氢巴马亭	石油醚-醋酸乙酯-甲醇-水 (15:30:21:20)	1.2	850	17
粉防己	防己诺林碱、粉防己碱	石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水 (5:5:1:9)	1.5	800	18

Yang 等<sup>[19]</sup>采用分析型 HSCCC,以氯仿-甲醇-0.3 mol/L HCl 溶液 (4:1.5:2) 为溶剂体系,得到质量分数均达到 99% 的高乌甲素 (lappaconitine)、毛茛花乌头碱 (ranaconitine)、*N*-去乙酰基高乌甲素 (*N*-deacetylappaconitine) 和 *N*-去乙酰基毛茛花乌头碱 (*N*-deacetylranaconitine)。进而采用制备型 HSCCC,以上相为固定相,下相为流动相,从 300 mg 高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的总生物碱粗提物中分离出 4 种生物碱,质量分数均达到 98.5%。该研究表明,在利用制备型 HSCCC 制备有效成分时,应先利用分析型 HSCCC 进行色谱条件的优化,为制备型 HSCCC 分离纯化提供了一种快速、有效、消耗溶剂少的溶剂体系筛选方法。Liu 等<sup>[20]</sup>采用 HSCCC 分离纯化吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth 中生物碱时,在进行溶剂系统的筛选过程中,选择醋酸乙酯-水为初始溶剂系统,但目标化合物基本上分布在上相溶液中;通过

在上述初始溶剂系统中加入甲醇调节溶剂疏水性,此时,虽然分配效果得到一定的改善,但溶剂分层效果不理想;在此基础上,再加入一定比例的正己烷调节溶剂系统直至达到合适的 *K* 值。最后,以正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水 (5:5:7:5) 为溶剂体系,从 180 mg 粗提物中经一步分离纯化得到吴茱萸碱 (evodiamine) 28 mg、吴茱萸次碱 (rutaecarpine) 19 mg、吴茱萸新碱 (evocarpine) 21 mg、1-甲基-2-[(6*Z*, 9*Z*)]-6, 9-十五碳二烯基-4-(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-[(6*Z*, 9*Z*)]-6, 9-pentadecadienyl-4-(1*H*)-quinolone) 16 mg、1-甲基-2-十二烷基-4-(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-dodecyl-4-(1*H*)-quinolone) 12 mg, 回收率分别达到 93.9%、83.6%、85.1%、95.5% 和 96.2%, 质量分数均大于 96%。此研究为 HSCCC 溶剂系统的筛选提供了方法参考。同时,也表明 HSCCC 在分离纯化时虽然具有纯度高、回收率高、制备量大的优点,但受仪器设备的限制,仍然无法像目前的 HPLC 实

现在线溶剂系统的任意调节, 加大了溶剂系统筛选的工作量。Ouyang 等<sup>[21]</sup>首次利用 HSCCC, 以石油醚-醋酸乙酯-乙醇-水 (6:4:5:8) 为溶剂系统, 从雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 总生物碱粗提物中分离得到 4 种生物碱: 雷公藤春碱 (wilfortrine)、雷公藤碱 (wilfordine)、雷公藤晋碱 (wilforgine)、雷公藤次碱 (wilforine), 质量分数分别达到 90.3%、92%、99.5%、93.5%。其研究工作针对目前 HPLC 色谱柱在分离纯化生物碱所面临的困难, 展示了 HSCCC 的巨大优势。Liu 等<sup>[22]</sup>利用 HSCCC, 以醋酸乙酯-正己烷-水 (3:1:4) 为溶剂体系, 在上相中加入 0.01% 三氟乙酸作为固定相, 在下相中分别在不同的时间区间加入 2% 氨水、0.2% 氨水和 0.05% 三氟乙酸, 通过调节流动相的 pH, 从三尖杉碱型生物碱粗提物中分离得到 6 种生物碱: 桥氧三尖杉碱 (drupacine)、维粗榧碱 (wilsonine)、三尖杉碱 (cephalotaxine)、表维粗榧碱 (epi-wilsonine)、丽江三尖杉碱 (fortunine)、乙酰三尖杉碱 (acetylcephalotaxine)。经 HPLC 检测, 质量分数分别为 81.2%、85.7%、95.3%、97.5%、89.1%、96.2%, 回收率均达到 90% 以上。此法加入氨水和三氟乙酸的目的是调节流动相的 pH 值, 流动相在不同的时间区间不同的 pH 值下, 不同的物质被洗脱出来从而达到更好的分离, 说明在 HSCCC 分离过程中, 也可以像 HPLC 操作一样, 采取如不同 pH、体积流量、温度等梯度洗脱的方式实现成分的有效分离。因此, 随着 HSCCC 设备研制的不断发展, 会使 HSCCC 的分离模式和手段更加多样化, 极大地推进该技术的应用。Ling 等<sup>[23]</sup>利用 HSCCC, 以氯仿-甲醇-0.02 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液 (27.5:20:12.5) 为溶剂体系, 通过一步分离从苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的 CO<sub>2</sub> 超临界萃取的粗提取物中分离得到 3 种喹诺里西定类生物碱, 分别是苦参碱 (matrine)、氧化槐果碱 (oxysophocarpine)、氧化苦参碱 (xymatrine), 质量分数分别达到 95.6%、95.8%、99.6%。此研究采用在溶剂体系中加入 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 的方法调节溶质的疏水性, 使溶质在有机相中浓度增大, 得到合适的 K 值。由于 HPLC 色谱柱对强酸、强碱、高浓度无机盐的流动相敏感, 以及正相柱和反相柱对流动相中有机、无机溶剂使用范围的局限, 使得 HSCCC 溶剂系统的选择显得更加多样化, 如加入无机盐等, 其耐强酸、强碱的程度远远高于 HPLC。目前关于离子液体溶剂体系应用于 HSCCC

分离分析天然产物的报道并不多。Berthod 等<sup>[24]</sup>发现在水-乙腈 (40:20) 体系中加入离子液 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐, 形成的两相溶液体系进行逆流色谱比较理想, 并考察了应用此溶剂体系分离一系列化合物时的分配情况, 包括芳香族类、酸和碱以及中性物质。苏静等<sup>[25]</sup>采用循环 HSCCC 法从红豆杉枝叶提取物中分离得到了紫杉醇和三尖杉宁碱, 较常规的 HSCCC 分离方法, 在样品回收率和纯度上有了进一步的提高。

### 1.2 HSCCC 从天然产物中发现新生物碱类化合物

目前, 采用 HSCCC 分离得到生物碱类新化合物的报道并不多。Bringmann 等<sup>[26-27]</sup>应用 HSCCC 从 *Ancistrocladus robertsoniorum* J. Léonard (Kenya) 中分离得到 5 个新的生物碱 (图 1): ancistrobertsonine A ~ D 和 1, 2-didehydroancistrobertsonine D。Tang 等<sup>[28]</sup>将 HSCCC 与 ELSD 联用, 以醋酸乙酯-正丁醇-甲醇-2% 醋酸 (3.5:1.5:2:4.5) 为溶剂体系, 从黄花岗头 *A. coreanum* (Lévl.) Rap. 的粗提取物中分离得到 2 个新的同分异构体二萜类生物碱 (图 2): 13-dehydro-1 $\beta$ , 2 $\alpha$ , 6 $\beta$ -trihydroxyhetisine 和 13-dehydro-2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 6 $\beta$ -trihydroxyhetisine, 质量分数均大于 95%, 分别命名为关附素 T (guanfu base T, GFT) 和关附素 U (guanfu base U, GFU)。尽管有文献报道<sup>[29]</sup>采用以醋酸乙酯-正丁醇-甲醇-0.2 mol/L 盐酸 (3.5:1:1:3.5) 为溶剂系统, 对黄花岗头中其他生物碱可以达到较好的分离效果, 但却无法将 GFT 和 GFU 进行分离。而用 2% 醋酸代替盐酸成功地实现了此 2 种同分异构体的分离, 但其反应机制有待进一步研究。此实验说明在选用合适的溶剂体系的前提下, HSCCC 可以有效地对同分异构体进行分离, 且在分离得到新化合物方面有潜在的优势。

### 1.3 HSCCC 从天然产物中筛选生物碱活性成分

在活性实验指导下, 结合 HSCCC 的优势, 从天然产物中追踪、筛选活性成分或有效部位, 对于发展一种新的高通量筛选方法, HSCCC 具有极好的应用前景。如本实验室采用 HSCCC-HPLC-DPPH 联用技术, 实现了对橄榄叶中活性物质的筛选和分离<sup>[30]</sup>。然而, 目前采用 HSCCC 对生物碱类活性成分的筛选的研究报道并不多。Severino 等<sup>[31]</sup>用己烷-乙醇-乙腈-水 (10:8:1:1) 作为溶剂体系, 从 *Hortia oreadica* 叶子的二氯甲烷萃取物中分离得到 3 类化合物, 其中包括吴茱萸次碱和白鲜碱 (dictamine)。

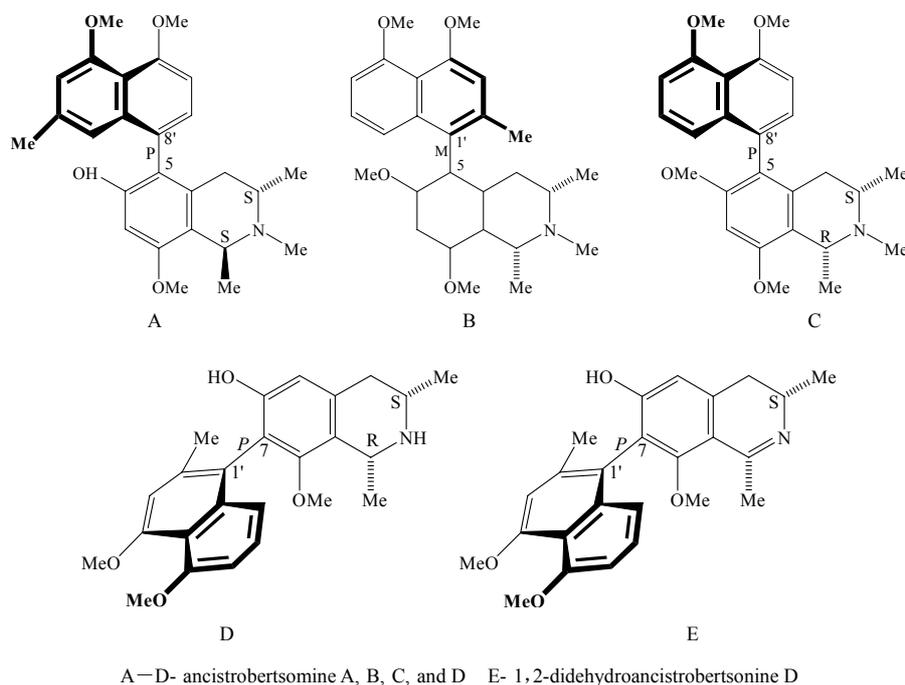


图1 HSCCC 法从 *A. robertsoniorum* 中分离得到的 5 个新的生物碱

Fig. 1 Five new alkaloid isomers separated from *A. robertsoniorum* by HSCCC

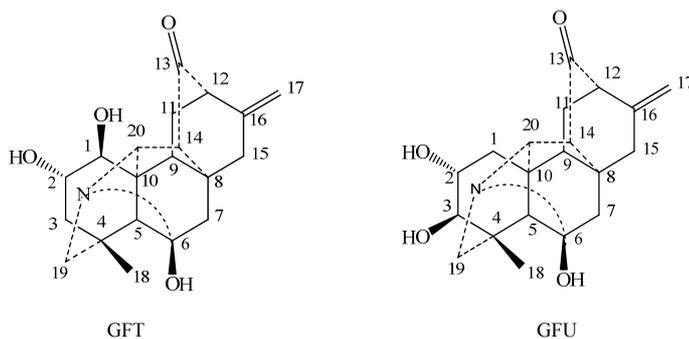


图2 HSCCC 法从黄花乌头中分离得到的两个新的二萜类生物碱

Fig. 2 Two new diterpenoid alkaloid isomers separated from roots of *A. coreanum* by HSCCC

将 HSCCC 分离得到的产物进行药理实验, 表明吴茱萸次碱对葡萄皮尔斯病具有抑制作用。然而, 真正意义上的在活性实验指导下, 利用 HSCCC 从天然产物中追踪、筛选活性生物碱的研究尚处于探索中。

## 2 新型 HSCCC 技术及其联用技术分离纯化天然产物中生物碱

1994 年, HSCCC 的创始人 Ito 在普通制备型 HSCCC 基础上发展了 pH-区带精制逆流色谱, 大大扩展了高速逆流色谱技术的应用范围。此方法为在 HSCCC 的固定相和流动相中加入保留酸(碱)和洗脱碱(酸), 以有机酸在固定相和流动相的浓度比来标度分配系数(保留酸的分配系数), 溶质(分离物或分析物)的分配系数值的差异决定了出峰时间

的不同, 从而实现分离。pH-区带精制逆流色谱适合分离可离子化的溶质, 可以利用不同结构的生物碱具有不同碱性的特点对生物碱类进行分离纯化; 也可使用 pH-区带精制逆流色谱将几种结构类似但离子化不同的生物碱成功加以分离。Wang 等<sup>[14]</sup>应用 pH-区带精制逆流色谱技术, 采用甲基叔丁基醚-乙腈-水(2:2:3)体系, 以 TEA 为保留碱, HCl 为洗脱酸, 从伏生紫堇粗提物中得到原鸦片碱、四氢巴马汀和荷包牡丹碱, 质量分数均达到 93% 以上。尽管粗提物中目标化合物的量不高, 但由于 pH-区带精制逆流色谱允许更大的进样量, 因此分离出的样品具有质量分数和分离效率更高等优点。

HSCCC 与各种检测技术的在线或离线的联用均获得了成功, 如 HSCCC-MS 在线联用技术克服

了离线检测转移可能带来样品污染等缺陷,将逆流色谱分离的多样性与质谱的高灵敏度检测结合在一起,已广泛地应用于天然产物、药物、蛋白质及其他生物物质的分离分析。Gutzeit 等<sup>[32]</sup>采用制备高速逆流色谱-电喷雾质谱(HSCCC/ESI-MS-MS)联用技术,当流动相从 HSCCC 中流出时,在样品收集和检测器之间连接一个 T 型分流装置,根据不同进样量设置不同分流比,以正己烷-正丁醇-水(1:1:2)为溶剂体系,从茶中分离得到茶多酚。结果表明,HSCCC/ESI-MS-MS 联用技术可以作为一种通用的分离纯化在线检测技术,在线提供所分离组分的质谱信息。目前,应用 HSCCC-MS 分离制备生物碱成分还未见报道。在应用 HSCCC 分离天然产物过程中,一般采用紫外检测器(UV)作为数据采集信号装置,这使得紫外吸收较弱或无吸收的化学组分的检测受到制约。蒸发光散射检测器(ELSD)作为一种通用型检测器,可检测挥发性低于流动相的任何样品,而不需要样品含有发色基团,因而,蒸发光散射检测器在 HSCCC 中应用越来越广泛。Tang 等<sup>[33]</sup>采用 HSCCC-ELSD,以正己烷-醋酸乙酯-甲醇-0.2 mol/L HCl(1:3.5:2:4.5)为溶剂体系,从黄花乌头中分离得到了 6 种生物碱。HSCCC 与检测技术的在线联用与离线联用相比,具有明显的优势,因此,实现 HSCCC 与检测技术的在线联用有着广阔的发展空间。

### 3 展望

正交轴逆流色谱(cross-axis coil planet centrifuge, cross-axis CPC)和双向逆流色谱(dual counter-current chromatography, duCCC)是在传统 HSCCC 的基础上发展起来的新型逆流色谱技术,已应用于水溶性生物大分子等方面的分离制备<sup>[34-35]</sup>。虽然目前还未有利用该技术分离纯化天然产物中生物碱的研究报道,但其在分离复杂样品和大极性化合物方面显示出潜在的技术优势,相信其在复杂的天然产物尤其是大极性生物碱的大规模制备方面将有广阔的发展前景。高效逆流色谱(high-performance counter-current chromatography, HPCCC)的出现,大大提高了 HSCCC 分离技术的样品容量和分辨率,并显著缩短了分离时间,进一步为大规模分离纯化天然产物提供了高效快速的方法<sup>[36]</sup>。同时,HSCCC 与各种检测方法的联用,如二维/多维 CCC 联用装置的产生,简化了目标组分多次逆流分离的色谱过程,实现了目标物在线同步分离,减少了分

离时间,更加拓宽了 HSCCC 的应用范围,发挥出 HSCCC 高速、高效的优点。

HSCCC 在分离天然产物中生物碱类活性成分方面得到了广泛的应用,具有独特的优势,有着广阔的应用前景。但是逆流色谱的应用还是受到一些因素的制约,如到目前为止,进行 HSCCC 操作时,溶剂体系的选择通常是经验性的,缺乏系统、完善的理论指导;HSCCC 理论基础的研究也相对薄弱,大多是进行应用性的研究,因此从理论上更深一步进行分离机制的研究很有必要。虽然 HSCCC 较其他分离制备方法有较大的规模,然而进行工业生产的放大时,在仪器上尚需解决许多关键问题。但有越来越多的研究者投入到 HSCCC 研究中,相信将来 HSCCC 技术将得到更广泛的应用,理论体系也将不断地完善。

### 参考文献

- [1] Wan J Z, Chen X X, Qiu C M, *et al.* Isolation and purification of isoaloesin D and *Aloe vera* by high-speed counter-current chromatography [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(2):148-152.
- [2] 韩利文, 陈锡强, 袁彦强, 等. 高速逆流色谱在中药现代化研究中的应用 [J]. *现代药物与临床*, 2010, 25(4): 241-246.
- [3] 张荣劲, 杨义芳. 高速逆流色谱分离天然产物的溶剂体系选择 [J]. *中草药*, 2008, 39(2): 298-303.
- [4] Sutherland I A, Fisher D. Role of counter-current chromatography in the modernisation of Chinese herbal medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(4): 740-753.
- [5] Tang Q F, Liu J H, Xue J, *et al.* Preparative isolation and purification of two new isomeric diterpenoid alkaloids from *Aconitum coreanum* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 872(1-2): 181-185.
- [6] Severino V G P, de Melo Casal C, Forim M R, *et al.* Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(19): 4275-4281.
- [7] Deng J C, Xiao X H, Li G K, *et al.* Application of microwave-assisted extraction coupled with high-speed counter-current chromatography for separation and purification of dehydrocavidine from *Corydalis saxicola* Bunting [J]. *Phytochem Anal*, 2009, 20(6): 498-502.
- [8] Peng A H, Ye H Y, Li X, *et al.* Preparative separation of capsaicin and dihydrocapsaicin from *Capsicum frutescens* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Sep*

- Sci*, 2009, 32(17): 2967-2973.
- [9] Li F W, Lin Y L, Wang X, *et al.* Preparative isolation and purification of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* using high-speed counter-current chromatography [J]. *Sep Purif Technol*, 2009, 64(3): 304-308.
- [10] Su Z, Wu H K, Yang Y, *et al.* Preparative isolation of guaipyridine sesquiterpene alkaloid from *Artemisia rupestris* L. flowers using high-speed counter-current chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2008, 31(12): 2161-2166.
- [11] de Melo Cazal C, Batalhão J R, de Cássia Domingues V, *et al.* High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis* [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(19): 4290-4294.
- [12] 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(5): 1873-1876.
- [13] Gu D Y, Yang Y, Zhong J, *et al.* High-speed counter-current chromatography combined with column chromatography for isolation of methyllycaconitine from *Delphinium pseudocyanthum* [J]. *Chromatographia*, 2007, 66: 11-12.
- [14] Wang X, Geng Y L, Li F W, *et al.* Large-scale separation of alkaloids from *Corydalis decumbens* by pH-zone-refining counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1115(1-2): 267-270.
- [15] Jerz G, Skotzki T, Fiege K, *et al.* Separation of betalains from berries of *Phytolacca americana* by ion-pair high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1190(1-2): 63-73.
- [16] Ye H Y, Ignatova S, Luo H D, *et al.* Preparative separation of a terpenoid and alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. using high-performance counter-current chromatography: Comparison of various elution and operating strategies [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1213: 145-153.
- [17] Liu Z L, Yu Y, Shen P N, *et al.* Separation and purification of dl-tetrahydropalmatine from *Corydalis yanhusuo* by high-speed counter-current chromatography [J]. *Sep Purif Technol*, 2008, 58(3): 343-346.
- [18] Zhang L J, Wang X, Liu J H, *et al.* Use of pH-zone refining countercurrent chromatography for preparative separation of fangchinoline and tetrandrine from *Stephania tetrandra* [J]. *Chromatographia*, 2009, 69: 959-962.
- [19] Yang F Q, Ito Y J. Preparative separation of lappaconitine, ranaconitine, *N*-deacyllappaconitine and *N*-deacylranaconitine from crude alkaloids of sample *Aconitum sinomontanum* Nakai by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 943(2): 219-225.
- [20] Liu R M, Chu X, Sun A L, *et al.* Preparative isolation and purification of alkaloids from the Chinese medicinal herb *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1074(1-2): 139-144.
- [21] Ouyang X K, Jin M C, He C H, *et al.* Preparative separation of four major alkaloids from medicinal plant of *Tripterygium Wilfordii* Hook. f. using high-speed counter-current chromatography [J]. *Sep Purif Technol*, 2007, 56(3): 319-324.
- [22] Liu Z H, Du Q Z, Wang K W, *et al.* Completed preparative separation of alkaloids from *Cephalotaxus fortunei* by step-pH-gradient high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(22): 4663-4667.
- [23] Ling J Y, Zhang G Y, Cui Z J, *et al.* Supercritical fluid extraction of quinolizidine alkaloids from *Sophora flavescens* Ait. and purification by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1145(1-2): 123-127.
- [24] Berthod A. Use of the ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate in counter-current chromatography [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 380: 168-177.
- [25] 苏静, 谈锋, 谢峻, 等. 循环高速逆流色谱从曼地亚红豆杉枝叶提取物中分离紫杉醇和三尖杉宁碱 [J]. *中草药*, 2009, 40(10): 1569-1572.
- [26] Bringmann G, Teltschik F, Schaffer M, *et al.* Ancistrobertsonine A and related naphthylisoquinoline alkaloids from *Ancistrocladus robertsoniorum* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(1): 31-35.
- [27] Bringmann G, Teltschik F, Schaffer M, *et al.* Ancistrobertsonines B, C, and D as well as 1, 2-didehydroancistrobertsonine D from *Ancistrocladus robertsoniorum* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(2): 321-332.
- [28] Tang Q F, Liu J H, Xue J, *et al.* Preparative isolation and purification of two new isomeric diterpenoid alkaloids from *Aconitum coreanum* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 872(1-2): 181-185.
- [29] Tang Q F, Yang C H, Ye W C, *et al.* Preparative isolation and purification of chemical components from *Aconitum coreanum* by high-speed counter-current chromatography

- coupled with evaporative light scattering detection [J]. *Phytochem Anal*, 2008, 19(2): 155-159.
- [30] Wang X F, Li C, Liu Y W, *et al.* Efficient method for screening and identification of radical scavengers in the leaves of *Olea europaea* L. [J]. *Biomed Chromatogr* 2010, doi: 10.1002/bmc. 1458.
- [31] Severino V G P, de Melo C C, Forim M R, *et al.* Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216 (19): 4275-4281.
- [32] Gutzeit D, Winterhalter P, Jerz G. Application of preparative high-speed counter-current chromatography/electrospray ionization mass spectrometry for a fast screening and fractionation of polyphenols [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1172(1): 40-46.
- [33] Tang Q F, Yang C H, Ye W C, *et al.* Preparative isolation and purification of bioactive constituents from *Aconitum coreanum* by high-speed counter-current chromatography coupled with evaporative light scattering detection [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1144(2): 203-207.
- [34] Shinomya K, Yanagidaira K, Ito Y. New small-scale cross-axis coil planet centrifuge: The design of the apparatus and its application to counter-current chromatographic separation of proteins with aqueous - aqueous polymer phase systems [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1104: 245-255.
- [35] Ito Y, Goto T, Yamada S, *et al.* Application of dual counter-current chromatography for rapid sample preparation of *N*-methylcarbamate pesticides in vegetable oil and citrus fruit [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1108(1): 20-25.
- [36] Guzlek H, Wood P L, Lee J. Performance comparison using the GUESS mixture to evaluate counter-current chromatography instruments [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(19): 4181-4186.

### 《药物评价研究》征稿与征订启事

《药物评价研究》(原《中文科技资料目录·中草药》)杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级药学科技学术性期刊,双月刊,国内外公开发刊。桑国卫院士为名誉主编,刘昌孝院士任编委会主任委员,汤立达研究员为主编。

办刊宗旨:报道药物评价工作实践,推动药物评价方法研究,开展药物评价标准或技术探讨,促进药物评价与研究水平的提高,为广大药物研究人员提供交流平台。

内容与栏目:针对药物及其制剂的评价规范以及药学评价、安全性评价、药效学评价、药物代谢动力学评价、临床评价、上市药物评价等评价研究的内容,设置论坛、综述、方法学研究、试验研究(论著)、审评规范、国外信息、专题7个栏目。

读者对象:药品管理、新药研发、药物临床应用、药学教育等相关的高等院校、科研院所、CRO组织、生产企业、药品管理与审评机构的研究人员、管理人员、临床医生和研究生等。

本刊的创办填补了药物评价领域期刊的空白,将为我国广大药物研究人员提供一个交流的平台,通过交流药物评价工作的实践经验,发展和完善评价的方法学,探讨评价相关的国际标准或指南,提高我国的总体评价研究水平。

欢迎广大作者积极投稿,广大读者踊跃订阅!本刊自办发行,订阅请直接与编辑部联系!本刊热忱与中外制药企业合作,宣传推广、刊登广告(包括处方药品广告)。

本刊已正式开通网上在线投稿、审稿、查询系统,欢迎广大读者、作者、编委使用!

#### 《药物评价研究》编辑部

地址:天津市南开区鞍山西道308号(300193)

电话/传真:022-23006822

E-mail: der@tiprpress.com

账号:441140100100081504

网址:www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com(在线投稿系统)

开户银行:兴业银行天津南开支行

户名:天津中草药杂志社