

吴秋霞,孙卫红,王 晓. 高速逆流色谱技术分离决明子中蒽醌类化合物[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):381-385.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.112

高速逆流色谱技术分离决明子中蒽醌类化合物

吴秋霞^{1,2}, 孙卫红¹, 王 晓²

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013; 2. 山东省科学院/山东省分析测试中心, 山东济南 250014)

摘要:采用高速逆流色谱(HSCCC)技术分离制备决明子粗提物中的蒽醌类化合物。首先用石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比3:2:3:2)的溶剂体系,进一步分离,从决明子粗提物中得到5种化合物I、Ⅲ、V、Ⅵ、Ⅶ和混合组分A(含有化合物Ⅱ和Ⅳ)。将组分A用石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比3:7:5:5)的溶剂体系进行进一步分离,得到2种化合物Ⅱ和Ⅳ。经HPLC检测,化合物I~Ⅶ的纯度分别为99.7%、96.4%、91.0%、95.3%、98.7%、97.9%、95.8%。根据ESI-MS和¹HNMR所提供的数据,化合物I~Ⅶ分别鉴定为橙黄决明素、alaternin、1-甲氧基-2-羟基大黄素、黄决明素、1-O-甲基大黄素、决明素、大黄素。表明高速逆流色谱分离技术是一种快速有效的分离蒽醌类化合物的方法。

关键词:高速逆流色谱;决明子;蒽醌类化合物

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0381-04

决明子是豆科植物决明(*Cassia obtusifolia* L.)或小决明(*Cassia tora* L.)的干燥成熟种子^[1],具有清肝明目、润肠通便、调压降脂、增强免疫力、抗氧化和抗衰老等作用^[2-4],是一种药食同源的中草药植物。研究表明,决明子中的主要有效成分是蒽醌及其苷类,例如橙黄决明素、黄决明素、决明素、决明子素和大黄素等。橙黄决明素是决明子中的一个重要蒽醌成分,对低密度脂蛋白受体基因转录水平有增强作用,能显著降低高脂血症大鼠的胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇^[5],也是决明子中控制患者血脂水平的主要有效成分^[6];决明子中的另一个蒽醌成分大黄素,具有保护肝细胞和胆管细胞、抗癌、消炎、抗血管生成和抑制蛋白质糖化及醛糖合成酶的作用^[7-9]。基于以上药理作用,建立一种快速有效分离纯化决明子中蒽醌类化合物的方法非常必要,对进一步研究阐明决明子的药理作用非常有意义。

传统的决明子中蒽醌类化合物的主要分离方法是柱色谱法^[10-12]。柱色谱法的固定相一般是固态物质,会对被分离样品中的成分产生不可逆吸附作用。而HSCCC是一种液-液分配色谱技术,其固定相是液体,不存在不可逆吸附现象。并且HSCCC相较于柱色谱法还具有进样量大、成本小、操作简单、回收率高等优点。Yang等用6次HSCCC分离从决明子乙酸乙酯部位中分离到9种化合物^[13],分离次数多,操作繁琐。本研究对决明子中乙酸乙酯部位进行了碱液萃取的操作,除去更多的杂质,然后再应用HSCCC技术分离决明子中的蒽醌类物质,利用2次HSCCC方法得到了7种化合物,7种化合物结构式见图1,实现了快速分离。

收稿日期:2015-05-04

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:SBE2014030578);江苏省博士后基金(编号:1102132C);江苏高校优势学科建设工程。

作者简介:吴秋霞(1987—),女,河南许昌人,硕士,研究方向为食品科学。E-mail:wqxia19890820@163.com。

通信作者:孙卫红,副教授,从事植物学及其抗氧化功能和营养品质研究。E-mail:weihongsun2009@163.com。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

决明子,购自济南市中鲁医院;用于制备决明子粗提物用的乙醇为工业乙醇,萃取和逆流色谱分离用的试剂如石油醚、乙酸乙酯、氢氧化钠、甲醇等均为分析纯;高效液相色谱用甲醇为色谱纯,美国天地公司生产;水为娃哈哈纯净水。

1.2 主要仪器与设备

TBP300A型高速逆流色谱仪,包括多层聚四氟乙烯螺旋管(直径2.3 mm,分离体积300 mL,β值为0.5~0.8),上海同田生物技术有限公司生产;TBP5002泵、8823B-紫外检测器,北京宾达英创科技有限公司生产;3057-11记录仪,重庆川仪总厂有限公司生产;Waters 600-996高效液相色谱系统,配有光电二极管阵列检测器(PDA),美国Waters公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 决明子原材料的鉴定 取决明子粉末1 g,加甲醇10 mL,浸渍1 h,过滤;滤液蒸干,残渣加水10 mL使溶解,再加盐酸1 mL,置水浴锅上加热30 min,立即冷却,用乙醚提取2次,每次20 mL;合并乙醚液,蒸干,加三氯甲烷2 mL溶解残渣,得到供试品溶液。取大黄素、大黄酚对照品,分别加甲醇制成每1 mL各含0.25、1.00 mg的溶液,作为对照品溶液。展开剂为石油醚(30~60℃)-乙酸乙酯-甲酸(体积比15:5:1)的上层溶液,点板展开,结果见图2。决明子样品中与对照品有相同的R_f,结合决明子的性状等特征,鉴定该决明子药材是决明子(*Cassia obtusifolia* L.)。

1.3.2 决明子粗提物的制备 取决明子药材0.7 kg,粉碎,置于5 000 mL圆底烧瓶中,加入10倍量95%的乙醇,加热回流提取3次,每次2 h。抽滤后合并滤液,减压浓缩,得稠浸膏,用水复溶。用等量的石油醚萃取3次,弃去石油醚相。再用等量乙酸乙酯萃取3次,合并萃取液,减压浓缩至800 mL,将浓缩液用5%的NaOH溶液萃取3次,萃取液用盐酸调节pH值为2~3。再用乙酸乙酯萃取酸水液3次,将萃取液减压

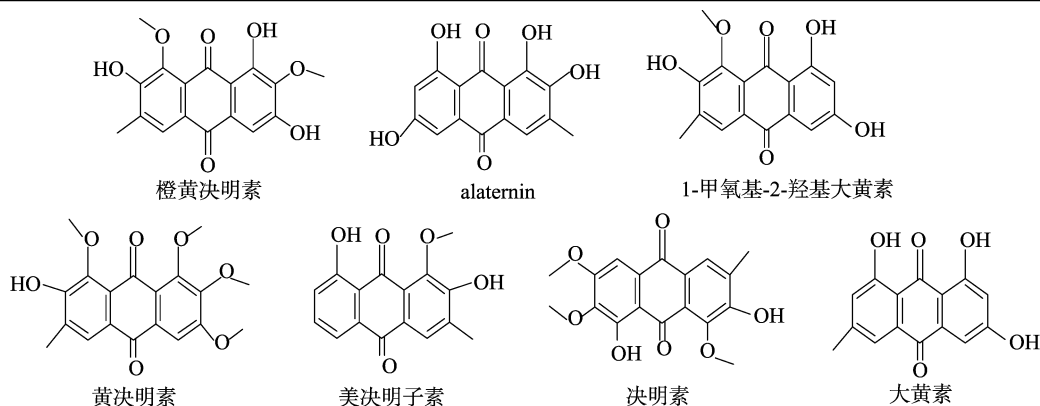
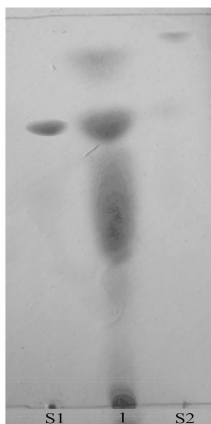


图1 决明子粗提取物中分离得到的7种化合物的化学结构式



S1—大黄素; S2—大黄酚; 1—决明子药材

图2 决明子药材的薄层(5%氢氧化钠甲醇溶液显色后)

浓缩至浸膏状,得到 17.3 g 决明子粗提取物,置于 4 ℃ 冰箱内用于进一步分离。

1.3.3 两相溶剂体系及样品溶液的制备 HSCCC 所用的溶剂体系为石油醚—乙酸乙酯—甲醇—水(体积比 3:2:3:2 和 3:7:5:5),按比例分别置于 2 L 分液漏斗中,剧烈振荡使充分混合,于室温下静置分层。使用前分出上下相,超声脱气 10 min。

HSCCC 样品溶液的制备:取决明子粗提取物 200 mg,加入体系为石油醚—乙酸乙酯—甲醇—水(体积比 3:2:3:2 的上下相各 5 mL,超声使其完全溶解即得。取含有成分 II 和 IV 的混合组分 A 20 mg,加入体系为石油醚—乙酸乙酯—甲醇—水(体积比 3:7:5:5)的上下相各 5 mL,超声将其全部溶解即得。

1.3.4 分配系数 K_D 的测定 溶剂系统的选择是根据目标化合物的分配系数(K_D)确定的,当两相溶剂体系达到平衡后,将适量的粗样溶解在 1 mL 下相中。经 HPLC 测定目标化合物在下相中的峰面积,记录为 A_1 。然后加等量的上相,完全混合均匀,平衡后经 HPLC 再次测定目标化合物在下相中的峰面积,记录为 A_2 。分配系数(K_D)由下列公式确定: $K_D = (A_1 - A_2)/A_2$ 。

1.3.5 HSCCC 的分离过程 将已超声脱气的上相(固定相)以 20 mL/min 的流速泵入螺旋管中直至有上相流出,以保证固定相充满分离螺旋管,打开主机,使色谱仪螺旋管柱按顺时针方向旋转,当转速达到 850 r/min 并稳定后,以 2.0 mL/min

的流速将下相(流动相)泵入分离螺旋管中,待流出的上相体积恒定(即下相流出时)平衡完毕,进样,打开紫外检测仪和记录仪。检测波长为 280 nm。

1.3.6 HPLC 分析 HPLC 分析条件:色谱柱:Intersil ODS-SP (4.6 mm×250 mm, 5 μm)。流动相:A:乙腈,B:水。梯度洗脱:0~15 min, A:40%~70%, 15~25 min, A:70%, 25~30 min, A:70%~100%, 30~40 min, 100%;流速:1 mL/min。检测波长:285 nm;柱温:25 ℃;进样量:10 μL。

2 结果与分析

2.1 溶剂体系的选择

溶剂体系的选择是 HSCCC 分离的难点,也是最关键的部分。HSCCC 分离的溶剂体系必须在充分混匀后快速的分层(不超过 30 s);有较高的样品溶解量和固定相保留量;而成功的 HSCCC 溶剂体系还要求各目标化合物在溶剂体系中有合适的分配系数。所以溶剂体系的选择可通过分配系数 K_D 值的测定来确定。一般来说, K_D 值的最适范围是 0.5~2.0。若 $K_D \leq 0.5$,说明目标化合物的保留值偏低,出峰太快,各组峰之间的分离度较差。若 $K_D \geq 2.0$,说明目标化合物的保留值较高,虽然能够实现分离,但出峰时间较长,且峰形较宽。若 $0.5 < K_D < 2.0$,且 $K_{D1}/K_{D2} > 1.5$ ($K_{D1} > K_{D2}$),通常可以在合适的时间内出峰,而且能得到分离度较高的峰形。Shu 等认为对于极性大的物质 K_D 在 1~4 范围内也能实现很好的分离^[14]。在本试验中,根据目标成分的特性(主要是溶解性和极性大小)、查阅文献和试验经验,选择 HSCCC 溶剂体系时优先考虑石油醚—乙酸乙酯—甲醇—水(HEMWat)溶剂体系。不同体积比的溶剂体系中目标化合物的分配系数 K_D 值见表 1。在体积比为 3:2:3:2 和 1:1:1:1 溶剂体系中,目标化合物的 K_D 值较合适,比较这 2 个体系发现,这 2 种体系中化合物 II 和 IV 的 K_D 值很接近,即这 2 种体系都不能将这 2 种化合物分开,而体系 3:7:5:5 中这 2 个化合物的 K_D 值之比大于 1.5,可将这 2 种物质分开,体系 1:1:1:1 中化合物 VII 的 K_D 值大于 4,出峰太慢,耗时长,故选择体系 3:2:3:2 和 1:1:1:1 相结合的分离方法。

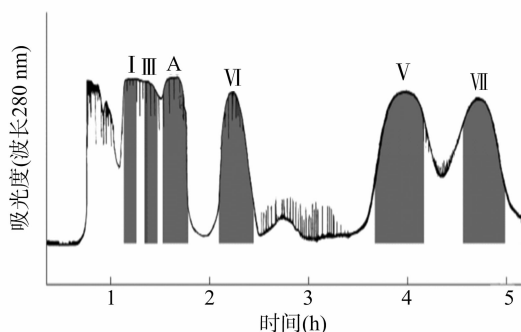
2.2 HSCCC 分离决明子粗提取物

用选定的溶剂体系石油醚—乙酸乙酯—甲醇—水(体积比 3:2:3:2),按照“1.3.4”节所述的方法对大黄蒽醌提取物进行分离纯化。称取 0.2 g 提取物,按照“1.3.2”节中所述

的样品溶液制备方法对样品进行处理。根据“1.3.4”节所述的方法进行分离,结果得到化合物 I 26 mg、化合物 III 11 mg、混合组分 A 20 mg(主要含化合物 II 和 IV)、化合物 V 23 mg、化合物 VI 19 mg、化合物 VII 9 mg。决明子粗提物 HSCCC 分离见图 3。图中每个阴影与所标出的成分相对应,而馏分 A 中主要含有化合物 II 和 IV,有待进一步进行 HSCCC 分离。用选定的溶剂体系石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比 3:7:5:5),按照“1.3.4”节所述的方法对混合组分 A 进行分离纯化。将 20 mg 混合组分 A,按照“1.3.2”节中所述的样品溶液制备方法对样品进行处理。根据“1.3.4”节所述的方法进行分离,结果得到化合物 II 9 mg 和化合物 IV 2 mg。混合组分 A 的 HSCCC 分离见图 4。

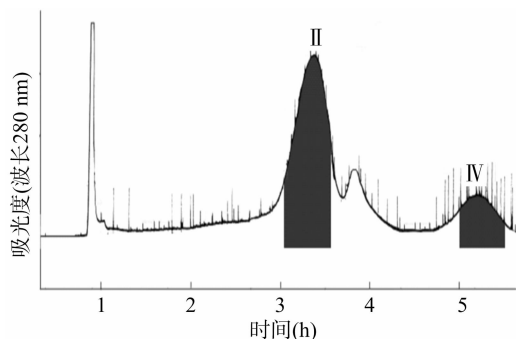
表 1 目标化合物在不同溶剂体系中的 K_D

HEMWat	K_D 值						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
1:1:1:1	0.79	1.53	0.98	1.56	4.03	2.92	4.30
3:2:3:2	0.53	1.01	0.69	1.05	2.47	1.53	3.56
3:7:5:5	0.99	1.27	1.84	2.31	3.16	4.74	5.90
2:1:2:1	0.10	0.35	0.13	0.32	0.48	0.42	0.54



溶剂体系:石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比3:2:3:2);转速850 r/min;流速2.0 mL/min;进样量0.2 g;检测波长280 nm

图3 决明子粗提物的逆流色谱



溶剂体系:石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比3:7:5:5);转速850 r/min,流速2.0 mL/min,进样量20 mg,检测波长280 nm

图4 物质 A 的逆流色谱

2.3 化合物的纯度检测和结构鉴定

为分析决明子粗提物中各成分的 HPLC 图谱,分别测试了不同浓度和组成的流动相,包括甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液系统以及梯度洗脱等。结果表明,流动相用乙腈-水和乙腈-0.1%磷酸水溶液相似且效果最佳。本试验选用乙腈-水体系,梯度洗脱的方法如“1.3.6”节所述。

决明子粗提物和化合物 I ~ VII 的 HPLC 见图 5,经测定分离得到的各组分的纯度分别为 99.7%、96.4%、91.0%、95.3%、98.7%、97.9%、95.8%。

化合物 I:ESI-MS, m/z : 329 $[M-H]^-$, 分子式: $C_{17}H_{14}O_7$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 2.33 (3 H, s), 3.90 (3 H, s), 3.97 (3 H, s), 4.90 (3 H, s), 7.16 (1 H, s), 7.79 (1 H, s)。以上数据与文献报道结果^[14-17]基本一致,确定化合物 I 为橙黄决明素。

化合物 II:ESI-MS, m/z : 285 $[M-H]^-$; 分子式: $C_{15}H_{10}O_6$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 3.16 (3 H, s), 6.46 (1 H, d, $J=2.4$), 7.06 (1 H, d, $J=2.4$), 7.52 (1 H, s)。以上数据与文献报道结果^[14]基本一致,确定化合物 II 为 alaternin。

化合物 III:ESI-MS, m/z : 299 $[M-H]^-$; 分子式: $C_{16}H_{12}O_6$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 2.33 (3 H, s), 3.70 (3 H, s), 6.56 (1 H, d, $J=2.4$), 6.95 (1 H, $J=2.4$), 7.76 (1 H, s), 13.25 (1 H, s)。以上数据与文献报道结果^[11]基本一致,确定化合物 III 为 1-甲氧基-2-羟基大黄素。

化合物 IV:ESI-MS, m/z : 357 $[M-H]^-$, 327 $[M-OCH_3]^-$; 分子式: $C_{19}H_{18}O_7$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 2.27 (3 H, s, 3-CH₃), 3.80, 3.86, 3.87, 3.98 (各 3 H, s, 1, 6, 7, 8-OCH₃), 7.50 (1 H, s, H-5), 7.73 (1 H, s, H-4), 以上数据与文献报道结果^[16-17]基本一致,确定化合物 IV 为黄决明素。

化合物 V:ESI-MS, m/z : 283 $[M-H]^-$; 分子式: $C_{16}H_{12}O_5$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 2.30 (3 H, s), 3.82 (3 H, s), 7.31 (1 H, d, $J=1.2$), 7.63 (1 H, d, $J=1.2$), 7.72 (1 H, s), 7.8 (1 H, s), 12.82 (1 H, s)。以上数据与文献报道结果^[15]基本一致,确定化合物 V 为美决明素。

化合物 VI:ESI-MS, m/z : 343 $[M-H]^-$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 2.27 (3 H, s, 3-CH₃), 3.34, 3.80, 3.98 (各 3 H, s, 1, 6, 7-OCH₃), 7.31 (1 H, s, H-5), 7.80 (1 H, s, H-4), 13.08 (1 H, s, 8-OH)。以上数据与文献报道结果^[16-17]基本一致,确定化合物 VI 为决明素。

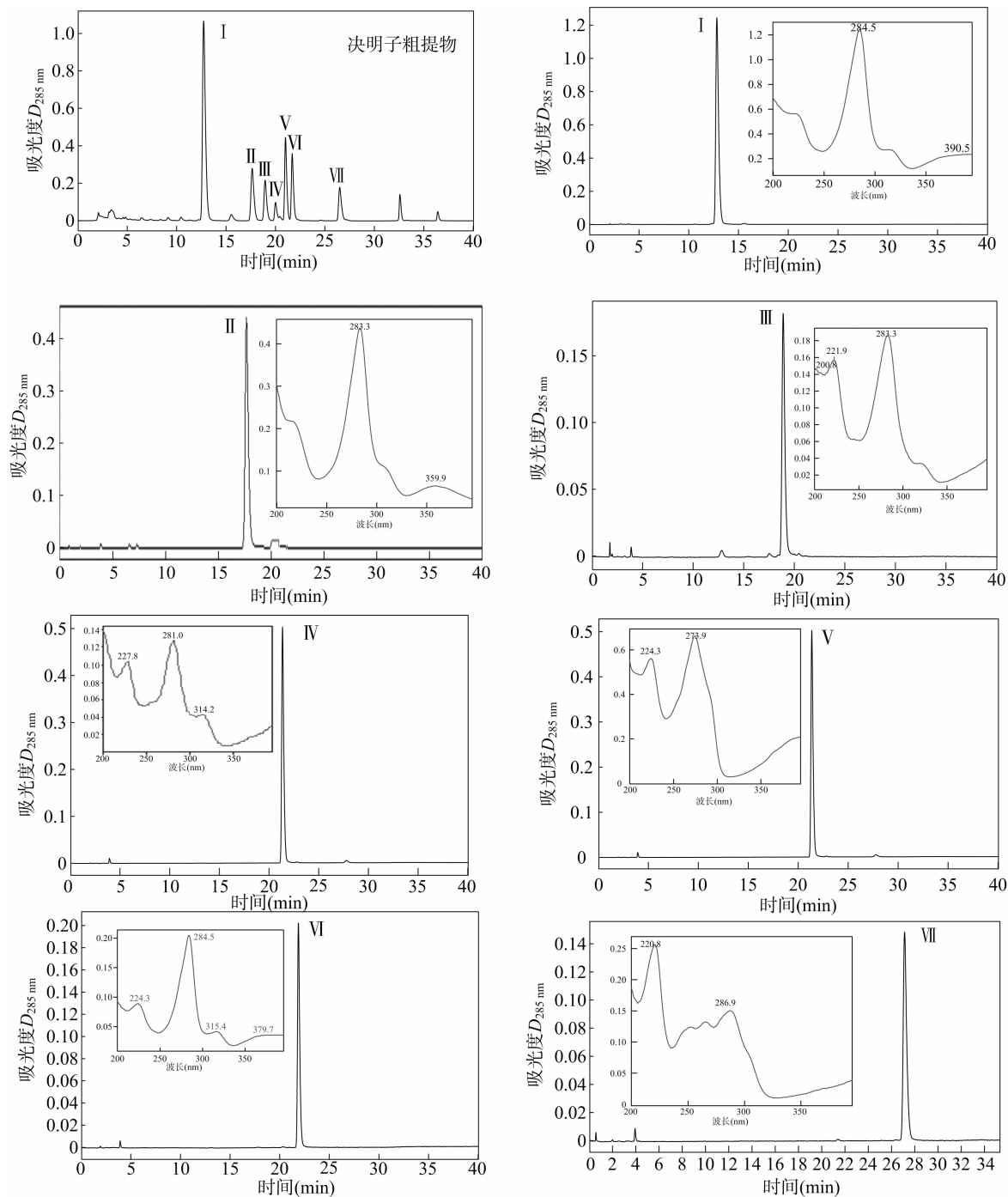
化合物 VII:ESI-MS, m/z : 268.8 $[M-H]^-$; 分子式: $C_{15}H_{10}O_5$; ^1H-NMR (400 MHz, DMSO): 2.44 (3 H, s), 6.56 (1 H, d, $J=2.4$), 7.10 (1 H, d, $J=2.4$), 7.10 (1 H, s), 7.57 (1 H, s)。以上数据与文献报道结果^[15,18]基本一致,确定化合物 VII 为大黄素。

3 结论

应用 HSCCC 分离方法,可从决明子中成功地分离出 7 种高纯度的蒽醌类成分,其纯度分别为 99.7%、96.4%、91.0%、95.3%、98.7%、97.9%、95.8%。高速逆流色谱操作简单,快速高效,重现性好。特别是多种溶剂体系相结合以及 HSCCC 和多种分离方法相结合的思路,对天然植物资源中活性成分分离纯化具有很好的应用价值,也可为具活性植物特别是中草药质量控制所需要高纯度物质对照品的制备提供一种高效实用的方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:135-136.



HPLC分析条件: 色谱柱: Intersil ODS-SP (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: A: 乙腈, B: 水; 梯度洗脱: 0~15 min, A: 40%~70%; 15~25 min, A: 70%; 25~30 min, A: 70%~100%; 30~40 min, A: 100%; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 285 nm; 进样量: 10 μL

图5 决明子粗提物和 HSCCC 分离得到各成分的 HPLC 和 UV 光谱

- [2] 张 荣, 刘必旺, 王永辉, 等. 决明子乙酸乙酯提取物对非酒精性脂肪肝大鼠的防治作用[J]. 山西中医, 2009, 25(7): 45-47.
- [3] 韩昌志. 决明子煎剂对家兔和狗睫状肌中乳酸脱氢酶活性的影响[J]. 同济医科大学学报, 1994, 23(6): 470-472.
- [4] 张加雄, 万 丽, 胡铁娟, 等. 决明子提取物泻下作用研究[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(6): 467-468.
- [5] 李明元, 罗孟军, 叶 婷, 等. 橙黄决明素的降血脂作用研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(6): 36-37.

- [6] 冯艳平. 决明子降血脂有效成分探讨[J]. 中国医药指南, 2013(5): 258-259.
- [7] Ghosh S, Sarma M D, Patra A A. Anti-inflammatory and anticancer compounds isolated from *Ventilago madraspatana* Gaertn., *Rubia cordifolia* Linn. and *Lantana camara* Linn. [J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2010, 62(9): 1158-1166.
- [8] He Z H, He M F, Ma S C, et al. Anti-angiogenic effects of rhubarb and its anthraquinone derivatives[J]. Journal of Ethnopharmacology,

庞庭才,熊 拯,胡上英,等. 银叶树果壳木质素提取及抗氧化性[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):385-388.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.113

银叶树果壳木质素提取及抗氧化性

庞庭才¹,熊 拯¹,胡上英²,廖燕青¹

(1. 钦州学院食品工程学院,广西钦州 535099; 2. 钦州学院电子与信息工程学院,广西钦州 535099)

摘要:采用碱液提取法对银叶树果壳木质素进行提取分离,以单因素试验和正交试验法研究提取温度、KOH 浓度、料液比、提取时间对银叶树果壳木质素提取效果的影响,并对所提取木质素进行紫外光谱分析和抗氧化性研究。结果发现,银叶树果壳木质素最佳提取工艺参数为:提取温度 60 ℃、KOH 浓度 0.5 mol/L、料液比 1 g : 55 mL、提取时间 2 h,在此条件下木质素得率达到 10.78%。银叶树果壳木质素浓度对羟基自由基、超氧阴离子自由基和对 DPPH 自由基均有明显的清除作用,且清除率随木质素浓度增加而增大。

关键词:银叶树果壳;木质素;抗氧化性

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2016)06-0385-04

银叶树 (*Heritiera littoralis*) 属梧桐科植物,是热带、亚热带海岸红树林中的乔木树种,主要分布于我国广东、广西和台湾等地区,是比较典型的水陆两栖红树植物种类^[1]。银叶树的根为板状根,茎高而大,叶背银白色,果实形状奇特,为近心形或近椭圆形或扁圆形,果皮木质化,外果皮坚硬^[2]。有关银叶树的研究主要集中在地理分布与形态特征^[3-4]、生物化学与遗传多样性^[5-6]、抗性生理^[7-8]、育苗造林技术^[9-10]、资源利用^[11-12]等方面,而对于银叶树果壳的研究还比较少。目前银叶树果壳常常在果实被采摘之后当作垃圾遗弃,这不仅造成资源的浪费,还对环境造成了一定的危害。因此,为了高效利用银叶树资源,有必要开展银叶树果壳木质素的研究。木质素是一种在酸作用下难以水解、具有复杂空间网状结构的聚芳基化合物,主要存在于木质化植物的细胞中,是工业上

唯一能从可再生资源中获取的芳香族化合物^[13],具有较高地利用价值。但是由于木质素自身理化性质不均一、结构复杂、分离提取困难等因素,使得木质素至今没有被很好的利用。近年来,随着研究的深入,从花生壳、核桃壳、造纸废液中提取木质素的研究开始增多^[14-16],但从银叶树果壳中提取木质素的研究国内外尚未见报道。本研究采用一般碱法提取银叶树果壳中的木质素,并对所提取木质素进行紫外光谱分析和抗氧化性研究。通过对银叶树果壳木质素的研究,为提高银叶树的综合利用价值,进一步开发和利用红树资源提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

银叶树果实外种壳,产自广西防城港北仑河口红树林保护区。

试验用氢氧化钾、盐酸、乙醇等试剂均为 AR,1,1-二苯基-2-苦肟基为 BR。主要仪器有紫外可见分光光度计 (UV-3200),上海美谱达仪器有限公司;电子天平 (EL204) 梅特勒-托利多(上海)有限公司;高速离心机 (H1850),湖南湘仪实验仪器开发有限公司;旋转蒸发器 (RE-3000),上

收稿日期:2015-05-10

基金项目:广西高校科学技术研究(编号:2013YB260;2013LX161);

钦州学院校级科研项目(编号:2014XJKY-58C);大学生创新创业训练计划(编号:201411607064)。

作者简介:庞庭才(1985—),男,硕士,实验师,研究方向为植物有效成分提取与分析。E-mail: pangtingcai@126.com。

2009,121(2):313-317.

[9] Jang D S, Lee G Y, Kim Y S, et al. Anthraquinones from the seeds of *Cassia tora* with inhibitory activity on protein glycation and aldose reductase[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2007, 30(11): 2207-2210.

[10] 郝延军,桑育黎,赵余庆. 决明子蒽醌类化学成分研究[J]. 中草药, 2003, 34(1): 18-19.

[11] 戴迎春,邓楠,刘文,等. 决明子中橙黄决明素的提取、分离及纯化方法的研究[J]. 中南药学, 2011, 9(3): 179-182.

[12] 张晶. 对决明子橙黄决明素的分离提取的研究分析[J]. 中外医学研究, 2012, 10(20): 153.

[13] Yang J H, Ye H Y, Lai H J, et al. Separation of anthraquinone compounds from the seed of *Cassia obtusifolia* L. using recycling counter-current chromatography[J]. Journal of Separation

Science, 2012, 35(2): 256-262.

[14] Shu X K, Duan W J, Liu F, et al. Preparative separation of polyphenols from the flowers of *Paonia lactiflora* Pall. by high-speed counter-current chromatography[J]. Journal of Chromatography B, 2014, 947/948: 62-67.

[15] 谢亚. 中药决明子有效成分提取分离及结构的电喷雾串联质谱(ESI-MSⁿ)研究[D]. 广州:华南师范大学, 2007.

[16] 张云峰,魏东,郭祀远,等. 决明子活性成分的高速逆流色谱分离[J]. 华南理工大学学报:自然科学版, 2009, 37(10): 129-134.

[17] 唐力英,王祝举,傅梅红. 决明子中游离蒽醌类化学成分研究[J]. 中药材, 2009, 32(5): 717-719.

[18] Guo S Y, Feng B, Zhu R N, et al. Preparative isolation of three anthraquinones from *Rumex japonicus* by high-speed counter-current chromatography[J]. Molecules, 2011, 16(2): 1201-1210.