

补骨脂中化合物系统性分离制备

吴金倩¹,朱靖博^{1,2*},丁燕^{1,2*},肖伟³

¹大连工业大学食品学院;²大连工业大学植物资源化学与应用研究所,大连 116034;

³江苏康缘药业股份有限公司,连云港 222001

摘要:建立了具有分离-富集模式的反相二维制备色谱方法,用于系统性分离制备补骨脂中的单体化合物。补骨脂药材经粉碎提取、硅胶柱色谱除去杂质、萃取除去油脂类物质,最终得到干燥的棕黄色粉末。以 C₁₈ (250 mm × 30 mm, 10 μm) 作为第一维、第二维的分离柱,乙腈和水作为流动相,C₁₈ (80 mm × 30 mm, 10 μm) 作为富集柱,水为富集稀释液,以 XTool 色谱专家软件和 HPLC 预测和优化的一维和二维色谱分离条件梯度洗脱。经考察确定一维色谱分离的上样量为 500 mg,一维分离时间为 200 min。最终一维分离得到 18 个可重复组分,二维分离得到 17 个纯度大于 98% 的单体化合物,并通过质谱和标准品对其进行确认。此外二维制备回收率为 93.92%,且结果表明该方法可以实现补骨脂中单体化合物的系统性分离,对其它天然产物中高纯度化合物的分离具有很大的应用前景。

关键词:补骨脂;分离制备;反相二维液相色谱;色谱专家系统软件

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)Suppl-0038-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.S.007

Systematic separation and preparation of compounds from Fructus Psoraleae

WU Jin-qian¹,ZHU Jing-bo^{1,2*},DING Yan^{1,2*},XIAO Wei³

¹School of Food and Technology,Dalian Polytechnic University;

²Institute of plant resource chemistry and application,Dalian Polytechnic University,Dalian 116034,China;

³Jiangsu Kanion Pharmaceutical Corporation Limited,Lianyungang 222001,China

Abstract: In this work, an effective method was established for the systematic separation and purification of high-purity compounds from Fructus Psoraleae by a two-dimensional reversed-phase preparation chromatography with separate-enrichment mode. After grinding extraction, the dead adsorption and liposoluble molecules were removed from the crude extract after the silica gel column chromatography and extraction. The C₁₈ column (250 mm × 30 mm, 10 μm) was selected as the first and second-dimensional separation column. The water-acetonitrile was selected as mobile phases. The C₁₈ column (80 mm × 30 mm, 10 μm) was selected as enriching columns and water as the diluent solution. The conditions for the first-dimensional and second-dimensional chromatographic separation were predicted and optimized using XTool chromatography expert software and HPLC. Moreover, the sample loading amount of one-dimensional chromatography separation was 500 mg and the one-dimensional separation was performed within 200 min. As a result, 18 components were obtained by the first-dimensional separation and 17 compounds were isolated in more than 98% purity by the second-dimensional, which were further identified by mass spectrometry (MS) and standards, and the recovery rate of the second-dimensional preparation was 93.92%. This method has the potential to be an efficient separation method of high-purity compounds from Fructus Psoraleae and it shows great promise for the separation of high-purity compounds from other kinds of natural products.

Key words: Fructus Psoraleae; separation and preparation; two-dimensional reversed-phase liquid chromatography; chromatographic expert system software

收稿日期:2020-03-09 接受日期:2020-04-24

基金项目:大连市高层次人才项目(2016RQ064)国家自然科学基金-联合基金(U1603285);连云港市“高层次创新创业领军人才集聚工程”项目([2016]1);大连市高层次人才项目(2016RQ064)

*通信作者 Tel:86-411-8633-2109, E-mail: zhujingb@sina.com, dingyan_515@hotmail.com

补骨脂(Fructus Psoraleae),又名黑故子、破故纸,是豆科植物补骨脂的干燥成熟果实,是中国著名的中药之一,被中国药典所收录^[1]。现代研究表明,补骨脂中的化学成分十分丰富,其中香豆素^[2]、黄酮^[3]和萘酚类^[4]化合物为主要活性成分。现代

药理研究证明,补骨脂提取物具有多种生物功能,包括抗菌^[5]、抗银屑病^[6]、抗氧化^[7]、抗炎^[8]、抗血小板^[9]和抗肿瘤活性^[10,11]。然而,补骨脂提取物化学成分组成极为复杂,其治疗作用的化学成分尚不清楚。因此,本文主要目的是从补骨脂中系统性分离制备获得足够高纯度和数量的单体化合物。

目前,补骨脂中化合物的分离仍采用传统柱层析(CC)和薄层色谱(TLC)方法^[12,13],同样,高速逆流色谱(HSCCC)和超临界流体色谱(SFC)作为现代分离技术也有报道^[14,15],然而,这些方法柱效低,分离重复性差,分离时间长,缺乏系统性,很难实现补骨脂化合物的高效系统性分离,束缚了补骨脂的推广应用。近年来,制备型高效液相色谱(pre-HPLC)作为一种高效的分离技术,被广泛应用于从中药中分离高纯度化合物^[16,17]。同时,二维制备色谱由于具有高峰容量、高通量的特点越来越多地用于中药成分的分离与分析^[18,19],如 Fan 等^[20]运用离线的正相-反相二维液相色谱分离制备甘草中的黄酮类化合物,得到了 24 个高纯度化合物;Li 等^[21]采用离线的亲水-反相二维液相色谱分离法对苦马豆中的黄酮苷类化合物进行分离纯化,最终得到 8 个高纯度化合物。另外,常规的二维液相色谱法存在溶剂混溶性差、提取有效部位的重现性差、缺乏系统性等问题,阻碍了中药有效成分的系统性认知和新药的研发生产。然而,反相色谱具有广泛的适用性,高峰容量和高分辨率的特点^[22],可以有效解决分离的选择性低的行业共性问题,可被广泛应用。

本研究以补骨脂提取物为研究对象,以分离富集模式的反相二维色谱为手段,利用色谱专家系统软件对分离条件进行模拟和优化从补骨脂中分离化合物新途径,而且具备可重复获得有效部位、高通量、系统性分离补骨脂化合物等显著优势,为进一步研究补骨脂的药理活性及补骨脂的临床应用提供了科学保障。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

分析型仪器:Acchrom S 6000 高效液相色谱仪(配有 S 6000 泵、S 6000 自动取样器、S 6000 DAD 检测器和 Acchrom 色谱工作站),中国 Acchrom 公司。分析型色谱柱为 C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),大连博迈科技发展有限公司。

制备型仪器:2D-1000 型制备色谱(配备有 3 台 BP 1000 的制备型高压恒流泵、主分离柱为 C_{18} (250

mm × 30 mm, 10 μm)、18 个一级富集柱 C_{18} (80 mm × 30 mm, 10 μm)、9 个二级富集柱 C_{18} (80 mm × 30 mm, 10 μm)、UV 1000 检测器、BP 1000 自动取样器、ZB 1000 梯度混合器和 Clarity 色谱工作站),两级分离间以 2 位 8 通阀相连,实现成分的分离、富集、解吸附与流路切换,该装置的一维分离可以将复杂的天然产物分离成 18 个可重复获得的组分或有效部位,二维分离使其进一步分离得到单体化合物,全部的分离工作在计算机控制下工作^[21],大连博迈科技有限公司。

HPLC-Q-TOF-MS 质谱仪:配有 Agilent 1290 高效液相系统(Agilent, Germany)、Q-TOF 质谱仪(Agilent 6538 UHD, USA)、电喷雾电离(ESI)和 Mass Lynx 软件工作站。

甲醇和乙腈为色谱级,石油醚和乙醇为工业级,均购置于天津科密欧化学试剂厂;去离子水,实验室自制;200-300 目柱层析硅胶购自青岛海洋化工厂分公司;补骨脂,购自于河北安国市药材市场,经大连工业大学朱靖博教授鉴定为豆科蝶形花亚科补骨脂属植物补骨脂 *Fructus Psoraleae* 的干燥果实;补骨脂标准品:补骨脂苷、双羟异补骨酯定、黄芪苷、补骨脂素、异补骨脂素、环补骨脂酚 C、bakuchalcone、新补骨脂异黄酮、补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂色烯查耳酮、补骨脂定、异补骨脂查耳酮、补骨脂二氢黄酮甲醚、corylifol A、补骨脂查耳酮、补骨脂酚(纯度均 $\geq 98\%$),购于上海源叶生物科技有限公司。

1.2 样品前处理

将 300 g 干燥的补骨脂果实粉碎过 60 目筛,用 90% 乙醇(1 g/5 mL)在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下回流提取 3 h,重复 3 次,过滤,合并提取液,干燥后得到提取物 100 g。将提取物拌入 200 g 200 ~ 300 目硅胶,在 60 cm × 20 cm 的真空硅胶柱上用甲醇进行真空洗脱除去死吸附物质,用正己烷:甲醇 3:1 萃取 5 次去除脂溶性分子,最后得到 50 g 补骨脂样品作为分离对象。

1.3 补骨脂的一、二维分离色谱条件的建立与优化

C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 分析柱在 3 种梯度洗脱条件下对 2 mg/mL 补骨脂样品进行的 HPLC 分析,确定分离对象得到色谱信息,将其保留时间、峰高,依次对应制成表格,将色谱信息导入 XTool 软件,预测一维分离条件,对预测的分离条件进行验证、优化并线性放大转化为一维制备规模。

切换至一维分离模式,采用确定的一维分离条件,选用主分离柱 C_{18} (250 mm × 30 mm, 10 μm)—

维分离,根据色谱峰的保留时间,分离度等参数,确定补骨脂组分切割的时间程序,将单个组分的色谱信息导入 XTool 软件,对二维分离的色谱条件进行预测,对分离条件进行验证、优化并线性放大将其转化为二维制备规模。

1.4 一维分离上样量、切割时间程序确定

将补骨脂样品配制成 100 mg/mL 的溶液,按照优化的一维分离制备条件,分别进样 1、2、3、4、5 mL,以主要峰的分离度为指标确定一维分离最大上样量。同时以时间为组分富集触发点,对 82 个色谱峰进行分配,确定一维分离切割程序。

1.5 补骨脂化合物的系统性分离制备

选择乙腈和水作为流动相,检测波长 246 nm,将设备切换至一维模式,进样体积为 5 mL,采用构建的分离条件和时间程序进行一维分离,分离后组分分别富集到 1~18 号富集柱上,将设备切换至二维模式,将富集柱作为上样柱,采用构建的第二维分离条件,分别将 18 个富集柱上的样品进行二维分离;HPLC 分析第二维分离后的样品,纯度大于 98% 的样品用标准品做定性分析^[23]。

1.6 HPLC 分析条件

补骨脂样品及纯度分析使用 C₁₈ (250 × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相 A 为水, B 为乙腈,洗脱程序: 0~20 min, 15% → 55% B; 50~60 min, 80% → 90% B; 70 min, 100% B; 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL, 流速为 0.6 mL/min, 检测波长 246 nm。

1.7 质谱分析条件

HPLC-Q-TOF-MS 分析使用 C₁₈ (150 × 4.6 mm,

3.5 μm) 色谱柱,流动相和洗脱梯度与上述 HPLC 分析一致;柱温为 25 °C;进样量为 10 μL;流速为 0.4 mL/min。ESI 离子源为正离子模式,质量扫描范围为 m/z 100 ~ 2 000,毛细管电压 4.0 kV,喷雾器 50 psi;干燥气体(N₂),气体流速 10.0 L/min;气体温度 350 °C;碰撞电压 175 V;射频 750 V。使用 Mass Lynx V4.1 和以中药数据库为基础的 UNIFI™ 软件进行数据采集与分析。

2 结果与讨论

2.1 补骨脂的一、二维制备色谱条件的建立与优化

在水和乙腈的流动相体系下,补骨脂在反相色谱柱上有很好的保留,物质的分离度和峰形都比较理想。3 个梯度洗脱条件(1) 0~60~70 min, 15% → 100% → 100% B; (2) 0~70~80 min, 15% → 100% → 100% B; (3) 0~70~80 min, 20% → 100% → 100% B 下的 HPLC 色谱图如图 1 所示。在 3 个洗脱条件下选定 82 个色谱峰,将色谱峰的保留时间、峰高,依次对应绘制成表格,导入 XTool 软件,软件预测一维洗脱条件为: 0~5 min, 5% → 11% B; 11~13 min, 19% → 20% B; 18~37 min, 20% → 32% B; 52~60 min, 30% → 37% B; 72~112 min, 44% → 47% B; 123~130 min, 53% → 55% B; 139~146 min, 59% → 65% B; 168~180 min, 75% → 100% B; 180~200 min, 100% B。补骨脂一维分离条件预测图如图 2(A) 所示,应用 XTool 色谱专家软件预测的梯度条件得到的 HPLC 验证图如图 2(B) 所示。

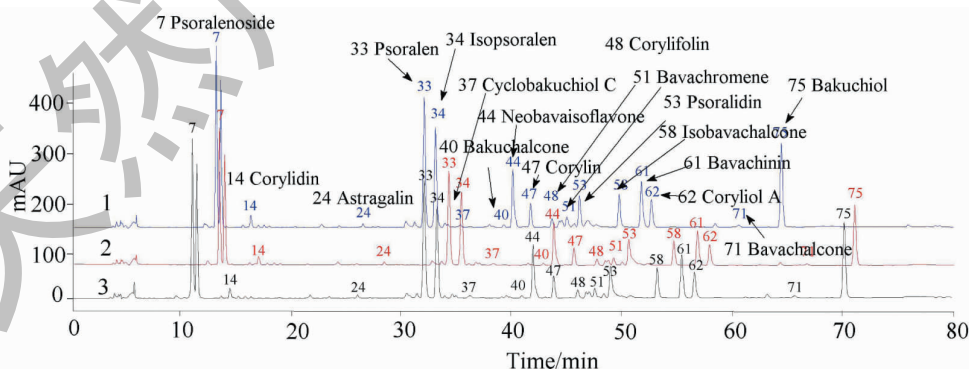


图 1 补骨脂提取物在三个洗脱条件下的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of extract of Fructus Psoraleae under three elution conditions.

流动相:A 为水, B 为乙腈;梯度:(1) 0~60~70 min, 15% → 100% → 100% B; (2) 0~70~80 min, 15% → 100% → 100% B; (3) 0~70~80 min, 20% → 100% → 100% B。流速 0.6 mL/min, 进样体积 10 μL, 检测波长 246 nm, 柱温为 30 °C。Note: Mobile phases: A is water, B is CH₃CN; Gradient: (1) 0-70-80 min, 15%-100%-100% B; (2) 0-60-70 min, 15%-100%-100% B; (3) 0-70-80 min and 20%-100%-100%

B. Flow rate: 0.6 mL/min, injection volume: 10 μL, monitoring wavelength: 246 nm, column temperature: 30 °C.

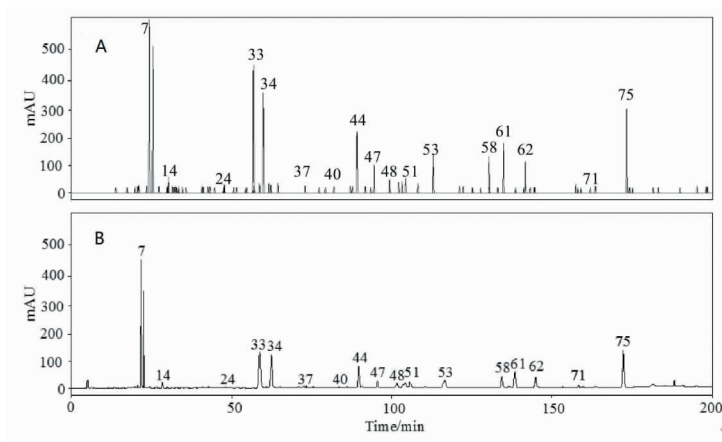


图2 XTool 软件模拟色谱图 (A) 和模拟条件下的 HPLC 色谱图 (B)

Fig. 2 XTool software simulation chromatograms (A) and HPLC chromatograms under simulated conditions (B)

图2中可以看出,软件模拟与HPLC验证的色谱图保留时间基本一致,色谱峰图中各个色谱峰峰形依然保持良好,具有良好的分离度,将反相色谱从分析级别放大到制备规模^[21],确定制备流速及辅助泵流速均为25 mL/min,随着上样量的增加,需要对梯度洗脱条件进一步优化,最终确定的一维分离条件为0~5 min,5%→11% B;11~13 min,19%→20% B;18~37 min,20%→32% B;52~60 min,30%→37% B;72~112 min,44%→47% B;123~130 min,53%→55% B;139~146 min,59%→65% B;168~180 min,75%→100% B;180~200 min,100% B。同时多次重复进样分析,结果表明82个色谱峰的保留时间RSD为0.00%~0.15%,82个色谱峰的峰面积RSD为0.03%~1.73%,RSD均小于3%,证明反相制备色谱方法系统性分离补骨脂

化合物重复性较好,可以获得质量稳定的组分。

2.2 一维分离上样量、切割时间程序确定

为了得到满意的分离效果,对进样量和切割程序等一维制备的色谱条件进行了优化。补骨脂样品一维上样量100、200、300、400、500 mg的分离结果见图3,结果表明样品装载量在100~500 mg时,相应强度较高的主峰的分度均大于1.5,满足分离要求,且当进样量增加至500 mg时,反相色谱柱前端0~15 min的强极性物质保留效果较弱,中等极性和弱极性物质分离度良好,同时更多的相应强度较低的微量组分被检出。由于补骨脂样品中含有弱极性物质,低浓度醇溶解性差,可配制最大质量浓度为100 mg/mL的溶液,且该装置一次最大进样体积为5 mL,故最终确定单次最大上样量为500 mg。

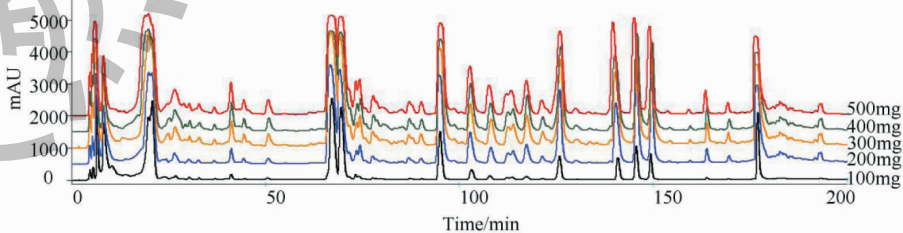


图3 一维色谱分离样品载样量考察

Fig. 3 Investigation of loading weight on one-dimensional chromatography

采用一维色谱条件,将系统切换到一维分离模式,进行一维分离。82个色谱峰在200 min内均匀分布,根据保留时间及分离度将补骨脂样品分为18个组分,其切割程序为:1号柱0~23.2 min;2号柱

23.2~37.6 min;3号柱37.6~65.1 min;4号柱65.1~71.5 min;5号柱71.5~82.2 min;6号柱82.2~93 min;7号柱93~96.9 min;8号柱96.9~109.8 min;9号柱109.8~115.3 min;10号柱115.3

~122.9 min; 11 号柱 122.9 ~ 128.7 min; 12 号柱 128.7 ~ 136.7 min; 13 号柱 136.7 ~ 142.9 min; 14 号柱 142.9 ~ 148.2 min; 15 号柱 148.2 ~ 151.6 min;

16 号柱 151.6 ~ 174.7 min; 17 号柱 174.7 ~ 179.4 min; 18 号柱 179.4 ~ 200 min。其切割方法见图 4。

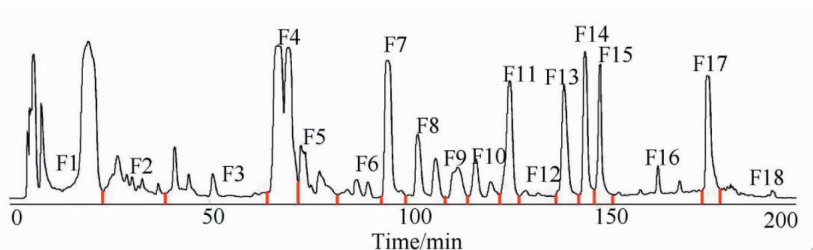


图 4 补骨脂样品的 PCP 一维切割程序

Fig. 4 The first-dimensional cutting procedure for Fructus Psoraleae samples

2.3 补骨脂化合物的一维分离制备结果

采用优化后的色谱条件对补骨脂样品进行一维分离,得到 18 个简单的组分,HPLC 分析结果如图 5 所示。18 个一维组分的质量分别为:789、114、75、575、90、25、45、25、40、60、35、30g、155、115、60、25、70、30 mg,求得一维分离样品的得率分别为

31.45%、0.47%、0.03%、23.00%、3.60%、1.00%、1.80%、1.00%、1.60%、2.40%、1.40%、1.20%、6.20%、0.44%、2.40%、1.00%、2.80%、1.20%。结果表明,二维反相色谱系统具有良好的一维分离效果,一维分离所得的各组分质量分布较均匀,同时可基本满足二维分离制备对组分质量的要求。

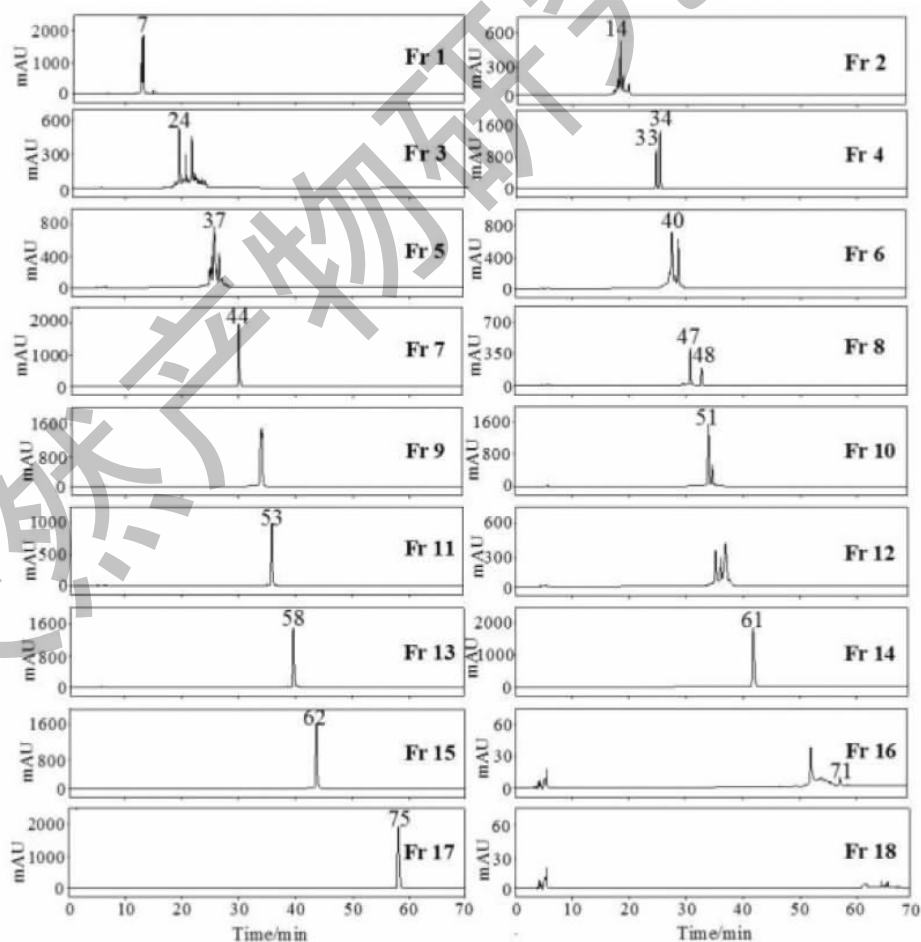


图 5 补骨脂样品的 18 个一维分离样品 HPLC 色谱图

Fig. 5 HPLC analysis of components 1-18 of Fructus Psoraleae extracts after the first dimensional separation

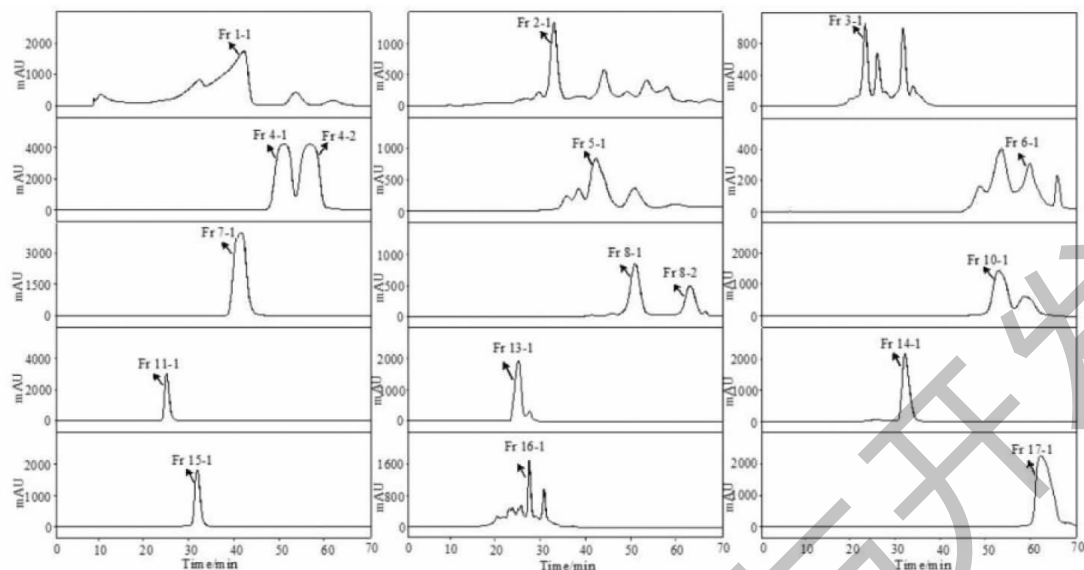


图 6 17 种化合物的二维制备色谱

Fig. 6 The second-dimensional preparative chromatograms of 17 compounds

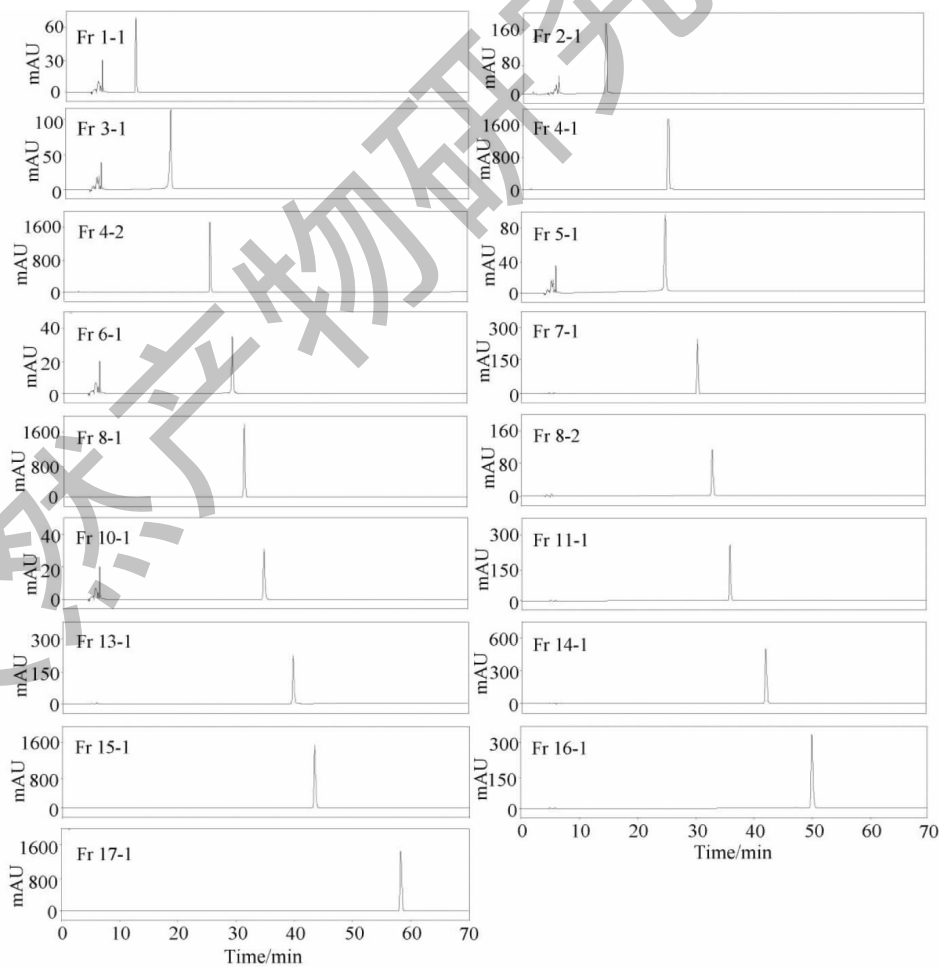


图 7 17 个单体化合物纯度分析

Fig. 7 Purity evaluation of 17 prepared compounds

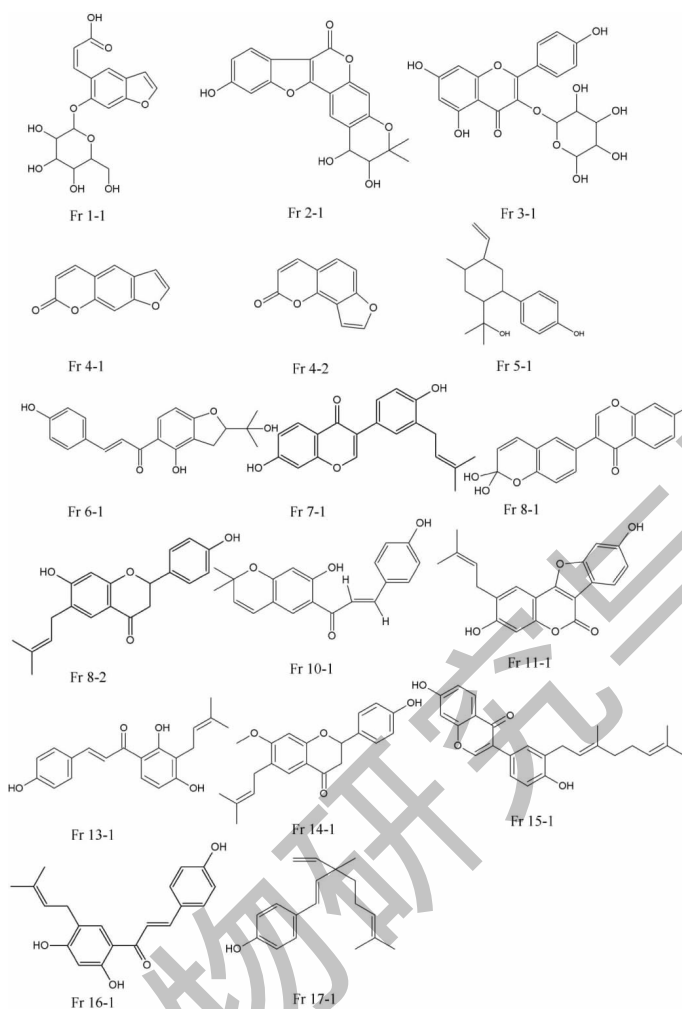


图 8 17 个单体化合物的结构

Fig. 8 Structures of 17 Compounds

2.4 补骨脂化合物二维分离制备结果及单体化合物结构鉴定

为了获得满意的分离度,对二维分离色谱条件进行了优化,将优化后的色谱条件从分析级别转化为制备级别,将系统切换为二维分离模式进行二维分离纯化,如图 6 所示。此外,“中心切割”方式被反复使用,以确保化合物的纯度。值得注意的是,反相二维色谱法对同分异构体的分离显示出了巨大的优势,以组分 F4 为例,5 号和 6 号单体化合物在 C_{18} 分析柱中保留时间几乎相同(25.99 和 26.14 min),仅靠一维分离很难得到的单体化合物,且会损失较多样品。然而,通过反相二维分离它们可以先被第一维分离成组分 F4,然后被第二维分离纯化。最终,这两种化合物的纯度分别达到 99.22% 和 99.30%。同分异构体的分离是复杂中药纯化过程

中经常碰到的难题,因此,反相二维色谱法在高纯度化合物的制备中具有重要意义。

18 个一维分离组分经过二维分离后得到 17 个纯度大于 98% 的高纯度化合物,如图 7 所示,二维分离回收率为 93.92%,使用 HPLC-Q-TOF-MS 对这 17 个高纯度化合物的质谱数据进行正态定性,通过测定 17 种高纯度化合物的保留时间、紫外光谱、特征碎片离子、准确的分子质量和分子式,将光谱数据与文献值^[24,25]进行比较,并进一步用标准品进行定性分析,通过保留时间和紫外光谱分析确定其结构,初步鉴定了 17 种高纯度化合物,结果均为已知化合物,化合物的结构如图 8 所示。表 1 总结了 17 个单体化合物的保留时间和 MS 数据。常规的传统柱层析(CC)、薄层色谱(TLC)、高速逆流色谱(HSCCC)以及超临界流体色谱(SFC)一次性系统性得到多个

单体化合物的可能性是很小的,相比较而言,二维反相色相色谱一次性得到一定数量和质量的单体化合物是

具有优势的。

表 1 单体化合物信息

Table 1 Information of the isolated compounds from Fructus Psoraleae

编号 No.	t_R (min)	UV	纯度 Purity (%)	质量 Mass (mg)	[M + H] ⁺ (m/z)			[M + Na] ⁺ (m/z)	[M + K] ⁺ (m/z)	分子式 Formula	化合物名称 Compound name	物理性状 Physical form
					测得值 Detected	准确值 Calculated	ppm					
Fr1-1	12.32	243	98.31	13.11	367.1027	367.1029	-0.5	389.0847	-	C ₁₇ H ₁₈ O ₉	Psoralenoside	白色粉末
Fr2-1	18.46	259,303	99.22	11.43	369.0975	369.0974	0.3	391.1009	407.0672	C ₂₀ H ₁₆ O ₇	Corylidin	白色粉末
Fr3-1	23.43	240,280,330	99.00	10.30	449.1083	449.1084	-0.2	471.0907	487.0656	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Astragalinal	黄色粉末
Fr4-1	25.99	245,295	99.22	25.71	187.0393	187.0395	-1.1	209.0207	-	C ₁₁ H ₆ O ₃	Psoralen	无色针状结晶
Fr4-2	26.14	245,295	99.32	16.13	187.0391	187.0395	-2.1	209.0208	-	C ₁₁ H ₆ O ₃	Isopsoralen	无色针状结晶
Fr5-1	28.31	258	98.13	10.81	275.2019	275.2011	2.9	297.0195	313.1772	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	Cyclobakuchiol C	黄色粉末
Fr6-1	29.52	350	98.02	13.80	341.1384	341.1389	-1.5	363.1284	379.0831	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	Bakuchalcone	黄色粉末
Fr7-1	30.21	245,300	99.10	26.13	323.1284	323.1283	0.3	345.1147	361.0809	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	Neobavaisoflavone	白色粉末
Fr8-1	31.50	245,305	99.61	20.72	321.1121	321.1127	-1.9	343.0941	359.0680	C ₂₀ H ₁₆ O ₄	Corylin	白色晶体
Fr8-2	33.62	245,305	99.11	8.14	325.1437	325.1440	-0.9	347.1453	363.1111	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	Corylifolin	无色晶体
Fr10-1	34.98	250,365	98.54	16.12	323.1275	323.1283	-2.5	345.1069	361.0757	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	Bavachromene	黄色粉末
Fr11-1	36.05	245,305	99.10	21.53	337.1068	337.1067	-2.4	359.2889	375.2569	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	Psoralidin	白色粉末
Fr13-1	39.83	350	98.82	21.81	325.1441	325.1440	0.3	347.1251	363.0990	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	Isobavachalcone	黄色粉末
Fr14-1	42.36	240,280,335	98.73	22.80	339.1601	339.1596	1.5	361.1412	377.1074	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	Bavachinin	白色针状结晶
Fr15-1	43.47	250,300	99.04	22.74	391.1915	391.1905	1.5	413.1729	429.1409	C ₂₅ H ₂₆ O ₄	Coryliol A	黄色粉末
Fr16-1	50.68	353	99.61	8.70	339.1604	339.1596	2.4	361.1412	-	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	Bavachalcone	黄色粉末
Fr17-1	58.53	258	99.00	26.70	257.1907	257.1905	-1.6	279.1664	-	C ₁₈ H ₂₄ O	Bakuchiol	淡黄色油状物

3 结论

本研究以补骨脂为研究对象,基于 XTool 色谱专家软件指导分离条件,应用反相二维制备色谱法对补骨脂化学成分进行系统分离,构建了一套系统性分离制备补骨脂化合物的方法,并重复得到纯度 98% 以上的 17 个补骨脂单体化合物,同时运用质谱数据和标准品比对对化合物进行结构鉴定。结果表明,本文所用的方法可用于从补骨脂中分离纯化高纯度化合物,而且所用方法简单、省时省力、污染少,对于补骨脂中复杂成分的分离、中药新药开发、药理活性的研究具有重要意义,拓展了二维色谱在其它天然产物分离制备领域的应用。

参考文献

- Zeng XC. Selection of 100 Kinds of Precious Chinese Herbal Medicines(100 味贵细中药材选用) [M]. Chongqing: Chongqing Publishing House, 2006.
- Zhang X, Zhao W, Wang Y, et al. The chemical constituents

and bioactivities of *Psoralea corylifolia* Linn.: a review [J]. Am J Chin Med, 2016, 44: 35-60.

- Zhang HL, Wang YN, Wang JH. The chemical constituents and pharmacological activities of *Psoralea corylifolia* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2010, 22: 183-187.
- Yan CP, Wu Y, Weng ZB, et al. Effect of salt preparation on main chemical components of *Psoralea corylifolia* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2013, 35: 2470-2474.
- Khatune NA, Islam ME, Haque ME, et al. Antibacterial compounds from the seeds of *Psoralea corylifolia* [J]. Fitoterapia, 2004, 75: 228-230.
- Ali J, Akhtar N, Sultana Y, et al. Antipsoriatic microemulsion gel formulations for topical drug delivery of babchi oil (*Psoralea corylifolia*) [J]. Method Find Exp Clin, 2008, 30: 277-285.
- Xiao G, Li G, Chen L, et al. Isolation of antioxidants from *Psoralea corylifolia* fruits using high-speed counter-current chromatography guided by thin layer chromatography-antioxidant autographic assay [J]. J Chromatogr A, 2010, 1217:

- 5470-5476.
- 8 Chen CH, Hwang TL, Chen LC, et al. Isoflavones and anti-inflammatory constituents from the fruits of *Psoralea corylifolia* [J]. *Phytochemistry*, 2017, 143:186-193.
 - 9 Tsai WJ, Hsin WC, Chen CC. Antiplatelet avonoids from seeds of *Psoralea corylifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59:671-672.
 - 10 Ryu SY, Choi SU, Lee CO, et al. Antitumor activity of *Psoralea corylifolia* [J]. *Arch Pharm Res*, 1992, 15:356-359.
 - 11 Shrestha S, Jadav HR, Bedarkar P, et al. Pharmacognostical evaluation of *Psoralea corylifolia* Linn. seed [J]. *J Ayurveda Integr Med*, 2018, 9(3):209-212.
 - 12 Chen YG, Yu LL. Study on the chemical constituents of *Psoralea corylifolia* [J]. *J Yunnan Normal Univ* (云南师范大学学报), 2005, 25:52-54.
 - 13 Cao JY. Research on literature and quality of psoralen [D]. Beijing: Beijing University of Traditional Chinese Medicine (北京中医药大学), 2009.
 - 14 Qiu YL, Liu J. Rapid preparation of *Psoralea corylifolia* flavones by high speed countercurrent chromatography [J]. *Neijiang Technol* (内江科技), 2009, 5:78.
 - 15 Li F, Hang JJ, Li AF, et al. Separation and purification of isopsoralen and psoralen in *Psoralea corylifolia* by supercritical fluid chromatography [J]. *J Chem Eng Chin Univ* (高校化学工程学报), 2019, 33:1437-1443.
 - 16 Dang J, Shao Y, Zhao JQ, et al. Two-dimensional hydrophilic interaction chromatography \times reversed-phase liquid chromatography for the preparative isolation of potential anti-hepatitis phenylpropanoids from *Salvia prattii* [J]. *J Sep. Sci*, 2016, 39:3327-3332.
 - 17 Jia YM, Cai JF, Xin HX, et al. Separation and purification of chemical components in rattan [J]. *Chromatography* (色谱), 2017, 6:650-655.
 - 18 Long Z, Guo ZM, Xue XY, et al. Two-dimensional strong cation exchange/positively charged reversed-phase liquid chromatography for alkaloid analysis and purification [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36:3845-3852.
 - 19 Jin HL, Liu YF, Feng JT, et al. Efficient purification of high-purity compounds from the stem of *Lonicera japonica* Thunb using two-dimensional preparative chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36:2414-2420.
 - 20 Fan Y, Fu Y, Fu Q, et al. Purification of flavonoids from licorice using an off-line preparative two-dimensional normal-phase liquid Chromatography / reversed-phase liquid chromatography method [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39:2710-2719.
 - 21 Jiao L, Tao Y, Wang W, et al. Preparative isolation of flavonoid glycosides from *Sphaerophysa salsula* using hydrophilic interaction solid-phase extraction coupled with two-dimensional preparative liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40:3808-3816.
 - 22 Wang W, Tao Y, Jiao L, et al. Efficient separation of high-purity compounds from *Oxytropis falcata* using two-dimensional preparative chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40:3593-3601.
 - 23 Zhu JB, Li WY, Xiao W, et al. Preparation of lignans in *Schisandra chinensis* by two dimensional reversed phase liquid chromatography [J]. *Chromatography* (色谱), 2018, 36:57-66.
 - 24 Ding YT, Zheng ZH, Zhao RY, et al. Rapid analysis of psoralen chemical composition by uplc-q-tof-mse technology combined with Unifi screening platform [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc* (质谱学报), 2018, 39:729-745.
 - 25 Luan L, Shen X, Liu X, et al. Qualitative analysis of *Psoraleae Fructus* by HPLC-DAD/TOF-MS fingerprint and quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. *Biomed Chromatogr*, 2017, 32:e4059.