

桑类药材多羟基生物碱分离的研究进展

刘思源, 张舜, 任丽颖, 杨君君, 寇晓娣*
(天津中医药大学 中药学院, 天津 300193)

[摘要] 桑科植物 *Morus alba* 的药材, 包括桑叶、桑枝、桑白皮(根皮)均含有多种多羟基生物碱, 多羟基生物碱具有良好的降血糖、降血脂、抗病毒、提高免疫力、抗衰老等药理作用, 但多羟基生物碱与在大多数植物中常见的糖类物质结构也相似, 且具有强极性、碱性, 所以其分离纯化将是复杂艰难的工作, 分离步骤繁琐, 通常需要多次柱色谱。查阅文献后, 还未见到有关分离多羟基生物碱固定相材料方面的综述。因此, 作者就桑类多羟基生物碱的分离, 包括: 反相、正相、离子交换、亲水色谱方面进行了综述, 且针对每种分离方法都分析了其优点与不足, 并提出以硅胶键合离子液体为新型吸附材料的柱色谱的方法, 这种新型材料具有与亲水色谱中两性离子固定相类似的结构特点, 不同点是该固定相中阴阳离子之间是离子键连接, 同时其显示出特殊的分离特性-“两性”的特点, 以期对桑类药材中多羟基生物碱的分离提供帮助以及为新型桑类药物的开发提供有价值的参考, 成功分离多羟基生物碱也将为不同类型糖尿病的病人更针对性地用药提供条件。最后对新型硅胶键合离子液体固定相用于分离多羟基生物碱的发展和应用前景进行展望, 其突出的优势为在色谱分析中, 可根据离子液体的可调控性, 来设计性的修饰固定相。

[关键词] 桑; 多羟基生物碱; 离子液体; 分离; 综述

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0221-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150221

Advance in Studies on Polyhydroxylated Alkaloids Isolated from Mulberries LIU Si-yuan, ZHANG Shun, REN Li-ying, YANG Jun-jun, KOU Xiao-di* (School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] Mulberry *Morus alba* includes multiple polyhydroxylated alkaloids in leaves, branches root barks, which have many pharmacologic effects in reducing blood sugar and blood lipid, resisting virus, enhancing immunity and anti-aging. However, because polyhydroxylated alkaloids share a similar structure with common carbohydrates in plants, with a strong polarity and alkalinity, they are hard to be separated and purified, which needs complicated separation procedures and multiple column chromatography. Furthermore, there is no literature about stationary phase materials for separating polyhydroxylated alkaloids. Therefore, the authors summarized the separation procedures for mulberry polyhydroxylated alkaloids, including reversed-phase liquid chromatography (RPLC), normal phase liquid chromatography (NPLC), ion exchange chromatography (IEC) and hydrophilic interaction chromatography (HILIC), analyzed their advantages and disadvantages, and proposed the column chromatography method with carbosilane ionic liquid with a new-type adsorbing material. This new-type material is similar with zwitter-ion stationary phase in hydrophilic interaction chromatography but different in the ionic bond connecting zwitterions in the stationary phase, while showing the characteristic zwitter-ion separation, in order to provide reference for separating polyhydroxylated alkaloids from mulberry herbs and developing new-type mulberry drugs, successfully separate polyhydroxylated alkaloid and develop targeted drugs for patients with different types of diabetes. Finally, the authors defined the development and application prospect of polyhydroxylated alkaloids, which can modify the stationary phase in the chromatographic analysis by regulating the ionic liquid.

[Key words] Mulberry; polyhydroxylated alkaloids; ionic liquids; separation; summary

[收稿日期] 20141117(020)

[基金项目] 国家级大学生创新创业训练计划项目(201310063005);天津市科技计划项目(JCYBJC38400)

[第一作者] 刘思源, 从事中药材分析分离色谱材料的合成研究, Tel:022-59596225, E-mail:siyuan1992@yeah.net

[通讯作者] * 寇晓娣, 博士, 教授, 从事中药材分析分离色谱材料的合成研究, Tel:022-59596225, E-mail:xiaodikou@tjutc.edu.cn

桑叶为桑科植物桑 *Morus alba* 的干燥叶。初霜后采收,除去杂质,晒干。桑枝为桑科植物桑 *M. alba* 的干燥嫩枝。春末夏初采收,去叶,晒干,或趁鲜切片,晒干。桑白皮为桑科植物桑 *M. alba* 的干燥根皮。秋末叶落时至次春发芽前采挖根部,刮去黄棕色粗皮,纵向剖开,剥取根皮,晒干^[1]。桑科植物 *M. alba* 的药材,包括桑叶、桑枝、桑白皮(根皮)均含有多种多羟基生物碱类强极性有效成分,具有降血糖、抗病毒、抗肿瘤、抗衰老与免疫调节等药理药效^[2]。目前,已有许多工作者对桑类药材中多羟基生物碱的分离纯化进行了相关报道,然而因分离材料的局限,还不能对该类物质进行高效的分离,通常需要多次柱色谱。固定相材料为色谱分离的核心,但作者在国内外文献中都还未见到有关分离多羟基生物碱固定相材料方面的综述,基于此,本文按照材料的分离原理,综述了离子交换、正相、反相、亲水作用色谱对桑类药材中多羟基生物碱的分离现状,并就本课题组目前对于新型材料-硅胶键合离子液体用于多羟基生物碱分离的研究潜力进行展望,拟为多羟基生物碱的有效分离提供更多的方法。

1 桑类药材中多羟基生物碱的药效

传统中医常用桑治疗消渴症,即治疗糖尿病。目前,大多数学者认为桑药材能够治疗糖尿病是由于对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用,有效成分之一为多羟基生物碱类化合物,代表化合物有:1 为 1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojirimycin, DNJ), 2 为 *N*-甲基-*l*-脱氧野尻霉素(*N*-methyl-*l*-deoxynojirimycin), 3 为 2-*O*- α -*D*-半乳吡喃糖基-1-脱氧野尻霉素(2-*O*- α -*D*-galactopyrano-syl-1-deoxynojirimycin), 4 为 1,2-双脱氧野尻霉素(fagomine), 5 为 1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-*D*-阿拉伯糖醇[1,4-dideoxy-1,4-imino-*D*-arabinitol], 6 为 1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-(2-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-*D*-阿拉伯糖醇[1,4-dideoxy-1,4-imino-(2-*O*- β -*D*-glucopyranosyl)-*D*-arabinitol]^[3]。桑类药材在不同种不同产地不同部位不同采收时间等因素下, DNJ 含量有所差异,大致为桑白皮中含量较高,桑叶中含量较低^[4,6]。

现代研究表明,桑类中的多羟基生物碱具有治疗糖尿病,抗病毒、抗肿瘤、抗衰老与免疫调节等多种药理作用^[2]。Chen 等^[7] 研究表明,桑叶中 GAL-DNJ, fagomine 能显著降低血糖水平,其中 fagomine 还可以显著促进体外胰岛素的释放。Li 等^[8] 研究表明, DNJ 通过调节直接参与葡萄糖转运系统的蛋白和糖异生酶的表达,从而抑制肠葡萄糖吸收和促进肝葡萄糖代谢,以此降低血糖。DNJ 对病毒活性有抑制作用,该作用也与 DNJ 可抑制 α -葡萄糖苷酶的活性有关,有显著的抗逆转录酶病毒活性^[9-10]。DNJ 已被证明具有抗癌的潜力,将有望成为如顺氯氨铂一样的抗癌药物,如它可以抑制 B16F10 黑色素瘤细胞的转移及抑制基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和 MMP-9 的活性和表达^[11]。此外, DNJ 能作为治疗日本血吸虫感染,艾滋病和 Th2 细胞相关疾病的新免疫抑制剂^[12]。

同时,研究还进一步表明,不同的多羟基生物碱具有不

同的药效。例如, Asano 等^[13-14] 分别从广东桑叶与桑根皮中提取分离得到了 18 个化合物,均为多羟基生物碱。其中, 1-脱氧野尻霉素能够抑制 α -葡萄糖苷酶 I, II 的糖蛋白加工途径,然而, 1-脱氧野尻霉素能够更加强烈地抑制 α -葡萄糖苷酶 II, *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素能更好地抑制 α -葡萄糖苷酶 I, 而 *l*-脱氧野尻霉素比 *N*-甲基-1-脱氧野尻霉素更能降低人类免疫缺陷病毒(HIV)的感染性; 1,2-双脱氧野尻霉素对哺乳动物的肠道中的 α -葡萄糖苷酶有一定的抑制作用; 1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-*D*-阿拉伯糖醇是酵母菌 α -葡萄糖苷酶的强效抑制剂^[15]。

综上所述,多羟基生物碱类化合物具有重要的药理作用,而且不同的多羟基生物碱具有不同的药效,因此对这类化合物的分离显得尤为必要。但因这类化合物结构中的多个羟基,所以通常具有较强的极性,且同时具有碱性,而且与在大多数植物中常见的糖类物质结构也相似,故其分离纯化将是复杂艰难的工作。若能将桑类药材中的多羟基生物碱进行有效地分离,将为相关疾病的药物开发提供有益的帮助,将为不同类型糖尿病的病人更针对性地用药提供条件。以下将首先对多羟基生物碱目前的分离现状进行综述。

2 桑类药材中多羟基生物碱的分离

目前,对于桑类中强极性成分多羟基生物碱的分离步骤繁琐,一般需要多种柱色谱联用的方法,才能将其进行有效地分离,主要有离子交换色谱、反相色谱、正相色谱和亲水作用色谱^[16]。其中分离主要集中在运用离子交换色谱的方法,但因与多羟基生物碱交换能力弱,也无法单纯地解决多羟基生物碱的分离,需要与反相或正相色谱配合使用或多次分离。亲水作用色谱为近年来用于强极性成分分离较好的方法,许多学者也对之进行了研究。

2.1 离子交换色谱 离子交换色谱(ion exchange chromatography, IEC)是离子色谱最经典的分离模式,带电粒子的保留和分离由粒子的性质、流动相的组成、离子交换剂类型以及基质性质决定, IEC 主要依赖电荷间的相互作用,利用分子电荷的差异而进行分离^[17]。

唐本钦等^[14,17-18] 用乙醇提取桑叶、华桑叶、桑根皮,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,水洗脱部分依次通过 732 (H^+ 型), HZ-202 强碱性, HD-2 弱酸性阳离子交换树脂、Dowex 1 \times 2(OH^-)离子交换树脂, Sephadex LH-20 柱色谱分离,分离得到强极性成分 1-deoxynojirimycin, fagomine 等。刘韦玺等^[19] 用 70% 乙醇提取桑叶,浓缩、过大孔吸附树脂、过阳离子交换树脂、蒸馏水洗、0.5 mol·L⁻¹ 氨水洗脱、浓缩后通过硅胶纯化,合并含 DNJ 较纯的组分,浓缩、真空干燥。获得的 DNJ 含量为 23.2%, 收率为 0.355%。黄勇等^[20] 研究表明联合使用 D101 大孔树脂和 001 \times 7 阳离子交换树脂能有效地从桑叶提取物中分离纯化桑叶多糖、黄酮和生物碱三类活性物质。

在以上的分离过程中表明,单一的离子交换色谱柱不能很好地分离多羟基生物碱,配合多种不同型号的离子交换树脂、葡聚糖凝胶、大孔吸附树脂、硅胶等分离系统,才有望将

其分离好。

2.2 反相色谱 目前,反相液相色谱(reversed-phase liquid chromatography, RPLC)是应用分离中最为广泛的色谱模式。具有高分辨率、高选择性和良好的分离重现性等特点,它能分析分离大多数有机化合物如弱极性、中等极性成分,但对于强极性化合物,反相色谱并不能提供很好的分离^[21]。由于流动相的极性大于固定相的极性,往往极性大的物质最先被洗脱,并且多种极性大的成分不能被很好地分离开来。

周惠燕等^[22]采用该方法对从桑叶中粗提的 DNJ 分离纯化,将 DNJ 提取液过 MCI GEL CHP 20P 柱色谱,用不同浓度的甲醇-水为流动相进行梯度洗脱,然后收集含有 DNJ 的洗脱液浓缩后再过 Sephadex LH-20 色谱柱,再次以不同浓度的甲醇-水为流动相进行梯度洗脱,最后收集含 DNJ 的洗脱液,浓缩并干燥,得到的固体即为 DNJ。桑叶中 DNJ 的含量为 0.27% ~ 0.49%,纯化物中 DNJ 的含量为 10.7%。倪丽等^[23]对桑叶的水溶性成分进行了研究,通过离子交换树脂、ODS 等多种柱色谱方法从桑叶从醇提后剩余残渣的水提液中分离得到化合物 fagomine, DNJ, 2-O- α -D-galactopyranosyl-1-deoxynojirimycin, 1, 4-dideoxy-1, 4-imino-(2-O- β -D-glucopyranosyl)-D-arabinitol。

虽然反相色谱对多羟基生物碱能达到的一定的分离效果,但是分离也不彻底,如 ODS 色谱柱中残留的硅烷醇基可能会给碱性物质的分离带来一定影响,往往也需要配合其他柱子一起使用,方可达到分离效果。

2.3 正相色谱 正相色谱(normal phase liquid chromatography, NPLC)技术可以通过样品在强极性的固定相和洗脱剂间的分配达到分离目的,从而很好地保留和分离极性化合物。然而,正相色谱重现性较差,其流动相(如正庚烷、三氯甲烷、乙酸乙酯等)对强极性化合物的溶解性极差,样品峰形易前伸或拖尾,保留时间随进样量漂移,流动相中微量水的存在显著影响保留等,且正相色谱溶剂与质谱不兼容,这些问题都造成分析应用中的局限性^[21,25]。

戴开金等^[25]建立 HPLC-MS/MS 联用测定桑叶中 1-脱氧野尻霉素含量的方法,采用 SHMADZU HRC-NH₂ 柱分离,以乙腈-0.1% 甲酸水溶液(12:88)为流动相,采用大气压化学电离源(APCI),164.1/146.1,164.1/110.2 两对离子,多反应监测(MEM)。平均加样回收率为 95.8%,最低检测限为 53.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

正相色谱理论上用于分离极性成分比较好的一种方法,目前,氨基柱被广泛运用于糖分析,但比起反相柱,适用范围少,在多羟基生物碱的分离中实际运用中并不普遍。

2.4 亲水作用色谱 亲水作用色谱(hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC)是采用极性固定相,有机溶剂-水为流动相的一种分离技术,能有效保留反相色谱中保留不完全或不保留的强极性样品,目前已被广泛应用于强极性成分的分析与分离中。HILIC 柱的基本类型包括硅胶、中性极性化学键合和两性离子固定相。

亲水作用色谱(HILIC)具有和 NPLC 类似的保留行为,

它采用与正相色谱法相近的极性固定相,水-水溶性有机相作为流动相。被分析物质在色谱柱中的保留和其自身的极性成正比,和流动相的极性成反比。被分析物质的极性越强,在色谱柱中保留越强。增加流动相中水的比例,使流动相极性增强,则分析物保留减弱。HILIC 能为强极性的待测样品提供合适的保留,又能显著改善样品在流动相中的溶解度。此外,它在体现和 RPLC 正交的选择性的同时,具有与 RPLC 相媲美的柱效和对称的峰形;又和多种检测器-尤其是质谱-有良好的兼容性,因此是一种非常适合于强极性和强亲水性样品定性定量分析的液相色谱替代技术,并得到越来越广泛的重视和应用^[21,26]。

Jandera^[27]比较了基于硅胶基质的亲水作用色谱固定相,包括纯硅胶、氨基、二醇基、酰胺型、聚(琥珀酰亚胺)型等,其中酰胺型硅胶柱对强极性成分能进行高效、快速地分离。Kimura 等^[28]采用 HPLC-ELSD/MS 系统,应用具有亲水性相互作用色谱柱 TSKgel Amide-80,分离桑叶和桑根皮中的强效葡萄糖苷酶抑制剂 1-脱氧野尻霉素(DNJ),本方法简单、快速,可用于桑叶和相关产品中的 DNJ 的鉴定和检测。Nakagawa 等^[29]采用 HILIC-MS/MS 系统同时对桑叶提取物进行检测,可使个别亚氨基糖如 GAL-DNJ 和 fagomine 可被分离和检测,该法用于定量定性亚氨基糖足够灵敏。该技术是近年来许多学者用于极性成分分离的新型方法,与之前的离子交换、反相、正相色谱比分离效果更好。

虽然亲水作用色谱材料为多羟基生物碱的高效分离带来了希望,研究者们仍期望找到更适合于多羟基生物碱类物质的分离材料。目前,一种新型的材料-离子液体开始被应用在强极性成分的分析分离中,它具有与亲水色谱中两性离子固定相类似的结构特点。唯一的结构区别是:亲水作用色谱两性离子固定相中阴阳离子之间是共价键连接^[30](图 1),而新型材料离子液体改性的固定相中阴阳离子之间是离子键连接^[37](图 2)。这种材料也已经被用于一些极性较强的物质和碱性的物质的分离,下面将对其进行介绍。

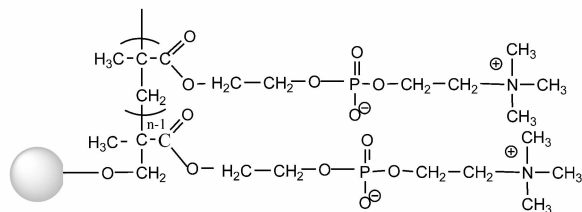


图 1 KS-polyMPC 两性离子固定相
Fig. 1 Zwitter-ion stationary phase of KS-polyMPC

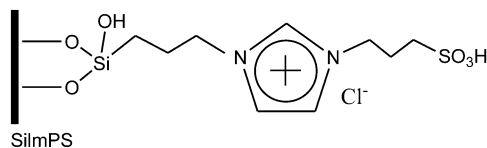


图 2 离子液体固定相
Fig. 2 Ionic liquid stationary phase

3 新型固定相用于强极性成分分离

3.1 “两性”材料-离子液体 离子液体改性后的固定相不仅具有与亲水作用色谱相似的多重作用力^[32-33],而且具有可设计性^[34],可调节性,同时还显示出特殊的分离特性-“两性”的特点,Armstrong等^[35]研究表明离子液体分离非极性物质或弱极性物质时,表现出非极性或弱极性固定相的特点;当分离极性化合物时,表现出极性固定相的特点,对极性、非极性化合物均有良好的分离选择性。基于离子液体以上特点,有望成为较亲水作用色谱更优的分离方法。理论上将其用于多羟基生物碱的分离能取得一定的突破。

3.2 离子液体在改性色谱固定相中的应用 目前,已有学者将离子液体改性固定相用于分离极性成分,这也为更好地分离多羟基生物碱奠定了实践基础。王旭生等^[36]采用*N*-甲基咪唑和氯丙基咪唑反应的方法制备得到了离子液体键合硅胶固定相,并利用该固定相和被分析物之间的多重作用力,以纯水作为流动相,成功地分离了碱基、酚类化合物以及3种药物化合物(盐酸吗啡、阿昔洛韦和头孢氨苄)。Tian等^[37-38]使用2-乙基-4-甲基咪唑离子液体将氯丙基硅胶表面进行改性,用于固相萃取中分离甘草中甘草酸和甘草素,与传统C₁₈材料相比,改性后的硅胶具有更好选择性;将氨基咪唑离子液体改性硅胶填充于HPLC柱中,用于绿原酸,咖啡酸,滨蒿内酯,芦丁分离,使用乙腈-水1:1和乙腈-水1:1加入0.1%三乙胺2阶段洗脱,具有良好的线性,相对偏差<5.2%。Bi等^[39]将氯丙基硅胶分别与咪唑,1-甲基咪唑,1-乙基甲基咪唑,1-丁基咪唑反应制备成为固定相吸附剂,其中SilprImCl提取分离苦参中氧化苦参碱具有很好吸附能力,与传统的固相萃取相比,减少洗涤过程中有机溶剂的使用,氧化苦参碱与干扰物成功分离且回收率高达93.4%。

4 小结与展望

桑类药材对于糖尿病的预防以及治疗作用明显,若能将其降糖有效成分-多羟基生物碱类成分进行高效的分离,将对多羟基生物碱类药品的工业化生产具有实践指导意义。传统方法由于色谱固定相的作用力单一,所以对强极性的多羟基生物碱的分离往往需要多种柱色谱方法连用,不仅步骤繁琐且效率较低。如能通过改性柱色谱中的固定相而提高分离效果,达到分离目的,将为高效分离桑类药材中的多羟基生物碱类物质的研究提供帮助。

亲水作用色谱(HILIC)近年来研究热门且应用广泛,它不同于以往的反相色谱(RPLC)和正相色谱(NPLC),具有与NPLC相似的保留行为且对强极性成分溶解度良好,具有与RPLC相同的柱效和对称的峰形;又与多种检测器兼容性良好。另外,一种与HILIC中两性离子固定相相似的新型材料-离子液体,具有两性的性质及多重的作用力,因其独特的性质已经成功地应用在分析化学的各个领域,尤其是在色谱分析中,可根据离子液体可调控性,可设计性来修饰固定相,离子液体改性固定相将丰富分离材料,并为更好的分离强极性成分提供可能,将其用于桑类中多羟基生物碱类成分的分离值得进一步探索。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:279-281.
- [2] 陈玉华,邹凤竹,龙燕,等. 蚕桑中1-脱氧野尻霉素药理药效的研究进展[J]. 时珍国医国药,2014,25(10):2486-2488.
- [3] Asano N, Tomioka E, Kizuet H, et al. Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bombycis*[J]. Carbohydrate Research, 1994, 253(1/2):235-245.
- [4] 曾锐,祝勇军,刘超. HPLC-ELSD法测定桑树不同部位中的1-脱氧野尻霉素[J]. 华西药学杂志,2009,24(2):171-172.
- [5] 刘红英,何军,何珺. 不同干燥方法对桑白皮中DNJ含量的影响[J]. 中药材,2012,35(7):1053-1055.
- [6] 徐小军,余国珍,胡礼勇. 桑树各药用部位1-脱氧野尻霉素的含量考察[J]. 中药材,2010,33(1):28-30.
- [7] Chen F, Nakashima N, Kimura I, et al. Potentiating effects on pilocarpine-induced saliva secretion, by extracts and *N*-containing sugars derived from mulberry leaves, in streptozocin-diabetic mice[J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18(12):1676-1680.
- [8] Li Y G, Ji D F, Zhong S, et al. 1-deoxyojirimycin inhibits glucose absorption and accelerates glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Sci Rep, 2013,67(3):1377-1388.
- [9] Fenouillet E, Papandreou M J, Jones I M. Recombinant HIV envelope expressed in an alpha-glucosidase I-deficient CHO cell line and its parental cell line in the presence of 1-deoxyojirimycin is functional[J]. Virology, 1997, 231(1):89-95.
- [10] Papandr ou M J, Barbouche R, Guieu R, et al. The α -glucosidase inhibitor 1-deoxyojirimycin blocks human immunodeficiency virus envelope glycoprotein-mediated membrane fusion at the CXCR4 binding step[J]. Mol Pharmacol, 2002, 61(1):186-193.
- [11] Wang R J, Yang C H, Hu M L. 1-deoxyojirimycin inhibits metastasis of B16F10 melanoma cells by attenuating the activity and expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and altering cell surface glycosylation[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(16):8988-8993.
- [12] Liu M, Wang S, Zhou Y D, et al. An iminosugar *N*-pentafluorobenzyl-1-deoxyojirimycin as a novel potential immunosuppressant for the treatment of Th2-related diseases[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(1):564-570.

- [13] Asano N, Oseki K, Tomioka E, et al. *N*-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities [J]. *Carbohydr Res*, 1994, 259 (2): 243-255.
- [14] 唐本钦, 杨婷婷, 杨文强, 等. 广东桑叶化学成分及其 α -葡萄糖苷酶活性研究[J]. *中草药*, 2013, 44(22): 3109-3113.
- [15] Molyneux R J, Gardner D R, James L F, et al. Polyhydroxy alkaloids: chromatographic analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 967(1): 57-74.
- [16] 陈倩, 于泓. 整体柱离子色谱的研究进展[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(6): 705-712.
- [17] 韩伟立, 张晓琦, 轧霖, 等. 华桑叶水溶性化学成分研究[J]. *中成药*, 2010, 32(4): 639-641.
- [18] 吴东玲, 张晓琦, 黄晓君, 等. 广东桑根皮的化学成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(15): 1978-1981.
- [19] 刘韦鋈, 赵骏, 高秀梅, 等. 1-脱氧野尻霉素提取精制工艺的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27(10): 2079-2081.
- [20] 黄勇, 刘凡, 廖森泰, 等. 采用大孔树脂与阳离子交换树脂分离纯化桑叶活性物质的效果分析[J]. *蚕业科学*, 2012, 38(6): 1079-1085.
- [21] 沈爱金, 郭志谋, 梁鑫森. 亲水作用色谱固定相的发展及应用[J]. *化学进展*, 2014, 26(1): 10-18.
- [22] 周惠燕, 胡晓渝, 马英. 桑叶中1-脱氧野尻霉素的纯化及含量测定[J]. *中国现代应用药学杂志*, 2008, 25(5): 367-369.
- [23] 倪丽, 张现涛, 殷志琦, 等. 桑叶中水溶性成分的研究[J]. *中药材*, 2006, 29(2): 134-136.
- [24] 王媛, 顾惠新, 路鑫, 等. 以亲水作用色谱为核心的液相色谱联用技术及其应用研究[J]. *色谱*, 2008, 26(6): 649-657.
- [25] 戴开金, 侯连兵, 罗奇志. 高效液相色谱-串联四极杆质谱法测定桑叶中1-脱氧野尻霉素[J]. *中药材*, 2009, 32(3): 375-377.
- [26] 邓月影, 翟金萍, 郎爱东. 亲水作用色谱在中药极性成分分析中应用进展[J]. *中药材*, 2012, 35(3): 499-502.
- [27] Jandera P. Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: a review [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 692(1/2): 1-25.
- [28] Kimura T, Nakagawa K, Saito Y, et al. Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(6): 1415-1418.
- [29] Nakagawa K, Ogawa K, Higuchi O, et al. Determination of iminosugars in mulberry leaves and silkworms using hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 2010, 404(2): 217-222.
- [30] Wen J, Gerd F, Yohannes G, et al. Zwitterionic stationary phase with covalently bonded phosphorylcholine type polymer grafts and its applicability to separation of peptides in the hydrophilic interaction liquid chromatography mode [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1127(1/2): 82-91.
- [31] Qiu H D, Jiang Q, Wei Z, et al. Preparation and evaluation of a silica-based 1-alkyl-3-(propyl-3-sulfonate) imidazolium zwitterionic stationary phase for high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1163(1/2): 63-69.
- [32] Qiu H, Takafuji M, Liu X, et al. Investigation of pi-pi and ion-dipole interactions on 1-allyl-3-butylimidazolium ionic liquid-modified silica stationary phase in reversed-phase liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(32): 5190-5196.
- [33] Qiu H, Takafuji M, Sawada T, et al. New strategy for drastic enhancement of selectivity via chemical modification of counter anions in ionic liquid polymer phase [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2010, 46(46): 8740-8742.
- [34] QUILL. *Ionic Liquids: Sources of Innovation* [R]. Belfast, 2005.
- [35] Armstrong D W, He L, Liu Y S. Examination of ionic liquids and their interaction with molecules, when used as stationary phases in gas chromatography [J]. *Anal Chem*, 1999, 71(17): 3873-3876.
- [36] 王旭生, 邱洪灯. 咪唑离子液体键合硅胶固定相纯水洗脱分离碱基、酚类和药物化合物[J]. *色谱*, 2011, 29(3): 269-272.
- [37] Tian M, Bi W, Row K H. Solid-phase extraction of liquiritin and glycyrrhizic acid from licorice using ionic liquid-based silica sorbent. [J]. *J Sep Sci*, 2009, 32(23/24): 4033-4039.
- [38] Tian M, Row K H. Separation of four bioactive compounds from herba artemisiae scopariae by HPLC with ionic liquid-based silica column [J]. *J Anal Chem*, 2011, 66(6): 580-585.
- [39] Bi W, Tian M, Row K H. Selective extraction and separation of oxymatrine from *Sophora flavescens* Ait. extract by silica-confined ionic liquid [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 880(1): 108-113.